

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLICHE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة 20 أوت 1955 - سكيكدة
UNIVERSITE 20 AOUT 1955 _SKIKDA



Faculté des sciences

Département des sciences de la nature et de la vie

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

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Intitulé

***Evaluation de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique du
Rosmarinus officinalis L***

Présenté par :
Bendiaf Ahlam
Bouaita Fatima
Bouakkez Warda
Hamreurlaine Meriem

Membre de jury :

M^{me} Ennaghra N.	Présidente	Université 20 Aout 1955, Skikda
M^{me} Bouhaddouda N.	Directrice de mémoire	Université 20 Aout 1955, Skikda
M^{me} Mellahi L.	Examinatrice	Université 20 Aout 1955, Skikda

Année Universitaire : 2021-2022

Remerciements

Nous remercions Dieu, le tout puissant pour la volonté, la patience et le courage qu'il nous a accordé pour mener à terme ce travail.

Le présente de travail a été réalisé au laboratoire de biochimie appliquée, hall technologique, faculté des science technologique, université 20 Aout 1955 Skikda, sous la direction du Dr : Bouhaddouda Nabila, nous tenons à lui exprimer notre profonde gratitude pour avoir accepté de nous encadrer, pour son attention discrète, pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.

Nous voudrions ensuite remercier tous les membres du jury qui vont juger ce modeste travail et nous faire profiter de leur connaissance et remarques constructives : Mme Ennaghra Nadjat qui nous fait l'honneur de présider le jury et Mme Mellahi Lamia qui a accepté d'examiner ce travail.

Nous remercions Mme. Mellahi, Mme Benzazai, Mme Machia de nous avoir beaucoup aidé à la réalisation de ce modeste travail.

Nous remercions l'ensemble du personnel du laboratoire de biochimie appliquée : Noura, Nassima pour leur disponibilité et les nombreux services qu'ils nous ont rendus durant la réalisation de ce travail.

Le plus grand merci revient à nos très chers parents, la lumière de nos vies, qui par leurs prières et leur encouragement, nous avons pu surmonter tous les obstacles.

Merci à Tous...

DÉDICACE

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

A l'homme, mon précieux cadeau du dieu, à qui je dois ma vie, ma réussite et tout mon respect mon cher père.

A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse, mon adorable mère.

A mes chers frères : Hasseni, Abd El kader, Khaled, Rabah

A mes chères sœurs : Nadjat, Aicha, Chaima et ma belle soeur Saida

A mes petits-enfants : louai et laith.

Qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études. Que Dieu les protège et leur offre la chance et le bonheur.

A mes grande- mère, que Dieu leur donne une longue et joyeuse vie.

A mon cousin Dr. Messoud et Youcef pour son soutien

A tous mes amis : Raihana, Ahlem, Fatima, Meriem, Reyene, Manou, Romeissa, Belkise, Asma, Yasmine.

A ma famille UGEL Skikda

Son oublier le directeur de la résidence universitaire El-Hdeik 06 : Monsieur Feghmous Authman pour son soutien moral et ses précieux conseils.

DÉDICACE

Afin d'être reconnaissante envers ceux qui m'ont appuyé et encouragé à effectuer ce travail, je dédie ce mémoire :

A ma chère mère Aicha, qui m'a encouragé durant toutes mes études, et qui sans elle, ma réussite n'aura pas eu lieu, ma mère est la lumière de mes yeux, la source de mes efforts, ma vie et mon bonheur.

A mon cher père Larbi, qui m'a encouragé durant toutes mes études.

A ma grand-mère Houria, la personne la plus idéale dans ce monde, c'est vrai qu'elle n'est plus avec nous pour récolter le fruit de ces sacrifices, mais elle reste toujours là plus présente.

A mon fiancé Mohammed, qui n'a pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études.

A mes frères Fares et Soufiane

A mes sœurs Chaïma et Bochra pour leur soutien moral.

A mon frère et sa petite famille et surtout abdel moneim.

A toute ma famille

A tous mes amis, et à tous ceux que j'aime et à toutes les personnes qui m'ont encouragé : Sakina , warda , fatima , lamia , iman et yasmine.

DÉDICACE

Je dédie ce modeste travail à :

Ma famille spécialement,

Aux personnes les plus chères au monde :

Mon père Mohamed ;

Ma mère Aicha ;

Qui sont la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie.

Qui m'ont apporté leur appui durant toutes mes années d'études, pour leurs sacrifices et soutiens ainsi que la tendresse, confiance, courage et sécurité qu'ils m'ont procuré.

A mon cher frère Faycel ;

A mes chères sœurs : Asma , Radia, Zahra, Amira et leurs famille pour leurs soutiens moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études.

A ma tante Fatima et sa famille.

A tous mes oncles et leurs familles, mon oncle Nabil.

A Mayssoune.

A mes chers amis : Warda, Ahlem, Ryene, Houda, Manou, Yasmine, lamia, Nadia, Ibtissem, Maria

A mes petits-enfants : Ritadj, Abd el hay, Nour el yakine, Yahya, Ranim, Adam, Acil, Sidra, Siradj, Abd el kayoum .

A toute la famille Bouaita

Fatima

DÉDICACE

Je dédie ce modeste travail, aux personnes les plus chers à mon cœur :

Mon cher mari

Qui m'a soutenu par sa patience, son amour et son encouragement ce qui m'a permis de continuer mes études dans les bonnes conditions.

Mes parents

Ma chère mère, qui a œuvré pour ma réussite depuis que je suis une petite fille, par ses conseils, son soutien, son assistance et sa présence dans ma vie, avec ses prières bénies.

Mon cher papa qui m'a soutenu par ses conseils et ses prières bénies.

Ma chère grand-mère que dieu la protège, et toute la famille.

Mes chers frères : Amine et Mounir.

Ma chère sœur que dieu la protège.

Toute la famille Oudina surtout mon beau père et ma belle-mère que dieu les protègent.

À tous mes professeurs qui m'ont encouragé à poursuivre mes études.

À toutes mes amies : Asma, Meriem, Imene, Razika.

À toutes mes collègues : Ahlem, Warda, Fatima.

Meriem

SOMMAIRE

Résumé	
Liste des abréviations	
List des figures	
Liste des tableaux	
I. La Phytothérapie	3
I.1. Historique :	3
I.2. Définition :	4
I.3. Les principes actifs des plantes médicinales :	4
I.3.1. Les métabolites primaires :	5
I.3.2. Les métabolites secondaires :	5
I.4. Mode de préparation et d'utilisation des plantes médicinales :	5
I.4.1. L'infusion :	5
I.4.2. La décoction	5
I.5. Les avantages et les inconvénients :	6
I.5.1. Les avantages:	6
I.5.2. Les inconvénients :	6
II. Les polyphénols :	7
II.1. Définition :	7
II.2. Localisation dans la plante :	7
II.3. La classification :	8
II.4. Méthode d'extraction des composés phénoliques :	11
II.4.1. Méthodes conventionnelle :	11
II.4.2. Nouvelles méthodes :	11
II.5. Propriétés biologiques des polyphénols :	12
II.5.1 Chez la plante :	12
II.5.2. Chez l'homme :	12
III. Stress oxydatif et antioxydant.....	14
III.1. Le stress oxydatif	14

III.2. Les radicaux libres :	14
III.2.1. Définition :	14
III.2.2. Formes des radicaux libres :	15
III.3. Les Antioxydants :	16
III.3.1. Définition :	16
III.3.2. Classification des antioxydants :	16
III.3.2.1. Les antioxydants exogènes	16
III.3.2.2. Les antioxydants endogènes :	17
a.Les antioxydants endogènes enzymatiques :	17
b.Les antioxydants endogènes non- enzymatiques :	17
IV. Présentation de la plante étudiée :	18
IV.1. Le romarin dans l’histoire :	18
IV.2. Description botanique :	18
IV.3. Répartition géographique :	19
IV.4. Nomenclature :	19
IV.5. Classification taxonomique :	20
IV.6. Composition chimique :	20
IV.7. Utilisation en médecine traditionnel :	21
I. Matériel végétal :	22
I.1. Critère de choix de la plante :	22
I.2. Identification, récolte, situation géographique et conservation :	22
II. Extraction des composés phénoliques :	23
II.1. Principe :	23
II.2. Mode opératoire :	23
II.3. Calcul des rendements :	24
III. Analyse quantitative de l’extrait brut	24
III.1. Dosage des polyphénols totaux	24
III.1.1. Principe :	24
III.1.2. Mode opératoire :	25

III.1.3. Expression des résultats :	25
III.2. Dosage des flavonoïdes :	26
III.2.1. Principe :	26
III.2.2. Mode opératoire :	26
III.2.3. Expression des résultats :	26
IV. Evaluation de l'activité antioxydante :	26
IV.1.1. Test de piégeage du radical libre DPPH	26
IV.1.1.1. Principe :	26
IV.1.1.2. Mode opératoire :	27
IV.1.1.3. Expression des résultats :	27
I. Extraction des composés phénolique :	29
I.1. Caractéristique :	29
I.2. Rendement :	29
II. Analyses des extraits méthanoliques :	30
II.1. Dosage des polyphénols totaux (analyse quantitative) :	30
II.2. Dosage des flavonoïdes (analyse quantitative) :	32
III. Evaluation de l'activité antioxydante par le DPPH :	33
Conclusion.....	36
Références bibliographiques	37

Résumé

Le *Rosmarinus officinalis L* est une plante aromatique utilisée depuis l'antiquité en médecine traditionnelle, elle possède divers effets thérapeutiques et une variété d'activité biologique, sur cette base nous sommes intéressés à l'évaluation de son potentiel antioxydant.

Le rendement de l'extrait brut obtenu par macération de la partie aérienne (feuilles) de *Rosmarinus* dans le méthanol a été de 35,5%, c'est une valeur considérable.

L'analyse quantitative révèle que l'extrait est riche en polyphénols totaux et flavonoïdes.

La teneur en polyphénols a été déterminée par la méthode de Folin-ciocalteu et a indiqué une valeur de $1095,1 \pm 15,85$ mg EAG/g d'extrait.

Les flavonoïdes ont été évalués par méthode de chlorure de l'aluminium $AlCl_3$, la teneur est estimée à $98 \pm 4,5$ mg EQ/g d'extrait.

Le résultat obtenu pour l'activité antioxydant révèle que l'extrait possède un grand pouvoir de piégeage de radical libre DPPH avec IC_{50} de l'ordre de : 0,6 mg/ml mais relativement faible à celui de la vitamine C.

Le Rosmarinus officinalis L est une plante riche en composés phénoliques notamment les flavonoïdes, et présente une bonne activité antioxydante.

Mots clés : *Rosmarinus officinalis L*, activité antioxydante, polyphénols, flavonoïdes.

ملخص

يعتبر *Rosmarinus officinalis L* نبات عطري يستخدم منذ العصور القديمة في الطب التقليدي، وله تأثيرات علاجية متنوعة ومجموعة متنوعة من الأنشطة البيولوجية، وعلى هذا الأساس نحن مهتمون بتقييم نشاطه المضاد للأكسدة.

كان محصول المستخلص الخام الناتج عن تعطين الجزء الجوي (أوراق) إكليل الجبل في الميثانول يقدر ب 35.5٪، وهي قيمة معتبرة.

يكشف التحليل الكمي الذي تم الحصول عليه أن المستخلص غني بالبوليفينول الكلي و بالفلافونيدات. تم تحديد محتوى البوليفينول بواسطة طريقة Folin-ciocalteu و قدر ب 15.85 ± 1095.1 ملغ ما يعادل حمض الغاليك / غ مستخلص تم تقييم مركبات الفلافونويد باستخدام طريقة كلوريد الألومنيوم AIC13 ، ويقدر المحتوى ب: 4.5 ± 98 ملغ ما يعادل كرسيتين / غ مستخلص.

تظهر النتيجة التي تم الحصول عليها من خلال النشاط المضاد للأكسدة أن المستخلص لديه قوة كبيرة في حبس الجذور الحرة DPPH مع IC 50 تعادل 0.6 مغ / مل ولكنها ضعيفة نسبيًا عن تلك الموجودة في الفيتامين C.

Rosmarinus officinalis L هو نبات غني بالمركبات الفينولية ، وخاصة مركبات الفلافونويد ، وله نشاط جيد كمضاد للأكسدة.

الكلمات المفتاحية: *Rosmarinus officinalis* الفلافونويد ، البوليفينول ،النشاط المضاد للأكسدة.

Abstract

Rosmarinus officinalis L is an aromatic plant used since antiquity in traditional medicine, it has various therapeutic effects and a variety of biological activity, on this basis we are interested in the evaluation of their antioxidant activity.

The yield of the crude extract obtained by maceration of the aerial part (leaves) of *Rosmarinus* in methanol was 35.5%, which is a considerable value.

The quantitative analysis obtained reveals that the extract is rich in flavonoids than total polyphenols.

The polyphenol content was determined by the Folin-ciocalteu method, and reveal a content of 1095.1 ± 15.85 mg EAG/g extract.

The flavonoids were evaluated by the aluminum chloride method $AlCl_3$, the content is estimated at 98 ± 4.5 mg QE/g of extract.

The result obtained for the antioxidant activity reveals that the extract has a great power of scavenging DPPH free radicals with IC 50 of 0.6 mg/ml but relatively weak compared to that of vitamin C.

Rosmarinus officinalis L is a plant rich in phenolic compounds, especially flavonoids, and has good antioxidant activity.

Keyword : *Rosmarinus officinalis L*, antioxidant activity, polyphenol, flavonoids.

Liste d'abréviations

OMS : organisation Mondial de la Santé

UV : Ultra -Violet

IF : Infra-Rouge

OH : groupement hydroxyle

H : hydrogène

EAM : extraction assisté par micro-onde

EOA : Espèces Oxygénée Active

O₂^{•-} : Anion superoxyde

NO[•] : Anion superoxyde

NO[•] : Monoxyde d'azote

RO[•] : Radical alkoxyde

OH[•] : Radical hydroxyle

ROO[•] : Radical peroxyde

HOCl : Acide hypochlorique

1O₂ : Oxygène singulet

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

ROOH : Peroxyde organique

ONOO : Peroxynitrite

R[•] : Radicale Alkyle

SOD : superoxyde dismutase

GPx : glutathion peroxydase

HOcl : l'acide hypochloreux

Na₂CO₃ : bicarbonate sodium

EAG : Equivalent d'acide gallique

AlCl₃ : trichlorure d'aluminium

EQ : Equivalent quercétine

DPPH : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl

MS : matière sèche

IC50 : concentration inhibitrice à 50%

REM : Rendement d'extrait méthanolique

RRO : Rendement région d'Ouargla

RRA : Rendement région d'ain mlila

RRM : Rendement région de montrichard

RRS : Rendement région ste /arty caderonne

TPT : Teneur polyphénol totaux

TPM : Teneur polyphénol Maroc

TPC : Teneur polyphénol corée du sud

TPD : Teneur polyphénol Djebel El wahche (Constantine)

TFT : Teneur flavonoïde totaux

FRO : flavonoïde région d'Oran

FUE : flavonoïde université El Oued

FTT : flavonoïde Tasai totaux

La liste des figures

Figure 01 : structure chimique du noyau phénol.	7
Figure 02 : squelette de base des flavonoïdes	10
Figure 03 : extracteur soxhlet	11
Figure 04 : four micro-onde	11
Figure 05 : Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant	14
Figure 06 : plante <i>rosmarinus officinalis L</i> ; dessus et dessous des feuilles ; fleur	19
Figure 07 : photographie de la plante étudiée <i>Rosmarinus Officinalis</i>	22
Figure 08 : Une carte montrant la localisation géographique de la récolte de plantes étudiée	23
Figure 09 : protocole d'extraction.....	24
Figure 10 : dosage de l'acide gallique	25
Figure 11 : réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH	27
Figure 12 : histogramme des rendements d'extraits méthanolique dans différentes études	29
Figure 13 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols	30
Figure 14 : comparaison en polyphénol totaux des différents extraits	31
Figure 15 : Courbe d'étalonnage de quercétine pour le dosage des phénols totaux.....	32
Figure 16 : comparaison en Flavonoïde totaux des différents extraits	33
Figure 17 : Pourcentage d'activité antioxydant des extraits méthanoliques de la plante	34

Liste des tableaux

Tableau 01 : principales classes des composés phénoliques.	8
Tableau 02 : principales classes des flavonoïdes.	10
Tableau 03 : Les deux classes des espèces réactives.	15
Tableau 04 : classification botanique de la plante <i>Rosmarinus officinalis L.</i>	20
Tableau 05 : Compositions chimiques du <i>Rosmarinus officinalis L.</i>	20

Introduction

Le monde des végétaux est plein de ressources et de vertus d'où l'homme puise non seulement sa nourriture mais aussi des substances actives qui procurent un bienfait à son organisme, parfois affecté de troubles insidieux (**Aissa-Baba, 2000**).

En fait, les propriétés thérapeutiques des plantes sont dues à la présence de certaines, voire des milliers de composés naturels bioactifs appelés : les métabolites secondaires (**Boudjouref, 2011**), et presque 170.000 molécules bioactives ont été identifiées à partir de plantes (**Chaabi, 2008**). Malgré les remarquables progrès en chimie organique de synthèse du vingtième siècle, plus de 25% des médicaments prescrits dans les pays industrialisés tirent directement ou indirectement leurs origines des plantes (**Laraba et al., 2016**). Ils jouent un rôle très important, principalement dans la lutte contre les cancers, les maladies cardiovasculaires et la peroxydation lipidique, expliquant ainsi leur grande utilisation dans la fabrication des médicaments (**Bruneton, 2009**).

Dans le cadre de la valorisation de la médecine traditionnelle, il y a eu un intérêt croissant ces dernières décennies dans l'étude des plantes médicinales et leurs utilisations dans différentes régions du monde. Aujourd'hui, selon l'Organisation Mondiale de la Santé (**OMS, 2002**), près de 80% de la population mondiale dans les pays en développement dépendent des plantes médicinales traditionnelles pour leurs soins de santé primaire.

Des avantages économiques considérables dans le développement de la médecine traditionnelle et dans l'utilisation des plantes médicinales pour le traitement des diverses maladies ont été constatés (**Muthu et al., 2006**).

L'Algérie par sa position biogéographique offre une très grande diversité écologique et floristique, estimé à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, dont 15% endémiques reste très peu exploré sur le plan phytochimique comme sur le plan pharmacologique (**Hanifi, 1991**)

A cet effet, et dans le cadre de la valorisation de la flore algérienne, nous nous sommes intéressées à une plante médicinale nommé *Rosmarinus Officinalis L*, qui a fait l'objet de récentes recherches dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et agro-alimentaires. C'est une herbe aromatique de la famille des Lamiacées, appréciée pour ses propriétés aromatiques, antioxydantes, antimicrobiennes, antispasmodiques, emménagogues et anti-tumorales, largement utilisée dans les produits pharmaceutiques et en médecine traditionnelle (**Atik bekkara et al., 2007**).

L'objectif de cette étude est l'estimation de la teneur en composés actifs essentiels : les polyphénols et les flavonoïdes de l'extrait brut obtenu par macération de la partie aérienne du romarin, ainsi que l'évaluation de son activité antioxydante.

Notre étude est développée en trois chapitres :

Le premier chapitre : est consacré à une étude bibliographique qui regroupe quatre parties :

- La première partie représente une généralité sur la phytothérapie.
- La deuxième partie expose les composés phénoliques.
- La troisième partie représente le stress oxydant.
- La quatrième partie est basée principalement sur une étude botanique sur le *Rosmarinus officinalis L.*

Le deuxième chapitre : est une étude expérimentale présentée sur deux volets :

- Le premier comporte une description de la méthode d'extraction de l'extrait brut.
- Le deuxième comporte les tests suivants : le dosage des polyphénols, dosage des flavonoïdes et l'évaluation de l'activité antioxydant par le radical DPPH.

Le troisième chapitre : englobe les résultats obtenus : le rendement de l'extrait méthanolique, les teneurs des composés phénoliques et l'étude de l'activité antioxydante, ainsi que leurs discussions.

Et nous finirons par une conclusion.

Chapitre I

Partie bibliographique

I. La Phytothérapie

I.1. Historique :

La première médecine, par les plantes, est gravée sur des tablettes d'argile de l'époque sumérienne, qui décrivaient une pharmacopée riche en plantes, tel le myrte, le thym, le saule, le chanvre. Le Papyrus Ebert, est l'un des plus anciens traités médicaux, qui nous soit parvenu. Il représente le premier recueil, connu, consacré aux plantes médicinales. Rédigé au XVIe siècle av. J.-C., il est l'un des plus longs documents écrits retrouvés, de l'Égypte antique. Il contient 877 paragraphes, qui décrivent de nombreuses maladies, dans plusieurs branches de la médecine (gastro-entérologie, gynécologie, ophtalmologie...) et il fait référence à de plus anciens documents, citant des dizaines de plantes, accompagnés d'un mode d'utilisation **(Mohammedi , 2013)**.

Puis les Grecs avec Hippocrate, Aristote, Théophraste, Galien, Dioscoride et les Romains ont enseigné l'art de traiter par les plantes en colligeant les connaissances avec plus de 500 plantes médicinales répertoriées.

En 529, le pape Grégoire le Grand interdit l'enseignement en France de la médecine par les plantes et ce n'est qu'aux alentours du début du IXe siècle que le Moyen-Orient, l'Afrique du nord et l'Espagne avec l'université de Cordoue ont repris l'enseignement de ces connaissances, puis Avicenne (980-1037) distilla les premières huiles essentielles.

Au début du XIXe siècle, on isolait la morphine de l'opium, la strychnine de la noix vomique, la quinine de l'écorce de quinquina.

Actuellement, certaines civilisations (chinoise, ayurvédique, arabe, tibétaine, indienne...) sont encore fondées sur ces systèmes thérapeutiques ancestraux, moins onéreux **(Létard et al., 2015)**.

C'est donc depuis longtemps que les remèdes naturels et surtout les plantes médicinales furent le principal recours de la médecine et malgré l'important développement de l'industrie pharmaceutique qui a permis à la médecine moderne de traiter un grand nombre de maladies souvent mortelles, environ 80% de la population mondiale profite des apports de la médecine traditionnelle à base des plantes reconnaissant ainsi les savoirs empiriques de nos ancêtres **(EL Rhaffari et Zaid, 2004)**.

I.2. Définition :

Le mot « phytothérapie » se compose étymologiquement de deux racines grecques « photon » et « thérapie » qui signifie respectivement « plante » et « traitement » (**Mansour, 2015**).

La phytothérapie est le traitement par les plantes (**Bruneton, 1999**), c'est une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de végétaux, de parties de végétaux ou de préparations à base de végétaux, qu'elles soient consommées ou utilisées en voie externe (**Wichtl et Anton, 2003**).

On distingue deux types de phytothérapies :

- **La phytothérapie traditionnelle**

C'est une thérapie de substitution qui a pour but de traiter les symptômes d'une affection. Ses origines peuvent parfois être très anciennes et elle se base sur l'utilisation de plantes selon les vertus découvertes empiriquement. Elles concernent notamment les pathologies saisonnières depuis les troubles psychosomatiques légers jusqu'aux symptômes hépatobiliaires, en passant par les atteintes digestives ou dermatologiques (**Prescrire, 2007**).

- **La phytothérapie clinique**

C'est une approche globale du patient et de son environnement est nécessaire pour déterminer le traitement, ainsi qu'un examen clinique complet. Son mode d'action est basé sur un traitement à long terme agissant sur le système neuro-végétatif. Dans ce type les indications sont liées à une thérapeutique de complémentarité. Elles viennent compléter ou renforcer l'efficacité d'un traitement allopathique classique pour certaines pathologies (**Moreau, 2003**).

I.3. Les principes actifs des plantes médicinales :

Les principes actifs d'une plante médicinale sont les composants biochimiques naturellement présents dans une plante, ils lui confèrent son activité thérapeutique. En effet, parmi les originalités majeures des végétaux leurs capacités à reproduire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques, glucides, protides, lipides, ils accumulent fréquemment des métabolites secondaires. Ces derniers, représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (**Macheix et al., 2005**).

1.3.1. Les métabolites primaires :

Ce sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer son développement et sa croissance. Ces métabolites comprennent, entre autres, les glucides, les lipides et les acides aminés (**Epifano et al., 2007**).

1.3.2. Les métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes (**Lutge et al., 2002**). Elles sont caractérisées généralement par de faibles concentrations dans les tissus végétaux (généralement quelques pourcents du carbone total, si on exclue la lignine de cette catégorie) (**Newman et Cragg, 2012**). Ces molécules jouent un rôle dans l'adaptation des plantes à leur environnement et représentent également une source importante de produits pharmaceutiques (**Bourgaud et al., 2001**). Ils appartiennent à des groupes chimiques variés : alcaloïdes, terpènes et composés phénoliques (**Macheix et al., 2005**).

1.4. Mode de préparation et d'utilisation des plantes médicinales :

1.4.1. L'infusion :

Une infusion se fait généralement avec les fleurs et les feuilles des plantes. Le principe est simple verser de l'eau bouillante sur la plante (il faut compter une cuillerée à café de plante par tasse), et laisser infuser entre dix et vingt minutes. Une infusion peut se conserver au réfrigérateur pendant 48 heures maximum. En principe, il est préférable de ne pas sucrer les tisanes. (**Nogaret-Ehrhart, 2003**).

1.4.2. La décoction

Cette méthode s'applique essentiellement aux parties souterraines de la plante, comme les racines, et aux écorces, qui libèrent difficilement leurs principes actifs lors d'une infusion. Cette méthode consiste à extraire les propriétés des plantes en les laissant « infuser » dans de l'eau portée ensuite à ébullition. Comptez une cuillerée à soupe de plantes par tasse. Il faut déposer les plantes dans une casserole, porter ensuite à ébullition, et laisser le tout mijoter sur le feu pendant une vingtaine de minutes jusqu'à ce que le liquide ait réduit d'un tiers. Retirer du feu, puis laisser infuser (et refroidir) pendant une heure, avant de filtrer. On peut conserver une décoction pendant trois jours au réfrigérateur. (**Nogaret-Ehrhart, 2003**).

I.5. Les avantages et les inconvénients :

I.5.1. Les avantages:

- La phytothérapie couvre un très large champ de maladies et l'industrie pharmaceutique utilise de nombreux principes actifs végétaux pour traiter toutes sortes de maladies ;
- Les médicaments chimiques provoquent souvent des effets secondaires néfastes (responsables de 10 à 20% des hospitalisations), contrairement aux phyto médicaments qui ne présentent quasi pas d'effets secondaires si utilisé avec précaution ;
- La phytothérapie est accessible pour tout le monde et ne nécessite pas d'ordonnance ;
- Les plantes médicinales sont beaucoup moins chères que les médicaments de synthèse
- La phytothérapie peut être utilisée comme un moyen de prévention ;
- La production des plantes est très peu polluante contrairement aux médicaments chimiques. **(Oullai et chamek, 2018)**
- L'obésité est la cause de nombreux problèmes de santé. La phytothérapie peut aider à réduire l'excès de poids et à réguler l'appétit. **(Ben Moussa, 2007)**

I.5.2. Les inconvénients :

- Il y a beaucoup d'herbes qui ne sont pas recommandés pour les enfants et sont dangereuses pour eux, ainsi que pour les femmes enceintes ;
- Certaines plantes renferment des toxines si puissantes que l'ingestion d'une quantité infime risque de se révéler mortelle ;
- La toxicité peut être aussi due à l'utilisation d'une dose excessive ou une erreur d'identification de la plante, vu que pour deux plantes qui se ressemblent sur le plan botanique l'une peut être toxique ;
- Une mal-interprétation des symptômes peut être très dangereuse du fait que la phytothérapie repose le plus souvent sur l'automédication ;
- Les préparations domestiques ne peuvent pas être conservées pour une longue durée donc une préparation mal conservée peut donner des intoxications au lieu de nous guérir ;
- Les plantes contiennent des fois des substances allergisantes. **(Oullai et chamek, 2018)**
- L'usage de la phytothérapie est très limité, elle est certes très utile pour apaiser les symptômes légers, mais pas les maladies, disant sérieuse comme le diabète, cancer, sida...etc. **(Ben Moussa, 2007)**

II. Les polyphénols :

II.1. Définition :

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires végétaux (**Macheix et al., 2005**). Ils sont présents dans toutes les plantes vasculaires (**Lebham, 2005**).

Ils sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la germination des graines et la maturation des fruits (**Boizot et Charpentier, 2006**). Le terme phénol englobe approximativement 10.000 composés naturels identifiés (**hynes, 2001**).

Les composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes simples et proanthocyanidines) forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes (**Beta et al., 2005**).

L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside (**Bruneton, 1999**).

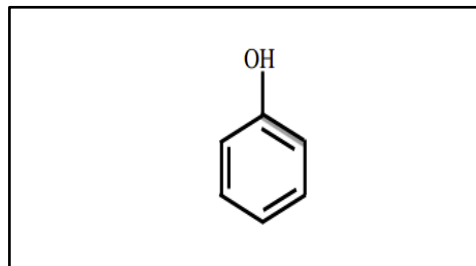


Figure 01 : structure chimique du noyau phénol (**Sarin-Manchado et Cheynier, 2006**)

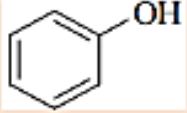
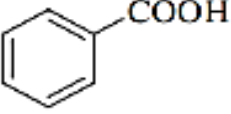
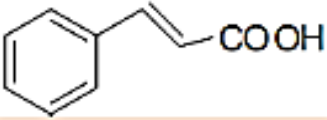
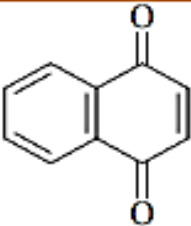
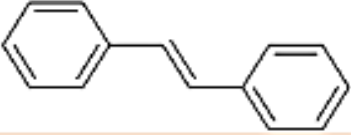
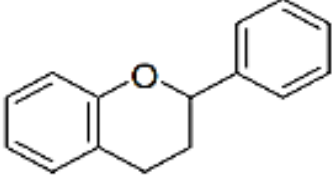
II.2. Localisation dans la plante :

Les polyphénols sont présents partout dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles de tous les végétaux (**Middleton et al., 2000**), exemple du gingembre : le goût âcre et brûlant provient des phénols, gingerol, shogaol et zingérone. Les fruits et les légumes contribuent environ à la moitié de notre apport en polyphénols (**Middleton et al., 2000**).

II.3. La classification :

Les principales classes des composés phénoliques sont : Les acides phénoliques, les stilbènes, les tanins, les coumarines, les flavonoïdes (**King et young, 1999**):

Tableau 01 : principales classes des composé phénolique (**Rezaire, 2012**)

Squelette carboné	Classe	Structures de base
C6	Phénols simples	
C6-C1	Acides hydroxybenzoïques	
C6-C3	Acides hydroxycinnamique coumarines	
C6-C4	Naphtoquinones	
C6-C2-C6	Stilbènes	
C6-C3-C6	Flavonoïdes	
(C6-C3)2	Lignanes	
(C6-C3)n	Lignines	
(C6-C3-C6)n	Tanins condensés	

- **Les acides phénoliques :**

Les acides phénoliques font partie des formes les plus simples des composés phénoliques, ils sont universellement rencontrés chez les plantes (**Brunéton, 1999**). Ils se séparent en deux grands groupes distincts que sont les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques (**Barboni, 2006**). Les phénols possèdent des activités anti-inflammatoires, antiseptiques et analgésiques (**Iserin et al., 2001**).

- **Les tanins :**

Sont une famille complexe de principes actifs qu'on trouve dans l'ensemble des végétaux, et dans toutes leurs parties (écorces, racines, feuilles...). Ils ont la capacité de former des complexes avec des macromolécules (les protéines) et des liaisons entre les fibres de collagène d'où leur viennent la plupart de leurs propriétés (**Paolini et al., 2003**). Les tanins donnent un goût amer à l'écorce et aux feuilles et les rendent impropres à la consommation pour les insectes ou le bétail (**Iserin et al., 2001**).

- **Les coumarines :**

La cyclisation de la chaîne latérale de l'acide hydroxycinnamique conduit à la formation des coumarines (**Gonzalez et estevez, 1997**). Elles se trouvent dans toutes les parties de la plante notamment dans les fruits et les huiles essentielles des graines (**Deins et al., 2003 ; Booth et al., 2004**). Elles sont connues par leurs activités antivirales, immunostimulantes, tranquillisantes, vasodilatatrices, anticoagulantes, hypotensives, elles sont également bénéfiques en cas d'affections cutanées (**Gonzalez et estevez- Braun, 1997**).

- **Les stilbènes:**

Les membres de cette famille possèdent la structure C6-C2-C6 comme les flavonoïdes, ce sont des phytoalexines, composés produits par les plantes en réponse à l'attaque par les microbes pathogènes fongiques, bactériens, et viraux. Les sources principales des stilbènes sont les raisins, les vins, le soja et les arachides (**Crozier et al., 2006**).

- **Les flavonoïdes**

Ce sont des métabolites secondaires qui partagent tous la même structure de base nommée flavan (**Heim et al., 2002**), formée par deux cycles aromatiques reliés par une chaîne en trois carbones : C6-C3-C6, souvent formée par un hétérocycle oxygéné (**Milane, 2004**). Ces composés existent sous forme libre dite aglycone ou sous forme liée à des oses et autres substances, dite hétéroside (**Heller et Forkmam, 1993**).

Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires. Ils constituent des pigments responsables des colorations jaunes, orange, rouge de différents organes végétaux (Ghedira, 2005) et sont impliqués dans la croissance et la reproduction des plantes (Manach *et al.*, 2004). Certains flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoire et antivirales (Iserin *et al.*, 2001).

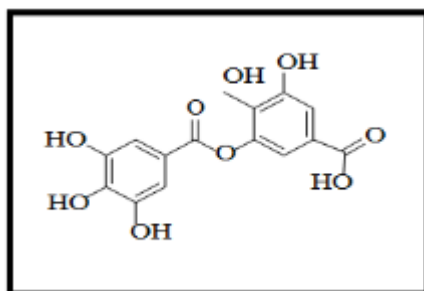


Figure 02 : squelette de base des flavonoïdes (Heim *et al.*, 2002)

Tableau 02 : principales classes des flavonoïdes (Narayana *et al.*, 2001 ; Erdam *et al.*,

Classe	Structure chimique	R ₃ '	R ₄ '	R ₅ '	Exemple
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH ₃	H	Déosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myecétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflavones		R ₅	R ₇	R ₄ '	
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O-Glu	OH	Daïdezine

II.4. Méthode d'extraction des composés phénoliques :

Plusieurs techniques sont utilisées pour extraire les composés phénoliques. Ces techniques peuvent être conventionnelle telle que l'extraction par macération, par soxhlet, ou nouvelle comme l'extraction assistée par micro-onde, par ultrason.

II.4.1. Méthodes conventionnelle :

- **Macération :**

C'est la méthode d'extraction la plus simple. Le matériel végétal doit être versé dans le liquide à température ambiante pendant quelques heures (10 -12 heures) (**Pierre et lis, 2007**). Elle concerne aussi les plantes dont les substances actives risquent de disparaître ou de se dégrader sous l'effet de la chaleur par ébullition (**Baba-Aissa, 2000**).

- **Soxhlet:**

C'est une technique conventionnelle de récupération de caroténoïdes et des polyphénols (**De Castro et Garcia-Ayuso, 1998**). C'est une méthode simple et convenable nous permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à épuisement complet du soluté dans la matière première, d'où vient son efficacité élevée (**Penchev, 2010**).

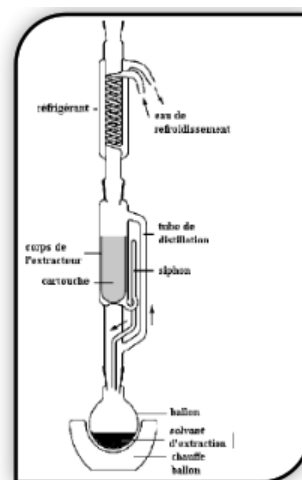


Figure 03: extracteur soxhlet (**Penchev, 2010**)

II.4.2. Nouvelles méthodes :

- **Extraction assistée par micro-onde (EAM):**

Est une nouvelle technique d'extraction dont le principe consiste en la propagation des radiations électromagnétiques dans le matériau, pour atteindre les molécules polaires présentes dans la matière d'extraction. Ces molécules génèrent de la chaleur qui chauffe le matériau à cœur. Les radiations se propagent sous forme de vagues avec des fréquences allant de 0,3 à 300 GHz (**Wang et Weller, 2006**).



Figure 04: four micro-onde (**Rhazi, 2015**)

- **Extraction par ultrason :**

C'est une macération accélérée, la poudre mélangée au solvant est soumise à des ultrasons qui provoquent une suspension et compression des polyphénols formant des bulles ou cavités (**Poux et al., 2010**).

Cette technique présente l'intérêt de faire des extractions à température ambiante, 20– 25°C pour des durées très courtes de 3 – 30 minutes, ce qui permet de préserver les composés thermolabiles (acides gras, polyphénols). (**Routray et Orsay, 2012**).

II.5. Propriétés biologiques des polyphénols :

II.5.1 Chez la plante :

Les polyphénols participent à l'adaptation de la plante avec l'environnement ainsi qu'à la tolérance contre les chocs (lumière UV, variations de la température...). (**Sarni-Manchado et Véronique, 2006**).

- La capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des micro-organismes est souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques (**Bahorun, 1997**).
- Les flavonoïdes sont responsables de la coloration des fleurs et des fruits qui couvrent une large gamme de couleurs allant du rouge au violet en passant par le jaune. Leur couleur dépend de leur structure mais aussi de l'acidité du milieu. (**Brunéton, 2009**).
- Les polyphénols sont à l'origine des goûts amers et astringents afin de repousser les animaux herbivores. (**Subramanian et al., 2007**).
- Les flavonoïdes sont impliqués dans la photosensibilisation, la morphogénèse, la détermination sexuelle, la photosynthèse et la régulation des hormones de croissance des plantes (**huillier, 2007**).

II.5.2. Chez l'homme :

- **Activité antioxydante :**

Comme la vitamine C et les caroténoïdes, les polyphénols ont la capacité de piéger les radicaux libres, générés en permanence par notre organisme ou former en réaction à des agressions de notre environnement (tabac, polluants, infection...). Quand ils sont ingérés avec les aliments, ils renforcent nos défenses naturelles en protégeant nos cellules et nos tissus contre le stress oxydant. (**Scalbert, 2004**).

- **Activité anti-inflammatoire :**

Les différentes études menées sur les effets protecteurs des polyphénols dans ces contextes pathologiques ont montré que ceux-ci diminuaient les marqueurs de l'inflammation (**Gonzalez-Gallego *et al.*, 2010**) et agissaient sur de nombreuses cibles moléculaires au centre de voie de signalisation de l'inflammation (**Santagelo *et al.*, 2007**).

- **Activité anti microbienne :**

Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tanins sont reconnus par leur toxicité vis à vis des micro-organismes (**Williamson et Manach, 2005**).

- **Industries agroalimentaires :**

Les polyphénols sont également utilisés dans l'industrie agroalimentaire comme additifs, colorants, arômes ou agents de conservation (**Brunéton, 1999**).

- **Industries cosmétiques :**

Les composés phénoliques trouvent leur application pratique en luttant contre la production des radicaux libres néfastes sur la santé et la beauté de la peau (**Hennebelle *et al.*, 2004**) et donc ralentissent le vieillissement cellulaire (**Gaillard, 2001**).

Les effets bénéfiques des polyphénols intéressent particulièrement deux domaines : la phytothérapie et l'hygiène alimentaire (**Leong et shui, 2002**).

III. Stress oxydatif et antioxydant

III.1. Le stress oxydatif

Le stress oxydatif correspond à un déséquilibre entre la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les défenses antioxydantes de l'organisme en faveur de premières. La production d'ERO est utile mais peut être néfaste pour l'organisme.

L'étendu des dommages causés par le stress oxydatif dépend de la cible moléculaire, de la sévérité de l'effort et du mécanisme par lequel l'effort oxydatif est imposé (Aruoma, 1999).

III.2. Les radicaux libres :

III.2.1. Définition :

Un radical libre est une molécule ou atome ayant un ou plusieurs électrons non appariés sur son orbital externe c'est-à-dire un électron célibataire, ce qui le rend extrêmement réactif. Sa durée de vie est très courte (quelques millisecondes voir quelques nanosecondes) et il est symbolisé par un point qui indique où l'électron libre se situe (exemple : $\cdot\text{OH}$) (Mac Laren, 2007 ; Sayre *et al.*, 2008 ; Goto *et al.*, 2008)

Cette molécule est très instable et réagit rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité, une réaction en chaîne débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche en lui arrachant son électron, et la molécule attaquée devient elle-même un radical libre. (Martinez-Cayuella, 1995).

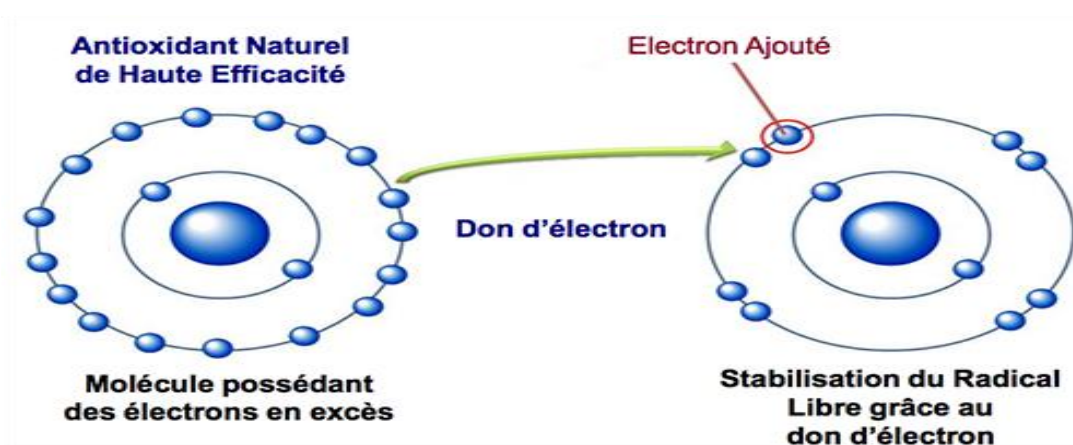


Figure 05 : Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant (Hocine et Gorine, 2017).

III.2.2. Formes des radicaux libres :

Il existe deux formes principales des radicaux libres :

- **Radicaux libres primaires**

L'ensemble des radicaux libres primaires est souvent appelé : "espèces réactives de l'oxygène". Ces dernières regroupent les espèces radicalaires et les espèces non radicalaires (Tableau 1). Elles incluent l'ensemble des dérivés radicalaires de l'oxygène proprement dit : radical superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), radical hydroxyle (OH^{\bullet}) et le monoxyde d'azote (NO^{\bullet})...etc., mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante : l'oxygène singulet, peroxyde d'hydrogène, peroxyde d'azote.

Tableau 03 : Les deux classes des espèces réactives (Rao *et al.*, 2011).

Espèces radicalaires		Espèces non radicalaires	
Nom	Symbole	Nom	Symbole
Anion superoxyde	$O_2^{\bullet-}$	Acide hypochlorique	HOCl
Monoxyde d'azote	NO^{\bullet}	Oxygène singulet	1O_2
Radical alkoxyde	RO^{\bullet}	Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Radical hydroxyle	OH^{\bullet}	Peroxyde organique	ROOH
Radical peroxyde	ROO^{\bullet}	Peroxyde d'azote	ONOO

- **Radicaux libres secondaires :**

Les radicaux libres secondaires peuvent être retrouvés dans les milieux biologiques. Il s'agit en particulier des radicaux alkyle (R^{\bullet}), alkoxyde (RO^{\bullet}) et alkyl peroxyde (ROO^{\bullet}), générés à la suite de l'action oxydante de radicaux libres oxygénés primaires (superoxyde, hydroxyle) sur les chaînes d'acides gras polyinsaturés, les glucides, les protéines ou les acides nucléiques. Ces radicaux secondaires sont moins réactifs mais plus sélectifs que les radicaux primaires. Ils sont à l'origine de processus de réactions radicalaires en chaîne, et en particulier des réactions participant à la lipoperoxydation des membranes cellulaires (Vergely et Rochette, 2003).

III.3. Les Antioxydants :

III.3.1. Définition :

Toute molécule endogène ou exogène présente en faible concentration qui est capable de prévenir, de retarder ou de réduire l'ampleur de la destruction oxydante des biomolécules (Halliwell, 1994).

III.3.2. Classification des antioxydants :

Les antioxydants peuvent être classés selon leur origine en antioxydants endogènes et antioxydants exogènes

III.3.2.1. Les antioxydants exogènes

Ils incluent des espèces chimiques différentes (composés phénoliques, vitamines...etc.) et la plupart d'entre eux sont d'origine végétale (Berger, 2005).

Les plantes constituent des sources très importantes d'antioxydants. Ces produits, à structure chimique souvent complexe, sont très dispersés et très différents selon les espèces (Bouhadjra, 2011) :

- **Les vitamines :**

- ✚ **La vitamine C ou l'acide ascorbique :** C'est un puissant réducteur. Elle joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E.

- ✚ **La vitamine E ou tocophérol :** Prévient de la peroxydation des lipides membranaires *in vivo* en capturant les radicaux peroxydes (Athmania, 2009)

- **Les éléments minéraux :**

- ✚ **Le Fer :** un antioxydant puissant qui joue un rôle protecteur au niveau des systèmes cardio-vasculaires et il est indispensable au cerveau. Il agit également sur le foie, les muscles et même sur la production des spermatozoïdes. Cet oligo-élément est votre allié contre le stress, le cancer, les maladies cardio-vasculaires et il stimule le système immunitaire et protège les yeux de la cataracte. Il prévient le vieillissement général de l'organisme et neutralise les toxines et les radicaux libres.

- ✚ **Le zinc :** C'est un minéral qui a un rôle très important pour notre système immunitaire, le système nerveux, la sexualité, l'état général, la fertilité. Aliments riches en zinc : Foie, soja, crustacés, coquillages, viandes, germe de blé, pain complet, jaune d'œuf, amandes, noix, noisettes (Kang et al., 2011)

- **Les polyphénols :**

Suscitent un intérêt croissant de la part des nutritionnistes, des industriels de l'agro-alimentaire et des consommateurs. Une des raisons principales, est la reconnaissance de leurs propriétés antioxydant et ainsi leur implication probable dans la prévention des diverses pathologies associées au stress oxydant. En effet, un très grand nombre de données expérimentales plaide aujourd'hui en faveur de leur implication dans la prévention des maladies dégénératives telles que cancers, maladies cardio-vasculaires, ostéoporose ou maladies inflammatoires (Rock, 2003 ; Bubonja-Sonje et al., 2011).

III.3.2.2. Les antioxydants endogènes :

a. Les antioxydants endogènes enzymatiques :

Les principaux antioxydants enzymatiques les plus efficaces chez les mammifères ainsi que chez les plantes sont *la superoxyde dismutase, la catalase et le glutathion peroxydase* (Mates et al., 1999 ; Sharma et al., 2012).

- La superoxyde dismutase : catalyse la dismutation des ions superoxydes en peroxyde d'hydrogène et en oxygène moléculaire.
- La catalase : essentiellement présente dans les peroxysomes et dans les érythrocytes, est capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire.
- L'activité du glutathion peroxydase est de détoxifier le peroxyde d'hydrogène et d'autres hydroperoxydes d'origine lipidique en couplant la réduction de l'hydroperoxyde avec l'oxydation d'un substrat réducteur (Delattre et al., 2005).

b. Les antioxydants endogènes non- enzymatiques :

Ils incluent de nombreux thiols dont le majoritaire est *le glutathion*, largement présent sous forme réduite, qui est capable de réagir, *in vitro*, avec les radicaux HO[•], RO₂[•], RO[•], 1O₂, ONOO⁻, des radicaux centrés sur le carbone, mais aussi l'acide hypochloreux HOCl.

Le glutathion est aussi capable de participer à l'activité enzymatique qui, elle, détoxifie le peroxyde d'hydrogène et d'autres hydroperoxydes (Delattre et al., 2005 ; Masella et al., 2005 ; McCall et Frei, 1999).

L'acide urique, présent sous forme urate à pH physiologique, possède des propriétés antioxydantes *in vitro* contre les HO[•] et RO₂[•], tout comme la bilirubine, les mélanines et la mélatonine (Delattre et al., 2005).

IV. Présentation de la plante étudiée :

IV.1. Le romarin dans l'histoire :

Depuis l'antiquité le romarin était utilisé en médecine particulièrement par les égyptiens, les grecs et les romains (**Zakaria, 2011**).

- Les égyptiens : des rameaux de romarin ont été découverts par Prosper Alpin, au XVIème siècle, dans un tombeau de l'Egypte ancienne (**Fournier, 2010**). En effet, le romarin était utilisé par les Egyptiens en fumigation comme encens lors des cérémonies religieuses et pour l'embaumement.

- Les grecs et les romains : en faisaient des couronnes d'où le nom arabe ikلیل al-jabal (couronnes de montagne) traduit du latin (**Bellakhdar, 2006**). On pensait que son odeur purifiait le corps et l'esprit, qu'il stimulait la mémoire et apportait la félicité et l'éternelle jeunesse. Il était considéré comme une plante magique.

- Les médecines arabes ont largement utilisé le romarin, et ont été les premiers à en extraire les huiles essentielles (**Fuinel, 2002**).

IV.2. Description botanique :

Rosmarinus officinalis L est un arbrisseau de la famille des labiées, très aromatique vivace toujours vert de 0,5 à 2 m de haut. La tige ligneuse est couverte d'une écorce grisâtre et se divise en de nombreux rameaux opposés et dressés, les feuilles en forme d'aiguilles blanchâtres en dessous (**Chafai Elalaoui, 2014**), pouvant atteindre 3 cm de long et 4mm de large, sont sessiles, opposées et coriaces, enroulées sur les bords.

La floraison commence dès les mois de Janvier /Février et se poursuit jusqu'en Avril / Mai (**Zeghad, 2009**).

Les fleurs sont réunies au sommet des rameaux, bleues pâles à blanchâtre, pratiquement sessiles, disposées en petites grappes axillaires et terminales, bractées tomenteuses lancéolées (**Rameau et Dumé, 2008**). Calice gamosépale bilabié en forme de cloche, possède 3 lobes. La corolle gamopétale est longuement tubuleuse avec une lèvre supérieure en forme de casque à 2 lobes et une lèvre inférieure à 3 lobes. La lèvre supérieure laisse apparaître deux étamines courbées et le bout du pistil.

Le fruit, ovoïde, est entouré par un calice persistant, sec est constitué de quatre akènes (Tétrakène). Il attire les insectes (Entomophiles) pour assurer la pollinisation (Entomogame) (**Eloutassi, 2004**).



Figure 06 : plante *rosmarinus officinalis* L ; dessus et dessous des feuilles ; fleur

IV.3. Répartition géographique :

Le romarin est originaire du bassin méditerranéen, on le trouve principalement dans les terrains arides et ensoleillés, comme les garrigues, les maquis et les rocailles. A l'état sauvage il se trouve sur des sols calcaires (**Escuder, 2007**).

Cette plante est cultivée dans de nombreux pays tel que la France, l'Espagne, l'Italie, la Tunisie, le Maroc et l'Algérie.

Il pousse naturellement dans le sud de l'Europe et nord d'Afrique, en Afrique du Sud, Mexique et côte sud-ouest des États-Unis de l'Amérique (**Bastida, 2018**).

L'aire géographique du romarin au niveau de l'Algérie est spécifiquement méditerranéenne, et c'est l'une des sept espèces végétales excédant 50.000 hectares sur le territoire National (**Zoubeidi, 2004**).

IV.4. Nomenclature :

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

On a affirmé que cette interprétation est un produit d'étymologie traditionnelle, mais probablement le nom original est dérivé du grec "*rhops*" arbuste et "*myron*" baume (**Heinrich et al., 2006**).

- Nom Arab : iklil al jabal.
- Nom Français : romarin
- Nom Berber : ouzghir – touzala (**Elchahat, 2000**)

IV.5. Classification taxonomique :

Tableau 04 : classification botanique du plante *Rosmarinus officinalis*. (Adjemi, 2014)

Règne	Végétale
Sous règne	Cormophytes.
Embranchement	Spermaphytes.
Sous embranchement	Angiospermes.
Classe	Dicotylédones.
Sous classe	Gamétophytes.
Série	superovariées tétra cyclique.
Ordre	Lamiales.
Famille	Lamiacées (Labiées).
Tribu	Ajugoidées.
Genre	<i>Rosmarinus</i> .
Espèce	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.

IV.6. Composition chimique :

Tableau 05 : Compositions chimiques du *Rosmarinus officinalis* L.

Huiles essentiels	1,8 cinéole, alpha-pinène camphre de romarin camphène	(Akroum, 2006) (Rao et al., 1998).
Flavonoïdes	genkwanine, cirsimaritine , ériocitrine, hespéridine, diosmine et lutéoline	(Boubekri, 2014).
Diterpènes	Acide carnosolique, rosmadial	(Akroum, 2006).
Triterpènes et stéroïdes	acide aléanolique, acide ursotique	(Akroum, 2006) (Yang et al., 2008).
Lipides	n-alkanes, isolalkanes, alkènes	(Akroum, 2006).
Acides phénoliques	Acide rosmarinique, acide vanillique, acide caféique et acide p-coumarique	(Cuendet, 1999) (Boubekri, 2014).

IV.7. Utilisation en médecine traditionnelle :

Le romarin est souvent cultivé pour son huile aromatique. Dans la médecine traditionnelle ses parties aériennes sont utilisées par voie orale pour soulager la colique rénale, les dysménorrhées et comme antispasmodique (**Heinrich et al., 2006**).

Comme beaucoup de *Lamiaceae*, le romarin est censé agir sur le système nerveux comme stimulant : il semblerait même qu'il affermisse la mémoire défaillante et qu'il remonte le moral des déprimés (**Benamr, 2008**).

- Les feuilles de Romarin, en compresses, sont traditionnellement utilisées afin de traiter l'eczéma et plus généralement comme insecticide (**Wichtl et al., 2003**).
- Les feuilles et fleurs de Romarin peuvent être prises régulièrement en tisane Afin de soulager les femmes de leurs pertes blanches (**Laïs, 2014**).
- L'extrait de feuille de Romarin se retrouve utilisé en tant qu'antioxydant dans certains compléments alimentaires. (**Grünwald et al., 2006**).

L'huile du romarin a été largement répandue pendant des siècles, comme un des ingrédients en produits de beauté, savons, parfums, désodorisants, aussi bien pour l'assaisonnement et la conservation des produits alimentaires (**Arnold et al., 1997**)

Chapitre II

Matériels et méthodes

I. Matériel végétal :

Notre étude de recherche a été réalisée en laboratoire de biochimie située au niveau de hall de faculté de science technologique de l'université de 20 aout 1955 Skikda, durant la période de mars à mai de l'année 2022.

I.1. Critère de choix de la plante :

Notre étude est axée sur une plante de la famille des lamiacées qui est *Rosmarinus officinalis* L. (figure 07) et les critères retenus pour le choix de cette plante sont les suivants :

- ✚ Leur disponibilité dans notre région.
- ✚ Utilisation dans la thérapie traditionnelle.
- ✚ Leur richesse en composés phénoliques.



Figure 07 : photographie de la plante étudiée *Rosmarinus Officinalis* L

I.2. Identification, récolte, situation géographique et conservation :

Après son identification par Dr. Basli Abdelkader, la plante a été récoltée au niveau du jardin botanique de l'université du 20 Aout 1955 situé dans la commune d'Elhadeik, Skikda, Algérie, durant le mois de février de l'année 2022.

La plante fraîche a été nettoyée puis mise à sécher à l'abri de la lumière et de l'humidité. Cette opération a duré jusqu'à 15 jours.

Après séchage, les feuilles sont séparées des rameaux, puis réduites en poudre à l'aide d'un broyeur électrique afin de faciliter l'entraînement de ses molécules avec le solvant d'extraction. La poudre est alors conservée dans un récipient en verre hermétique jusqu'à utilisation ultérieure.



Figure 08 : Une carte montrant la localisation géographique de la récolte de plantes étudiée (**web02**)

II. Extraction des composés phénoliques :

II.1. Principe :

Plusieurs procédés d'extraction peuvent être utilisés, du fait de la diversité des métabolites secondaires, en particulier des polyphénols. Pour l'extraction de ces derniers on a opté pour la méthode utilisée par **Owen et Johns, 1999**.

L'extraction des polyphénols totaux à partir des feuilles sèches de *Rosmarinus Officinallis* a été faite par une macération dans une solution hydro-méthanolique à 80%.

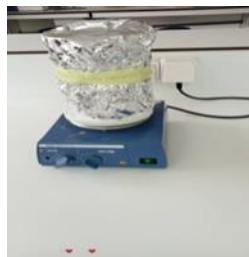
II.2. Mode opératoire :

Une quantité de 20 g de matière sèche finement broyée est macérée dans un volume de 200 ml de méthanol/eau. Le rapport matériel végétal / solvant étant de (1/10 g/ml) (**Marston et Hotsmann, 2006**). Le mélange est conservé à température ambiante sous agitation pendant 72h, avec renouvellement du solvant chaque 24h pour permettre une meilleure extraction des composés phénoliques.

Après filtration à l'aide d'un papier filtre (Watman n°1) et un entonnoir, les filtrats combinés sont placés dans un cristallisoir et incubés dans une étuve à une température de 45 °C pendant 4 jours afin d'éliminer le maximum de solvant et de concentrer l'extrait. Les substances obtenues sous forme visqueuse sont stockées dans des boîtes de pétri en verre à +4 °C jusqu'à utilisation ultérieure.



La plante sèche broyée



Agitation



Filtration

Figure 09 : protocole d'extraction.

II.3. Calcul des rendements :

Le rendement en extrait méthanolique (R) est le rapport entre la masse de l'extrait et la masse de la matière végétale utilisée. Il est calculé par la formule suivante :

$$R = (P1 - P2 / P3) \times 100$$

P1 : poids du cristallisoir après évaporation en g.

P2 : poids du cristallisoir vide avant évaporation en g.

P3 : poids de la plante en g.

III. Analyse quantitative de l'extrait brut

III.1. Dosage des polyphénols totaux

III.1.1. Principe :

Le taux de polyphénols des extraits méthanoliques de *Rosmarinus Officinalis L* est déterminé par spectrophotométrie selon la méthode de Folin-Ciocalteu (**Slinkard et Singleton, 1977**). ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Lorsque les polyphénols sont oxydés,

ils réduisent le réactif de Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleue constituée d'oxyde de tungstène et de molybdène.

L'intensité de la couleur, dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 760 nm, est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés et présents dans les extraits végétaux (Boizot et charpentier, 2006).

III.1.2. Mode opératoire :

Dans une fiole jaugée, on introduit 0.1 ml de solution d'extrait, contenant 1000 μg d'extrait sec, puis on ajoute 46 ml d'eau distillée et 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu. Le mélange est agité vigoureusement. Après 3 minutes, on ajoute 3 ml d'une solution de Na_2CO_3 à 2%. Le mélange est incubé pendant 2 heures avec agitation intermittente. L'absorbance est mesurée à 760 nm.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique à différentes concentrations (0 à 1000 $\mu\text{g} / \text{ml}$).



Figure 10 : dosage de l'acide gallique

III.1.3. Expression des résultats :

Les teneurs en polyphénols totaux sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g extrait). Les tests sont réalisés en triplicata.

III.2. Dosage des flavonoïdes :

III.2.1. Principe :

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode basée sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium (AlCl_3) et les atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes. (Lagnika, 2005).

III.2.2. Mode opératoire :

La teneur en flavonoïdes des extraits a été déterminée selon la méthode de (Bahorun et al., 1996) en ajoutant 1ml d'extraits à 1ml d'une solution d' AlCl_3 à 2%.

Le mélange est agité vigoureusement et incubé à l'ombre à la température ambiante pendant 15 min. l'absorbance de la solution est déterminée à 430 nm contre un blanc préparé en mélangeant 1ml de méthanol avec 1ml de solution AlCl_3 .

La concentration des flavonoïdes est calculé à partir de l'équation de régression d'une courbe d'étalonnage de la quercétine réalisée dans les mêmes conditions opératoires en utilisant des concentrations allant de 1000 μg à 0 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

III.2.3. Expression des résultats :

Les résultats du dosage sont exprimés en mg équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g extrait). Les tests sont réalisés en triplicata.

IV. Evaluation de l'activité antioxydante :

Pour l'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de *Rosmarinus officinalis* nous avons opté pour le test de piégeage du radical libre DPPH.

IV.1.1. Test de piégeage du radical libre DPPH

IV.1.1.1. Principe :

Le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle est le premier radical libre utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques (Takao et al., 1994 ; Brand-Williams et al., 1995). Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. Du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères et le DPPH \cdot reste dans sa forme monomère relativement stable à température ordinaire.

Le radical synthétique DPPH initialement violet, perd sa couleur lorsque l'électron célibataire s'apparie à l'antioxydant, il y'a formation de la forme réduite (Molyneux, 2004).

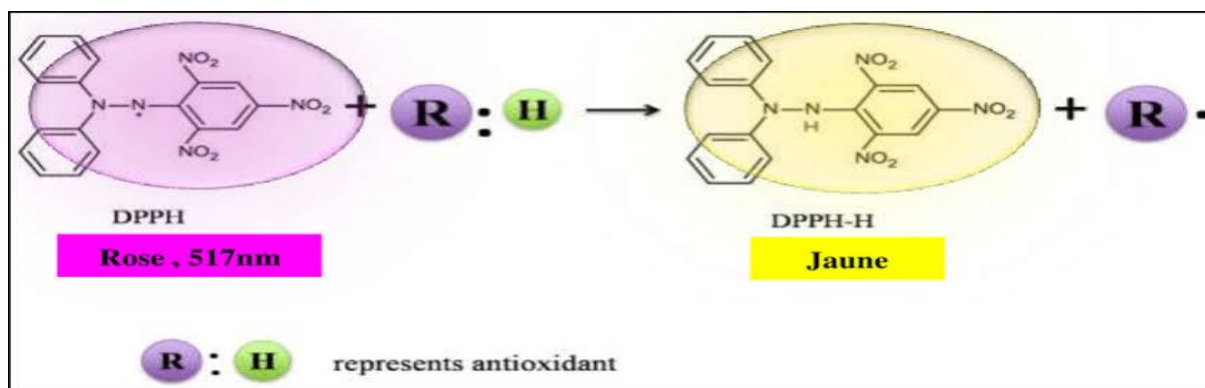


Figure 11 : réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH (Web 03)

IV.1.1.2. Mode opératoire :

La capacité des extraits méthanolique de notre plante à piéger le radical libre DPPH est évaluée en utilisant la méthode décrite par (Lopez-Lutz *et al.*, 2008).

On prépare la solution mère dans le méthanol à une concentration de 2000 µg /ml. Nous effectuons par la suite, une série de 8 dilutions en progression géométrique à raison de 2 pour obtenir des concentrations allant de 1000 µg/ml à 7.81 µg/ml. 100 µl de chacune des solutions d'extrait sont ajoutés à 2 ml de solution méthanolique de DPPH (2,4 mg/ 100 ml). Pour le contrôle négatif (le blanc), nous avons mélangé 100 µl du méthanol avec 2 ml de solution DPPH.

Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min à température ambiante et la décoloration a été mesurée par rapport au contrôle négatif par un spectrophotomètre à 517nm. L'inhibition du radical libre DPPH par l'acide ascorbique a été également analysée dans les mêmes conditions pour comparaison.

IV.1.1.3. Expression des résultats :

- L'activité antioxydant est exprimée comme le pourcentage d'inhibition calculé en utilisant l'équation suivante :

$$\text{Activité Antioxydant (\%)} = 100 \times [(A \text{ contrôle} - A \text{ échantillon}) / A \text{ contrôle}]$$

Où, A contrôle : représente l'absorbance de l'échantillon contrôle

A échantillon : représente l'absorbance de l'extrait méthanolique.

Matériels et méthodes

- La concentration inhibitrice (IC₅₀) est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. Elle est calculée à partir du graphe de l'activité antioxydant (en %) en fonction de différentes concentrations des extraits testés.

Une faible valeur d'IC₅₀ indique une forte capacité de l'extrait à agir comme piègeur du DPPH.

Chapitre III

Résultats et discussions

I. Extraction des composés phénolique :

I.1. Caractéristique :

L'extrait méthanolique de *Rosmarinus officinalis L* obtenu par macération dans une solution hydro-méthanolique à 80% est un liquide visqueux, d'une coloration vert foncé et à odeur forte caractéristique du romarin.

I.2. Rendement :

L'extraction des composés phénoliques par le méthanol nous a permis de déterminer le rendement de cet extrait brut. Le calcul du rendement par rapport au poids total de la poudre de *Rosmarinus officinalis* montre une proportion élevée de l'ordre de **35,5%**.

L'extrait méthanolique de *R. officinalis* a fait objet de quelques études, dont le rendement a été nettement inférieur au notre

Notre résultat est supérieur à celui rapporté par (**Benbott et Bouali, 2018**) qui ont étudié le romarin de la région de Ouargla et Ain M'lila, les résultats étaient de l'ordre de 18,2% et 21,7% respectivement.

De même, l'étude menée par (**Hoefler, 1994**) sur l'extrait aqueux du romarin, a abouti à des rendements faibles de l'ordre de 14,3% et 16,2% pour deux régions de France : Montrichard et St Arty/ Caderonne.

Ces résultats peuvent être expliqués par la nature du solvant utilisé et certains facteurs écologiques, à la partie de la plante utilisée, à l'âge de la plante et la période du cycle de végétatif, ou même des facteurs génétiques.

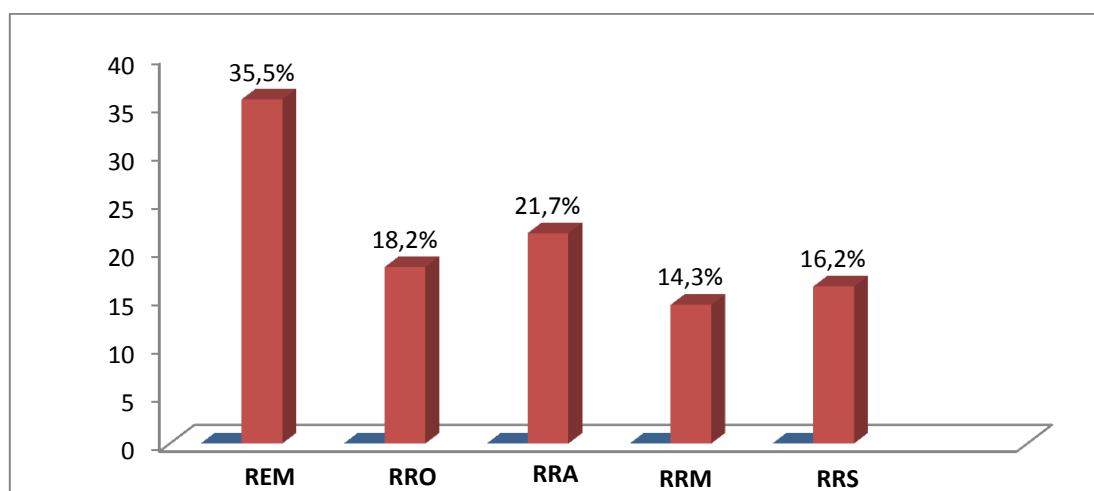


Figure 12 : histogramme des rendements d'extrait méthanolique dans différentes études

II. Analyses des extraits méthanoliques :

II.1. Dosage des polyphénols totaux (analyse quantitative) :

L'étude quantitative des extraits méthanoliques de *Rosmarinus officinalis L* au moyen de dosage spectrophotométrique en utilisant la méthode au réactif de Folin Ciocalteu, a pour objectif la détermination de la teneur des polyphénols totaux.

Le contenu en polyphénols totaux a été calculé à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage établie avec l'acide gallique à différentes concentrations. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique (EAG) par mg d'extrait (mg EAG/g extrait).

L'équation obtenue est de type : $y = 0,5683x + 0,0496$; coefficient de corrélation $R^2 = 0,9989$.

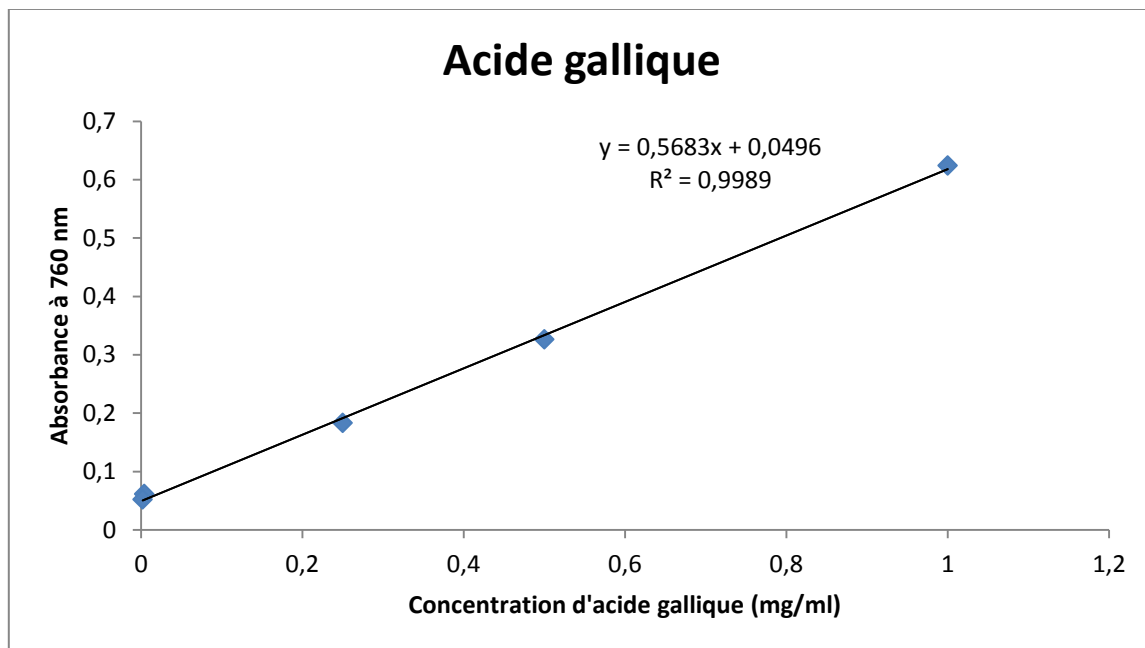


Figure 13 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols

Notre résultat indique une forte teneur en phénols totaux de l'extrait méthanolique du romarin qui est de l'ordre de **1095,1 ± 15,85 mg EAG /g**.

Cette teneur reste très élevée par rapport à celle trouvée dans d'autres travaux scientifiques.

Cette teneur est très importante comparé à celle rapporté par (Fadili et al., 2015) qui ont étudié la teneur en polyphénols du romarin du Maroc ($185,71 \pm$ mg EAG/g d'extrait).

Dans une autre étude sur *Rosmarinus officinalis* de Corée du sud, les polyphénols totaux trouvés dans l'extrait méthanolique étaient estimés à $21,6 \pm 14,6$ mg EAG/g (Hyun *et al.*, 2015). Un taux très faible par rapport au notre.

De plus notre résultat reste largement supérieur à celui de (Boumedjen et Kimouche , 2018) qui ont étudié la teneur en polyphénols du romarin issu de la forêt de Djbel El wahch de la Wilaya de Constantine. Cette teneur est de l'ordre de $248,55 \pm 26,71$ mg EAG/ g.

D'après les résultats obtenus, il est clair que l'espèce étudiée est très riche en polyphénols. Cette différence dans les résultats de la teneur en polyphénols est probablement due à la distribution des métabolites secondaires pendant la croissance de la plante, ce qui peut être lié aux facteurs extrinsèques (origine de la plante conditions climatiques, pratiques culturelles, maturité, période de récolte, conditions de stockage ainsi que le solvant d'extraction) et intrinsèques (génétiques) (Podsdek, 2007 ; Ebrahimzadeh *et al.*, 2008)

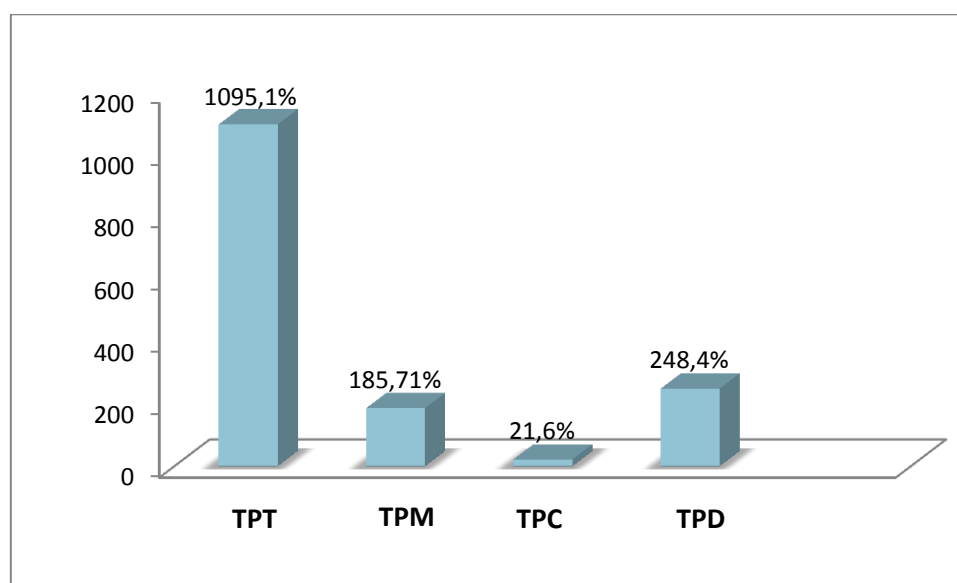


Figure 14 : comparaison en polyphénol totaux des différents extraits

II.2. Dosage des flavonoïdes (analyse quantitative) :

Le dosage des flavonoïdes totaux a été réalisé selon la méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl₃) et l'étalon a été la quercétine.

Le calcul du contenu en flavonoïdes a été effectué à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage réalisée avec des solutions d'étalons à des concentrations différentes. Les résultats sont exprimés en mg équivalent de quercétine (EQ) par mg d'extrait.

L'équation obtenue est de type : $y = 5,7619x + 0,0726$; coefficient de corrélation $R^2 = 0,9938$.

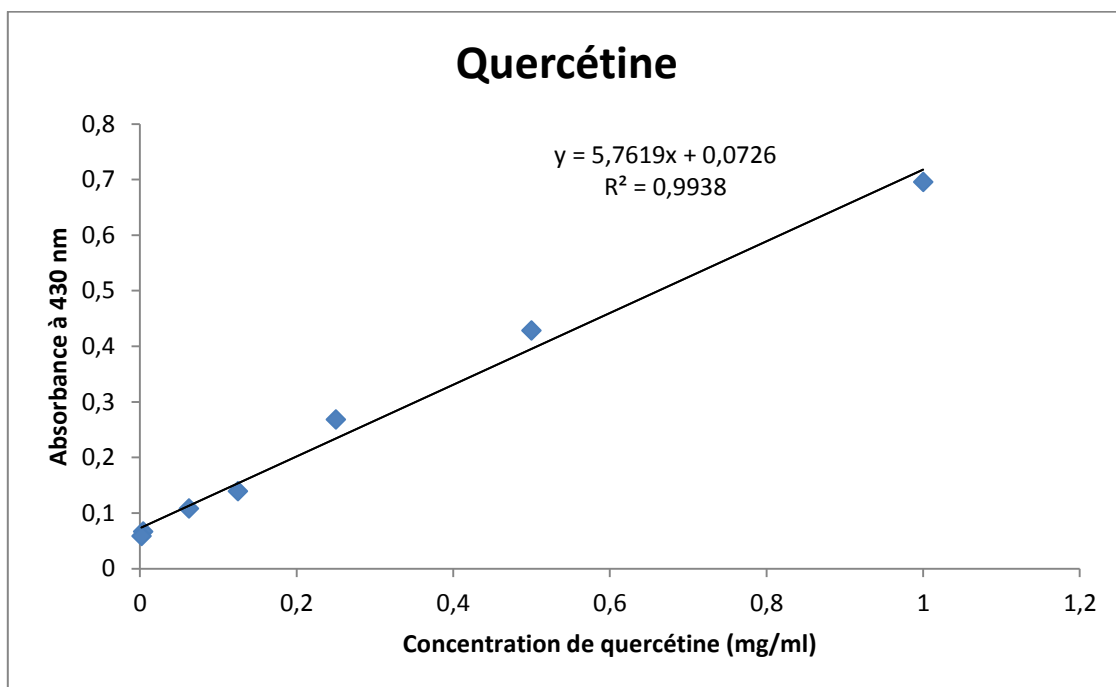


Figure 15 : Courbe d'étalonnage de quercétine pour le dosage des phénols totaux

La teneur en flavonoïdes est de $98 \pm 4,5$ mg EQ /g extrait, cette valeur montre que la plante *Rosmarinus officinalis L* de Skikda est moyennement riche en flavonoïdes.

Notre résultat est inférieur à celui de **Rached et al., 2009** qui ont déterminé une teneur en flavonoïdes de 177 mg EAG/mg extrait de romarin de la région d'Oran.

Cependant, cette teneur est bien supérieure à celle de l'extrait du *Rosmarinus officinalis L* de la région de université EL-oued, qui est de l'ordre $15,72 \pm 0,046$ mg EQ /g extrait (**Belloul et**

Chouiref, 2015). Tsai et al., 2007 ont aussi mentionné que l'extrait méthanolique du romarin contenait 60.7 ± 1.1 mg/g

Cette différence dans les teneurs peut être expliquée par les conditions environnementales, climatiques et période de collecte ainsi que par les facteurs génétiques et les conditions expérimentales et aussi le type de solvant d'extraction.

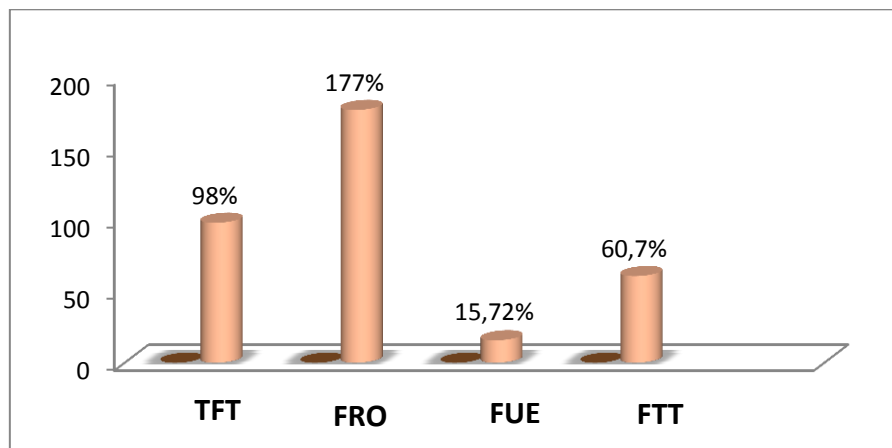


Figure 16 : comparaison en Flavonoïde des différents extraits

III. Evaluation de l'activité antioxydante par le DPPH :

L'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de *Rosmarinus officinalis* est évaluée par le test de piégeage du radical DPPH. Il est bien connu que quand une solution de DPPH est mélangée avec celle d'une substance contenant des antioxydants, le radical libre stable DPPH (couleur violet foncé) est converti en 1,1-diphényl-2-picryle hydrazine ce qui entraîne une décoloration facilement mesurable par spectrophotométrie à 517 nm (Molyneux, 2004)

Les valeurs obtenues ont permis de tracer la courbe du pourcentage d'activité anti radicalaire pour l'extrait méthanolique et la vitamine C.

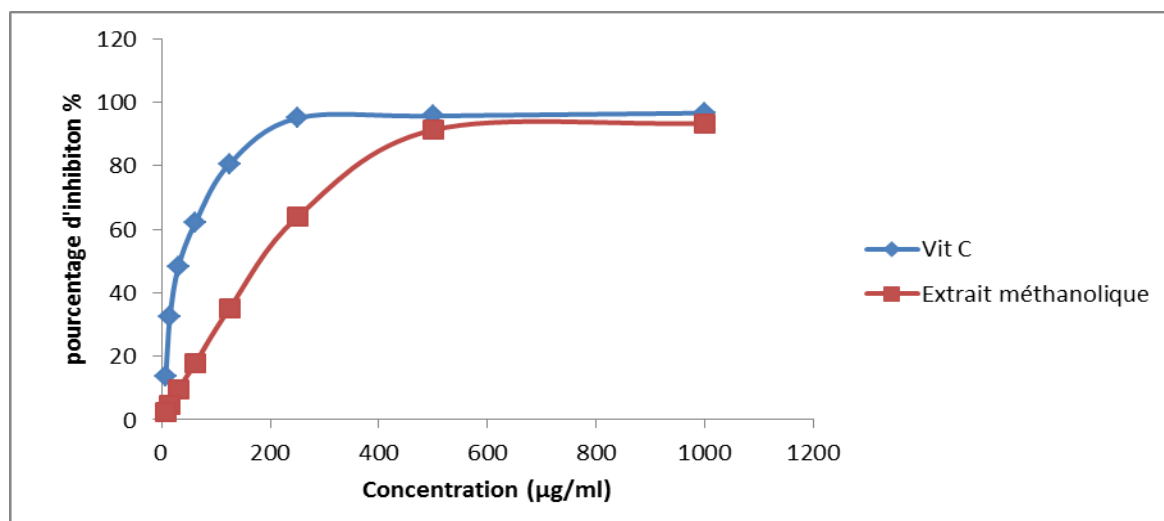


Figure 17 : Pourcentage d'activité antioxydante de l'extrait méthanolique et la vit C

D'après les résultats représentés dans la figure, on peut constater que l'activité anti radicalaire est dose dépendante car elle est proportionnelle à l'augmentation de la concentration de nos échantillons.

L'IC₅₀ est un paramètre qui définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% du radical DPPH. Plus la valeur d'IC₅₀ est petite, plus l'activité antioxydante est grande. L'IC₅₀ est calculé par régression linéaire des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations de l'extrait.

La vitamine C montre une activité anti radicalaire très puissante avec une valeur d'IC₅₀ de l'ordre de 6.35 µg/ml.

D'après la figure qui présente le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations, notre extrait méthanolique présente un pourcentage d'inhibition maximal de **93,39 %** à une concentration de **1000µg / ml (2mg/ml)**.

Selon les résultats enregistrés, l'extrait méthanolique présente une activité antioxydante faible avec une **IC₅₀ = 353,66 µg /ml**.

Nos résultats sont significativement supérieurs à ceux de (**Moutie, 2016**) qui a étudié l'activité antioxydant de *Rosmarinus* au Maroc et a trouvé un pourcentage d'inhibition maximal de 53,23 %.

Dans une autre étude **Makhloufi, 2013** a confirmé le pouvoir antioxydant de cette plante de la région Bechar avec des pourcentages d'inhibition de l'ordre de 80,70% et 79,62% pour les deux extraits méthanolique et aqueux respectivement. Et en comparaison avec l'étude de (**Ibrahim, 2013**) qui a trouvé que l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de

Rosmarinus officinallis L de la région Ouargla est égale à 82,87% pour une concentration de **0,5 mg** contrairement aux résultats obtenus lors de cette étude pour la même région (47,05 %).

L'activité antioxydante de notre résultat est très faible à une concentration de **2mg** par rapport les autres à une concentration de **0,5mg** présente une activité antioxydant important.

On remarque que bien que notre extrait soit riche en polyphénols totaux, il ne présente pas un important potentiel antioxydant, ceci peut être expliqué par sa faible teneur en flavonoïdes sachant que ces derniers sont la classe de composés phénoliques avec le plus fort pouvoir antioxydant. L'activité antioxydant ne dépend donc pas seulement de la concentration en polyphénols, mais également de la nature et la structure des antioxydants dans l'extrait (**Falleh, 2008**).

Cette variabilité dans le pouvoir antioxydant des extraits brut de *Rosmarinus officinallis L* peut être due à plusieurs facteurs tels que : la méthode d'extraction, la nature des composés phénolique des extraits, la teneur en composé phénolique totaux, le lieu et la période de cueillette de la plante (**stefnovits-bányai et al., 2003**).

Conclusion

Conclusion

À l'heure actuelle, les plantes médicinales, restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments, elles sont considérées comme une source de matière première essentielles pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futur médicament.

Dans le cadre de la recherche des principes actifs et leurs propriétés biologiques des plantes médicinales diverses en Algérie, on a réalisé cette modeste étude sur l'une de ces plantes qui est le *Rosmarinus officinalis L.*, c'est une plante médicinale aromatique abondante surtout dans le nord de l'Algérie. *Le Rosmarinus* est connu par ses vertus thérapeutiques variées.

Le résultat de l'analyse quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes de l'extrait méthanolique obtenu de notre espèce démontre sa richesse en polyphénols totaux, cependant les flavonoïdes sont présents à plus faible concentration.

La teneur en polyphénols a été déterminée par la méthode de Folin-ciocalteu et a révélé une valeur de $1095,1 \pm 15,85$ mg EAG/g. Les flavonoïdes eux, ont été évalués par méthode de chlorure de l'aluminium $AlCl_3$, leur teneur est estimée à $98 \pm 4,5$ mg QE/g de MS.

L'étude du potentiel antioxydant de l'extrait méthanolique selon la méthode du piégeage du radical libre DPPH a montré que l'extrait méthanolique possède une bonne activité antioxydante, cette activité reste néanmoins nettement inférieure à celle de la vitamine C, il est donc très probable qu'il contient des composés qui une fois purifiés peuvent présenter une activité comparable à celle des agents antioxydants.

Sur la base de ces résultats on pourrait conclure que le *Rosmarinus* est une source naturelle riche en polyphénols antioxydants.

À la fin, on propose des recherches plus approfondies et des analyses qualitatives et quantitatives sensibles pour isoler les principes actifs des extraits de cette plante et d'en évaluer d'autres activités biologiques *in vitro* et *in vivo* dans l'objectif de développer des médicaments à base de plantes, ainsi que les avantages économiques considérables dans le développement de la médecine traditionnelle, surtout que notre pays possède une biodiversité immense où chaque plante représente un réservoir assez important de métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- **Adjemi, N. Y; 2014.** Etude Physico-Chimique de l’Huile Essentielle Extraite de *Rosmarinus officinalis*. L. Thèse de master. Université Ziane Achour. Djelfa. 96 p.
- **Aissa-Baba F. (2000).** Encyclopédie des plantes utiles, flore d’Algérie et du Maghreb, Substances végétales d’Afrique, d’Orient et d’Occident. EDAS Algérie.
- **Akroum S. (2006).** Étude des propriétés biochimiques des polyphénols et tannins issus de *Rosmarinus officinalis* L et *Vicia faba*
- **Arnold,N.,valentini, G.,Bellomaria,B.,Laouer, H.(1997)** comparative study of the essential oils from *rosmarinus eriocalyx jordan* & fourr .from Algeria and *R. officinallis* L.From other countries .J. essent .oil Res.9: 167-175
- **Aruoma, O I. (1999)** Free radicals, antioxidants and international nutrition. Asia Pacific J Clin Nutr. 8: 53-63.
- **ATHmania, S. (2009),"** Etude Quantitative Des Flavonoides Des Graines De *Cuminum cyminum* et Les Feuilles De *Rosmarinus officinalis* Et L'évaluation De L'activité Biologique. "These de Magiste ,Université EL-Hadj Lakhdar-Batna, p36
- **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.
- **Bahorun T.,(1997).** Substances naturelles actives, la flore mauricienne, une source d’approvisionnement potentielle Food American Agricultural Research. Conseil Mauritius, Amas.
- **Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Vasseur, J., Gazin, J.C., Pinkas, M., Luyckx, M., Gazin, M. (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extract from Hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimforschung*, 46 (11): 1086-1089.
- **Barboni T.,(2006).** Contribution de méthode de la chimie analytique à l’ amélioration de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes (EGE) et de risque d’incendie. Thèse de Doctorat. Université de Corse.
- **Bastidas maria,2018 .** le bonne pratique de domestication des plantes aromatiques et médicinales romarin et lavande jaune. Édition ; association de defesa do patrimonia et mértola p 44.

Références bibliographiques

- **Bellakhdar, J ; 2006.** Précis de phytothérapie moderne ; plantes médicinales au Maghreb et soin de base. Edition le Fenec, 294-295.
- **Belloul K et Chouiref M.,(2015).** Etude de l'activité antioxydante d'une plante médicinale (Le Romarin, faculté de la technologie . Université Echahid Hamma Lakhdar - El- Oued.
- **Ben Moussa M.T., (2007) :** Phytothérapie : Laboratoire de pharmacognosie. Département de pharmacie, université de Batna, Algérie, 8p.
- **BENAMR, H. (2008),**"Screening de plantes pour leur activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase et analyse phytochimique, p28.
- **Benbott M.Bouali Y.,(2018).** Etude des activité biologique de Rosmarinus Officinalis L des régions Ouargla et Ain M'Lila.
- **Benbott M.Bouali Y.,(2018).** Etude des activité biologique de Rosmarinus Officinalis L des régions Ouargla et Ain M'Lila.
- **Berger, M.M. (2005).** Can oxydatif damage be treated nutritionally? Clinical nutrition, 24: 172-183.
- **Beta T, Nam S, Dexter JE et Sapirstein HD, 2005.** Phenolic content and antioxydant activity of pearled wheat and roller – milled fractions. Cereal chem..390-393p.
- **Boizot N. & Charpentier .J.P., 2006.** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Le cahier des techniques de l'INRA. pp: 79-82.
- **Boizot, N; Charpentier, J.P.**Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, INRA, 2006, 1;pp 79-82.
- **Booth N.I., De jan N.et Richard B.et Stoci E., (2004):** New Lanthanide complexes of 4 methyl 7 hydroxy coumarin and their pharmacological activity. Clinical Pharmacology and therapeutics. P50. 120-123.
- **Boubekri, Ch. (2014),"** Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de Solanum melongena par des techniques électrochimiques". Thèse de Doctorat, Université Mohamed Khider – Biskra, p41.
- **Boudjouref, M. (2011).** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits
- **Bouhadjra K. (2011),**Étude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge. Mémoire de magister. Université mouloud

Références bibliographiques

Mammeri-Tizi-Ouzou ; Faculté des sciences ; Département de chimie ; Spécialité : Chimie ; Option : Chimie de l'environnement..

- **Boumadjen,R., Kimouche,s (2018).** Etude photochimique et évaluation de l'activité antioxydante de Romarin (*Rosmarinus officinales L*) université des frères Mentouri constantine.
- **Bourgaud F., Gravot A., Milesi S., Gontier E.**2001. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Review Plant Science* 161 : 839–851.
- **Brand-Williams W., Cuvelier M. & Berset C., 1995.** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci. Technol.* 28(1): 25-30.
- **BRUNETON J., 1999** _ Pharmacognosie - Phytochimie, Plantes médicinales, Editions Tec & Doc, Editions médicales internationales, 1120 p. (ISBN 2-7430-0315-4).
- **Brunéton J.,(1999b)** Phytochimie des plantes médicinales 3eme e édition, Tec et Doc (ED). Paris: 658.
- **Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinale. 4ème Edition Lavoisier. Paris. 1234p.
- **Bubonja-Sonje M., Giacometti J. & Abram M., 2011.** Antioxidant and antilisterial activity of olive oil, cocoa and rosemary extract polyphenols. *Food Chem.* 127: 1821-1827
- **Chaabi, M. (2008).** Étude phytochimique et biologique d'espèces végétales africaines : *Euphorbia stenoclada* Baill. (Euphorbiaceae), *Anogeissus leiocarpus* Guill. & Perr. (Combretaceae), *Limoniastrum feei* (Girard) Batt. (Plumbaginaceae). Louis Pasteur et Université MENTOURI de Constantine (Alger).
- **Chafai Elalaoui, A ; 2014.** Manuel des bonnes pratiques de collecte du romarin «*Rosmarinus officinalis*». Dans le cadre du Projet PAM « Intégration de la biodiversité dans les chaînes de valeurs des plantes aromatiques et médicinales méditerranéennes du Maroc », 10 p.
- **Crozier A., Clifford M.N et Ashihara H.,(2006).** Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet, Edt Blackwell Publishing Ltd.
- **Cuendet, M. (1999),**"Recherche de nouveaux composés capteurs de radicaux libres et antioxydants à partir d'une plante d'Indonésie: "*Fagraea blumei*" (*Loganiaceae*) et de trois plantes d'altitude: "*Bartsia alpina*" (*Scrophulariaceae*), "*Loiseleuria procumbens*" (*Ericaceae*) et "Camp." Thèse de doctorat.

Références bibliographiques

- d'*Artemisia campestris* L. Thèse de Magister en Biochimie. Université Ferhat Abbes, Sétif. Algérie. 99 p.
- **Deina M., Rosa A., Cash V., Cottiglia F. et L.,(2003):** National product: their chemistry and biological significance. *Journal of the American Oil Chemistry Society.* 80 : 65-70.
- **Delattre, J., Beaudoux, J.-L. et Bonnefont-Rousselot, D. (2005b).** Radicaux libres et stress oxydant, aspects biologiques et pathologiques. 45-60.
- **Delattre, J., Beaudoux, J.-L. et Bonnefont-Rousselot, D. (2005c).** Radicaux libres et stress antioxydant, aspects biologiques et pathologiques. 60-80.
- **Dykes, I; et Rooney, L .W.,(2006).** Sorghum and millet phenols and antioxydants. *Journal of Cereal Sciences.* 44. p 236-241.
- **Elchahat NA., 2000.** Les plantes aromatiques et ses produits pharmaceutiques et agricoles. Edition: la maison arabe, P: 283.
- **Eloutassi N. (2004).** « Elaboration de procédés Biotechnologiques pour la valorisation Du romarin (*Rosmarinus officinalis*) marocain » ; thèse de doctorat, université de Sidi Mohamed Ben Abdellah ; Fès.
- **El-Rhaffari L., Zaid A., (2004).** Pratique de la phytothérapie dans le Sud- Est du Maroc (Tafilalet). Un savoir empirique pour une pharmacopée rénovée. Origine des
- **EPIFANO, F.,GENOVESE, S.,MENGHINI, L.,et CURINI, M.,(2007).** Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. *Phytochemistry,* 68:939 –953p.
- **Escuder O.,** Plantes médicinales mode d'emploi. Paris : Ulmer, 2007, 255p
- Ex Olivier, *Agauria polyphylla* Baker (Ericaceae), *Tambourissa Trichofylla* Baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* Baker (Myrsinaceae). Thèse de doctorat, Toulouse.171p.
- **Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karay- Bouaroui N., Trabelsi N., Boulaaba M., Abdelly C. (2008).** Phenolic composition of *Cynara Cardunculus* L. Organs, and their biological activities. *C. R. biologies.* 331 : 372-379.
- **Fournier P-V.** Dictionnaire des plantes médicinales et vénéneuses de France. Paris : Omnibus (un département de place des éditeurs), 2010, 1047p.
- **Fuinel Guy ;** arbres et plantes médicinales du jardin, édition Fernand Lanore Paris 161p (2002).

Références bibliographiques

- **Gauche, E., Hausswirth, C.** Stress oxydant, complémentation nutritionnelle en antioxydants et exercice. *Science & Motricité*, (2006). 58: 43-66.
- **Ghedira K.,(2005).** Les flavonoïdes:structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*. Numéro 4: 162-169.
- **Gonzalez, A.G; Estevez-Braun.A.(1997).** Coumarins, *Nat Prod Reprod*. 14.p 465-475.
- **Goto M, Ueda K, Hashimoto T, Fujiwara S, Matsuyama K, Kometani T, Kanazaw K. A .(2008)** .formation mechanism for 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine mediated by peroxidized 2'-deoxythymidine. *Free Radical Biology and Medicine*., Vol.45; pp 1318–1325.
- **Grünwald J., Jänicke C., Wobst B. et al. (2006)** Guide de la phytothérapie. Paris : Marabout, 2006,416p.
- **Guillard, C. (2011).** Photo- vieillissement: Photo-protection par application des antioxydants, Rapport de Master de l' université de Rennes I , option Biologie Gestion. 59p.
- **Halliwel B, (1994)** .Free radicals and antioxidants: a personal view ; 52(8 Pt 1):253-65.
- **Hanifi N. (1991).** Importance des ressources phytogénétiques et leur utilisation en Algérie. In conservation des ressources végétales. Publication d'actes éditions : 47-49.
- **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.
- **Heinrich, M.,Kufer,J., leonti,M., pardo-de-Santayana,M. (2006)** Ethnobotany and ethnopharmacology-Interdisciplinary links with the historical sciences.*J Ethnopharmacol*.
- **Heller, W.et Forkmam, (1993).** Thé flavonoids advances in research since 1986. In Harborne JB. secondary plants products. *Encyclopedia of plants physiology*. Edt. Chapman et Hall, London, 399-425.
- **Hennebelle T, Sahpaz S Bailleul F.** Polyphénols végétaux, sources, utilisation et potentiel dans la lutte contre le stress oxydant. *Phytothérap*. 2004, Vol. 1;pp 3-6 Verlag, I: p 3-6.

Références bibliographiques

- **Hocine F.M., GORINE M.A.,(2017).** Évaluation de l'exposition au plomb et cadmium et impact sur quelques paramètres du statut oxydant/antioxydant chez les ouvriers exposés aux fumées de soudage. Mémoire master. Université Abou bekr belkaid, Tlemcen.
- **Hoffman L.,(2003).** Étude du métabolisme des phénylpropanoïdes. Thèse de doctorat. Strasbourg, 245p.
- **Hynes M.J., O'Coinceann M.,(2001).** The kinetics and mechanisms of the reaction of aluminum III with gallic acid, gallic acid methyl ester and adrenaline. *Journal of Inorganic Biochemistry.*84:1-12.
- **Hyun, H.B., Shrestha, S., Boo, K.H., Cho, SK.,(2015).** Evaluation of antioxidant potential of ethyl acetate fraction of *Rosmarinus officinalis L.* and its major component. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry* 58, 715 - 722.
- **Ibrahim, H., (2013).** Etude de l'activité biologique de certaines plantes de la famille orale et de l'activité contre l'oxydation faculté de sciences et techniques et des sciences des matériaux université Kasdi Merbah, Ouargla, p.109.
- **Iserin, P; Masson, M ; Restellini, JP.(2001).** Encyclopédie des plantes, soins: Édition: Larousse 335p. ISBN:2-03-560252-1.
- **Kang, J., C. Xie, Z. Li, S. Nagarajan, A. G. Schauss, T. Wu et X. Wu. (2011),** "Flavonoïde from acai (*Euterpe oleracea Mart.*) pulp and their antioxidant and anti-inflammatory activities." *Food Chemistry* 128(1): 152-157.
- **King A. And Young G.,(1999).** Characteristics and occurrence of phenolic Phytochemicals. *J. Am.Diet.Assoc;* 99:213-218.
- **L.Lagnika,** " étude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plante béninoise" thèse de doctorat, université Louis pasteur, strasbourg, 2005, page : 249.
- **Laïs E.,** Le livre des simples : les vertus des plantes médicinales. Paris : Rustica, 2014, 191p.
- **Laraba, M., Serrat, A. & Ouassaa G. (2016).** Etude in vitro de l'activité antioxydante des polyphénols isolés à partir d'une plante médicinale. Mémoire de Master en Sciences Biologiques. Université des Frères Mentouri ,Constantine. 67p.

Références bibliographiques

- **Lebham, 2005.** Thèse au Laboratoire d'Encyclopédie et de Biotechnologie des Halophytes et des algues au sein de l'Institut Universitaire Européen de la mer(IUEM). Université de Bretagne Occidentale (UBO).
- **Leong, LP; Shui, G.(2002).** An investigation of antioxydants capacity of fruits in.
- **Létard J.C., Canard JM., Costil C., Dalbiès P.,Grunberg B.,Lapuelle J. et les commissions nutrition et thérapies complémentaires du CREGG.,(2015).** Phytothérapie – Principes généraux. Hegel Vol. 5 N° 1
- **Lhuillier, A. (2007).** Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches: *Agauria salicifolia* Hook.f exp *Olivier*, *Agauria polyphylla* Baker (Ericaceae), *Tambourissa Trichophylla* Baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* Baker (Myrsinaceae). Thèse de doctorat, Toulouse.171p.
- **Lilane, H.(2004).** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat.Strasbourg. 263 p.
- **Lopez-Lutz, D.S., Alviano, D.S., Alviano, C.P., & Kolodziejczyk, P. (2008).** Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of artemisia essential oils. *Phytochemistry* 69:1732-1738.
- **Lutge U ; Klinge M, Bauer G. 2002.** Botanique 3eme Ed : Technique et documentation. Lavoisier, Paris. p.211.
- **Mac Laren ,I ,S. (2007).** Studies in two centuries of human history in the upper atthabasca river watershed . book publishers association of Alberta.
- **Macheix J., Fleuriet A., Jay C. 2005.** Les composés phénoliques des végétaux, un exemple des métabolites secondaires. *Collection Biologie*, pp.1-11.
- **Macheix J.J., Fleuriet A. et JAY-allemend C., 2005** – Les composés phenoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaire d'importance économique. Ed. Presses poly technologiques et universitaires romandes, France, 192 p.
- **Macheix J-J, Fleuriet A, Jay-Allemand C.** Les composés phénoliques des végétaux. Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Suisse: Lausanne; Presses polytechnique et universitaire Romandes; 2005.
- **Makhloufi , A., (2013)** . Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bachar (*Matrcaria pubescents*(Desf) et *Rosmarinus officinales* L)et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru.

Références bibliographiques

- **Manach C., Scalbert A., Morand C. Et Jimenez I .** Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition* 79:727-747.
- **Mansour S., (2015).** Evolution de l'effet anti-inflammatoire de trois médicinales *Artemisia obsitinthuimL, Artenisia herba alba Asso, et hypericum scarboides.* Etude in vivo. Thèse de doctorat, Université Mohamed Boudiaf, Oran, p19.
- **Marston A., Hosttmann K.,2006.** Separation and Quantification of Flavonoids. *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications.* Taylors and Francis: 1-36
- **Martinez-Cayuela M. (1995).** Oxygen free radicals and human disease. *Biochem.*77: 147-161.
- **Masella, R., Benedetto, R. Di., Vari, R., Filesi, C. et Giovannini, C. (2005).** Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: Involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *Journal of Nutritional Biochemistry* 16(10): 577-586.
- **Mates, J. M., Pérez-Gomez, C. et De Castro, I. N. (1999).** Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry* 32(8): 595-603.
- **McCall, M. R. et Frei, B. (1999).** Can antioxidant vitamins materially reduce oxidative damage in humans? *Free Radical Biology and Medicine* 26(7-8): 1034-1053.
- **Middleton, E., Kandaswani, Cet Theoharides, T.C. (2000).** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol Rev*, 52, 673-839.
- **Milane, H. (2004).** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat. Strasbourg. 263p.
- **Mohammedi S., (2013).**Phytothérapie: la première médecine du monde. *Santé-Mag*, N°18:36-37p
- **Molyneux P., 2004.** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxydant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 26(2): 211-219.
- **MOREAU B., 2003** _ maître de conférences de pharmacognosie à la faculté de Pharmacie de Nancy. Travaux dirigés et travaux pratiques de pharmacognosie de 3ème année de doctorat de pharmacie.

Références bibliographiques

- **Moutie, L.,(2016).**Évaluation de l'activité antibactérienne et antioxydante de trois huiles essentielles: Romarin, Myrte et le Thym, faculté des sciences et techniques département de chimie. Université Joseph - Fourier - Grenoble L.
- **Muthu C., Ayyanar M., Raja N., and Ignacimuthu S. (2006).** Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuram District of Tamil Nadu, India. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 2:43 doi : 10.1186/1746-4269-2-43
- **Narayana, K.R,Reddy,M.S.,Chaluvadi,MR.et Krishna,DR.(2001).** Bioflavonoids classification pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian journal of pharmacology*, 33,2-16.
- **Newman D.J., Cragg G.M. 2012.** Natural Products as Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. *J. Nat. Prod. Vol. (75) : 311-335.*
- **Nogaret-Ehrhart A.S., (2003).** *La Phytothérapie Se Soigner Par Les Plantes Groupe Eyrolles, 2003, ISBN 2-7081-3531-7. Suisse. P : 25-30*
- **Organisation Mondiale de la Santé. (2002).** Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002-2005, Genève, 65p.
- **Owen P. et Johns T., 1999.** Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern North American plant remedies used for gout. *Journal of Ethnopharmacology. 64:* 149-160.
- **P. Buzzini, A. Pieroni,** Antimicrobial activity of extracts of *Clematis vitalba* towards pathogenic yeast and yeast-like microorganisms *Fitoterapia. (2003). 74. 397–400.*
- **Paolini V., Dorchie Phytochemicals., Hosted H.,(2003).** Effet des tanins condensés et des plantes à tanins sur transglycosés Gastro-intestinales chez le mouton et la chèvre. *Alter.Agri, 17 19.*
- **Penchev, P.I.(2010).** Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions. Thèse de doctorat, université de Toulouse.229p.
- **Peronny S.**La perception gustative et la consommation des tanins chez le MAKI (Lemur Catta). Thèse de doctorat du Muséum national d'histoire naturelle. Discipline Eco-Éthologie. 2005, pp 151.
- **Pharmacopées traditionnelles et élaboration des pharmacopées savantes, 293-318**
- **Pierre M.,Lis M.,(2007)** secrets des plantes. Édition Artens, Paris 1: 463.
- **Podsedek, A. (2007).** Natural antioxydants and antioxydant capacity of Brassica vegetables : A review. *LWT. 40 :1-11.*

Références bibliographiques

- **Podsedek, A. (2007).** Natural antioxydants and antioxydant capacity of Brassica
- **Poux M., Cognet P.et Gourdon C.,(2010).**Génie des procédés durables, du concept à la concrétisation industrielle. L'usine nouvelle.Dunod, Paris, ISBN 978-2-10-051605-6 prophylactique et emplois en thérapeutique.Phytothérapie 3(4), 162-169.
- **PRESCRIRE., 2007** _ Bien utiliser les plantes en situations de soins, numéro spécial été, T. 27, n° 286.
- **Rached, A., Benamar, H., Bennaceur, M.,Barouf, A., (2009).** Évaluation du potentiel antioxydant de plantes médicinales et analyse phytochimique.
- **Rameau J-C., Dumé G. (2008).** « Flore forestière française : Région méditerranéenne» Edition Forêt privée française ; pp 897.
- **Rao L., Meenakshi S., Raghavan B., Abraham K.O. (1998).** Rosemary (Rosmarinus Officinalis L.): Impact of drying on its flavor quality. Journal of Food quality v(21), issue 2 :107-115p
- **Rao S.P., Kalva S., Yerramilli A., Mamidi S. (2011).** Free radicals and tissue damage: role of antioxidants. Free radicals and antioxidants, 1 (4): 2-7.
- **Rezaire, A.(2012).** Activité antioxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien oenocarpus (patawa). Thèse de doctorat université des Antilles et de la Guyane. 208p.
- **Rhazi, N.(2015).** Mise au point de mélange collant écologique d'Acacia mollissima du Maroc. Thèse de doctorat université Hassan 2 de Casablanca L'université de Pau et des pays d'Adour. 153p.
- **Rock E., 2003.** Stress oxydant, micronutriments et santé. INRA – CRNH, unité des maladies métaboliques et micronutriments, Université d'été de nutrition Clermont-Ferrand, France. pp: 37-42.
- **Routray, w et Orsat, V. (2012).** Microwave_assisted extraction of flavonoids: a review. Food Bioprocess Technology, 5(2), 409-424.
- **runéton J.,(1999a)** Flavonoïdes, Pharmacognosie, Phytochimie. Plantes médicinales. 3 eme Édition TEC et COC. Paris.p 310-340.
- **Santangelo, C., Vari, R.,Scazzocchio, B.et. (2007).** Polyphénols, intracellular signaling and inflammation. Annali dell Istitio Superior di Sanita, 43(4), 394-4-05.

Références bibliographiques

- **Sarni Manchado, P; Véronique, C. (2006).** Les polyphénols en agroalimentaires. Collection sciences et techniques agroalimentaires, édition TEC et DOC. Paris (France): 398.
- **Sayre LM, Perry G, Smith MA. (2008).** Oxidative stress and neurotoxicity. *Chem Res Toxicol.* 21(1):172-88.
- **Scalbert, A. (2004).** Fruits et légumes, polyphénols et santé, laboratoire des maladies métaboliques et micronutriments, INRA, Centre de recherche de Clermont - Ferrand/theix.
- **Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S. et Pessarakli, M. (2012).** Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany* 2012: 1-26.
- **Slinkard K. & Singleton V.L., 1977.** Total phenol analyses: automation and comparison with manual methods. *Am. J. Enol. Viticult.* 28: 49–55
- **Stephanovits Banyai E., Tulok M-H., Hegedus A., Renner C., Szololosi Varga L. (2003).** Antioxydant effect of various Rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.) clone Vol 47(1-4) : 111-113.
- **Stöckigt J. et al.** Highperformance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electro phoreticelectrospray ionization mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups. (2002). *Journal of chromatography A* 967: 85-113.
- **Subramanian S., Stacey G. And UnO., (2007):** District, crucial roles of flavonoids during legumes nodulation. *Trends Plant Sci* 12: 282-285.
- **Takao T., Kitatani F., Watanabe N., Yagi A. & Sakata K., 1994.** A simple screening method for antioxidants and isolation of several antioxidants produced by marine bacteria from fish and shellfish. *Biosci. Biotech. Bioch.* 58(10): 1780-1783.
- **Trichophylla Baker** (Monimiaceae) et *Embelia concinna* Baker (Myrsinaceae). Thèse de doctorat, Toulouse. 171 p.
- **Tsai P., Tsai T., Ho S. (2007).** **In vitro inhibitory effects of rosemary extracts on growth and glucosyltransferase activity of *Streptococcus sobrinus*.** *Food Chem* **105, 311-316.**
- **Wang, J; Mazza, G.** Effect of Anthcyanins and other phenolic compounds on the mproduction of Tumor Necrosis Factors α in LPS/IFN- γ -Activated RAW.264.7. Macrophages. *J. Agric.Food.Chem.* 50.4183-4189, 2002.

Références bibliographiques

- **Wang, L. et Weller, C.L (2006).** Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. Trends in Food Science and Technology , 17(6), 300-312.
- **WICHTL M., ANTON R., 2003** _ Plantes thérapeutiques – Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique, 2ème édition, Ed. TEC & DOC, 2003.
- **Wichtl M., Anton R., Lassechere-Bernard M .,** Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. 2e éd. française (4e éd. allemande). Paris: Tec [et] Doc, 2003, 692p.
- **Williamson G.,Manach C.,(2005).** Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in human. II Review of 93 intervention studies. The American journal of clinical nutrition, 81(1), 243S-255S.
- **Wollgast, J ; Anklam, F. (2000).** Review on Polyphenols in Theobroma cacao: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification, Food Research International 33. Paolini 423-447.
- **Yang R., Lin S., Kuo G. (2008).** Content and distribution of flavonoids among 91 edibles plant species. Asia of pacific journal of clinical nutrition. 17 (S1): 275-279
- **Zakaria Fadi,** Le romarin Rosmarinus officinalis Le bon procédé d'extraction Pour un effet thérapeutique optimal, thèse de doctorat en pharmacie, rabat Maroc 153p (2011).
- **Zeghad N., (2009)** ; « Etude du contenu polyphénoliques de deux plantes médicinales D'intérêt économique (Thymus vulgarise, Rosmarinus officinalis) et évaluation de leur Activité antibactérienne » ; thèse de magistère thèse de magistère, université de Mentouri ; Constantine
- **Zerari, M., 2016.** Etude ethnobotanique de quelques plantes médicinales utilisées dans le nord d'Algérie. Mémoire de fin d'études Pour l'obtention du diplôme master. Université Abdelhamid Ibn Badis- Mostaganem.44p.
- **Zoubeidi.C ,2004.** « Etude des antioxydants dans le Rosmarinus officinalis .Labiatea» ; thèse de magistère ; université de Ouargla ; 123p .

Références électronique

- WWW.goole.com
- WWW.goole.com