

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

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

Université de RELIZANE
Faculté des Sciences et de la Technologie
Département : Sciences Biologiques



MEMOIRE
En vue de l'obtention du diplôme de MASTER en :
Biochimie appliquée

Intitulé

**Evaluation de quelques activités biologiques de l'extrait
méthanolique du romarin (*Rosmarinus officinalis L.*)**

Présenté par :

Mlle : BENMATI CHAIMA

Mme : AISSANI SARRA

Mlle : TAHA FATMA

Devant les membres de jury :

Présidente : Mme HARMOUCHE Amaria

Maître assistant A (U. Relizane)

Encadreur : Mr. REGUIEG YSSAAD Athman

Maître de conférence A (U. Relizane)

Examinaterice : Mlle GHALOUNI Esma

Maître de conférence B (U. Relizane)

Année universitaire : 2023/2024



Remerciement



Avant tout, nous remercions « Allah » le tout puissant de nous avoir donné la santé, la force, le courage, la patience, la persistance et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles à fin d'accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

Au terme de ce travail, nous tenons à remercier toutes les personnes ayant participé de loin ou de près à la réalisation de cette étude.

Nous mentionnons particulièrement notre encadrant, Dr. REGUIEG, pour avoir accepté de nous encadrer et qui n'a jamais cessé de nous aider et de nous guider par ses précieux conseils. Qu'il soit assuré de notre plus profonde reconnaissance.

Nos vifs remerciements vont à, l'honneur des membres du jury de soutenance qui ont accepté de leurs temps pour lire et juger ce travail.

Nos derniers remerciements et ce ne sont pas les moindres, vont à toute l'équipe du laboratoire de L'Université « Ahmed Zabana » département des sciences biologiques.



Dédicace

Je dédie humblement ce travail à mes chers parents, qui ont été mes piliers, mon inspiration et ma motivation tout au long de ce parcours. À mon père, pour son soutien inébranlable, et à ma mère, pour sa lumière, son amour inconditionnel et sa patience infinie. Que Dieu les protège et les bénisse.

À mes frères et sœurs, HAMZA, AHMED, MAWLOUD, AMEL et IMANE, qui ont été mes complices, mes confidents et mes meilleurs supporters. Votre présence a été un réconfort constant.

À ma famille élargie, à mes tantes, oncles, cousins et cousines, dont le soutien et les encouragements ont été une source de force et de courage.

À mes Binômes, SARRA et FATMA , avec qui j'ai partagé ce voyage académique. Merci pour notre collaboration fructueuse et notre soutien mutuel. Votre amitié est un trésor que je chérirai toujours.

À Mr. REGUIEG, mon encadrant, dont les conseils avisés, les orientations précieuses et le soutien constant ont été d'une aide inestimable dans l'élaboration de ce mémoire.

Enfin, je dédie ce travail à toutes les personnes qui m'ont aimée et soutenue, qui ont cru en moi et m'ont encouragée. Votre confiance en moi a été ma plus grande motivation et je vous en suis infiniment reconnaissante."

Chaima



Dédicace

À celui qui m'a appris que le monde est un combat et que son arme est la connaissance et la connaissance, à celui qui ne m'a rien caché, à celui qui a lutté pour mon confort et ma réussite, au plus grand homme de l'univers ...Mon père.

À cette femme bien-aimée au cœur pur. À celle que le Très Miséricordieux m'a recommandée pour sa droiture et sa bonté. À celle qui a lutté et souffert pour moi...Ma mère.

À tous ceux qui ont partagé la joie de ma réussite avec moi, mon mari, mes amis, mes sœurs, je vous dédie avec tout mon humble effort.

Sarra



Dédicace

Que la paix, la miséricorde et les bénédictions de Dieu soient sur vous.

Louange à Dieu seul, et les prières et la paix soient sur celui après qui il n'y a pas de prophète.

J'offre cette tranquillité d'esprit ...à la tendre étreinte du, raison de ma vie et de mon existence, ma mère ...en remerciement pour sa patience, son amour et ses sacrifices.

Au précieux Sindhi pour son amour et son dévouement. Mon père, que Dieu le protège

Merci beaucoup d'avoir fait de moi ce que je suis aujourd'hui.

À ma sœur bien-aimée, ma boîte à secrets, que Dieu vous protège pour moi et votre mari et vos enfants, mes chères sœurs et frères, ma famille, tout l'amour de moi pour vous, pour mes amis, les compagnons de voyage tout au long de ces années, de moi à vous tous mes vœux de réussite et de bonheur, et à tous ceux qui m'ont aidé un jour, que Dieu vous récompense de tout le meilleur pour vos bénédictions.

Enfin, à tous ceux que j'aime et qui m'aiment, je vous dédie ces mots qui ne vous rendent pas justice et n'exprimeront jamais mon amour pour vous. Je vous exprime toute ma reconnaissance et mon respect.

Fatma

Table des matières

Résumés

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction générale.....01

Etude bibliographique

CHAPITRE I: La plante *Rosmarinus Officinalis*

I.	Définition	3
II.	Histoire et origine du Romarin	3
III.	Description.....	4
□	Autres appellations.....	5
IV.	Systématique botanique de la plante	5
V.	Répartition géographique	6
VI.	Récolte.....	6
VII.	Utilisations de <i>Rosmarinus officinalis</i>	7
□	Usages en thérapeutique	7
1.	Phytothérapie (plante entière ou extrait).....	7
2.	Usage sur la sphère abdominale	8
3.	Usage dans le traitement des blessures	9
4.	Usage dans les pathologies rhumatismales	9
5.	Usage dans l'addiction.....	11
6.	Usage en tant que stimulant	11
7.	Usage dans l'insuffisance circulatoire	12
8.	Usage comme fortifiant/tonique	12
9.	Usage comme antioxydant.....	12
10.	Usage comme photoprotecteur	13
11.	Usage divers	13
□	En Industrie cosmétique et parfumerie.....	14
□	En Industrie agro-alimentaire	14
VIII.	Les activités biologiques	15
1.	Activité antibactérienne :.....	15
2.	Activité antifongique :	16
3.	Activité antivirale :	16
4.	Activité ovicide :.....	16
5.	Activité anti-oxydante :.....	17
6.	Effet anti-carcinogène :.....	18

7. Effet anti-acétylcholinestérase :.....	19
8. Effet anti -hyperglycémiant :.....	19
9. Effet anti-hépatotoxique :	19
10. Autres effets :.....	20

CHAPITRE II : Les composés phénoliques

1) Généralités	21
2) Définition des composés phénoliques	21
3) Classification.....	22
A- Les acides phénoliques	22
a- Les acides hydroxybenzoïques :.....	22
b- Les acides hydroxycinnamiques :	22
B- Les flavonoïdes	23
C- Les coumarines.....	24
D- les Tanins.....	24
a- Tanins hydrolysables	24
b- Tanins condensés.....	25
E- Les lignines	25
4) Activités biologiques.....	26
5) Rôle et intérêt des composés phénoliques :	27
5. 1 Rôles des composés phénoliques pour la plante	27
5.2 Les composés phénoliques et la santé humaine	28
6) Activité antioxydante des polyphénols.....	28

CHAPITRE III : Activité antioxydante

Le stress oxydant	29
1. Définition.....	29
2. Origine du stress	29
3. Notion de radicaux libres	29
4. Conséquences du stress oxydant sur l'organisme	30
5. Définition d'un antioxydant :	31
6. Principaux antioxydants :	31
6.1 Les antioxydants endogènes :	31
6.2 Les antioxydants exogènes :	31
□ Médicaments:	31
□ Antioxydants naturels :.....	31
7. Les antioxydants du <i>Rosmarinus officinalis L.</i>	32
8. Méthodes de tests des antioxydants	34
□ Test de réduction du radical 1,1-diphenyl 1,2-picrylhydrazyle (DPPH)	34

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I : MATERIELS ET METHODES

Matériels et méthodes.....	37
1. Matériels	38
1. 1 Matériel végétal	38
1. 2 Appareils et réactifs chimique	39
1. 3 Réactifs chimiques.....	39
2. Méthodes	39
2.1. Méthodes d'extraction.....	39
2.1.1 Extraction des composés phénoliques.....	39
2.1.1.1. Préparation des extraits méthanoliques	39
A. Broyage	39
B. Macération	40
2.2 Dosage des polyphénols totaux	42
2.2.1 Principe	42
2.2.2 Mode opératoire :	42
2.3 Evaluation de l'activité antioxydante par diphenyl-picryl- hydrazyl DPPH	42
2.3.1 Principe	42
2.3.2 Mode opératoire.....	43

CHAPITRE II : Résultats et discussion

1. Détermination du rendement d'extraction	44
2. Dosage des polyphénols totaux.....	45
2.1 Droite d'étalonnage de l'acide gallique:	45
2.2 Teneur en polyphénols totaux.....	46
3. Activité antioxydante de l'extrait méthanolique de <i>Rosmarinus officinalis</i>	47
3.1 Evaluation de l'activité antioxydante par le DPPH	47
Conclusion	51
Références bibliographiques.....	53

Résumé

Le romarin (*Rosmarinus officinalis*) appartient à la famille des Lamiaceae, elle est très répandue dans les régions méditerranéennes et la plante le plus populaire en Algérie.

Le but de la présente étude est porté sur détermination le teneur en polyphénols, et d'évaluer l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique provenant des feuilles du romarin.

Nous avons d'abord effectué des analyses colorimétriques quantitatives par spectrophotométrie UV pour les polyphénols totaux en utilisant la méthode Folin-Ciocalteu à l'aide de l'acide gallique utilisé comme phénol standards, et l'analyse a révélé la richesse du romarin en polyphénols 32.1 µg EAG /mg d'extrait.

L'évaluation de l'activité antioxydante in vitro de l'extrait méthanolique de romarin «technique de réduction du radical libre DPPH » a montré que l'extrait méthanolique de *Rosmarinus officinalis* peut agir en tant que piégeur de radicaux libre et semblent être le bon piégeur de radicaux libres (l'IC₅₀= 5.18 mg /ml). Ces résultats indiquent que l'extrait méthanolique de romarin représente une source prometteuse d'agents antioxydants.

Mots clés : Romarin *Rosmarinus officinalis*, Polyphénols, Activité Antioxydante, DPPH

الملخص

إكليل الجبل (*Rosmarinus officinalis*) ينتمي إلى العائلة Lamiaceae ، وهو منتشر بشكل كبير في مناطق البحر الأبيض المتوسط وهو النبات الأكثر شعبية في الجزائر.

الهدف من هذه الدراسة هو تحديد محتوى البوليفينول، وتقدير النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص الميثانولي من أوراق إكليل الجبل.

أجرينا أولاً تحليلات لونية كمية بواسطة قياس الطيف الضوئي للأشعة فوق البنفسجية للبوليفينول الكلي باستخدام طريقة Folin-Ciocalteu باستخدام حمض الغاليك المستخدم كمعايير للفينول، وكشف التحليل عن ثراء إكليل الجبل في البوليفينول 32.1 ميكروجرام/مجم من المستخلص.

أظهر تقدير نشاط مضادات الأكسدة في المختبر للمستخلص الميثانولي لإكليل الجبل "تقنية تقليل الجذور الحرة DPPH" أن المستخلص الميثانولي لـ *Rosmarinus officinalis* يمكن أن يعمل ككاسح للجذور الحرة ويبدو أنه كاسح الجذور الحرة الجيد ($IC_{50} = 5.18 \text{ mg / ml}$). تشير هذه النتائج إلى أن المستخلص الميثانولي لإكليل الجبل يمثل مصدراً واعداً للعوامل المضادة للأكسدة.

الكلمات المفتاحية: إكليل الجبل *Rosmarinus officinalis*، بوليفينول، نشاط مضاد للأكسدة، DPPH

Abstract

Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) belongs to the Lamiaceae family, it is very widespread in the Mediterranean regions and the most popular plant in Algeria.

The aim of the present study is to determine the polyphénols content, and to evaluate the antioxidant activity of the methanolic extract from rosemary leaves.

We first performed quantitative colorimetric analyzes by UV spectrophotometry for total polyphénols using the Folin-Ciocalteu method using gallic acid used as phenol standards, and the analysis revealed the richness of rosemary in polyphénols $32.1 \mu\text{g EAG / mg}$ of extract.

The evaluation of the in vitro antioxidant activity of the methanolic extract of rosemary "DPPH free radical reduction technique" showed that the methanolic extract of *Rosmarinus officinalis* can act as free radical scavengers and seem to be the good free radical scavenger ($IC_{50} = 5.18 \text{ mg / ml}$). These results indicate that the methanolic extract of rosemary represents a promising source of antioxidant agents.

Keywords: Rosemary *Rosmarinus officinalis*, Polyphénols, Antioxidant Activity, DPPH.

Liste des abréviations

AG : acide gallique

DPPH: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

DO : densité optique

IC₅₀ : Concentration nécessaire pour inhiber 50% du radical DPPH

MeOH: méthanol

Mg EAG/g d'extrait : milligramme d'équivalent acide gallique par gramme d'extrait.

ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé.

AINS : anti-inflammatoires non stéroïdiens

CO₂ : Dioxyde de carbone

VIH: Virus de l'Immunodéficience Humaine

GST : glutathion S-transférase

SOD : Superoxyde dimustase

CCl₄ : tétrachlorure de carbone

CAT: catalase.

GSH : Glutathion réduit

COX : cyclo-oxygénases

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

ADN : Acide désoxyribonucléique

BHA : Butylated hydroxyanisole

BHT : Butylated hydroxytoluène

EC₅₀ : concentration efficace (concentration en antioxydant nécessaire pour réduire de 50% la concentration initiale en DPPH)

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I.1: Activités biologiques de quelques composés phénoliques	26
Tableau II.1 : Réactifs chimique utilisés.....	39
Tableau III: Le rendement de l'extrait méthanolique du romarin	44

LISTE DES FIGURES

Figure 1: la plante romarin.....	3
Figure 2:Tige principale et rameau Feuillé à fleurs du Romarin.	5
Figure 3 : Aspects morphologiques du romarin	6
Figure 4: Structure de base des composés phénoliques.....	22
Figure 5: Structure des acides phénoliques.....	23
Figure 6: Structure de base des flavonoïdes.	23
Figure 7: Structure de coumarine.	24
Figure 8: Structure des tanins hydrolysables.	25
Figure 9 : Structure des tanins condensés.....	25
Figure 10: Structure de la lignine.	26
Figure 11: Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant.....	29
Figure 12: Protocole de l'étude expérimentale.	37
Figure 14 : Feuilles séchées de romarin	38
Figure 13: la poudre de romarin	38
Figure 15: l'extrait méthanolique de Rosmarinus officinalis. L	41
Figure 17: poudre de l'extrait méthanolique de romarin après évaporation.....	41
Figure 16 : La filtration du macérât de Rosmarinus officinalis. L	41
Figure 18: Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.	43
Figure 19: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	45
Figure 20: Résultat de l'acide gallique.	45
Figure 21: résultats du DPPH.....	48
Figure 22: activité antioxydant de l'acide ascorbique par le test DPPH.	48
Figure 23: activité antioxydant de l'extrait méthanolique par le test DPPH	49

Introduction générale

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses ressources trouvées dans son environnement afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies. Actuellement, l'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 80% des habitants de la terre ont recours aux préparations traditionnelles à base de plantes en tant que soins de santé primaire.(1)

Plus de 120 composés provenant de plantes sont aujourd'hui utilisés en médecine moderne et près de 75% d'entre eux sont utilisés selon leur usage traditionnel. Parmi, les 25 composés pharmaceutiques les plus vendus au monde, 12 d'entre eux sont issus de produits naturels.(2) L'étude de la chimie des plantes est toujours d'une brûlante actualité malgré son ancienneté. Cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante d'une immense variété de molécules bioactives. (3)

Le romarin (*Rosmarinus officinalis*) est une plante aromatique largement utilisée dans divers domaines, notamment en médecine traditionnelle, en cosmétique et en cuisine. En raison de sa composition chimique riche en polyphénols, le romarin est reconnu pour ses propriétés antioxydantes bénéfiques pour la santé humaine.

L'activité antioxydante du romarin est principalement attribuée à sa teneur élevée en composés phénoliques tels que l'acide rosmarinique, la lutéoline et l'acide caféïque. Ces composés ont démontré leur capacité à neutraliser les radicaux libres, à protéger les cellules contre les dommages oxydatifs et à réduire le risque de maladies chroniques telles que les maladies cardiovasculaires, le cancer et le vieillissement prématué.

Dans ce contexte, cette étude se propose d'évaluer l'activité biologique antioxydante de l'extrait méthanolique du romarin. L'objectif principal est de déterminer la capacité de cet extrait à neutraliser les radicaux libres *in vitro*, en utilisant des méthodes standardisées telles que le test DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl), et de quantifier les polyphénols totaux présents dans l'extrait.

Cette évaluation revêt une importance particulière dans le contexte actuel de recherche de sources naturelles d'antioxydants pour prévenir les dommages oxydatifs et promouvoir la santé globale. En outre, elle contribuera à la valorisation des ressources végétales locales, telles que le romarin, en tant que alternatives durables aux antioxydants synthétiques.

Introduction générale

Dans cette introduction, nous discuterons des aspects théoriques de l'activité antioxydante, des composés bioactifs du romarin, des méthodes d'extraction des polyphénols et des méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro*. Nous présenterons également les objectifs, la méthodologie et le plan de travail de cette étude pour parvenir à une évaluation complète de l'activité biologique antioxydante de l'extrait méthanolique du romarin.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Définition

Le romarin, *Rosmarinus officinalis*, est un arbrisseau de la famille des Lamiacées (ou labiées), poussant à l'état sauvage sur le pourtour méditerranéen, en particulier dans les garrigues arides et rocallieuses, sur terrains calcaires. Il se cultive dans les jardins. Il possède de nombreuses vertus phytothérapeutiques, mais c'est aussi une herbe condimentaire et une plante mellifère (le miel de romarin est très réputé), ainsi qu'un produit fréquemment utilisé en parfumerie. Rosmarinus signifie en latin rosée de mer. (4)



Figure 1: la plante romarin

II. Histoire et origine du Romarin

Romarin La légende raconte que le Romarin se retrouve seulement dans les régions où s'étend la rosée venant de la mer, d'où son nom qui provient du latin «ros», rosée et «marinus», marin. Dans d'autres régions, on le surnomme "la Rose de mer" en latin Rosa marina qui a donné son nom au genre. Le mot "ros" pourrait également venir d'un nom latin dérivant de rhus qui rappelle l'aspect d'arbrisseau de la plante.

Le Romarin était initialement utilisé pour les cérémonies religieuses, particulièrement dans l'Egypte ancienne pour l'embaumement des momies. Chez les Grecs et les romains, il était considéré comme une plante sacrée et remplaçait l'encens dans les rites de purification.

Il est très utilisé sous l'antiquité mais ce n'est qu'au Moyen âge que ses propriétés médicinales sont établies, notamment ses qualités de tonique nerveux et digestif. Au XIIème siècle, les chevaliers de retour de croisade importèrent de la culture arabe le processus de distillation des plantes aromatiques.

L'huile essentielle produite à partir de la distillation du romarin fut ainsi utilisée à des fins antiseptiques et anti-infectieuses, notamment pour lutter contre la jaunisse.

En France, pour éviter la diffusion des maladies dans les hôpitaux, des branches de romarin étaient brûlées. On en plaçait également dans les bibliothèques et les armoires à linge pour éloigner les insectes.

Le romarin est utilisé largement comme condiment ; les cuisiniers s'en servent pour conserver et parfumer les mets. Les médecins le conseillaient pour le traitement de divers maux : troubles du foie, rhumatismes, migraines, palpitations, nervosité, hémorroïdes, épilepsie, vertiges et oppression. Le camphre contenu dans le Romarin, quant à lui, n'a été isolé qu'en 1685 par Kunkel, un alchimiste allemand.

Le romarin a été longtemps utilisé en parfumerie, entrant dans la composition de la fameuse « eau de la Reine de Hongrie », véritable eau de jouvence souvent prescrite pour guérir les rhumatismes douloureux. Le romarin est très utilisé comme plante stimulante ; on peut l'utiliser dans les bains comme tonique général.(5).(6).(7)

III. Description

Description botanique Le romarin est un arbrisseau de la famille des labiées, peut atteindre jusqu'à 1,5 mètre de hauteur, il est facilement reconnaissable en toute saison à ses feuilles persistantes sans pétiole, coriaces beaucoup plus longues que larges, aux bords légèrement enroulés, vert sombre luisant sur le dessus, blanchâtres en dessous. La floraison commence dès le mois de Février, ou Janvier parfois, et se poursuit jusqu'au mois d'Avril et Mai. La couleur des fleurs varie du bleu pâle au violet (on trouve plus rarement la variété à fleurs blanches *R .officinalis albiflorus*). Le calice velu à dents bordées de blanc, elles portent deux étamines ayant une petite dent vers leur base. Comme pour la plupart des Lamiacées, le fruit est un tetrakène, de couleur brune, la variété à fleurs blanches est rare *R .officinalis albiflorus*. Le calice velu à dents bordées de blanc, elles portent deux étamines ayant une petite dent vers leur base. Comme pour la plupart des Lamiacées, le fruit est un tetrakène.(8)

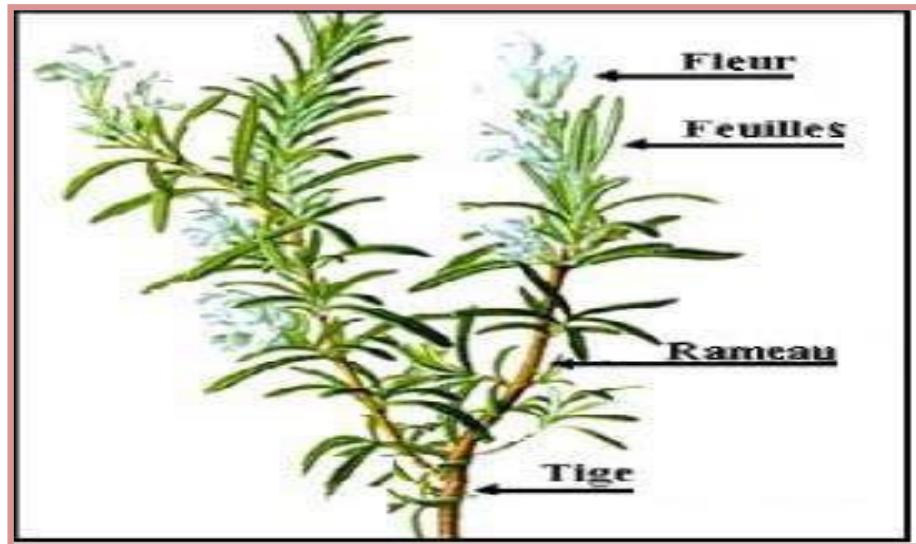


Figure 2:Tige principale et rameau Feuillé à fleurs du Romarin.

- **Autres appellations**

En Algérie, Maroc et Tunisie : azir, barkella, haselban, Aklil, iklil ljabal, klile [9]

- En France : Herbe-aux-courounnes, rosée de mer, rose marine, romarin des Troubadours, bouquet de la vierge [10] [11]
- Allemand: Folia Anthos, Folia Rorismarini, Encensier, Rosemary (Angl.), Rosmarinblätter, Krankrautblätter, Kranzenkrautblätter, Rosmaren [10] [11].

IV. Systématique botanique de la plante

La systématique botanique est pour un chercheur la carte d'identification de la plante et sans cette dernière, il est très difficile d'entamer un travail de recherche. On peut résumer la systématique botanique de la plante comme suit :

- **Règne** : Plantes
- **Embranchement** : Spermaphytes
- **Classe** : Dicotylédones
- **Ordre** : Lamiales (Labiales)
- **Famille** : Lamiacées
- **Genre** : Rosmarinus
- **Espèce** : *Rosmarinus officinalis*. [12]



Figure 3 : Aspects morphologiques du romarin

V. Répartition géographique

Plante indigène poussant spontanément dans toute l'Algérie,[13] le *Rosmarinus officinalis* est originaire du bassin méditerranéen .[14] Commun dans les maquis, les garrigues et les forêts claires, il est sub-spontané en plusieurs endroits privilégiant un sol calcaire, de faible altitude, ensoleillé et modérément sec. [15]

VI. Récolte

De manière générale, la récolte d'une plante est réalisée quand les principes actifs sont à leur maximum, afin de pouvoir compter sur des effets utiles et constants. Les feuilles et tiges herbacées sont récoltées lorsque la fleur commence à se développer, 12 à 18 mois après plantation. Les feuilles se récoltent toute l'année mais sont plus parfumées l'été. Il faut donc les cueillir à cette période. La récolte se fait par temps chaud et sec soit deux ou trois heures après le lever du soleil quand la rosée s'est dissipée.

Quant aux fleurs et sommités fleuries (partie supérieure du végétal), elles sont récoltées au même moment de la journée que les feuilles quand les fleurs commencent à s'épanouir. L'odeur résidant principalement dans le calice, celui-ci doit être pris délicatement et séché. La récolte des sommités fleuries a lieu au mois de juillet. La récolte des parties aériennes en fleur se fait soit à la machine pour les cultures de Romarin soit à la serpette (manuellement) pour les parcelles de romarin sauvage.

La plante rapidement séchée est passée au crible afin de n'obtenir plus que des feuilles et des fleurs. Afin de ne pas abîmer les plantes sauvages, les récoltes seront modestes. Pour le séchage : - feuilles et tiges herbacées : étalées sur des châssis de toile à larges mailles ou sur de la paille bien sèche, et séchées dans une pièce exposée aux rayons du soleil. Il faut les brasser régulièrement afin que l'air pénètre uniformément. A conserver dans une pièce non humide. Les feuilles séchées sont ensuite séparées des tiges.

Fleurs et sommités fleuris : espacées sur des claies garnies de papier, remuées de temps en temps, dans une pièce ensoleillée ou à l'étuve. Une fois sec, conserver le Romarin dans des bocaux ou boîtes garnis de papier et bouchés ou en petites bottes enveloppées dans du papier et gardées au sec. Conservation : environ un an.

VII. Utilisations de *Rosmarinus officinalis*

➤ Usages en thérapeutique

1. Phytothérapie (plante entière ou extrait)

L'Agence du médicament (ancien nom de l'actuelle Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé : ANSM) revendique en 1998, pour les sommités fleuris et les feuilles de Romarin, les indications thérapeutiques suivantes: traditionnellement utilisés par voie orale dans le traitement symptomatique de troubles digestifs tels que : ballonnement épigastrique, lenteur à la digestion, éructations, flatulence ; pour faciliter les fonctions d'élimination urinaire et digestive ; comme cholérétique ou cholagogue. Le Romarin, en usage local, a deux indications : il est traditionnellement utilisé en cas de rhume et de nez bouché et en bain de bouche pour l'hygiène buccale. Lors de la constitution d'un dossier "abrégé" d'AMM (poudre, feuille pour tisane, extrait aqueux et extraits hydro alcooliques quel qu'en soit le titre), aucune évaluation toxicologique n'est demandée. [16] [17]

La monographie Allemande notifie que la feuille de Romarin est utilisée par voie orale dans les troubles dyspeptiques (à la posologie de 4 à 6 grammes par jour), et par voie locale, comme thérapie de soutien des affections rhumatismales et des problèmes circulatoires (à la posologie de 50 grammes pour un bain). [16] Le Romarin peut s'utiliser de différentes manières en raison de la solubilité de ses principes actifs dans l'eau, dans l'alcool, dans l'huile et dans l'acide acétique du vinaigre. [18]

2. Usage sur la sphère abdominale

La feuille de Romarin, par sa teneur en HE, est utilisée comme stomachique (= favorise la digestion) et carminatif (= élimine la formation de gaz intestinaux) dans les ballonnements, les troubles digestifs, les flatulences ainsi que pour la stimulation des sécrétions gastriques et de l'appétit. Rare en Allemagne mais plus répandue en France, l'utilisation des feuilles de Romarin comme cholérétique et cholagogue est principalement due aux "principes amers".

Après de multiples expérimentations, cette activité partielle a été vérifiée chez l'animal où il a été montré une diminution de l'hépatotoxicité de toxiques comme l'alcool ou le tétrachlorure de carbone. [17]

Pour soigner les nausées d'origine hépatique, la plante fraîche peut être utilisée soit en décoction (1/2 cuillère à café par tasse, à boire avant chaque repas) soit broyée et macérée un mois dans du vinaigre de cidre (prendre 1/2 cuillère à café après filtration). La plante séchée (de l'année) peut être employée à raison d'1/4 de cuillère à café en infusion dans une tasse. [18]

Afin d'activer la digestion, une macération dans deux fois son volume d'huile d'olive (de première pression à froid) filtrée un mois après, peut se prendre à la petite cuillère. [18]

Le Romarin tonifie le foie. Un à deux petits verres de vin médicinal de Romarin peut être pris chaque jour pour fortifier le foie. Pour préparer ce vin, il faut disposer au fond d'une cruche quatre cuillères à soupe de feuilles sèches, coupés menu ou trois ou quatre rameaux de Romarin frais ; verser une bouteille de bon vin blanc dessus et laisser macérer huit jours puis filtrer. Pour aider à digérer, le Romarin peut être consommé en tisane (une cuillerée à café de feuilles de Romarin recouverte d'eau bouillante, faire infuser 10 minutes couvert puis filtrer) à raison d'une tasse avant ou après chacun des principaux repas. [19]

Grâce à son effet tonifiant sur le foie et son action stimulante sur la fonction biliaire, le Romarin est très apprécié dans la paresse d'estomac, l'inflammation de la vésicule biliaire et la congestion des foies accompagnés de crises douloureuses. Il s'utilise par voie interne soit sous forme d'infusion des sommités fleuries (20 à 30 grammes par litre d'eau bouillante) soit de vin (macération de 30 à 60g par litre de bon vin, pendant 3 jours) à la posologie de deux ou trois verres par jour [20].

Les feuilles de Romarin en infusion ont une action antispasmodique. Elles ont aussi un effet diurétique en augmentant le volume des urines et en facilitant l'évacuation des toxines par les reins. [21]

3. Usage dans le traitement des blessures

Les feuilles séchées entières ou coupées de Romarin sous forme liquide ou semi-solide sont traditionnellement utilisées pour la gestion et le traitement des blessures. Le Romarin réduit l'inflammation et améliore la contraction des plaies, la ré-épithérialisation et la régénération du tissu de granulation, l'angiogenèse et le dépôt de collagène. Les preuves cliniques sont issues d'études réalisées sur les animaux et d'études de cas. Le produit commercial est Herbor® (extrait de Romarin). [22]

La feuille est traditionnellement employée en compresses afin d'éviter le retard de cicatrisation (et l'améliore). L'infusion de Romarin permet le nettoyage des plaies. [21] La teinture de Romarin (80 g de plante macérée dans 1L d'alcool à 90% vol pendant un mois) peut être utile en cas de maux de dents. Elle est à utiliser en bain de bouche, en gardant le liquide le plus longtemps possible sur la dent malade. [20]

L'efficacité des préparations à base de plantes chez les sujets atteints de gingivite, maladie parodontale très répandue résultant d'une infection microbienne et d'une inflammation subséquente, a été rapportée dans certaines études. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'efficacité d'un bain de bouche contenant des extraits hydroalcooliques de *Zingiber officinale*, *Rosmarinus officinalis* et *Calendula officinalis* (5% v/p) comparativement aux bains de bouche à la chlorhexidine et au placebo chez les sujets atteints de gingivite. Des améliorations significatives au niveau de toutes les mesures d'efficacité évaluées ont été constatées dans les groupes "de bains de bouche à base de plusieurs plantes" et "chlorhexidine".

Cependant, les mesures sont restées statistiquement inchangées dans le groupe placebo. Le bain de bouche à base de plantes est sûr et aucune réaction défavorable, ni aucun abandon n'ont été rapportés au cours de l'étude. Le bain de bouche contenant des extraits hydroalcooliques de *Z. officinalis*, *R. officinalis* et *C. officinalis* (5%) est efficace dans le traitement de la gingivite et son efficacité est comparable à celle du bain de bouche chlorhexidine. [23]

4. Usage dans les pathologies rhumatismales

La feuille de Romarin est utilisée, par voie externe, sous forme d'huile, de pommade, de liniment, comme additif de bain, en tant que traitement complémentaire des pathologies rhumatismales. Pour utiliser le Romarin dans le bain, 50 g de feuilles sont mélangés à 1L

d'eau, faire bouillir puis couvrir et laisser reposer 15 à 30 minutes ; ajouter au bain après filtration. [17] Afin de diminuer la sensation de douleur, l'infusion des feuilles de Romarin peut être prise. [21]

La teinture de Romarin peut également être utilisée en frictions. [20]

Les patients souffrant de pathologies inflammatoires auto-immunes, d'arthrose ou de polyarthrite rhumatoïde nécessitent un traitement à long terme pour gérer leur douleur. Les AINS, y compris les coxibs, n'étant pas sans effets secondaires, la recherche s'est tournée vers d'autres alternatives. Une préparation anti-inflammatoire consistant en une combinaison d'acides rho iso-alpha du houblon, d'extrait de Romarin et d'acide oléanolique, le NG440, a été testée dans une étude de Minich et al.. Chacun de ces ingrédients a montré une activité inhibitrice des PGE2, in vitro. Le NG440 est sans danger pour les animaux (à des doses ≤ 250 mg/kg/jour, pendant 21 jours) et pour l'Homme. Le NG440 diminue de 50% la douleur chez les patients arthrosiques. Il réduit les cotations de la douleur (mesurée par l'EVA (Echelle Visuelle Analogique)) chez les patients souffrant d'un inconfort articulaire (essai multicentrique). NG440 serait une alternative aux AINS sûre et efficace dans le traitement de certaines affections où les coxibs sont traditionnellement utilisés. [24]

Un autre essai d'observation ouvert de 8 semaines a étudié l'efficacité de Meta050 (une association brevetée standardisée d'acides iso-alpha réduits du houblon, un extrait de Romarin et l'acide oléanolique) sur la douleur chez les patients souffrant de maladie rhumatismale. Les patients souffrant d'arthrose, de polyarthrite rhumatoïde et de fibromyalgie ont reçu 440 mg de Meta050 trois fois par jour pendant 4 semaines, puis 880 mg deux fois par jour pendant les 4 semaines suivantes chez la majorité des patients. La douleur et les symptômes spécifiques à l'état ont été évalués à l'aide d'une EVA, d'une échelle d'évaluation abrégée de l'impact de l'arthrose (AIMS2) et du questionnaire sur l'impact de la fibromyalgie. Cinquante-quatre sujets atteints de maladies rhumatismales ont terminé l'essai. Après traitement, une diminution statistiquement significative de la douleur de 50% et 40% a été observée chez les sujets arthritiques utilisant le VAS et AIMS2, respectivement. Une tendance à la baisse de la protéine C-réactive, un marqueur de l'inflammation, a également été observée chez les sujets qui présentaient une protéine C-réactive élevée. Aucun effet secondaire grave n'a été observé. Ces observations suggèrent que Meta050 à une dose de 440 mg trois fois par jour a un effet bénéfique sur la douleur chez les sujets arthritiques. [25]

5. Usage dans l'addiction

Le syndrome de sevrage peut influencer la motivation du patient à participer à des programmes de traitement de la toxicomanie. La prise en charge des symptômes peut améliorer le taux de réussite de ces programmes. Cette étude évalue l'efficacité d'un produit à base de plantes comme thérapie complémentaire pour l'atténuation du syndrome de sevrage dans l'abus d'opium.

Les patients du groupe de cas (méthadone + poudre de feuilles séchées de Romarin) ont présentés un syndrome de sevrage moins sévère que ceux du groupe témoin (méthadone + placebo) ; principalement au niveau de la douleur osseuse, la transpiration et l'insomnie. Cette étude a montré que le Romarin **peut** être utilisé comme médicament complémentaire facultatif pour le traitement du syndrome de sevrage pendant les programmes de traitement de la dépendance à l'opium et éventuellement la dépendance à d'autres opioïdes. [26]

6. Usage en tant que stimulant

Cérébral : le Romarin améliore la mémoire et la concentration en stimulant la circulation cérébrale. Il soulage les migraines (en infusion, 1 cuillère à café par tasse, 4 fois par jour) ainsi que les céphalées (en infusion, 2 g par tasse, toutes les 3h). L'infusion frictionnée sur le cuir chevelu stimule son irrigation ce qui favorise la poussée des cheveux. [27]

Exemple de mélange stimulant la mémoire : en saison de production, mélanger 20 g de feuilles de Romarin, 10 g de Mélisse et 10 g de Basilic (plantes fraîches) dans un litre d'eau pure pour en faire une décoction rapide à feu doux. Une demi-dose (plantes sèches) sera utilisée en infusion en hiver. Quatre tasses par jour au minimum seront à consommer froid ou chaud, entre les repas. La décoction peut se conserver 48H au réfrigérateur. Ce mélange de plantes favorise la circulation cérébrale, diminue la tension des muscles striés, favorisant la concentration et la mémoire ; calme le système nerveux et favorise la digestion. [18]

Le Romarin est une plante qui réchauffe : il aide à combattre les refroidissements et leurs conséquences (sinusites, rhumes, céphalées). Dans ce cas, la prise d'un ou deux verres par jour de vin chaud à base de Romarin est préconisée (mettre une cuillère à soupe de feuilles sèches ou 2 brins frais de Romarin dans un quart de litre de vin rouge corsé porté à ébullition ; faire frémir 5 minutes puis laisser infuser 5 minutes avant de le passer). Afin de fortifier la mémoire, la prise d'un ou deux verres de vin médicinal à base de vin blanc (cf. VI.1.1.1.) est recommandée. [19]

Psychique : le Romarin a des propriétés stimulantes et légèrement antidépressives ce qui explique qu'il soit apprécié par les personnes fatiguées et surmenées. [27]

7. Usage dans l'insuffisance circulatoire

Le Romarin est utilisé en usage externe pour ses propriétés hypertensives dans les évanouissements liés à une insuffisance circulatoire, chez les personnes anémiques, fatiguées ou hypotendues de façon chronique. [21] Les feuilles de Romarin (50 g sous 1L d'eau versé dans le bain) utilisées dans le bain améliorent la circulation et la fluidité sanguine. Elles servent donc dans les troubles circulatoires, en usage externe. [28] Elles peuvent également être utilisées sous forme de pommades, huiles ou liniments. [17]

8. Usage comme fortifiant/tonique

Dans les états de stress prolongé ou de maladies chroniques, le Romarin accélère la convalescence (2 ml de teinture avec de l'eau, 2 fois par jour). Il est très efficace dans le traitement de l'asthénie et stimule les glandes surrénales. Le Romarin est un tonifiant du système cardiaque ainsi que du corps dans son ensemble, il est donc utile aux personnes anémiques et convalescentes. [21] Le Romarin, consommé par voie orale à raison de deux ou trois verres par jour, est très tonique que ce soit en infusion (20 à 30 g de sommités fleuries par litre d'eau bouillante) ou en vin obtenu par macération de 30 à 60 g de sommités fleuries par litre de bon vin, pendant 3 jours. [20]

9. Usage comme antioxydant

Les flavonoïdes et les diterpènes du Romarin lui confèrent des propriétés antioxydants ce qui lui permet de réduire l'action des radicaux libres. [20]

Le diabète de type 1 est un trouble endocrinien majeur, affectant environ 5% de la population mondiale. Il ne conduit pas seulement à l'hyperglycémie, mais provoque également de nombreuses complications, et de nombreuses études ont démontré que le stress oxydatif contribue à ces complications.

Dans ce contexte, l'utilisation des antioxydants naturels, encore plus à long terme, a suscité un grand intérêt. Parmi eux, *Rosmarinus officinalis* est l'une des espèces avec l'activité antioxydant la plus élevée.

L'objectif était d'évaluer l'effet d'un additif spécial contenant de l'extrait de Romarin, de la vitamine E et des acides gras polyinsaturés ajoutés dans la viande au sein d'une

alimentation standard. Les résultats ont montré des différences claires entre les enfants diabétiques (type 1) traités et non traités et certains des métabolites associés ont pu être identifiés. Néanmoins, c'est un point de départ encourageant pour appliquer d'autres technologies avec des capacités d'élucidation plus élevées. [29]

10. Usage comme photoprotecteur

Le rayonnement ultraviolet absorbé par l'épiderme est la principale cause de divers troubles cutanés, y compris le photovieillissement et les cancers de la peau.

Bien que les écrans solaires topiques puissent offrir une protection appropriée de la peau, les compléments alimentaires à base de végétaux peuvent contribuer de manière significative à la protection de la santé de la peau tout au long de la vie.

Une combinaison d'extraits de bioflavonoïdes de Romarin et d'agrumes a été utilisée pour inhiber les effets nocifs des rayons UV sur les kératinocytes humains et chez des volontaires humains après administration orale. La survie des kératinocytes après exposition au rayonnement UVB était plus élevée dans les tests utilisant la combinaison d'extraits que dans ceux réalisés avec des extraits appliqués séparément. Ce qui indiquerait un effet synergique.

La consommation quotidienne orale de 250 mg de la combinaison par des volontaires humains a conduit à une augmentation significative de la dose minimale érythémateuse après huit semaines (34%). Une protection plus forte a été obtenue après 12 semaines (56%).

La combinaison de flavonoïdes d'agrumes et de polyphénols et de diterpènes de Romarin peut donc être considérée comme valable pour la photo protection par voie orale. [30]

11. Usage divers

Le Romarin en combustion dégage une fumée qui rend plus joyeux, désinfecte l'air ambiant et stimule la mémoire (c'est le cas de toutes les formes de Romarin). [18]

Les feuilles de Romarin, en compresses, sont traditionnellement utilisées afin de traiter l'eczéma et plus généralement comme insecticide. [17] Afin de soulager les femmes de leurs pertes blanches, les feuilles et fleurs de Romarin peuvent être prises régulièrement en tisane. [19]

La plante fraîche utilisée en décoction et le vinaigre de Romarin soulagent la toux liée à une grippe, les maux de tête ainsi que les crampes menstruelles. Ces deux derniers et les

sciatiques peuvent être soulagés par l'huile de Romarin (feuilles macérées dans l'huile d'olive) appliquée en friction.

Le vinaigre médicinal, plus pénétrant, est plus efficace sur les douleurs aiguës mais l'huile agit plus longtemps en restant plus longuement à la surface. [18]

➤ En Industrie cosmétique et parfumerie

Au XIV^e siècle l'essence de Romarin servait à la préparation de la très célèbre eau de Cologne de la reine de Hongrie. Aujourd'hui elle rentre dans la composition des produits de beauté, de savonnerie, détergents, crèmes et la plupart des eaux de Cologne : le taux d'utilisation maximum est rapporté à 1% dans la dernière catégorie [31].

L'essence est obtenue par la distillation des branches, elle contient notamment du bornéol, du cinéol (ou eucalyptol), du camphène et du pinène. Le romarin entre dans la composition de parfums surtout masculins, hespéridés aromatiques (eaux de Cologne), boisés et fougères [32].

Le romarin contient de très bonnes quantités de vitamine A. la vitamine A est connue pour avoir des propriétés antioxydantes. Elle est également nécessaire pour maintenir les muqueuses et la peau en bonne santé. Les feuilles de romarin fraîches sont une bonne source de vitamine C. [33]

➤ En Industrie agro-alimentaire

Les extraits végétaux de romarin présentent un pouvoir antioxydant important et peuvent être appliqués à la conservation des aliments et des huiles lipidiques [31]. [34] ces propriétés sont dues aux acides polypliénoliques (rosmarinique, caféïque) [34]; [35].

Les deux, l'épice et l'huile sont largement utilisés en alimentation, l'épice est utilisé dans les boissons alcoolisées, les aliments cuits, viande et produits de viande, condiment et assaisonnement, les aliments industriels, casse-croûte, sauces et autres, avec le niveau maximum utilisé est d'environ 0.41% (4.098 ppm) dans les aliments cuits. L'huile est utilisée dans les boissons alcoolisées et non, les desserts glacés, confiseries, aliments cuits, gélatines et pouding, viande et produits de viande, condiments et assaisonnement, entre autres, avec le niveau maximum utilisé est d'environ 0.003 % (26.2 ppm) [31].

Il est également une très bonne source de fer, de calcium et de vitamine B6. Il est généralement préparé à partir de la plante entière séchée ou à partir d'extraits en poudre, tandis que les infusions sont préparées à partir de feuilles fraîches ou séchées. [33]

VIII. Les activités biologiques

1. Activité antibactérienne :

Plusieurs auteurs ont rapporté que certains composés présents dans les extraits du romarin possèdent des propriétés antibactériennes [36]. Les effets des extraits aqueux et méthanoliques du romarin, sur la croissance du *Streptococcus sobrinus* et sur l'activité extracellulaire de l'enzyme glucosyltransférase ont été étudiés par [37]. Les résultats ont suggéré que les extraits du romarin peuvent empêcher les lésions de la carie en inhibant la croissance du *Streptococcus sobrinus* et peuvent aussi éliminer la plaque dentaire par la suppression de l'activité de la glucosyltransférase.

Afin de chercher des nouveaux antiseptiques et des agents antimicrobiens, une autre étude a été élaborée pour examiner les effets antimicrobiens des extraits et des composés isolés de certaines plantes, sur l'ensemble de 29 bactéries et levures avec pertinence dermatologique.

L'extrait obtenu par le dioxyde de carbone (CO₂) supercritique du romarin, a présenté un large spectre antimicrobien. La croissance de 28 sur 29 germes a été empêchée par cet extrait. L'examen du Carnosol, acide carnosique, acide ursolique, a montré que seule l'acide carnosique a une activité antibactérienne [38] [39] ont testé l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et des extraits méthanoliques du romarin, rassemblé de trois différentes régions et pendant quatre intervalles de l'année. Leurs résultats ont indiqué que les bactéries testées étaient sensibles aux huiles essentielles, partiellement aux extraits méthanoliques et que l'activité antimicrobienne des huiles essentielles diffèrent selon les variations régionales et saisonnières.

Les 2 souches de la levure *Saccharomyces* et la bactérie *Escherichia coli* se sont montrées sensibles vis-à-vis l'huile essentielle du romarin, tandis que la bactérie *Staphylococcus epidermidis* est résistante. L'huile a empêché également la réPLICATION du plasmide métabolique (F'lac) d'*Escherichia coli* [40].

Une autre étude a révélé que les quatre souches d'*Escherichia coli* O157:H7 sont sensibles à la totalité des huiles essentielles testées. L'activité d'huile essentielle du romarin était appréciable [41]. Les 3 extraits commerciaux du romarin étaient actifs contre onze bactéries portées par les aliments [42]. Le *vibrio parahaemolyticus* porté par les fruits de mer infectés est inhibé par la suspension du romarin à 30 C° [43].

La germination et la multiplication des cellules végétatives des spores bactériennes de *Clostridium botulinum* 62A et *Bacillus cereus* T est empêchée par l'ensemble des huiles essentielles testées, y compris celle du romarin. [44]

Les résultats d'**Abutbul** viennent suggérer l'utilisation du romarin comme traitement contre les maladies causées par le *Streptocoque iniae*, la bactérie qui cause des pertes économiques significatives dans l'industrie d'aquaculture dans le monde entier. [45]

2. Activité antifongique :

La biosynthèse de l'aflatoxine a été inhibée totalement par l'huile essentielle du romarin, à une concentration de 450 ppm. Selon les auteurs les résultats indiquent le potentiel de cette huile essentielle en tant que préservatif naturel contre *l'Aspergillus parasiticus*. [46]

En utilisant la technique standard de diffusion sur gélose [47] ont évalué l'activité biologique de 11 huiles essentielles y compris celle du romarin, les résultats ont montré que la plupart de ces huiles ont une activité inhibitrice modérée contre les cinq levures (*Candida albicans*, *Rhodotorula glutinis*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Yarrowia lypolitica*) examinées.

3. Activité antivirale :

L'évaluation de l'activité antivirale de l'extrait commercial du romarin, a indiqué qu'il ya une inhibition de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (HIV) aux concentrations très basses, qui ont également été cytotoxiques. Cependant, le carnosol a montré une activité anti-HIV à une concentration de 8μM qui n'était pas cytotoxique. [48]

4. Activité ovicide :

L'huile essentielle du romarin s'est avérée un agent ovicide contre trois espèces de moustique (*Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* et *Culex quinquefasciatus*). [49] De même **Gillij et al.**, ont trouvé que cette huile présente une activité répulsive contre le moustique

Aedes aegypti [50]. Dans le cadre de la protection des produits stockés **Papachristos et Stamopoulos (2002), (2004)** ont trouvé que les œufs, les larves et les pupes d'*Acanthoscelides obtectus* sont sensibles aux vapeurs des huiles essentielles du romarin. [51] ; [52].

5. Activité anti-oxydante :

L'activité anti-oxydante du romarin est connue depuis environ 30 années. [53] En raison de ses propriétés anti-oxydantes, le romarin est largement accepté en tant qu'une des épices qui a l'activité anti-oxydante la plus élevée. [54]

22 volontaires ont inhalé l'arôme des huiles essentielles de la lavande et du romarin Pendant 5 minutes, par la suite les salives ont été rassemblées pour mesurer l'activité antiradicalaire salivaire en utilisant le test au DPPH, ainsi que les variations dans les taux des substances actifs salivaires (cortisol, immunoglobuline A sécrétoire (IgAs), et α -amylase). Les valeurs de l'activité anti-radicalaire salivaire ont été augmentées, tandis que les taux du cortisol se sont diminués et aucun changement crucial n'a été noté pour les IgAs et l' α -amylase. Les résultats ont montré une corrélation inverse significative entre les valeurs de l'activité anti-radicalaire et les taux de cortisol pour chaque concentration de stimulation du romarin. [55]

Dans une autre étude les propriétés anti-oxydantes et anti-radicalaires de 11 huiles essentielles, ont été examinées au moyen du test de blanchissement du β -carotène, le test au DPPH et l'analyse photochimioluminescence (PCL). Les résultats ont montré que l'huile essentielle du romarin était parmi les huiles qui ont une activité importante. [47]

La comparaison *in vitro* de l'activité anti-oxydante d'huile essentielle du romarin avec celles de ses principaux composants (1,8-cinéole, α - pinène et β - pinène) au moyen de l'essai au DPPH et l'essai de blanchissement du β - carotène, a montré que l'huile essentielle était plus active que ses composants dans les deux modèles d'essai. [54]

Sur la base des observations **Gladine et ses collaborateurs** ont conclue que les extraits des plantes riches en polyphénols choisis pour l'expérience, en particulier le romarin pourraient être des nouvelles sources d'antioxydants chez les animaux rendus extrêmement sensibles à la lipoperoxydation, par le biais d'un régime alimentaire riche en acides gras n-3 polyinsaturés et qu'aucune corrélation entre la capacité anti-oxydante *in vitro* et *in vivo* de ces extraits. [56]

Divers modèles d'essai expérimentaux ont été employé pour la caractérisation des propriétés anti-oxydantes des extraits aqueux, de quatre herbes appartenant à la famille de Lamiacée : *Origanum vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* et *Thymus vulgaris*. Les extraits ont montré des degrés variables d'activité dans tous les essais utilisés. [57]

Plusieurs auteurs ont étudié l'utilisation des extraits du romarin comme antioxydants pour conserver les produits à base de viande : (**Nassu et al., 2003**) ; (**Balentine et al., 2006**) ; (**Fernandez-Lopez et al., 2005**) ; (**Sebranek et al., 2005**) et les huiles végétales: (**Nogala-Kalucka et al., 2005**) ; (**Samotyja et al., 2007**). Les résultats obtenus font toujours l'objet de l'intéressante activité anti-oxydante de cette plante. [53]; [42]; [58]; [59] ; [60] ; [61].

6. Effet anti-carcinogène :

Grâce à certains composants (carnosol, rosmarinidiphénol, rosmanol et l'acide rosmarinique), le romarin est considéré comme une thérapie contre le cancer. [62]

L'étude élaborée par (**Singletary, 1996 a**) a démontré que l'extrait commercial du romarin et le carnosol sont des inhibiteurs des tumeurs mammaires, provoquées par le dimethylbenz(a)anthracène (DMBA) chez les rats. [63]

Slamenova et al., (2002) ont mentionné que l'exposition des cellules traitées par deux types d'oxydants (le bleu de Méthylène excité par la lumière visible, et le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)), aux différentes concentrations de l'extrait éthanolique du romarin dilué dans le milieu de culture, a comme résultat une réduction de l'activité génotoxique de ces oxydants. [64]

De même l'effet anti-carcinogène été étudié par **Visanji et ses collaborateurs (2006)**. Ces auteurs ont constaté que le traitement des cellules de Caco-2 (des cellules issues d'un cancer du colon), par le carnosol et l'acide carnosique a empêché l'incorporation de la thymidine-H3 d'une manière dépendante de la dose. Cet effet a été associé par l'accumulation des cellules traitées dans la phase G2 / M du cycle cellulaire. [65]

Le carnosol s'est avéré exercer son effet après pro-métaphase, tandis que l'acide carnosique a arrêté la multiplication des cellules avant la pro-métaphase.

7. Effet anti-acétylcholinestérase :

Des extraits aqueux et méthanoliques de 11 plantes utilisés dans la médecine traditionnelle Danoise pour l'amélioration de la mémoire, ont été examinés pour évaluer leur activité inhibitrice d'acétylcholinestérase en utilisant la méthode colorimétrique d'Ellman. L'extrait méthanolique du romarin a montré une inhibition modérée (17 %) de l'enzyme à une concentration de 0.1 mg/ml. [66]

L'activité anti-radicalaire, anti-oxydante et anti-acétylcholinestérase des huiles essentielles, des extraits d'éthanol et de l'eau bouillante de cinq plantes aromatiques sont évaluées. Toutes les plantes ont montré une activité anti-acétylcholinestérase modérée et la meilleure activité inhibitrice a été montrée par l'huile essentielle du romarin. [67]

L'huile essentielle, les extraits de : l'éther de pétrole ; acétate d'éthyle ; chloroforme ; méthanol du romarin et l'acide rosmarinique ont été examinés *in vitro* à des concentrations de 0.2, 0.5, et 1 mg/ml pour évaluer leurs activités inhibitrices de l'acétylcholinestérase et la butyrylcholinestérase. L'inhibition des deux enzymes était non significative aux concentrations 0.2 et 0.5 mg/ml. A la concentration 1 mg/ml la butyrylcholinestérase a été inhibée respectivement par l'acide rosmarinique, l'extrait méthanolique, l'huile essentielle et l'extrait d'éther de pétrole, tandis que l'acétylcholinestérase a été inhibée seulement par l'huile essentielle du romarin. [68]

8. Effet anti -hyperglycémiant :

Les observations après l'administration orale de différentes doses de l'extrait éthanolique du romarin, à 3 groupes de lapins (lapins ayant une glycémie normale, lapins ayant une hyperglycémie provoquée par l'administration orale du glucose, lapins diabétiques d'alloxane) ont clairement montré que cet extrait exerce une activité hypoglycémiant et anti-hyperglycémiant remarquable à une dose de 200 mg /kg. [69]

9. Effet anti-hépatotoxique :

De nombreuses études ont été réalisées pour étudier l'effet anti-hépatotoxique du romarin. Le travail de **Sotelo-Félix et al., (2002)** a été concentré pour l'évaluation de l'efficacité de l'extrait méthanolique du romarin pour normaliser certains paramètres histologiques et biochimiques du foie, après l'ingestion d'un hépatotoxine le tétrachlorure de carbone (CCl₄). Les résultats ont indiqué que cet extrait a empêché la peroxydation lipidique,

l'inflammation, la nécrose, normalisé les taux de la bilirubine, le glycogène et l'activité de lalanine aminotransférase et enfin il a augmenté l'activité du glutathion S-transférase (GST). [70]

De même, l'hépatotoxicité induite par l'Azathioprine (AZA) chez les rats, a été évaluée en surveillant la fonction du foie après l'administration orale des extraits aqueux de 3 plantes (*Hibiscus sabdariffa*, *Rosmarinus officinalis* et *Salvia officinalis*).

Les résultats ont montré une réduction des taux de lalanine aminotransférase, de l'aspartate aminotransférase, du malonaldehyde et la disparition de l'effet inhibiteur d'AZA sur les activités de la catalase (CAT), du glutathion (GSH) et du superoxyde dismutase (SOD). [71]

Des souris sont soumises à des rayonnements (γ) pour étudier l'effet radioprotecteur de l'extrait aqueux du romarin. Chez le groupe expérimental ils ont constaté une diminution de la peroxydation des lipides, accompagné d'une augmentation de la concentration de lGSH et que les variations des paramètres biochimiques (taux du glycogène, des protéines, de la phosphatase acide et alcaline, du Cholestérol) ont étaient peu significatives. Certaines valeurs ont regagnées presque la normale vers le 30ème jour, tandis que chez le groupe témoin les valeurs normales n'ont été jamais atteintes. [72]

Les résultats de l'étude élaborée par (Singletary, 1996b), a montré le potentiel de l'extrait diététique du romarin et du carnosol de stimuler *in vivo* les activités des enzymes du foie, la quinone réductase(QR) et le GST. [73]

10. Autres effets :

Les effets anti-nociceptifs de l'extrait éthanolique des pièces aériennes du romarin, ont été étudiés par **Gonzalez-Trujano et al., (2007)** en employant différents modèles expérimentaux de la douleur. La comparaison des résultats obtenus avec ceux du tramadol et de l'acide acétylsalicylique a montré que, les extraits possèdent une activité anti-nociceptive et anti-inflammatoire très importante, ce qui renforce l'utilisation médicinale traditionnelle de cette plante. L'extrait hydro-éthanolique du romarin a diminué les lésions ulcérvatrices produit par, l'indométhacine, l'éthanol et la réserpine chez les rats. [74]; [75]

Haloui et al., (2000) ont indiqué que les extraits aqueux du romarin ont une activité diurétique et un effet considérable sur l'excrétion urinaire d'eau et des électrolytes (Na⁺, K⁺ et Cl⁻), à une dose de 8%. [76]

1) Généralités

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires végétaux. Ils peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes (d'où la dénomination de métabolites secondaires). Par opposition aux métabolites primaires qui alimentent les grandes voies du métabolisme basal, mais ils sont essentiels dans l'interaction de la plante avec son environnement. Ces composés ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles. [77] La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés). [78] Avec plus de 8000 structures phénoliques identifiées. [77]

Les composés phénoliques participent activement aux interactions de la plante avec son environnement en jouant soit le rôle des signaux de reconnaissance entre les plantes (Allélopathie), entre les plantes et les symbioses, ou bien lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés, donc ces composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel. [78]

D'un point de vue appliqué, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve chez les plantes médicinales, alliées à leur difficulté de production. Chez l'homme, ces molécules traces jouent un rôle important en agissant directement sur la qualité nutritionnelle des fruits et légumes et leur impact sur la santé des consommateurs (effet antioxydant, effet protecteur contre l'apparition de certains cancers...). [78]

2) Définition des composés phénoliques

Les polyphénols (8000 composés connus) représentent un groupe de métabolites secondaires complexes, exclusivement synthétisés dans le règne végétal. Les composés phénoliques sont des dérivés aromatiques non azotés dont les cycles aromatiques sont issus du métabolisme de l'acide shikimique ou de celui d'un polyacétate .Les composés phénoliques sont divisés en plusieurs groupes. [79]

3) Classification

Les composés phénoliques regroupent un vaste ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique et un ou plusieurs groupes hydroxyle, en plus d'autres constituants. [80]

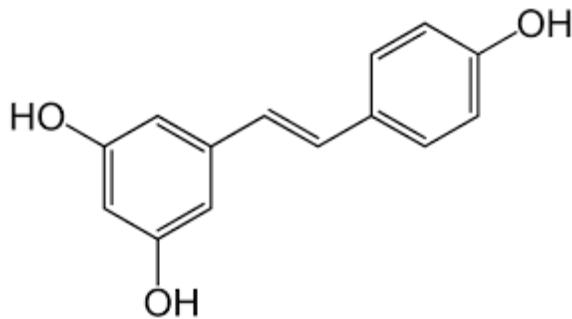


Figure 4: Structure de base des composés phénoliques

A- Les acides phénoliques

Les acides phénols, ou acides phénoliques, sont rares dans la nature. Ce sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ils présentent des propriétés biologiques intéressantes : anti-inflammatoires, antiseptiques urinaire, antiradicalaires, hépatoprotecteurs, immunostimulants. [81]

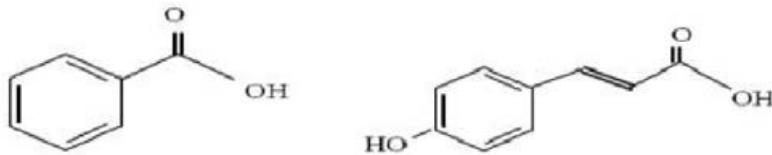
Ils se divisent en deux classes : les dérivés de l'acide benzoïque (les acides hydroxycinnamiques) et les dérivés de l'acide cinnamique (les acides hydroxybenzoïques). [82]

a- Les acides hydroxybenzoïques :

La teneur en acides hydroxybenzoïques dans les plantes est très faible, sauf exception de certains fruits rouges, radis noirs et oignons qui peuvent contenir jusqu'à plusieurs dizaines de milligrammes par kilogrammes de poids frais [83], les acides hydroxybenzoïques sont souvent des composants de structures complexe comme les tanins.

b- Les acides hydroxycinnamiques :

Les acides hydroxycinnamiques sont plus communs que les acides hydroxybenzoïques et sont constitués principalement des acides p-coumarique, caféique, férulique et sinapique. L'acide férulique est l'acide phénolique le plus abondant dans les céréales, notamment dans l'orge où il est présent sous forme Trans et liée. [85]



Acide benzoïque

Acide cinnamique

Figure 5: Structure des acides phénoliques

B- Les flavonoïdes

L'expression flavonoïde a été introduite en 1952 par Geissman et Hinreiner pour désigner les pigments ayant un squelette (C6-C3-C6), provenant du mot latin *flavus* qui signifie jaune.^[86] Les flavonoïdes sont responsables de la couleur variée des fleurs et des fruits, sont présents en concentrations élevées dans l'épiderme des feuilles et représentent une source importante d'antioxydants dans notre alimentation. ^[87]

La nature chimique des flavonoïdes dépend de leur classe structurale, de degré d'hydroxylation et de degré de polymérisation, des substitutions et des conjugaisons sur le cycle C c'est-à-dire la présence : de double liaison C2-C3, du groupe 3-O et la fonction 4-oxo. ^[88]

Structure : Tous les flavonoïdes possèdent la même structure de base (C6-C3-C6), ils contiennent quinze atomes de carbone dans leur structure de base : deux cycles aromatiques A et B à six atomes de carbones (**figure 6**) liés avec une unité de trois atomes de carbone qui peut ou non être une partie d'un troisième cycle C. ^[89]

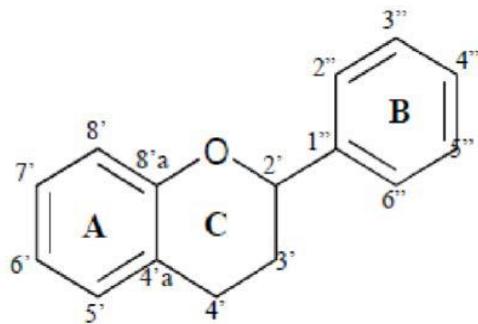


Figure 6: Structure de base des flavonoïdes.

C- Les coumarines

Les coumarines sont des composés phénoliques végétaux, portant un noyau benzopyrone dans leur structure, elles sont présentes en quantités plus faibles dans plusieurs plantes comme le mélilot, la sauge sclarée et lavande. On la trouve aussi dans le miel, le thé vert, etc... [90]

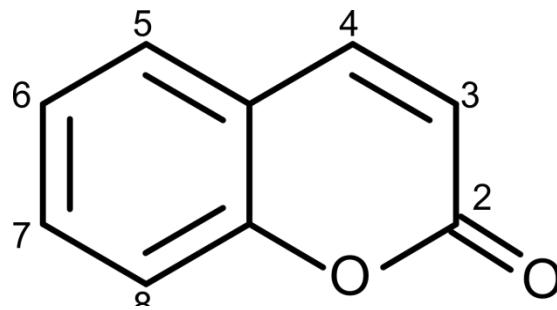


Figure 7: Structure de coumarine.

D- les Tanins

Les tannins sont des substances polyphénoliques de structure variées, ayant en commun la propriété de tanner la peau, c'est-à-dire de la rendre imputrescible. Ces substances ont en effet la propriété de se combiner aux protéines, ce qui explique leur pouvoir tannant.

Très répandus dans le règne végétal, ils peuvent exister dans divers organes, mais on note une accumulation plus particulièrement dans les tissus âgés ou d'origine pathologique. Ils sont localisés dans les vacuoles quelquefois combinés aux protéines et aux alcaloïdes. [91]

Structure : Sur le plan structural, les tanins sont divisés en deux groupes, tanins hydrolysables et tanins condensés. [92]

a- Tanins hydrolysables : Sont des hétéro polymères (figure 8) possédant un noyau central constitué d'un polyol, il s'agit souvent d'un D-glucose ; comme leur nom l'indique, ces substances s'hydrolysent facilement en milieux acides et alcalins ou sous l'action d'enzymes (telle que la tannase), pour donner des glucides et des acides phénoliques. [93]

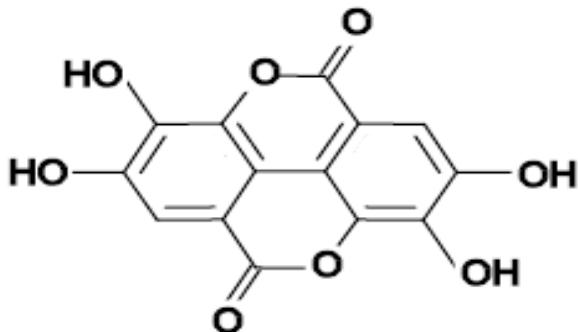


Figure 8: Structure des tanins hydrolysables.

b- Tanins condensés : les tanins

condensés ou proanthocyanidines sont des polymères d'unités flavanniques, le plus souvent liées entre elles par des liaisons C4-C8.

Les précurseurs sont des flavan-3ols (catéchine et épicatechine) et flavan-3,4 diols. Cette classe de tanins est la plus représentée dans le monde végétal, aussi bien chez les Angiospermes que les Gymnospermes. [94]

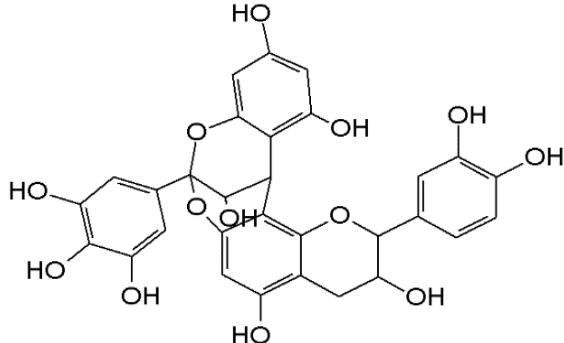


Figure 9 : Structure des tanins condensés

E- Les lignines

D'un point de vue chimique on peut définir la lignine comme un polymère tridimensionnel formé à partir de trois unités monomères phénoliques qui sont : l'alcool coniférylique, l'alcool sinapylique et l'alcool p-coumarylique.

Structure : Une des structures admises actuellement est celle proposée par Adler en 1977 (**figure 10**) [95]

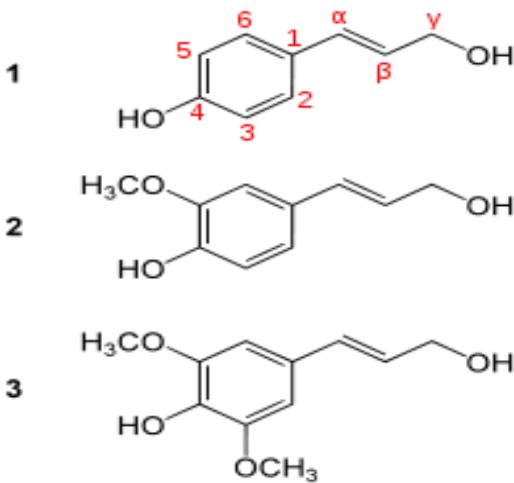


Figure 10: Structure de la lignine.

4) Activités biologiques

Les recherches récentes sur les polyphénols en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussées en raison de leurs diverses propriétés physiologiques. Ils sont doués d'activité antiallergique, anti-inflammatoire, hépato-protective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anti-carcinogénique, antimutagènes, anti-thrombotique, cardio-protective et, [96] ; [97] et notamment une activité antioxydante importante par la neutralisation et le piégeage des radicaux libres.

Tableau I.1: Activités biologiques de quelques composés phénoliques

Composés phénoliques	Activité biologique
Acides Phénols	Antifongique, anti-oxydante, antibactérienne.
Tanins	Effet stabilisant sur le collagène. antioxydant, anti-diarrhéique, effet antiseptique, effet vasoconstricteur.
Flavonoïdes	Anti-tumorale, anti-carcinogène, anti-inflammatoire, anti-oxydante, antiallergique, antiulcéreuse, antivirale, antimicrobienne, hypotenseur, diurétique.
Coumarines	Anticoagulante, anti-oxydante, protectrice vasculaire et antiœdèmeuse.
Anthocyanes	Protectrices capillaro-veineux, antioxydants.
Proauthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène, antioxydants, anti-tumoraux, antifongiques et anti-inflammatoires.

Tannins galliques et catéchiques	Anti-oxydantes
Lignanes	Anti-inflammatoires, analgésiques.

5) Rôle et intérêt des composés phénoliques :

5. 1 Rôles des composés phénoliques pour la plante

Les composés phénoliques interviennent dans un grand nombre de processus physiologiques chez la plante et dans les interactions avec leur environnement, leur structure leur conférant des fonctions très spécifiques. Par exemple la lignine est un composant essentiel des plantes qui permet leur maintien et la conduction de l'eau.

Les composés phénoliques contribuent également à la croissance et au développement de la plante par des actions diverses et variées. Ils interviennent par exemple dans le métabolisme et le transport de l'auxine et dans celui de l'éthylène.

Les flavonoïdes conditionnent même la formation des grains de pollen chez le pétunia. Par ailleurs les composés phénoliques peuvent avoir un rôle de signal, des flavonoïdes permettent par exemple la mise en place de la symbiose entre des Fabacées et des bactéries, ce qui permet à ces plantes de fixer directement l'azote atmosphérique. Ces composés interviennent également dans les interactions entre les plantes supérieures via des processus d'allélopathie (moyen de défense qu'une plante exerce contre une autre, par la production d'une molécule chimique. La molécule, libérée dans le sol, dans l'air ou dans l'eau, peut notamment tuer la plante concurrente «réceptrice», en empêchant sa germination ou ralentir sa croissance). Ils sont responsables de la coloration des fleurs. Chez le pétunia plus de 40 dérivées anthocyaniques ont été identifiés pour former la couleur violette. [98]

De plus les flavonoïdes ont un rôle de filtre contre le rayonnement UV, ce qui explique leur Localisation dans les tissus externes. Enfin les flavonoïdes comme les dérivées hydroxycinnamiques jouent un rôle important dans la résistance des plantes aux stress environnementaux. Lors de blessures ou d'attaques de pathogènes fongiques et bactériens, la synthèse de composés phénoliques est stimulée ou induite. Ces molécules, des phytoalexines, peuvent alors jouer un rôle de défense. La nature des composés synthétisés est caractéristique de l'espèce végétale, le pois produit par exemple de la pisantine (isoflavonoïde), le persil du psoralène (furanocoumarine). Issus du métabolisme secondaire des plantes, c'est-à-dire des composés qui sont synthétisés en dehors des voies métaboliques primordiales qui assurent

sont autosuffisance et donc sa survie. Les polyphénols ne sont donc pas synthétisés en priorité et leurs effets sont très complexes sur l'environnement de la plante. En effet, ces composés sont un moyen de lutte contre d'éventuels prédateurs ou compétiteurs. [98]

5.2 Les composés phénoliques et la santé humaine

La consommation d'aliments riches en polyphénols réduit le développement de nombreuses pathologies, telles que le cancer, l'ischémie cardiaque, l'athérosclérose et l'hypertension. Cela peut-être expliqué par le fait que ces composés ont la capacité de modifier de nombreux facteurs impliqués dans la genèse de ces maladies. [99]

Ces composés montrent des activités anticancéreuses, antivirales, antibactériennes, [100] Antiallergique, antiathérogène, antioxydant, anti-inflammatoire, anti-thrombotiques, cardioprotecteur et les effets vasodilatateurs. [101]

Leurs propriétés sont liées au fait qu'ils peuvent moduler l'activité de nombreuses protéines intracellulaires (les protéines kinases, les phospholipases, l'adénylate cyclase, les ATPases, les cyclo-oxygénases (COX), les NOS ou le cytochrome P450) et agir sur différents types cellulaires. [99]

6) Activité antioxydante des polyphénols

Les polyphénols occupent une grande place dans la recherche scientifique grâce à leurs propriétés antioxydantes efficaces, et leurs effets bénéfiques. Ces antioxydants naturels ont la capacité d'améliorer la qualité et la stabilité des aliments et peuvent également agir comme nutraceutiques de mettre fin à des réactions en chaîne des radicaux libres dans les systèmes biologiques.

Les mécanismes d'action antioxydante des polyphénols peuvent comprendre la suppression de la formation des ROS; le piégeage des ROS; et la surexpression ou la protection des systèmes de défenses antioxydantes. [103]

Le stress oxydant

1. Définition

Le stress oxydant peut être défini comme un déséquilibre entre les systèmes producteurs d'espèces radicalaires oxydantes et les systèmes de défense antioxydants au profit des premiers. Ceci implique la production d'espèces réactives de l'oxygène. [106]; [107].

Ce phénomène est associé à une libération massive de radicaux libres. [105]

2. Origine du stress

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques, car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable. Cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense. Dans les circonstances normales, la balance antioxydants /pro oxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé «stress oxydant ». [105]

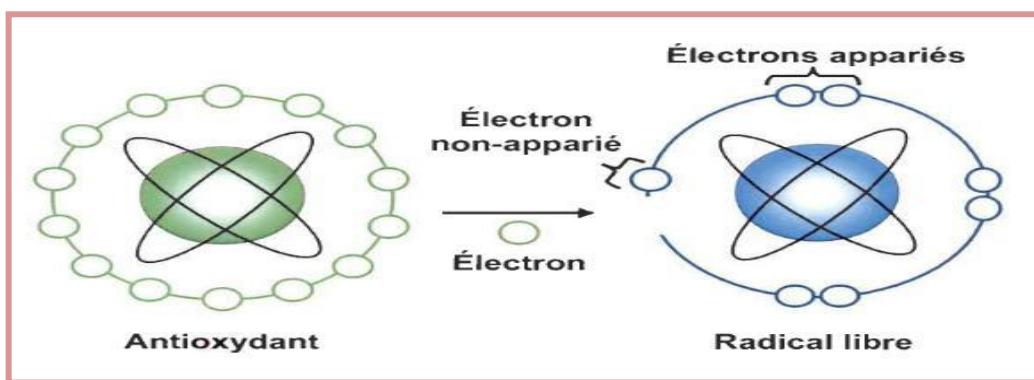


Figure 11: Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant.

3. Notion de radicaux libres

Un radical libre est une espèce, atome ou molécule, contenant un électron non apparié. Ce déséquilibre n'est que transitoire et il est comblé soit par l'acceptation d'un autre électron soit par le transfert de cet électron libre sur une autre molécule. Ces espèces radicalaires très instables et très réactives sont produites d'une manière continue au sein de notre organisme, dans le cadre de nombreux phénomènes biologiques. Par exemple, lors de la respiration cellulaire, l'oxygène moléculaire se transforme en diverses substances oxygénées, communément appelées radicaux libres de l'oxygène ou espèces réactives oxygénées (Reactive Oxygen Species: ROS).

Dans certaines situations, cette production augmente fortement, entraînant un stress oxydatif. Les rayons ultraviolets du soleil, d'autres radiations, la fumée de tabac et l'exercice excessif sont également des facteurs qui augmentent considérablement la présence des radicaux libres dans notre système. [105]

En raison de leur capacité à endommager les cellules, les tissus et les organes, les espèces réactives de l'oxygène sont impliquées dans un grand nombre de pathologies, tant aiguës que chroniques.

4. Conséquences du stress oxydant sur l'organisme

Le stress oxydant conduit à la production de molécules biologiques défaillantes voire cancéreuses et à la surexpression de certains gènes. De ce fait, il est à l'origine de très nombreuses maladies telles que la cataracte, la sclérose, le syndrome de détresse respiratoire aigu, [108] l'œdème pulmonaire ainsi que le vieillissement accéléré des tissus, [109] les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires. De plus, le stress oxydant entraîne des complications diabétiques au niveau macro ou micro-vasculaire ainsi qu'une augmentation de la résistance à l'insuline. [110] Les EOR seraient impliquées dans les maladies neurodégénératives, notamment la maladie d'Alzheimer [111]; [112] où la mort neuronale pourrait être liée à un phénomène d'apoptose impliquant les radicaux libres. La maladie de Parkinson serait quant à elle due à un dysfonctionnement mitochondrial et un défaut de l'élimination des protéines oxydées. [113] Enfin, le stress oxydant joue un rôle non négligeable dans la cancérogénèse. En effet, les radicaux libres interviennent dans l'activation des pro-carcinogènes en carcinogènes. Ces molécules carcinogènes créent des lésions de l'ADN, amplifient les signaux de prolifération et inhibent des gènes suppresseurs de tumeurs.

Les radicaux libres sont produits *in vivo* sous l'action de plusieurs systèmes biochimiques, mais également sous l'influence d'autres facteurs endogènes, notamment le stress intellectuel ou thermique. Des facteurs exogènes liés à l'environnement ou au mode de vie sont également à l'origine d'une augmentation du stress oxydant dans l'organisme. Parmi ces facteurs exogènes, on peut citer : l'exposition prolongée au soleil, aux rayons γ ou UV [114]; [115], la pollution et les gaz atmosphériques, le contact avec des agents cancérogènes (amiante), le tabagisme, la prise de médicaments, la pratique trop intensive ou mal gérée du sport, la consommation excessive d'alcool, [116] une alimentation déséquilibrée (carences en vitamines et oligo-éléments) ou encore les situations cliniques (chirurgie, transplantation).

5. Définition d'un antioxydant :

On désigne par antioxydant toute substance qui, lorsqu'elle est présente en faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat. [117]

6. Principaux antioxydants :

6.1 Les antioxydants endogènes :

La production physiologique d'ERO, est régulée par des systèmes de défense composés d'enzymes (SOD, CAT, hème oxygénase, peroxyrédoxine...), de molécules antioxydantes de petite taille (glutathion, acide urique, bilirubine, ubiquinone, ...) et de protéines (transferrine, ferritine, ...).

Enfin, un système secondaire de défense composé de phospholipases, d'ADN endonucléases, de ligases et de macroxyprotéinases empêche l'accumulation dans la cellule de lipides, d'ADN et de protéines oxydés et participe à l'élimination de leurs fragments toxiques. [118]

6.2 Les antioxydants exogènes :

Toutes ces défenses peuvent être renforcées par des apports exogènes en :

➤ **Médicaments:**

Ils constituent une source importante d'antioxydants. Actuellement, les classes thérapeutiques comme les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les antihyperlipoprotéinémiques, les béta-bloquants et autres antihypertenseurs ont été évalués pour leurs propriétés anti-oxydantes.

➤ **Antioxydants naturels :**

La vitamine C ou acide ascorbique : C'est un puissant réducteur. Il joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E.

La vitamine E ou tocophérol : Prévient la peroxydation des lipides membranaires *in vivo* en capturant les radicaux peroxyyles.

Le sélénum : Les effets bénéfiques de cet oligo-élément sur l'organisme ne sont connus que depuis un quart de siècle. Il neutralise les métaux toxiques (plomb, mercure). Il aurait aussi une action préventive sur certains cancers.

Le β -carotène : Outre l'activité pro vitaminique A, possède la capacité de capter l'oxygène singulet.

Les flavonoïdes : Les relations structure-activités anti-oxydantes des flavonoïdes et des composés phénoliques ont montré que l'activité anti-oxydante était déterminée par la position et le degré d'hydroxylation.

Les tanins : Ces tanins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation.

Les coumarines : Ils sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes.

Les phénols : Les acides phénoliques, comme l'acide rosmarinique, sont fortement antioxydants et anti-inflammatoires et peuvent avoir des propriétés antivirales. [117]

7. Les antioxydants du *Rosmarinus officinalis L.*

Divers extraits d'herbes pouvant être utilisées en tant qu'antioxydant naturel sont à l'étude à l'heure actuelle. Parmi ces extraits naturels qui sont susceptibles d'être utilisés industriellement figurent les extraits des herbes de Lamiaceae qui contiennent des niveaux élevés des antioxydants diététiques [119]; [120] ; [121]; [122], et le pouvoir antioxydant in vitro de ces herbes a été indiqué dans de nombreuses études [123] ; [124] ; [125].

Le romarin appartenant à cette famille, possède une activité anti-oxydante caractérisée par la capacité à inhiber les radicaux libres. [126] On dit que ses extraits sont très efficaces pour retarder l'oxydation des lipides et pour protéger les cellules vivantes des dommages causés par le stress oxydatif [127]; [128].

L'usage traditionnel de romarin comme épice, ainsi que les propriétés anti-oxydantes de ses feuilles ont poussé plusieurs groupes de recherche à étudier la composition de la plante et les constituants responsables de cette activité :

- La première approche pour l'utilisation des plantes aromatiques comme antioxydant est décrite par Chipault et al. en 1952.

- En 1955, Rac et Ostric ont utilisé l'extrait des feuilles du romarin comme antioxydant naturel [129] ; [130].
- En 1966, Briscon et al., ont isolé le carnosol dans le romarin et ils ont attribué l'activité anti-oxydante à ce principe actif.
- Dans les années soixante et soixante-dix, la plus part des travaux dans cet axe sont effectués par les chercheurs japonais, Siao et al., en 1976.
 - Fin des années soixante et soixante-dix, Chang et al. proposent un système d'extraction des antioxydants naturels de romarin et de soja. Une revue complète de ce sujet est publiée en 1985 par Kramer.
 - Dans les années quatre-vingt-dix, les recherches sont orientés vers [131] ; [132]; [133] ; [129]:
 - L'isolation de l'acide carnosique à partir du romarin et la synthèse des autres—diterpènes phénoliques ;
 - L'étude des différentes activités biologiques de cette fraction (diterpènes—phénoliques) (in système vivo ou vitro).

Les extraits de romarin contiennent plusieurs composés dont les effets antioxydants ont été montrés. Ces composés appartiennent essentiellement à la classe des acides phénoliques, des flavonoïdes, des diterpénoides

et triterpènes [134]. Les propriétés anti-oxydantes des extraits du romarin sont principalement dues à l'acide carnosique, à l'acide rosmarinique et au carnosol [129]. Selon Aruoma et al. (1992), l'activité anti-oxydante des extraits de romarin est due à plus de 90% à l'acide carnosique et au carnosol.

Les diterpènes phénoliques et les acides phénoliques comptent parmi les anti-oxydants hydrosolubles identifiés dans le romarin. [135] Ces composés se trouvent, en grande partie, comme aglycones des hétérosides, c'est-à-dire, liés chimiquement aux groupes hydroxyles des sucres, contenus dans la plante. [136] La liaison entre la partie glucidique et la partie aglycone se faisant par un atome d'oxygène, on dit que ces deux parties ont une liaison O-glycosidique et qu'on est en présence d'un O-hétéroside. L'hydrolyse des hétérosides redonne l'ose et la partie aglycone. [137] Les hétérosides phénoliques n'ont pas d'activité biologique, mais les aglycones libérés après hydrolyse sont des puissants antioxydants. [138]

L'industrie agroalimentaire a récemment découvert les puissantes propriétés anti-oxydantes du romarin. La plante pourrait en effet remplacer le BHT et le BHA, les deux antioxydants de synthèse utilisés pour la conservation des aliments, mais qui ont l'inconvénient de présenter un risque cancérogène. En effet, dans notre travail du master, [139] on a bien démontré que l'extrait du romarin purifié par l'acéate d'éthyle présente une activité anti-oxydante très proche du BHT.

8. Méthodes de tests des antioxydants

De nombreuses méthodes ont été développées pour évaluer l'activité antioxydante des extraits naturels. Ces méthodes différentes entre elles en termes de mécanismes de réaction, substrat et antioxydant, états des réactions et la forme dont sont exprimés les résultats. Une meilleure compréhension de ces méthodes contribue à l'interprétation correcte des résultats. [140] De nombreux facteurs entrent en jeu, en effet, la méthode choisie est fortement liée aux paramètres réactionnels: le solvant, le temps de réaction et le pH, etc. [141]

La plupart des méthodes sont basées sur l'utilisation de systèmes générant des radicaux très variés. Ce sont principalement des méthodes dites "d'inhibition" dans lesquelles une espèce chimique capable de générer des radicaux libres est utilisée avec une substance capable de détecter ces espèces. L'échantillon dont on souhaite mesurer le pouvoir antioxydant est capable d'inhiber la génération des radicaux.

Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation, il n'existe pas de méthode unique qui permettrait de refléter le profil antioxydant d'un échantillon. Les plus répandues sont: Piégeage du radical superoxyde (O_2^-), Piégeage du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2 , scavenging activity), de l'acide hypochloreux ($HOCl$), de l'hydroxyle (OH), le test par DPPH, le test ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), le test mesurant l'activité antioxydante au moyen de caroténoïdes, piégeage du ABTS (2,2'-azynobis-[3-ethyl benzothiazoline-6-sulfonic acid]), la réduction de fer: FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma),etc. Afin choisir la bonne méthode, il faut savoir ce que l'on va mesurer et évaluer.

➤ Test de réduction du radical 1,1-diphenyl 1,2-picrylhydrazyle (DPPH)

Le composé chimique 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyle (a,a-diphenyl-B-picrylhydrazyl) fut l'un des premiers radicaux libres les plus stables d'une couleur violette utilisé pour évaluer l'activité antioxydante. Par cette méthode on considère que l'activité antioxydante n'est autre que la capacité des antioxydants d'agir comme piégeur des radicaux

libres. Ils agissent en transférant un atome d'hydrogène ce qui conduit à la disparition du DPPH au cours de la réaction et à un changement de coloration dans in solution initiale. [142]

Ce test, largement utilisé, est rapide et facile à réaliser, il permet de comparer un grand nombre de composés. De plus, contrairement aux autres tests, les conditions utilisées (solvants organiques et faible température) évitent l'auto-oxydation des molécules testées. Les résultats peuvent être exprimés en pourcentage de réduction de DPPH, pour une concentration en antioxydant donnée et en un temps donné. L'EC₅₀ (concentration en antioxydant nécessaire pour réduire de 50% la concentration initiale en DPPH) calculée pour chaque antioxydant permet de les classer entre eux. Plus l'EC₅₀ est petite, plus la molécule est antioxydante. [143]

PARTIE EXPERIMENTALE

Matériels et méthodes

Notre travail a été réalisé au laboratoire de département des sciences biologiques du l'Université « Ahmed Zabana » Relizane, Algérie.

Le protocole de notre expérience est schématisé dans la figure suivante :

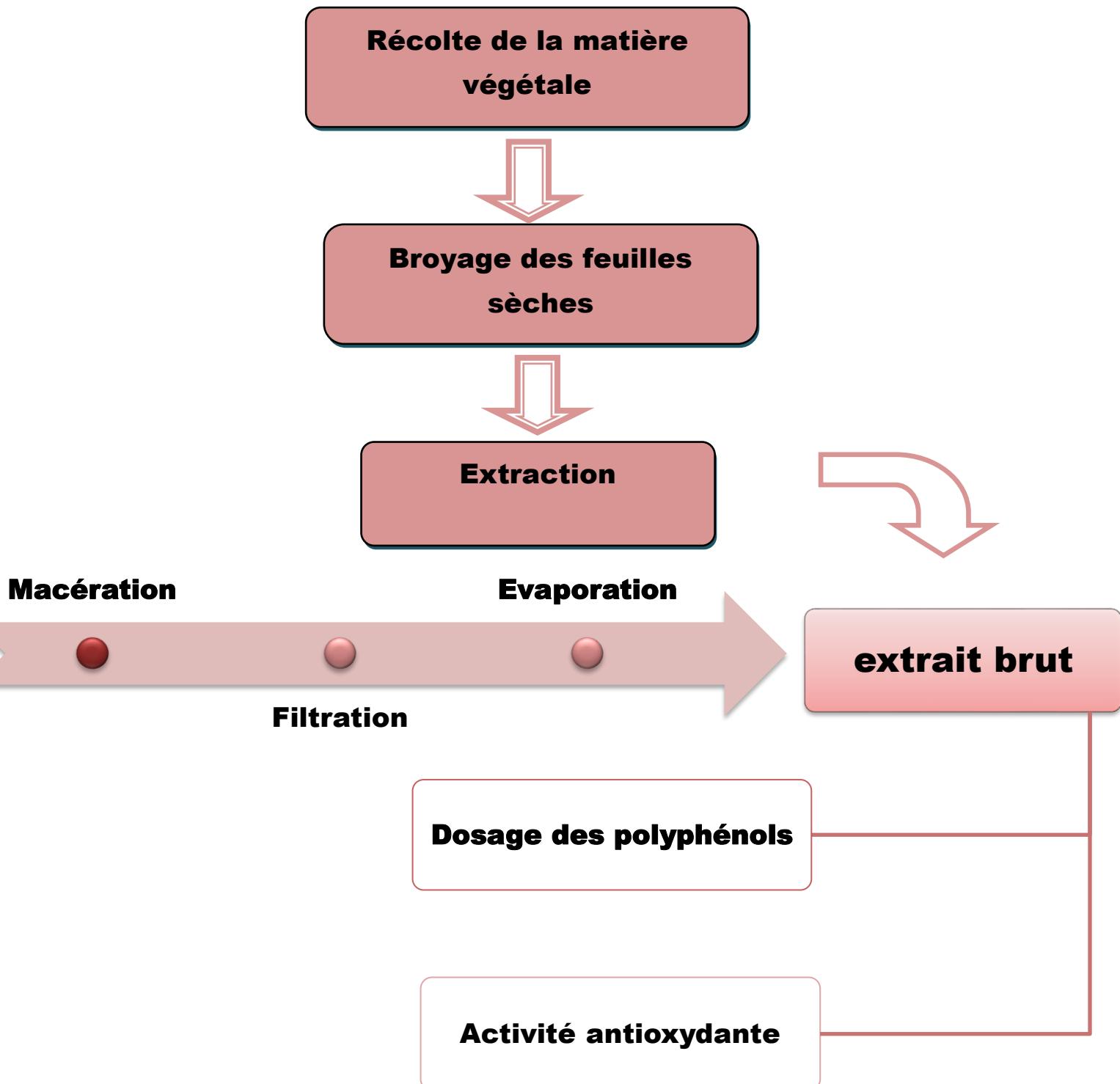


Figure 12: Protocole de l'étude expérimentale.

1. Matériels

1. 1 Matériel végétal

Notre étude est portée sur une espèce de plante de la famille des lamiacées (labiées) qui est *Rosmarinus officinalis L.*

La partie aérienne de *Rosmarinus officinalis* a été récoltée au mois de janvier 2024 dans la région d'Ouarizane wilaya de Relizane, loin de tout impact de pollution. Après la récolte, la partie aérienne de la plante a été lavée à l'eau courante afin de les débarrasser des poussières et autres particules. Puis la plante a été séchée à l'ombre dans un endroit sec et aéré, afin de préserver au maximum l'intégrité de leurs molécules pendant 1 mois. La plante a subi un traitement préliminaire, le broyage et le tamisage.



Figure 13 : Feuilles séchées de romarin



Figure 14: la poudre de romarin

1. 2 Appareils et réactifs chimique

Appareillage

- Spectrophotomètre UV-Visible
- Rotavapeur
- Agitateur magnétique
- Micro pipette
- Etuve
- Balance de précision
- Broyeur électrique
- Vortex
- Réfrigérateur

1. 3 Réactifs chimiques

Tableau II.1 : Réactifs chimique utilisés

Produit	Formule brute
L'acide gallique	C7H6O5
Réactif de Folin-Ciocalteu	/
Carbonate de sodium	Na2CO3
DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrasyl)	/
Méthanol	CH3OH
Acide ascorbique	C6H8O6
Eau distillée	/

2. Méthodes

2.1. Méthodes d'extraction

2.1.1 Extraction des composés phénoliques

2.1.1.1. Préparation des extraits méthanoliques

A. Broyage

Après séchage les feuilles ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique pour obtenir une poudre fine qui a servi pour la préparation des extraits.

Après broyage, la poudre de plante a été conservée dans des flacons en verre afin de garder leur couleur et principalement leur effet thérapeutique, elle a été stockée soigneusement dans un endroit sec jusqu'à leur analyse.

B. Macération

La macération est une opération qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact avec un solvant pour en extraire les principes actifs, elle se fait à température ambiante. [144]

Des extraits méthanoliques sont préparés par macération de 20 g de la poudre végétale dans 100 ml de méthanol à 70% pendant 24 heures. Les extraits sont récupérés dans un premier temps après filtration du mélange à travers le papier filtre Wattman.

Les résidus obtenus sont repris pour une deuxième et troisième fois d'extraction pendant trois jours successifs, avec changement du solvant chaque 24h avec le même volume du mélange méthanolique. Les trois filtrats sont réunis et concentrés sous pression réduite dans un rotavapeur à 30°C. Les extraits secs obtenus ont été ensuite conservés au réfrigérateur à 4 °C jusqu'à leurs utilisations.

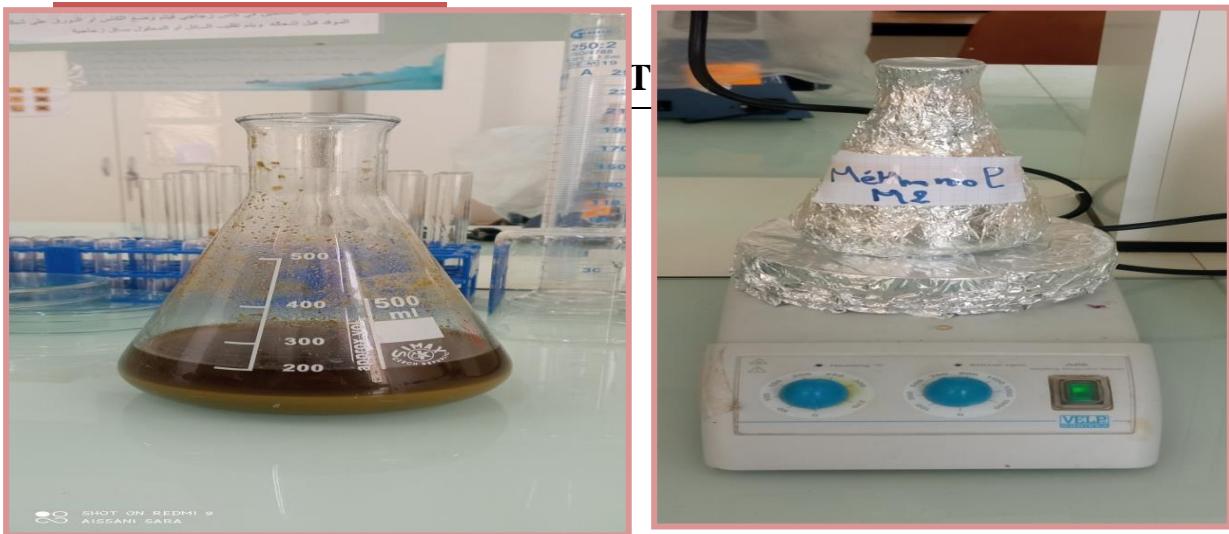


Figure 15: l'extrait méthanolique de *Rosmarinus officinalis*. L



Figure 17 : La filtration du macérât de *Rosmarinus officinalis*. L



Figure 16: poudre de l'extrait méthanolique de romarin après évaporation

2.2 Dosage des polyphénols totaux

2.2.1 Principe

Le réactif de Folin Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_12O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_12O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Ribéreau-Gayon et Gautheret 1968 ; Boizot et Charpentier 2006/). La coloration bleue produite, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans le milieu réactionnel. [145]; [146]

2.2.2 Mode opératoire :

La teneur phénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec le spectrophotomètre UV-Vis en utilisant l'essai de Folin-Denis ou généralement Folin-Ciocalteu. Ces essais sont basés principalement sur la réduction du réactif acide phosphotungstique phosphomolybdique (réactif de Folin) dans une solution alcaline. [147]

Brièvement 200 μ l de chaque extrait (dissous dans le méthanol) ont été ajoutés à 1ml de réactif de Folin-Ciocalteu 10 fois dilué. Les solutions ont été mélangées et incubées pendant 4 minutes. Après l'incubation 800 μ l de la solution de carbonate de sodium Na_2CO_3 (75g /l) a été ajoutée. Le mélange final a été secoué et puis incubé pendant 2 heures dans l'obscurité à température ambiante. L'absorbance de tous les extraits a été mesurée par un spectrophotomètre à 765 nm. La droite d'étalonnage a été réalisée par l'acide gallique (0-200 μ g/ml), en suivant les mêmes étapes de dosage. Les teneurs en polyphénols totaux sont déterminées à partir de la droite de régression de la courbe d'étalonnage. Les résultats sont exprimés en μ g équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait.

2.3 Evaluation de l'activité antixyante par diphenyl-picryl- hydrazyl DPPH

2.3.1 Principe

Pour évaluer l'effet antioxydant des extraits de la plante *Rosmarinus officinalis* en utilisant le radical 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH).

Le DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre stable utilisé pour remplacer les radicaux libres produits en réponses à des stress internes ou externes en présence d'un antioxydant, la couleur violette caractéristique du DPPH est transformée en une

couleur jaune. [148] L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons, elle est mesurée à 517 nm. [149].

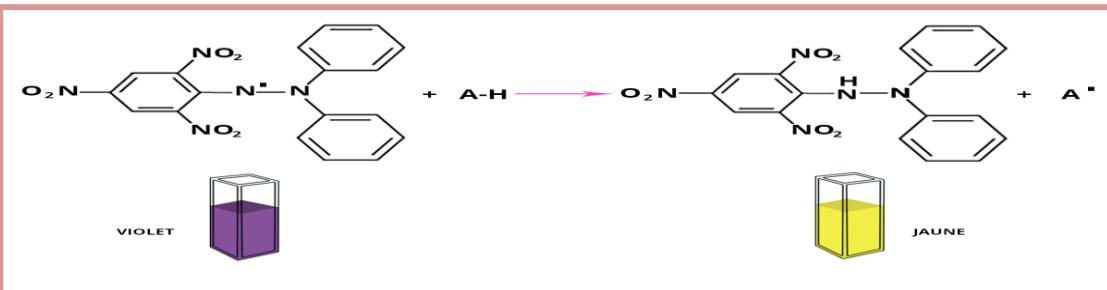


Figure 18: Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.

2.3.2 Mode opératoire

Dans ce test, un volume de 750 µl de différentes concentrations de chaque extrait est ajouté à 1.5ml de la solution méthanolique du DPPH (0.025g/l) fraîchement préparée. Le contrôle négatif est préparé en parallèle en mélangeant 750µl de méthanol avec 1.5 ml d'une solution méthanolique de DPPH.

Après l'agitation et l'incubation à l'obscurité pendant 30 min et à température ambiante, la lecture des absorbances est effectuée à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, contre un blanc pour chaque concentration qui contient 750µl de l'extrait et 1.5 ml de méthanol.

L'activité antiradicalaire est estimée selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'activité antiradicalaire} = [(Abs515 \text{ contrôle} - Abs515 \text{ échantillon}) / Abs515 \text{ contrôle}] \times 100$$

Avec: Abs515 contrôle : absorbance du control (ne contenant aucun antioxydant).

Abs515 échantillon : absorbance des échantillons.

Les mesures des densités optiques de chaque solution d'extrait à différentes dilutions nous ont permis de calculer le paramètre IC50 qui indique le pouvoir antioxydant d'un composé ou d'un extrait et qui est défini comme étant la concentration de l'extrait exprimée en mg/ml nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. La valeur d'IC50 de chaque extrait peut être obtenue à partir des équations des courbes de la variation du pourcentage d'inhibition I% en fonction de la concentration de chaque extrait. Il faut rappeler que plus la valeur de IC50 est petite plus l'activité antioxydant des extraits est grande. [150]

1. Détermination du rendement d'extraction

L'extraction des feuilles du *Rosmarinus officinalis L* été réalisée par le méthanol 80% et par l'eau distillée. Après l'extraction et l'élimination de toute trace de solvant, le rendement est calculé selon la formule ci-dessous et les résultats obtenus (teneur en composés extractibles, TCE) sont présentés dans le **tableau III**.

$$\text{Rendement(TCE)} = (\mathbf{m} / \mathbf{m}_0) \times 100$$

R : Rendement en extrait fixe en g/100g.

m : Quantité d'extrait récupéré en g.

m₀ : Quantité de la matière végétale utilisée pour l'extraction exprimée en g.

Tableau III: Le rendement de l'extrait méthanolique du romarin

Extrait	Rendement (TCE)%
E méth	13

L'extraction méthanolique a été faite dans la présente étude après avoir sécher la plante à l'ombre et l'avoir rendu en poudre. En fait, l'utilisation d'un matériel sec est recommandée du moment que les flavonoïdes (particulièrement les glycosides) peuvent être soumis à une dégradation enzymatique quand le matériel végétal est frais ou non séché. De plus, les fermentations microbiennes causées par l'humidité peuvent être la cause de cette dégradation. [176] Le séchage de la plante à l'obscurité prévient les transformations chimiques telles que l'isomérisation et la dégradation causées par les radiations ultraviolettes de la lumière solaire. [177]

L'utilisation de la poudre à la place de la plante entière a pour but d'améliorer l'extraction du fait de rendre l'échantillon plus homogène, augmenter la surface du contact avec le solvant et faciliter sa pénétration à l'intérieur des cellules qui ne sont pas détruites après le broyage.

Il est intéressant de mentionner que nos données étaient plus élevées que celles obtenues par **Ghaffari et al. (2017)** avec un rendement d'extraction 11.5% et **Borras-Linaires et al. (2014)** avec un rendement d'extraction 10.8%.

D'une manière générale, le rendement de la méthode d'extraction dépend de plusieurs facteurs tels que le temps d'extraction, la température, ainsi que la localisation géographique, la période de récolte, le climat et la durée de stockage. [178]

2. Dosage des polyphénols totaux

2.1 Droite d'étalonnage de l'acide gallique:

L'étude quantitative de l'extrait méthanolique des échantillons du romarin au moyen des dosages spectrophotométriques avaient pour objectif la détermination de la teneur en composés phénoliques. La droite d'étalonnage a été tracée pour cet objectif.

L'équation obtenue est de type:

$$Y = 0,0102 X + 0,0519$$

Avec:

Y: la valeur d'absorbance.

X: la concentration de l'extrait en mg/ml.

Le coefficient de corrélation **R²** = 0,9972

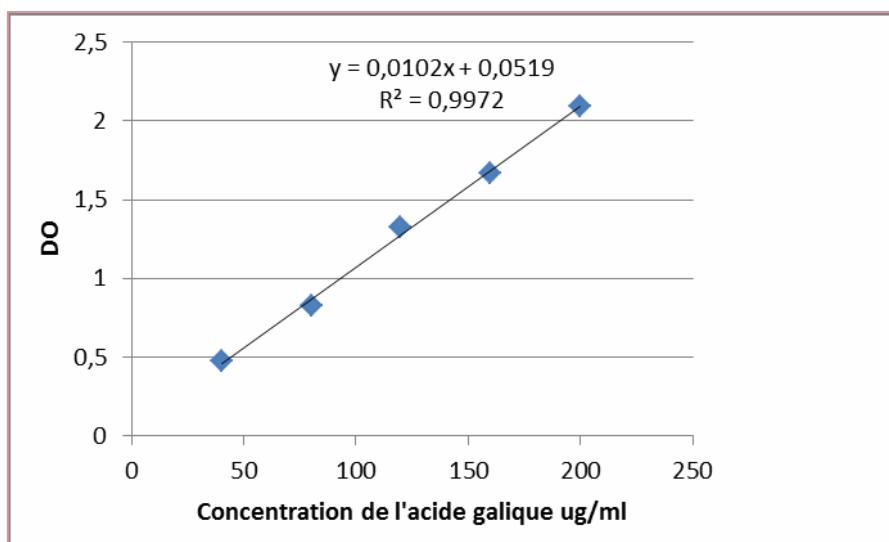


Figure 19: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

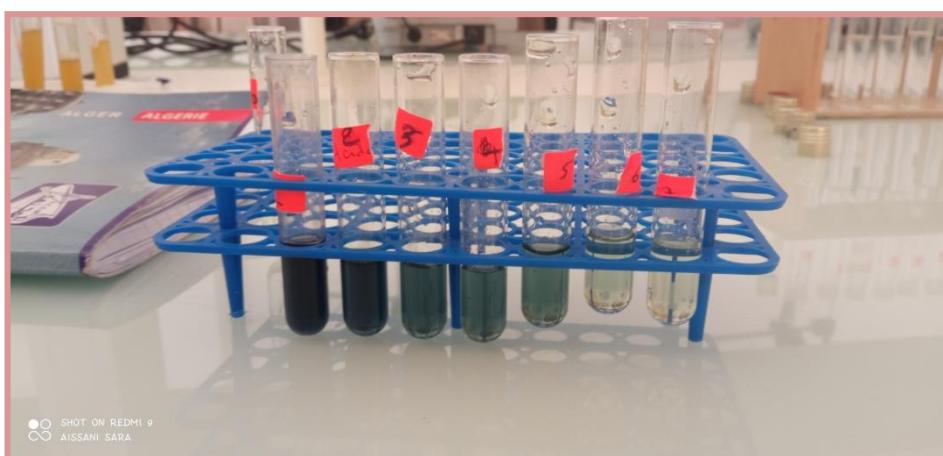


Figure 20: Résultat de l'acide gallique.

2.2 Teneur en polyphénols totaux

Les concentrations des polyphénols totaux sont calculées à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique ($Y = 0,0102 X + 0,0519$). Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par un gramme de l'extrait (mg EAG/g d'extrait). Ces résultats ont permis de donner des estimations sur les quantités des polyphénols totaux contenus dans les échantillons du romarin.

Les teneurs ont été rapportées en mg équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/ g MS). Les résultats obtenus montrent une présence des polyphénols totaux dans l'extrait méthanolique obtenus à partir du *Rosmarinus officinalis* de 32.1 µg EAG /mg d'extrait.

Cette valeur est plus élevée que celle trouvée par : (**Smith et al. 2016**) avec une valeur de (15 ± 25 µg EAG/mg d'extrait) et (**Johnson et al. 2018**) avec une valeur de (10 ± 20 µg EAG/mg d'extrait).

La teneur en polyphénols totaux de notre plante *Rosmarinus officinalis* de l'extrait méthanolique (32.1 µg EAG/mg) est inférieur à celle obtenus par (**Stephanovits B et al. 2003**), [151] qui est de l'ordre de ($128,976 \pm 9,257$ mg EAG/g MS) et (**Yesil-Celiktas O et al. (2007b)**), [152] qui ont mené des études sur les teneurs en composés phénoliques totaux issus de trois régions différentes de Turquie, variaient entre (70,3 et 147,3 mg EAG/g).

- Le profil phénolique des extraits des plantes peut varier sous l'influence de divers facteurs parmi lesquels: la variété, le climat, la localisation géographique, les différentes maladies qui peuvent affecter la plante, la maturité ainsi que la température et la nature du solvant d'extraction. [153]; [154].
- Les extraits sont des mélanges de plusieurs composés, avec différents groupements fonctionnels, polarités et comportements chimiques cette complexité chimique des extraits pourrait mener à des résultats dispersés selon l'essai utilisé. [155]
- Généralement et selon la littérature scientifique, le contenu polyphénolique varie qualitativement et quantitativement selon plusieurs facteurs :
 - Facteurs climatiques et environnementaux : la zone géographique, sécheresse, sol, agression et maladie ...etc. [156]

➤ Le patrimoine génétique, la période de la récolte et le stade de développement de la plante, [157] le type de polyphénols, l'état de santé de fruit, la méthode de récolte et de stockage. [158]

➤ La méthode d'extraction peut également influencer l'estimation de la teneur des polyphénols totaux. [159]

- Il a été prouvé que les teneurs de polyphénols totaux sont élevées lorsque le milieu de vie de la plante n'est pas adéquat, dans ce cas la plante favorise la synthèse des métabolites secondaires afin de s'adapter et survivre. [160]
- Les teneurs des polyphénols totaux déterminées ne sont pas des mesures absolues des quantités des phénols du matériel de départ, elles sont en fait, basées sur la capacité réductrice relative à une capacité réductrice équivalente à l'acide gallique (EAG). Les valeurs obtenues par la méthode colorimétrique fournissent des informations directes sur la quantité des groupes phénoliques antioxydant de l'extrait qui dépend essentiellement du nombre des groupes hydroxyles de ces derniers. [161]

3. Activité antioxydante de l'extrait méthanolique de *Rosmarinus officinalis*

3.1 Evaluation de l'activité antioxydante par le DPPH

Le pouvoir antioxydant est très importante de fait du rôle délétère des radicaux libres dans les systèmes biologiques. [162] La méthode du radical DPPH est employée pour le criblage des molécules douées d'activité antioxydante des extraits végétaux.

Elle est souvent utilisée à cause de sa simplicité, sa grande sensibilité, la rapidité d'analyse de l'activité antioxydante, ainsi que la bonne reproductibilité des résultats. [162]

L'activité antiradicalaire de nos extraits a été estimée avec la méthode de DPPH. Cette méthode spectrophotométriques utilise le radical DPPH (2, 2'-diphénol-1-picrylhydrazyl) de couleur violette comme réactif, qui vire au jaune en présence de capteurs de RLS, et se réduit en 2,2'-diphényle-1-icrydrazine. [163]

Après 30 min d'incubation de la solution DPPH-extrait (à différente concentration), la coloration violette vire vers une coloration jaune dans l'extrait. Ce changement de couleur est dû à la réduction de DPPH, ce qui montre que l'échantillon a un effet Scavenger de radical

DPPH. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances antiradicalaire. [164] [165]

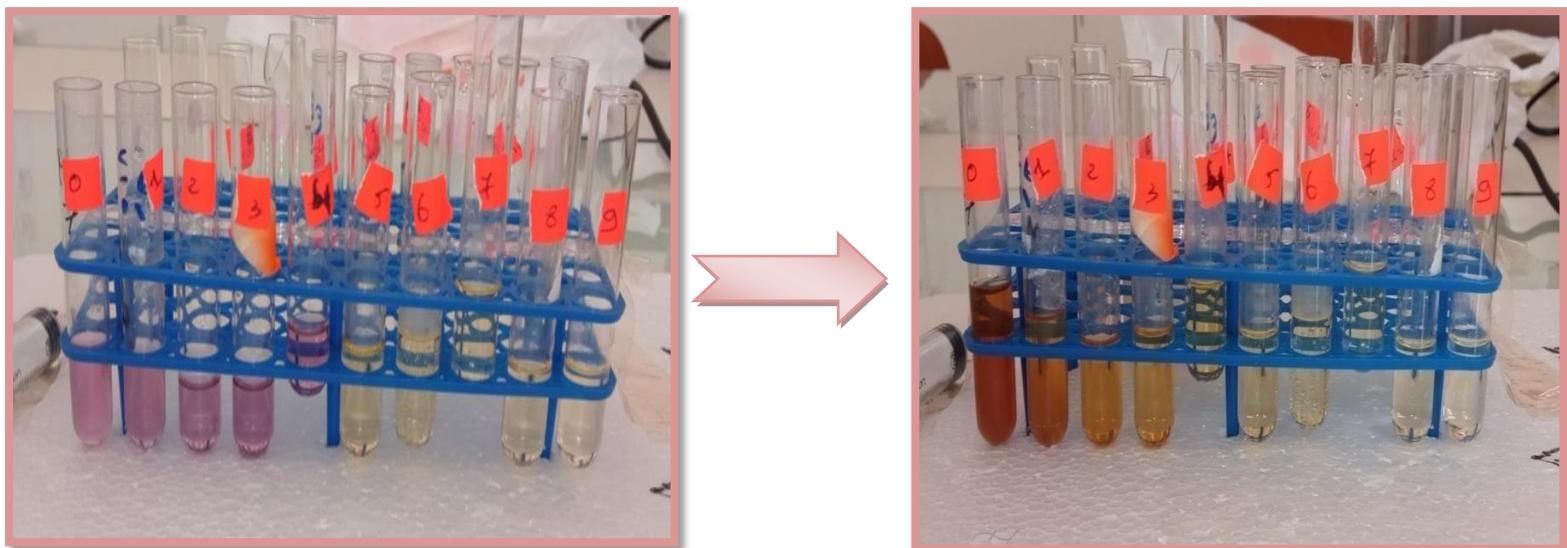


Figure 21: résultats du DPPH.

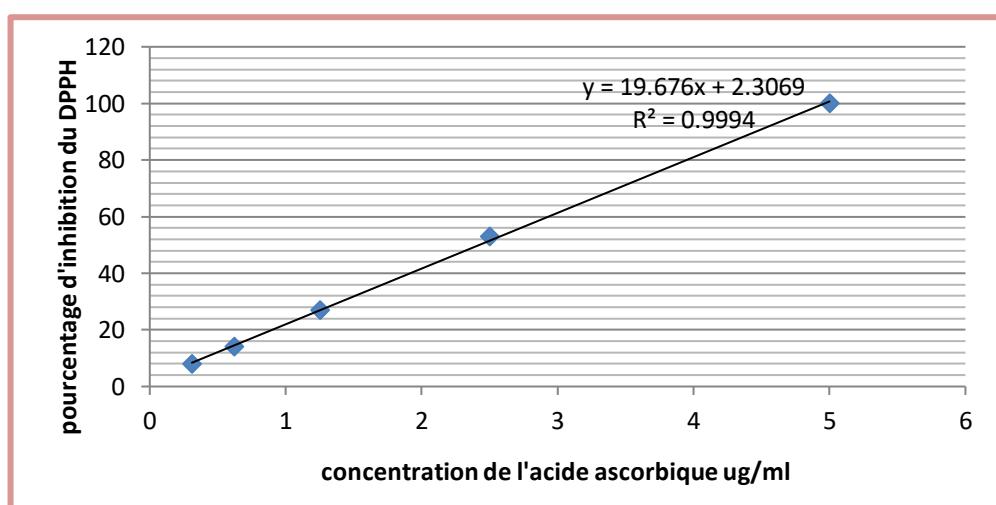


Figure 22: activité antioxydant de l'acide ascorbique par le test DPPH.

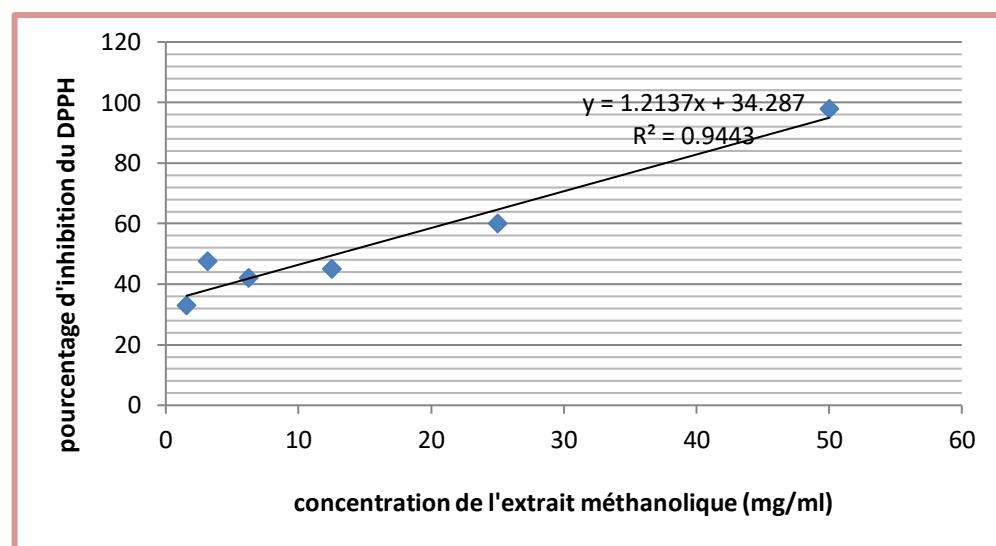


Figure 23: activité antioxydant de l'extrait méthanolique par le test DPPH

Les valeurs IC₅₀ déterminées en mg/ml exprimant la concentration efficace de l'extrait antioxydant nécessaire pour le piégeage et la réduction de 50% de moles de DPPH en dissolution dans du méthanol.

Selon les résultats enregistrés, l'extrait méthanolique est doté d'un pouvoir antioxydant important, IC₅₀ est de 5.18 mg/ml.

Un IC₅₀ de 5.18 mg/ml suggère que l'extrait méthanolique de romarin a une capacité relativement élevée à neutraliser les radicaux libres. Cela pourrait être attribué à la présence de composés phénoliques tels que l'acide rosmarinique, la lutéoline et l'acide caféïque, qui sont connus pour leurs propriétés antioxydant.

Ces résultats, montre qu'il ya une relation entre la teneur en polyphénols et l'activité antioxydante des extraits et pourrait indiquer que les polyphénols sont responsables de cette activité. Il est évident donc que la forte activité antioxydante enregistrée dans nos extraits est attribuée à leur richesse en composés phénoliques. [166]

Ces résultats confirment le potentiel du romarin en tant que source naturelle d'antioxydants et justifient son utilisation traditionnelle dans diverses applications médicinales et culinaires. Cependant, il est important de noter que les résultats peuvent varier en fonction de facteurs tels que la variété de romarin, les conditions de croissance et les méthodes d'extraction.

Ceci indique qu'une valeur faible d'IC₅₀ indique une activité antioxydante forte, d'un autre coté il existe une corrélation entre la concentration des polyphénols et l'activité antioxydante, ce qui confirme que les polyphénols sont des antioxydants puissants, capables d'inhiber la formation des radicaux libres et de s'opposer à l'oxydation des macromolécules. [167] En effet l'activité antioxydante ne dépend pas seulement de la concentration des polyphénols, mais également de la nature et la structure des antioxydants dans l'extrait. [168]

A travers la recherche bibliographique, de très grandes différences de points de vue sont notées à propos de cette corrélation. Certains travaux ont montré une bonne corrélation entre les IC₅₀ et la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes, à l'opposé d'autre études n'ont pas établie cette corrélation. [169]; [170] Par ailleurs, il est bien établi que l'activité antioxydante est corrélée positivement avec la structure des polyphénols.

Généralement, les polyphénols avec un nombre élevé du groupements hydroxyles présentent l'activité antioxydante la plus élevée [171] due à leur pouvoir de donner plus d'atomes pour stabiliser les radicaux libres [172], ce qui peut expliquer en partie que l'activité anti-radicalaire est dépendante du nombre, de la position et de la nature des substituant sur les cycles B et C (groupements hydroxyles, metaxylés, glycosylés) et le degré de polymérisation. [173]

Ainsi, l'effet antioxydant n'est pas seulement dose-dépendant mais également structure-dépendant. [174]

Les différences trouvées dans les études de l'activité antioxydante peuvent être en rapport avec la méthode utilisée pour extraire les composés antioxydants, la méthode d'évaluation et la nature hydrosoluble ou liposoluble de l'antioxydant. [175]

D'après Bouzid & al (2011), plusieurs facteurs influencent le potentiel antioxydant et la cinétique de réduction, notamment les conditions de la réaction (temps, rapport antioxydant/DPPH*, type de solvant et le pH) et le profil phénolique en particulier

Conclusion

Ces dernières années, il y a eu un intérêt croissant pour l'utilisation des Antioxydants et des antimicrobiens naturels. De nombreux chercheurs ont été intéressés par les composés biologiquement actifs isolés des extraits de plantes.

Dans ce contexte, la présente étude a porté sur l'étude phytochimique et biologique d'extrait méthanolique d'une plante médicinale le romarin (*Rosmarinus officinalis L.*). Utilisée empiriquement dans la pharmacopée traditionnelle locale, pour le traitement de diverses maladies. À la lumière des résultats obtenus, il ressort de notre travail les points suivants:

- Le solvant utilisé, le méthanol, donne généralement de meilleurs rendements d'extraction (13%) et de ce fait est très utilisées par rapport aux solvants, et le plus efficace.
- En terme général, l'extraction des composés phénoliques à partir de la matière végétale est une étape cruciale pour la valorisation de ces principes actifs, Elle dépend de leur structure chimique, du type de solvant utilisé, de la méthode d'extraction de la granulométrie et du temps de macération.

Le dosage des composés phénoliques totaux selon spectroscopique (UV) de la plante du *Rosmarinus officinalis*, contient 32.1 µgEAG/mg d'extrait. Exprimé en µg équivalent de l'acide gallique par milligramme.

L'activité antioxydante des extraits, a été déterminée par la méthode DPPH avec une valeur IC₅₀ de 5.18 mg/ml.

On a constaté que l'extrait méthanolique des feuilles du *Rosmarinus officinalis* testé présente une activité antiradicalaire et antioxydante intéressante, dépendante du contenu en polyphénols totaux, Ainsi, une relation linéaire établie :

Les extraits les plus riches en polyphénols étant les plus actives (ont des activités antioxydantes).

Cependant, l'intensité de l'activité antioxydant ne dépend pas seulement de la teneur globale en polyphénols totaux mais, Ainsi, de leur nature et ça puissants donneuse de proton dans les plantes.

L'ensemble de ces résultats a permis d'évaluer l'activité antioxydante de *Rosmarinus officinalis* d'intérêts biologiques afin de mieux connaître, de Valoriser et d'utiliser cette ressource dans le domaine thérapeutique.

Conclusion

Il serait souhaitable, d'appliquer les techniques biotechnologiques dans le domaine des métabolites secondaires à fin de tirer le maximum de ces molécules, et les utilisées pour l'intérêt de la santé humaine.

Les antioxydants naturelles des espèces végétales peuvent être très utiles pour renforcer l'organisme dans le cas de situation de stress oxydatif et de prévenir les différentes pathologies survenues suite à une attaque radicalaire.

En perspective dans le cadre de valoriser ces résultats, il est intéressant de :

- Mener une étude plus approfondie pour isoler, purifier, et identifier les molécules responsables de l'activité antioxydant et antimicrobiennes
- Etudier les mécanismes d'action des composés phénoliques impliqués dans les activités précédents *in vivo*.

Enfin, l'approche multidisciplinaire entamée dans ce travail de recherche phytochimie, et étude de l'activité biologique, approuve l'usage traditionnel de cette plante et relève son intérêt dans le cadre d'une exploitation en pharmacie. Nous proposons de ce fait la domestication de cette espèce spontanée et sa culture dans des champs pour un usage industriel.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] : Lhuillier, A., (2007). Contribution a l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia* Hook.f ex Oliver, *Agauria polyphylla* Baker (*Ericaceae*), *Tambourissa trichophylla* Baker (*Monimiaceae*) et *Embelia concinna* Baker (*Myrsinaceae*). Thèse de doctorat. Toulouse.
- [2] : Bérubé-Gagnon, J., (2006). Isolation et identification de composés antibiotiques des écorces de *Picea mariana*. Mémoire comme exigence partielle de la maîtrise en ressources renouvelables. Quebec.
- [3] : Ferrari, J., (2002). Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des Thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elles: *Gnidia involucrata* Steud. Ex A. Rich. Thèse de doctorat. Lausanne.
- [4] : Jean-Claude Rameau et al., Flore forestière française: Région méditerranéenne, (2008)
- [5] : Leplat M. Le Romarin, *Rosmarinus officinalis* L., une Lamiacée médicinale de la garrigue provençale. (2017);33(0):209.
- [6] : Gigon F. 50 Plantes Efficaces Pour Vous Soigner. Editions d.;(2014). Accessed July 12, (2021). <https://halldulivre.com/livre/9782360753215-50-plantes-efficaces-pour-vous-soigner-franck-gigon/>
- [7] : HOEFLER C. Contribution à l'étude pharmacologique des extraits de *Rosmarinus officinalis* L., et notamment des jeunes pousses : activités cholérétiques, anti-hépatotoxiques, anti-inflammatoires et diurétiques. (1994);(d).
- [8] : Zeghad, N. (2008) Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne, Université Mentouri Constantine, 96p.
- [9] : Bellakhdar, J., (2006). Plantes médicinales au Maghreb et soins de base : précis de phytothérapie moderne : Eds Le Fennec.
- [10] : Botanica, T., (2011). Projet de numérisation de la flore de L'Abbé Coste par le réseau Tela botanica. Retrieved from <http://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-75333> synthese ?Referentiel=bdtfx&niveau=2&module=pdf-export&action=pdf-export&num_nom=75333
- [11] : Monod, T., (1978). Les Rosas de Sancta Marya de Gil Eanes (1434): Junta de Investigações Científicas do Ultramar.
- [12] : Quezel P. et Santa, S., (1963). La nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II. Ed. CNRS. Paris. 360-361 p.
- [13] : Quezel, P., Santa, S. (1963) ; Nouvelle flore de l'Algérie et des regions desertiques Méridionales. Tome II. C.N.R.S. (Ed). Paris, 565p.
- [14] : Iserin P., (2001).Encyclopédie des plantes médicinales, Tome 2.Ed. larousse.londres, 143-225-226p.

- [15] : Schauenberg O. and Paris F., (1977). Guide to Medicinal Plants. Keats, New Canaan, C T.
- [16] : Bruneton J. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4e édition revue et augmentée. Paris : Éd. Tec & doc, (2009), 1269p.
- [17] : 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.
- [18] : Schneider A. Arbres et arbustes thérapeutiques : les connaître, les protéger, les utiliser. Montréal : Ed. de l'Homme, (2002), 384p.
- [19] : Laïs E. Le livre des simples : les vertus des plantes médicinales. Paris : Rustica, (2014), 191p.
- [20] : Debuigne G., Couplan F., Vignes P., Vignes D. Petit Larousse des plantes médicinales. Paris : Larousse, (2009), 383p.
- [21] : Escuder O. Plantes médicinales mode d'emploi. Paris : Ulmer, (2007), 255p.
- [22]: Maver T., Maver U., Kleinschek Stana K. *et al.* A review of herbal medicines in wound healing. International Journal of Dermatology, (2015)
- [23]: Mahyari S., Mahyari B., Emami S.A. *et al.* Evaluation of the efficacy of a polyherbal mouthwash containing *Zingiber officinale*, *Rosmarinus officinalis* and *Calendula officinalis* extracts in patients with gingivitis: A randomized double-blind placebo-controlled trial. Complementary Therapies in Clinical Practice, (2016); 22; 93-8
- [24]: Minich D.M., Bland J.S., Katke J. *et al.* Clinical safety and efficacy of NG440 a novel combination of rho iso-alpha acids from hops, rosemary, and oleanolic acid for inflammatory conditions. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, (2007); 85; 872-83
- [25]: Lukaczer D., Darland G., Tripp M. *et al.* A Pilot Trial Evaluating Meta050, a Proprietary Combination of Reduced Iso-Alpha Acids, Rosemary Extract and Oleanolic Acid in Patients with Arthritis and Fibromyalgia. Phytotherapy Research, (2005); 19; 864-9
- [26]: Solhi H., Salehi B., Alimoradian A. *et al.* Beneficial Effects of *Rosmarinus officinalis* for Treatment of Opium Withdrawal Syndrome during Addiction Treatment Programs: A Clinical Trial. Addict Health, (2013) ; 5(3-4) ; 90-4
- [27] : Larousse des plantes médicinales. Paris : Larousse, (2013), 335p.
- [28] : Grünwald J., Jänicke C., Wobst B. *et al.* Guide de la phytothérapie. Paris : Marabout, (2006), 416p.
- [29] : Balderas C., Villaseñor A., García A. *et al.* Metabolomic approach to the nutraceutical effect of rosemary extract plus ω-3 PUFAs in diabetic children with capillary electrophoresis. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis,(2010); 53 ; 1298-304
- [30] : Pérez-Sánchez A., Barrajón-Catalán E., Caturla N. *et al.* Protective effects of citrus and rosemary extracts on UV-induced damage in skin cell model and human volunteers. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, (2014); 136; 12-8
- [31]: ALBERT, Y., LEUNG, STEVEN, F. Encyclopedia of Common Naturel Ingredients Used In Foods, Drugs, And Cosmetics, 2eme éd, Awrley- interscience publication. (1996), 445 p.

[32] : Souâd Akroum, Étude des propriétés biochimiques des polyphénols et tannins issus de *Rosmarinus officinalis* et *Vicia faba L.*, (2006)

[33] : Poiret, Danie « le romarin *Rosmarinus officinalis* »Mr plantes et les plantes médicinales, (06 juillet 2014), [https://www.mr-plantes.com/\(2014\)/07/romarin/](https://www.mr-plantes.com/(2014)/07/romarin/)

[34]: MUZON, O. Antioxydant Activity of Rosmary, 50 (50); (1999). 355p.

[35]: PIOZZI, F. PHYTOCHEMESTRY J. (1996), vol : 6. 146 p.

[36]: Georgantelis, D., Ambrosiadis, I., Katikou, P., Blekas, G., Georgakis, S A. (2007); Effect of rosemary extract, chitosan and α -tocopherol on microbiological parameters and lipid.

[37]: Tsai P. J., Tsai T. H., Ho S. C. (2007).In vitro inhibitory effects of rosemary extracts on growth and glucosyltransferase activity of streptococcus sobrinus. Food chemistry, 1(105), 311–316.

[38]: Weckesser, S., Engel, K., Simon-Haarhaus, B., Wittmer, A., Pelz, K.,Schempp C.M. Screening of plant extracts for antimicrobial activity against bacteria and yeasts with dermatological relevance. Phytomedicine. (in press).

[39] : Celiktas, O.Y., Hames Kocabas, E.E., Bedir, E., Vardar Sukan, F., Ozek, T., Baser, K.H.C. (2007a) Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. Food Chem. 100: 553-559.

[40] : Schelz Z., Molnar J, Hohmann J. (2006) Antimicrobial and antiplasmid activities of essential oils. Fitoterapia. 77: 279-285.

[41]: Moreira, M.R., Ponce, A.G., Del Valle, C.E., Roura, S.I. (2005) Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. LWT. 38: 565-570

[42]: Fernandez-Lopez, J., Zhi, N., Aleson-Carbonell, L., Perez-Alvarez, J.A., Kuri, V. (2005) Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs. Meat Science. 69: 371-380.

[43] : Yano, Y., Satomi, M ., Oikawa, H.(2006) Antimicrobial effect of spices and herbs on *Vibrio parahaemolyticus*. International J Food Microbiology. 111: 6-11.

[44]: Chaibi, A., Ababouch, L.H., Belasri, K., Boucetta, S., Busta, F.F. (1997) Inhibition of germination and vegetative growth of *Bacillus cereus*T and *Clostridium botulinum* 62A spores by essential oils. *Food Microbiology*. 14:161-174.

[45]: Abutbul, S., Golan-Goldhirsh, A., Barazani, O., Zilberg, D. (2004) Use of *Rosmarinus officinalis* as a treatment against *Streptococcus iniae* in tilapia (*Oreochromis sp.*). *Aquaculture*. 238: 97-105.

[46]: Rasooli, I., Fakoor, M.H., Yadegarinia, D., Gachkar, L., Allameh, A., Rezaei, M.B. (2008) Antimycotoxicogenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum copticum* L. essential oils. *International J of Food Microbiology*.122:135-139.

[47]: Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, M., Bruni, R. (2005) Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chem*. 91: 621-632.

- [48] : Aruoma, O. I., Spencer, J. P. E., Rossi, R., Aeschbach, R., Khan, A., Mahmood, N., Munoz, A., Murcia, A., Butler, J., Halliwell, B. (1996). An Evaluation of the Antioxidant and Antiviral Action of Extracts of Rosemary and Provencal Herbs. *Food and Chemical Toxicology*. 34: 449-456.
- [49]: Prajapati, V., Tripathi, A.K., Aggarwal, K.K., Khanuja, S.P.S. (2005) Insecticidal, repellent and oviposition-deterring activity of selected essential oils against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *Bioresource Technology*. 96: 1749-1757.
- [50]: Gillij, Y.G., Gleiser, R.M., Zygadlo, J.A. (2007) Mosquito repellent activity of essential oils of aromatic plants growing in Argentina. *Bioresource Technology*. (in press).
- [51]: Papachristos, D.P., Stamopoulos, D.C. (2002) Toxicity of vapours of three essential oils to the immature stages of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *J Stored Products Research*. 38: 365-373.
- [52]: Papachristos, D.P., Stamopoulos, D.C. (2004) Fumigant toxicity of three essential oils on the eggs of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *J Stored Products Research*. 40: 517-525.
- [53]: Nassu, R.T., Guaraldo Goncalves, L.A., Azevedo Pereira da Silva, M.A., Beserra, F.J.(2003) Oxidative stability of fermented goat meat sausage with different levels of natural antioxidant. *Meat Science*. 63: 43-49.
- [54]: Wang, W., Wu, N., Zu, Y.G., Fu, Y.J. (2008) Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. *Food Chem*. 108: 1019-1022.
- [55]: Atsumi, T., Tonosaki, K. (2007) Smelling lavender and rosemary increases free radical scavenging activity and decreases cortisol level in saliva. *Psychiatry Research*. 150: 89-96.
- [56]: Gladine, C., Morand, C., Rock, E., Bauchart, D., Durand, D. (2007) Plant extracts rich in polyphenols (PERP) are efficient antioxidants to prevent lipoperoxidation in plasma lipids from animals fed n-3 PUFA supplemented diets. *Animal Feed Science and Technology*. 136: 281-296.
- [57]: Dorman, H.J.D., Peltoketo, A., Hiltunen, R., Tikkainen, M.J. (2003) Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. *Food Chem*. 83: 255-262.
- [58]: Balentine, C.W., Crandall, P.G., O'Bryan, C.A., Duong, D.Q., Pohlman, F.W. (2006) The pre- and post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. *Meat Science*. 73: 413-421.
- [59]: Sebranek, J.G., Sewalt, V.J.H., Robbins, K.L., Houser, T.A. (2005) Comparison of a natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. *Meat Science*. 69: 289-296.
- [60]: Nogala-Kalucka, M., Korczak, J., Dratwia, M., Lampart-Szczapa, E., Siger, A., Buchowski, M. (2005) Changes in antioxidant activity and free radical scavenging potential of rosemary extract and tocopherols in isolated rapeseed oil triacylglycerols during accelerated tests. *Food Chem*. 93: 227-235.
- [61]: Samotyja, U., Malecka M. (2007) Effects of blackcurrant seeds and rosemary extracts on oxidative stability of bulk and emulsified lipid substrates. *Food Chem*. 104: 317-323.

- [62]: 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.
- [63]: Singletary, K., MacDonald, C., Wallig, M. (1996a) Inhibition by rosemary and carnosol of 7,12- dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)-induced rat mammary tumorigenesis and in vivo DMBA-DNA adduct formation. *Cancer Letters*. 104: 43-48.
- [64]: Slamenova, D., Kuboskova, K., Horvathova, E., Robichova, S. (2002) Rosemary-stimulated reduction of DNA strand breaks and FPGsensitive sites in mammalian cells treated with H₂O₂ or visible light-excited Methylene Blue. *Cancer Letters*. 177: 145-153.
- [65]: Visanji, J.M., Thompson, D.G., Padfield, P.J. (2006) Induction of G2/M phase cell cycle arrest by carnosol and carnosic acid is associated with alteration of cyclin A and cyclin B1 levels. *Cancer Letters*. 237: 130-136.
- [66]: Adsersen, A., Gauguin, B., Gudiksen, L., Jager, A K. (2006) Screening of plants used in Danish folk medicine to treat memory dysfunction for acetylcholinesterase inhibitory activity. *J Ethnopharmacol*. 104: 418-422.
- [67]: Mata, A.T., Proenc, C., Ferreira, A.R., Serralheiro, M.L.M., Nogueira, J.M.F., Araujo, M.E.M. (2007) Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. *Food Chem*. 103: 778-786.
- [68]: Orhan, I., Aslan, S., Kartal, M., Sener, B., Husnu Can Baser, K. (2008) Inhibitory effect of Turkish *Rosmarinus officinalis*L. on acetylcholinesterase and butyrylcholinestérase enzymes. *Food Chem*.108: 663-668.
- [69]: Bakirel, T., Bakirel, U., Ustuner Keles, O., Gunes Ulgen, S., Yardibi, H. (2008) *In vivo* assessment of antidiabetic and antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in alloxan-diabetic rabbits. *J Ethnopharmacol*. 116: 64-73.
- [70]: Sotelo-Felix, J.I., Martinez-Fong, D., Muriel, P., Santillan, R.L., Castillo, D., Yahuaca, P.(2002) Evaluation of the effectiveness of *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae) in the alleviation of carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity in the rat .*J Ethnopharmacology*. 81: 145-154.
- [71]: Amin, A., Hamza, A.A. (2005) Hepatoprotective effects of *Hibiscus*, *Rosmarinus* and *Salvia* on azathioprine-induced toxicity in rats. *Life Sciences*.77: 266-278.
- [72]: Soyal, D., Jindal, A., Singh, I., Goyal, P.K. (2007) Modulation of radiation-induced biochemical alterations in mice by rosemary (*Rosemarinus officinalis*) extract. *Phytomedicine*.14: 701-705.
- [73]: Singletary, K.W. (1996b) Rosemary extract and carnosol stimulate rat liver glutathione-Transferase and quinone reductase activities .*Cancer Letters*. 100: 139-144.
- [74]: Gonzalez-Trujano, M.E., Pena, E.I., Martinez, A.L., Moreno, J., Guevara-Fefer, P., Deciga- Campos, M., Lopez-Munoz, F.J. (2007) Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents. *J Ethnopharmacol*. 111: 476-482.
- [75]: Correa Dias, P.C., Foglio, M.A., Possenti, A., De Carvalho, J.E. (2000) Antiulcerogenic activity of crude hydroalcoholic extract of *Rosmarinus officinalis* L. *J Ethnopharmacol*. 69: 57-62.
- [76]: Haloui, M., Louedec, L., Michel, J.B, Lyoussi, B. (2000) Experimental diuretic effects of *Rosmarinus officinalis* and *Centaurium erythraea*. *J Ethnopharmacology*. 71: 465-472.

- [77]: Urquiaga I. N. E. S. and Leighton F. E. D. E, (2000): Plant Polyphenol Antioxidants and Oxidative Stress. Biol. Res; 33: 55-64.
- [78] : Macheix JJ, Fleuriet A and Jay-Allemand C (2005) :Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, p : 4-5.
- [79] : Collin, S., & Crouzet, J. (2011). Polyphénols et procédés. *Edition Lavoisier TEC & DOC*, p5, 13, 16, 235.
- [80]: Salunkhe D-K., Chavan J-K., Kadam S-S. (1990). Nutritional consequences of dietary tannins: consequences and remedies. Boca Raton. Florida: CRC press. Pp 113-146
- [81] : Bruneton J. (1999). Pharmacognosie. Phytochimie Plantes médicinales, 3ème Ed Techniques et documentations. Paris. Pp : 227-310-312-313-314.494.
- [82]: PANDEY KB et RIZVI SI. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Vol. 2 (5) : 270 – 278.
- [83]: Shahidi F., Naczk M. Food phenolics : sources, chemistry, effects, applications, 2nd Edition. (CRC-press :). A <<http://www.informaworld.com/978-1-58716-138-4>>
- [84]: Popovici C., Saykova I., Tylkowsk B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*. 4: 25-39.
- [85] : Nordkvist E., Salomonsson, A-C. & Aman P. (1984). Distribution of insoluble bound phenolic acids in barley grain. *Journal of the science of food and agriculture* 35, 657-661
- [86] : Bouakaz I. (2006). . Etude phytochimique de la plante Genista Microcephala. Mémoire de magister. Batna.
- [87]: Loto C- A. (2011). Inhibition effect of tea extract on the corrosion of mild steel in dilute sulphuric acid. *J.Mater. Environ. Sci.* 2 (4) 335-344
- [88]: YAO L-H., JIANG Y-M., SHI J., TOMAS-BARBERAN F-A., DATTA N., SINGANUSONG R., Chen S-S. (2004). Flavonoids in Food and their health benefits. *Plant. Food Hum. Nutr.* Vol (59) : 113-122.
- [89]: Tapas A-R., Sakarkar D-M. & Kakde R-B. (2008). Flavonoids as Nutraceuticals: A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 7 (3), 1089-1099.
- [90] : COLLIN S., CROUZET J. (2011). Polyphénols et procédés. En France par EMP. S.S.A., Paris, p 5.
- [91] : Alignan M. (2006). Thèse de doctorat : Phoma du Tournesol : déterminisme de la tolérance de l'hôte à la maladie, Toulouse.
- [92] : Catier O., Roux D. (2007). Botanique, pharmacognosie, phytothérapie : Cahiers du préparateur en pharmacie. 3eme ed. France : Walters Kluwer
- [93]: Monteiro M., Farah A., Perrone D., Trugo L-C., Donangelo C. (2007). Chlorogenic acid compounds from coffee are differentially absorbed and metabolized in humans. *Journal of Nutrition* 137: 2196-2201.

- [94]: LEINMÜLLER E., STEINGASS H., MENKE KH. (1991). Tannins in feeds for ruminants. II Effects on rumen metabolism in vitro. *Übersichten zur Tierernährung*. Vol. (19) :45–70.
- [95]: Mc Leod M-N. (1974). Plant tannins, Their role in forage quality. *Nutr. Abstr. Rev.*, 44, 803-815.
- [96]: MIDDLETON, E., KANDASWAMI, C., THEOHARIDES, T.C. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol Rev.* (2000), 52: 673-839.
- [97]: KSOURI, R., MEGDICHE, W., DEBEZ, A., FALLEH, H., GRIGNON, C., ABDELLY, C. Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant. Physiol Bioch.* (2007), 45: 244-249.
- [98]: Pr. LABBANI. (2021). Les Composés phénoliques, université frères mentouri - Constantine 1,p 24
- [99]: Martin, S., & Andriantsitohaina, R. (2002). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de Cardiologie*, 51, 304 –315.
- [100]: Babar, M. A., Hahn, E. J., & Paek, K. Y. (2007). Methyl jasmonate and salicylic acid induced oxidative stress and accumulation of phenolics in panax ginseng bioreactor root suspension cultures. *Molecules*, 12, 607 –621
- [101]: Falleh, H.,Ksouri, R., Chaieb, K., Bouraoui, N. K., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. orgns, and their biological avtivities. *C. R. Biologies*, 331, 372 –379.
- [103]: Kumar, S. & Pandey, A.,(2013). Chemistry and Biological activities of Flavonoids: An overview, *The Scientific World Journal*,2013, 1-16
- [105]: Favier, A., (2003).Le stress oxidant. Intéret conceptual et experimental dans la comprehension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*.108-115.
- [106]: Arous, S. (2014). Etude phytochimique et évaluation de l'activité antiradicalaire des extraits de *Fredolia arctioides*.
- [107]: Delattre, J., Beaudeux, J.-L., and Bonnefont-Rousselot, D. (2005)."Radicaux libres et stress oxydant (aspects biologiques et pathologiques)."
- [108]: MCGUIRE, W., SPRAG, R. C., COHEN, A. B., COCHRANE, C. G. Studies on the pathogenesis of the adult respiratory distress syndrome; *J. Clin. Invest.* (1982), 69: 543-553.
- [109]: SOHAL, R. S., MOCKETT, R. J., ORR, W. C. Mechanisms of aging: an appraisal• of the oxidative stress hypothesis; *Free Rad. Biol. Med.* (2002), 33: 575-586.
- [110]: SATO, Y. HOTTA N., SAKAMOTO, N., MATSUOKA, S., OHISHI, N., YAGI, K. Lipid peroxide levels in plasma of diabetic patients; *Biochem. Med.* (1979), 21: 104- 107
- [111]: EVANS, P., KLINOWSKI, J., YANO, E., URANO, N. Alzheimer's disease: a pathogenic role for alumino-silicate-induced phagocytic free radicals; *Free Rad. Res. Comms.* (1989), 6: 317- 321.

- [112]: PERRY, G., CASH, A.D., SMITH, M.A. Alzheimer disease and oxidative stress; J. Biomed. Biotechnol. (2002), p. 2-3
- [113]: GUTTERIDGE, J.M.C. Free radicals in disease processes a compilation of cause and consequence; Free Rad. Res. Comms. (1993), 19: 141-158.
- [114]: PODDA, M., TRABER, M.G., WEBER, C., YAN, L.J., PACKER, L. UVirradiation depletesantioxidants and causes oxidative damage in a model of human skin; Free Rad. Biol. Med. (1998), 24 : 55-65.
- [115]: HECK, D.E., VETRANO, A.M., MARIANO, T.M., LASKIN, J.D. UVB light stimulates production of reactives oxygen species; J. Biol. Chem. (2003), 278: 22432- 22436.
- [116]: SERGENT, O., GRIFFON, B., CILLARD, P., CILLARD, J. Alcool et stress oxydatif; Pathol. Biol. (2001), p. 49: 689-695.
- [117]: Diallo A, (2005). Etude de la phytochimie et des activites biologiques de *Syzygium guineense* willd. (*MYRTACEAE*). Thèse de Doctorat. Mali.
- [118]: Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., Defraigne, J.O. (2002) Mécanismes physiologiques de la défense anti-oxydante Physiological action of antioxidant defences. *Nutrition clinique et métabolisme*. 16: 233-239.
- [119]: ZHENG, W., WANG, S. Y. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs, J. Agric. Food Chem. (2001), 49: 5165-5170.
- [120]: DRAGLAND, S., SANOO, H., WAKE, K., HOLTE, K., BLOMHOFF, R. Culinary and medicinal herbs are important sources of dietary antioxydants, J. Nutr. (2003), 133: 1286-1290.
- [121]: SHAN, B., CAI, Y.Z., SUN, M., CORKE, H. Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents, J. Agric. Food Chem. (2005), 53: 7749-7759
- [122]: HALVORSEN, B. L., CARLSEN, M. H., PHILLIPS, K. M. Content of redoxactive compounds (ie, antioxidants) in foods consumed in United States, Am. J. Clin. Nutr. (2006), 84: 95-135.
- [123]: EXARCHOU, V., NENADIS, N., TSIMIDOU, M., GEROTHANASSIS, I.P., TROGANIS, A., BOSKOU, D. Antioxidant Activities and Phenolic Composition of Extracts from Greek Oregano, Greek Sage, and Summer Savory, J. Agric Food Chem. (2002), 50: 5294-5299.
- [124]: PIZZALE, L., BORTOLOMEAZZI, R., VICHI, S., UBEREGGER, E., CONTE, L.S. Antioxidant activity of sage (*Salvia officinalis* and *S. fruticosa*) and oregano (*Origanum onites* and *O. ndercedens*) extracts related to their phenolic compound content, J. Sci. Food. Agric. (2002), 82: 1645-1651.
- [125]: DORMAN, H.J.D., BACHMAYER, O., KOSAR, M., HILTUNEN, R. Antioxidant properties of aqueous extracts from selected Lamiaceae species grown in Turkey, J. Agric. Food Chem. (2004), 52: 762-770.

- [126]: VARELTZIS K., KOUFIDIS D., GAVRILIDOU E., VASILIADOU S. Effectiveness of a natural rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract on the stability of filleted and minced fish during frozen storage, Z Lebensm Unters Fisch A. (1997), vol. 205, p. 93-96.
- [127]: CHEN, Q., SHI, H., HO, C.T. Effects of rosemary extracts and major constituents on lipid oxidation and soybean lipoxygenase activity, J. Am. Oil Chem. Soc. (1992), 69: 999-1002.
- [128]: WANG, J.W., HASHIMOTO, K., SHIBAMATO, T. Antioxidant activities of rosemary and sage extracts and vitamin E in model meat system, J. Agric. Food Chem. (1995), 43: 2707-2712.
- [129]: CULEVIER, M.E., RICHARD, H., BERSET, C. Antioxidative activity and phenolic composition of pilot-plant and commercial extracts of sage and rosemary, J. Amer. Oil Chem. Soc. (1996), 73: 645-652.
- [130]: BOUKHALFA, K. Apport des couplages CPG/MS et CPG/IR dans l'analyse des mélanges naturels complexes, exemple l'huile essentielle de romarin. Mémoire de projet de fin d'études pour l'obtention du diplôme d'Ingénieur d'Etat : Alger, USTHB : (1995).
- [131]: PARIS ET AL. Effect of carnosolic acid products. (1993), vol. 56, n°8, 1426 p
- [132] SCHWARTZ, K., TERNES, W. Isolation and formation of other phenolic diterpenes. (1992), vol. 195.99 p.
- [133]: NAKTANI, N., INATANI, R., FUWA, H.H., SETA, H. Structure of a new antioxidants phenolic diterpenes isolated from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), Agric. Biol. Chem, (1983). 1661 p.
- [134]: EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. Scientific Opinion of the Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food on a request from the Commission on the use of rosemary extracts as a food additive, The EFSA Journal, 72: 4, (2008).
- [135]: BOUNOUA, D., BOUMAHDI, L. Hydrodistillation de *Salvia officinalis* L. et de *Rosmarinus officinalis* L. et valorisation des eaux de distillation. Mémoire de projet de fin d'études pour l'obtention du diplôme d'Ingénieur d'Etat : Génie Chimique, Alger : Ecole Nationale Polytechnique : (2013).
- [136]: BRAVO, L. Polyphenol chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance, Nutr. Rev. (1998), 56: 317-333.
- [137]: GOMEZ, G. Abécédaire de chimie organique, (2014). [en ligne]. Consulté le 25/02/2016. Disponible sur : <<http://webpeda.ac-montpellier.fr>>.
- [138]: BRITO-ARIAS, M. Synthesis and Characterization of Glycosides, Ed. Spring, New York, (2007).
- [139]: KHAIR, R. Evaluation des extraits récupérés lors de l'extraction par solvant des feuilles du *Rosmarinus officinalis* L. 37 p. Mémoire de pour l'obtention du diplôme de Master : Génie Chimique : Alger, Ecole Nationale Polytechnique : (2016).

[140]: kholkhal, (2014); Chikhi, (2014). Etude phytochimique et activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de thymus cialiatusspcoloratus et sspecialiatus.Thèse de doctorat. Université de Tlemcen. 164p

[141]: Magalhaes et al., (2008). Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties, *AnalyticaChimica Acta*, Vol.613; pp01-19

[142]: Hellal, (2011).Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (Sardina pilchardus). Mémoire de Magister. Universite Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou.

[143]: Portes, (2008). Synthèse et Etudes de Tétrahydrocurcuminoïdes. Propriétés Photochimiques et antioxydants. Applications à la Préservation de Matériaux d'Origine Naturelle. Thèse de doctorat Université Bordeaux I. p 44-46

[144]: Lagnika. (2005).Etude phytochimique et activité antipaludique de substances naturelles issues de plantes Béninoises. Thèse de Doctorat Université de Louis Pasteur de Strasbourg/Université d'Abomey-calavi, Bénin

[145]: Ribéreau-Gayon, Pascal, R J Gautheret. (1968).Les composés phénoliques des végétaux / par Pascal Ribéreau-Gayon; préf. de R.-J. Gautheret. *Botanical chemistry*, 239 :232-242.

[146]: Boizot, Nathalie Charpentier, Jean-Paul. (2006).Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Cahier des Techniques de l'INRA ,77 : 79-82.

[147]: Vuorela, S. (2005) Analysis, isolation, and bioactivities of rapeseed phenolics. Helsinki.

[148]: Brand WW, Cuvelier HE, Berset C (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Sci. Technol.* 1995, 82: 25-30.

[149]: Sanchez-Moreno C. (2002). Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Int. J. of Foods Sci. Tech.* 8:121-137.

[150]: Read, G.,Randat, R. (1988). "Structure and properties of thiobarbituric acid malonaldehyde chromogen", *J. Chem. Soc*, 1103-1105.

[151]: Stephanovits Banyai E., Tulok M-H., Hegedus A., Renner C., Szollosi Varga L. (2003). Antioxidant effect of various Rosemary (*Rosmarinus Officinalis L.*) clones, Vol 47 (1-4) : 111-113.

[152]: Yesil-Celiktas O., Girgin G., Orhan H., Wicher H-J., Bedir E. and Vardar-Sukan F. (2007b). Screening of free radical scavenging capacity and antioxidant activities of *Rosmarinus Officinalis* extract with Focus on location and harvesting times. *European food research and technology* 224 : 443-51

[153]: Conde E., Cara C., Moure A., Ruiz E., Castro E. et Dominguez, H. (2009). Antioxidant activity of the phenolic compounds released by hydrothermal treatments of olive tree pruning. *Food Chemistry*, 114(3), 806 –812.

- [154]: Souse R., Dias S. et Antunes C. (2008). Spatial subtidal macrobenthic distribution in relation to abiotic conditions in the Lima estuary, NW of Portugal. *Hydrobiologia*, 559, 135-148.
- [155]: Ozturk, M., Aydogmus-Ozturk, F., Duru, M-E., Topcu, G. (2007). Antioxidant activity of stem and root extracts of Rhubarb (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant. *Food Chem.*103: 623-630.
- [156] Ebrahimi N.S., Hadian J., Mirjalili M.H., Sonboli A., Youcefzadi M.,(2008). Essentiel oil composition and antibacterial activity of *thymus caramanicus* et different phonological stages.*Food chemistry.*,110:927-931.
- [157]: Miliauskas. G., Venskutonis P.R., Van Beek T.A.,(2004).Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract.*Food Chemistry* .85:231-237.
- [158]: Stratil . P.,Klejdus,B et Kouban ,V.,(2007).Détermination des composés phénoliques et leurs propriétés antioxydantes. activité dans les fruits et les céréales .*Talanta*,71 :1741- 1751.
- [159]: Lee K.W., Kim Y.J.,Lee H.J.,Lee C.Y.,(2003). Cacao has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine.*Food Chemistry.*, 51: 7292-7295.
- [160]: Piquet M A, et Hébuterne X. (2007). Nutrition en pathologie digestive. 1èreed, p: 16-20.Pisoschi AM & Pop A (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European journal of medicinal chemistry*, 97: 55-74.
- [161]: Balasundram N, Sundram K &Samman S (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*99: 191-203
- [162]: Gulçin, İ., Kirecci, E., Akkemik, E., Topal, F., & Hisar, O. (2010). Antioxidant and antimicrobial activities of an aquatic plant: duckweed (*Lemna minor L.*). *Turkish Journal of Biology*, 34, 175–188.
- [163]: Burits M & Bucar F (2000). Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research*, 14: 323-328.
- [164]: Majhenic L, kerget MS, & Knez Z (2007) Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food chemistry*, 104:1258–1268.
- [165]: Locatelli M, Travaglia F, Coisson JD, Martelli A, Stevigny C, & Arlorio M (2010). Total antioxidant activity of hazelnut skin (Nocciola Piemonte PGI) : Impact of different roasting conditions. *Food chemistry*, 119: 1647-1655.
- [166]: Bouhadjeb Aziza et Bouzaout selma.(2018). Evaluation de l'activité antioxydante in vitro des extraits des fleurs d'*Urginea maritima*. En vue de l'obtention du diplôme Master Académique en biologie. Spécialité Biochimie. Université Mohammed Seddkn Ben Yahia-Jijel.
- [167]: Hua L., Xiaoyu W., Peihong L., Hua W. (2008). Comparative study of antioxidant activity of grape (*Vitis Vinifera*), seed powder assessed by different methods. *Journal of food drug analysis*, 16(6), 67-7

- [168]: 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
- [169]: Athamena, S., Chalghem, I., Kassah-Laouar, A., Laroui, S., & Khebri, S. (2010). Activite anti-oxydante et antimicrobienne d'extraits de cuminum cyminum L. *Lebanese science journal*, 11 (1), 69 –81.
- [170]: Mariod, A. A., Ramlah, M. I., Maznah, I., & Norsharina, I. (2010). Antioxydant activities of phenolic rich fraction (PRFs) obtained from black mahlab *Monechma ciliatum* and white mahlab *Prunus mahaleb* seedcakes. *Food Chemistry*, 118, 120 –127.
- [171]: Heim, E. K., Tagliaferro, A. R., & Bobilya, D. J. (2002). Flavonoïds antioxydants: chemistry; metabolism and structure-activity relationships. *The journal of Nutritional Biochemistry*, 13, 572 –584.
- [172]: Torres De Pinedo, A., Pen alver, P., & Morales, J. C. (2007) Synthesis and evaluation of new phenolic-based antioxidants: structure-activity relationship. *Food Chem*, 103, 55–61.
- [173]: Popovici, C., Saykova, I., & Tylkowskib. (2010).Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel*, (4), 1–8.
- [174]: Rodriguez-Bernaldo, A. Q. F. S., Frecha, P. A., Vidal., & Lopez, H. J. (2010). Antioxydant compounds in edible brown seaweeds. *European Food Research & Technology*, 231(3), 495 –498
- [175]: Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M.B., Taghizadeh, M., Astaneh S.A., Rasooli, I. (2007) Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chem*. 102: 898-904.
- [176]: Seidel V (2005). Initial and bulk extraction. In: Natural products isolation. Humana Press (Totowa), pp: 27-37.
- [177]: Jones WP, & Kinghorn AD (2005). Extraction of plant secondary metabolites. In : Natural products isolation. Humana Press (Totowa), pp: 323-411.
- [178]: Su X., Duan J., Jian Y., Shi J., Kakuda Y. (2006).Effect of soaking conditions on the antioxidant potentials of Oolong tea's food composition Anal. 19: 348- 353.