

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث 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
acétonique du romarin (*Rosmarinus officinalis* L)**

Présenté par :

Mlle: NACEUR Safaa Hadia

Mlle : NACI Hayet

Mlle : SELMA Amira

Devant les membres de jury :

Président : Mme SBAHI Kheira

Maître de conférence (A) A (U. Relizane)

Encadreur : Mr REGUIEG YSSAAD Athmen

Maître de conférence (A) A (U. Relizane)

Examineur : Melle BENAICHATA Nora

Maître de conférence (A) A (U. Relizane)

Année universitaire : 2023/2024

Remerciment

**Je Voudrais Dans Un Premier Temps Remercier
L'encadrant De Notre Mémoire
Dr REGUIEG YESAAD Athmen**

Nous sommes éternellement reconnaissants de votre supervision pour nos premiers pas de recherche, de vos précieux conseils prodigués et de votre accompagnement tout au long de ce travail. Votre disponibilité, le partage de votre expérience et votre soutien total et infaillible depuis le début de notre parcours ont été d'une valeur inestimable pour nous. Malgré vos multiples occupations, vous avez généreusement consacré votre temps à répondre à toutes nos questions et à dissiper toutes nos incertitudes. Votre implication, votre patience, votre soutien moral et vos encouragements tout au long de ce travail ont été d'une grande aide pour nous. Nous tenons à vous témoigner toute notre gratitude, notre haute estime et notre profond respect pour votre contribution à notre formation.

• Encore une fois,
merci infiniment pour votre aide précieuse.

Dédicace

Je dédie ce mémoire

A **Mon Père Naceur Laid Et Ma Mère Kaddouri Fatima**
pour leur amour inestimable, leurs sacrifices, leur confiance,
leur soutien et toutes les valeurs qu'ils ont su m'inculquer.

A ma **Grand-Mère Bouchiba Fatma (rahimaha lah)**,
décédée avant de voir mon succès, pour toute l'affection
qu'elle m'a donnée et pour son précieux encouragement et
surtout son **Douaa**

A ma sœur **Radjaa** et mon frère **Abdelmonaim**
A mes tantes et mes oncles **De La Famille Naceur** ainsi que de
la **Famille Kaddouri**, spécialement **Dr Benjaada Mohamed**
et **Dr Kaddouri Yamina**, pour leurs mots d'encouragement et
leur gentillesse et leur aide

A mes amies **Nafissa, Romaissa, Ikram, Sabah, Samia, Aya**

A **Hayet** et **Amira** qui ont fait partie de ce travail
Et enfin à la généreuse personne qui m'a ouvert les portes de
son laboratoire pour apprendre

DR Bouchiba Fatiha médecin spécialiste en hématologie

A l'équipe de laboratoire d'hématologie DR bouchiba

SAFAA HADIA

Dédicace

C'est avec profonde gratitude et sincères mots, je dédie dédions ce modeste travail de fin d'étude à mes **chers parents** qui ont sacrifié leur vie pour notre réussite et nous ont éclairé le chemin par leurs conseils judicieux.

J'espère qu'un jour, je pourrai leurs rendre un peu de ce qu'ils ont fait pour moi, que dieu leur prête bonheur et longue vie.

Mon grand frère, **Amine**, votre soutien a été une partie importante de mon parcours éducatif et je tiens à exprimer ma profonde gratitude pour vos conseils.

Hayet, Safaa Merci à tous les deux pour votre travail acharné et votre attitude positive tout au long de ce projet.

AMIRA

Dédicace

**Je Dédie Cet Humble Et Modeste Travail Avec Grand
Amour, Sincérité Et Fierté :**

A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma
réussite et tout mon respect

Mon Cher Père Naci Saïd

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

Mon Adorable Mère El Ariak Fatma

A ma chère sœur **Nesrine**, A mes frères **Djamel Mohamed** Et
Abd Elmadjid, en témoignage de la fraternité, avec mes
souhaits de bonheur, de santé et de succès, sans oublier
Lachachi Mohamed chouaïb merci pour votre amour et votre
encouragement, Que Dieu les protège et leurs offre la chance et
le bonheur

A ma grande mere et mon grand-père que dieu leur donne
une longue et joyeuse vie.

Merci à **Safaa** et **Amira** mes chères amies Les deux qui me
soutenaient et à côté de moi remplis d'énergies positives

HAYET

Table des matières

Remerciement	
Dédicas	
Sommaire	
Liste des tableaux	
Liste de figures	
Liste des abréviations	
Introduction	1 ; 2

Partie bibliographique

Chapitre 01 : *Rosmarinus officinalis L*

I. Description.....	03
II. Habitat.....	05
III. Systématique.....	06
IV. Composition.....	06
A) Les principaux constituants de l'huile essentielle de Romarin s.....	06
B) Appareil végétatif	06
C) Appareil reproducteur.....	08
D) Usages thérapeutiques.....	09
V. Indication usuelle	09

Chapitre 02 : Les Composés Phénoliques

I. Généralités.....	11
II. Classification.....	11
II.1. Acides phénols simples.....	12
II.1.1 Acide hydroxybenzoïques.....	12
II.1.2. Acide hydroxycinnamiques.....	12
II.2. Flavonoïdes.....	12
II.3. Anthocyanines	14
II.4. Stilbènes.....	14
II.5 Lignines	15
II.6. Tannins	15
II.6.1. Tannins hydrolysables.....	16
II.6.2 Tannins condensés.....	16
III. Activité antimicrobienne des polyphénols.....	17
III.1. Activité antimicrobienne des flavonoïdes.....	17
III.2. Activité antimicrobienne des tannins.....	17
III.3. Activité antimicrobienne des acides phénoliques	18
IV. Rôle et intérêt des composés phénoliques	18
IV.1. Chez les humains.....	18
IV.2. Chez les végétaux	19

Table des matières

Chapitre 03 : Stresse Oxydatif

I . Généralité sur les antioxydantes.....	32
I .1. Définition des antioxydants.....	32
II .1. Différents types d'antioxydants.....	32
II .1.1. Antioxydants naturels.....	32
II .1.2. Sources naturelles d'antioxydants	32
II .1.3. Antioxydants synthétiques.....	32
III.1. Le stress oxydatif.....	33
III.2. Le stress oxydatif et les composées phénoliques.....	34

Partie expérimentale

Chapitre 01 : Matériel et méthodes

I. Matériels et méthodes.....	37
1) Matériels	37
2) Solutions.....	38
II. Extraction des polyphénols	39
A. Préparation des extraits phénoliques.....	39
- L'extrait acétonique de la plante.....	39
B. Rendement des extraits.....	40
- Rendement des acétonique du romarin.....	40
III. Dosage phytochimique.....	40
A) Dosage des poly phénols totaux	40
B) Principe.....	40
C) Expression des résultats.....	41
IV. Evaluation de l'activité antioxydant.....	41
A) Test de DPPH	41
B) Principe.....	41
C) Mode opératoire.....	41

Chapitre 02 : Résultats et discussion

V. Résultat et discussion	43
A) Résultat Dosage Des Composés Phénolique.....	43
B) Activité Antioxydant.....	44
Conclusion	49

Liste Des Tableaux

N°	Tableaux	Page
01	Principales classes des composés phénoliques	11
02	Les principales familles de flavonoïdes	13
03	Propriétés biologiques des quelques polyphénols dans l'organisme.	19
04	L'extrait acétonique de la plante	39
05	Rendement des extraits acétoniques du romarin	40

Liste Des Figures

N°	Figure	P
01	Rosmarinus Officinalis.	5
02	Distribution géographique du Rosmarinus Officinalis accordée au GBIF	5
03	Feuille de Rosmarinus officinalis	7
04	Feuille linéaire de Rosmarinus officinalis	7
05	Racine de Rosmarinus officinalis	7
06	La fleur de Rosmarinus officinalis L. Source	8
07	L'organisation de la fleur de Rosmarinus officinalis	8
08	Fruit de Rosmarinus officinalis L	9
09	Principaux acides hydroxybenzoïque	12
10	Principaux acides hydroxycinnamiques	12
11	Structure de base des flavonoïdes	13
12	La structure chimique d'anthocyane	14
13	Un exemple de stilbènes	14
14	Structure chimique des lignines	15
15	Structure chimique d'un tannin hydrolysable	16
16	Structure générale des pro anthocyanidines	17
17	Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques	34
18	Les différentes étapes d'extraction	39
19	L'extrait acétonique du romarin	39
20	Droite d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux	43
21	Variation de la densité optique en fonction de la concentration de l'acide ascorbique	45
22	Activité antioxydante de l'acide ascorbique par le test DPPH	45
23	Activité antioxydante de l'extrait acétonique par le test DPPH IC50= 4.18	46

Liste Des Abréviation

ADN : acide désoxyribonucléique

AFNOR : association française de normalisation

AESA : autorité européenne de sécurité des aliments

ARN : acide ribonucléique

BHA : butylhydroxyanisole

BHT : butylhydroxytoluène

CO₂ : dioxyde de carbone

DPPH : 2,2-diphényl-1,1-picrylhydrazyle

GBIF : Global Biodiversity Information Facility

EAc : Extrait acétonique

EC₅₀ : half maximal effective concentration

H₂O₂ : peroxyde de dihydrogène

HA : hydrolat aromatique

HE : huile essentielle

NO : monoxyde d'azote ou oxyde nitrique

ORL : oto-rhino-laryngologiste

O₂ : dioxygène

OGM : organisme génétiquement modifié

p/p : poids/poids

TG : triglycérides

TBHQ : tert-butylhydroquinone

UV : ultra-violet

v/p : volume/poids

v/v : volume/volume

Résumé

Résumé

Dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales de la flore algérienne et méditerranéenne, Ce travail porte sur l'étude d'une plante endémique pour leurs vertus thérapeutiques, le romarin.

Nous nous sommes intéressés à l'étude des composés phénoliques et l'activité antioxydante du romarin de la région de Relizane.

La première partie de cette étude concerne, l'extraction des composés phénoliques qui a été effectuée après le séchage et le broyage de la partie aérienne. L'extraction est rélisé par une macération avec un solvant (acétone –eau distillée) Le rendement de l'extraction est de l'ordre 6,9%.

La quantification des polyphénols totaux, A été faite par la méthode du Folin-Ciocalteu, dont l'absorbance a été mesurée par un spectrophotomètre.

La deuxième partie est l'étude de l'activité antioxydante de l'extrait acétonique de cette plante en utilisant un test in-vitro : le piégeage du radical DPPH.

Les résultats obtenus montrent que l'extrait acétonique du romarin est riche en polyphénols totaux avec une teneur de 57.6 ug EAG / mg d'extrait

L'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* de l'extrait acétonique du romarin « technique de réduction du radical libre DPPH » a montré que l'extrait acétonique du romarin peuvent agir en tant que piégeurs de radicaux libres et semblent être le bon piégeur de radicaux libres (IC50 = 4.18 mg/ml).

Ces résultats indiquent que l'extrait acétonique du romarin représente une source prometteuse d'agents antioxydants.

Mots clé : Rosmarinus officinalis L ; les composés phénoliques ; test DPPH ; Activité antioxydante

Résumé

Abstract

As part of the promotion of medicinal plants from the Algerian and Mediterranean flora, this work focuses on the study of an endemic plant for their therapeutic virtues, rosemary.

We were interested in the study of phenolic compounds and the antioxidant activity of rosemary from the Relizane region.

The first part of this study concerns the extraction of phenolic compounds which was carried out after drying and grinding the aerial part. The extraction is carried out by maceration with a solvent (acetone – distilled water). The extraction yield is around 6.9%. The quantification of total polyphenols was carried out using the Folin-Ciocalteu method, the absorbance of which was measured by a spectrophotometer.

The second part is the study of the antioxidant activity of the acetone extract of this plant using an in-vitro test: the trapping of the DPPH radical.

The results obtained show that the acetone extract of rosemary is rich in total polyphenols with a content of 57.6 ug EAG / mg of extract

Evaluation of the in vitro antioxidant activity of rosemary acetone extract "DPPH free radical reduction technique" showed that rosemary acetone extract can act as free radical scavengers and appear to be the good scavengers' free radicals ($IC_{50} = 4.18$ mg/ml).

These results indicate that the acetone extract of rosemary represents a promising source of antioxidant agents.

Keywords: Rosmarinus officinalis L; phenolic compounds; DPPH test; Antioxidant activity

ملخص

في إطار الترويج للنباتات الطبية من النباتات الجزائرية والبحر الأبيض المتوسط، يركز هذا العمل على دراسة نبات مستوطن لفوائده العلاجية، وهو إكليل الجبل. كنا مهتمين بدراسة المركبات الفينولية والنشاط المضاد للأكسدة لإكليل الجبل من منطقة غليزان. الجزء الأول من هذه الدراسة يتعلق باستخلاص المركبات الفينولية والذي تم بعد تجفيف وطحن الجزء الهوائي. يتم الاستخلاص عن طريق النقع باستخدام مذيب (الأسيتون - الماء المقطر). تبلغ نسبة الاستخلاص حوالي 6.9%. تم إجراء القياس الكمي لإجمالي البوليفينول باستخدام طريقة Folin-Ciocalteu، والتي تم قياس امتصاصها بواسطة مقياس الطيف الضوئي. الجزء الثاني هو دراسة النشاط المضاد للأكسدة لمستخلص الأسيتون لهذا النبات باستخدام اختبار في المختبر: محاصرة جذري DPPH. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن مستخلص الأسيتون من إكليل الجبل غني بالبوليفينول الكلي بمحتوى 57.6 ميكروغرام EAG / ملغم من المستخلص. أظهر تقييم نشاط مضادات الأكسدة في المختبر لمستخلص أسيتون إكليل الجبل "تقنية تقليل الجذور الحرة DPPH" أن مستخلص أسيتون إكليل الجبل يمكن أن يعمل ككاسحات للجذور الحرة ويبدو أنه الجذور الحرة الجيدة ($IC_{50} = 4.18$ مجم / مل). وتشير هذه النتائج إلى أن مستخلص الأسيتون من إكليل الجبل يمثل مصدرا واعدا للعوامل المضادة للأكسدة.

الكلمات المفتاحية: إكليل الجبل المخزني L؛ مركبات فينولية؛ اختبار DPPH. النشاط المضاد للأكسدة

Introduction

Introduction

Depuis des millénaires, l'homme a toujours utilisé des éléments de son environnement, en particulier les plantes, pour se traiter contre plusieurs maladies. Environ 66 à 85% de la population mondiale, principalement celles des pays en voie de développement dont l'Afrique, ont directement recours aux plantes comme alternative pour se soigner. Il est évident qu'une plante contient plusieurs milliers de substances différentes et on peut se rendre compte de la richesse naturelle du règne végétal. Ces substances tels les alcaloïdes, les composés phénoliques et les essences ne sont souvent que les produits secondaires de la plante qui sont généralement l'œuvre d'une réponse à des stimuli externes ce qui explique leurs utilisations par l'homme à des fins thérapeutiques et industrielles dont les techniques d'extraction, séparation et détermination de la structure ont été développées pour comprendre leur variation structurale afin d'identifier les composés biologiquement actifs pour l'usage médicinal et l'élaboration des médicaments (**Fabricant et Farnsworth, 2001**). Donc l'industrie pharmaceutique moderne elle-même s'appuie encore largement sur la diversité des métabolites secondaires végétaux pour trouver de nouvelles molécules aux propriétés biologique inédites, dans ce but, l'investigation des plantes représente un potentiel inestimable pour la découverte de nouvelles substances puisque les médicaments à base de plantes donnent au consommateur des garanties de qualité et d'innocuité.

L'usage thérapeutique des plantes dépend donc de la diversité des espèces végétales et des connaissances associées à leur utilisation en phytothérapie traditionnelle. Les chercheurs et les scientifiques dans ce domaine, sont censés de traduire ce savoir-faire populaire, cumulé pendant des siècles, en savoir scientifique, par le biais d'enquêtes ethnobotaniques dans leurs sociétés, notamment, pour les plantes médicinales qui ont montrés leurs efficacités et leurs larges utilisations pour leurs vertus médicamenteuses (**Alaneme.,2016**).

L'Algérie, de sa position géographique, présente une large gamme d'étages bioclimatiques, induisant une biodiversité de plantes utilisées comme condiments, aliments naturels et pour des fins thérapeutiques. En Algérie, la phytothérapie est utilisée depuis toujours dans le secteur de la médecine traditionnelle. Les pharmacopées régionales s'inspirent principalement de la médecine arabe classique et de l'expérience locale des populations en matière de soins (**Guessoum.,2021**) pays avec plus de 3000 espèces dont 15% endémiques, auxquelles la population a recours à la médecine traditionnelle, on commence à entreprendre des systématiques portant sur des plantes médicinales issues de sa flore. La plante est rarement utilisée entière (piloselle). Le plus souvent il de la plante : romarin, racine, parties aériennes, tige, écorce, bourgeon.

Introduction

Actuellement les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches basées sur les cultures *in vivo* et *in vitro* de tissus végétaux, ceci est notamment le cas des polyphénols végétaux qui sont largement utilisés en thérapeutique comme des anti-inflammatoires, sont fortement antioxydants, antibactériens urinaires et analgésique (**Chevallier, 1996**), Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissances cellulaire et la maturation des fruits. Les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tannins (**boizot et charpentier, 2006**). En effet, le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications. La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la multiplication mitochondriale de radicaux (**Girodon et al. 1997 ; Sohal et al, 2002**).

➤ Dans ce contexte s'inscrit ce présent travail de recherche, dont le but principal est d'étudier l'activité antioxydante (qui permet de lutter contre les radicaux libres) de l'extrait acétonique du romarin. Deux investigations sont été réalisées :

- La première a été basée, principalement, sur l'extraction et la quantification des composés phénoliques totaux.
- Le second aspect a été consacré à l'évaluation de l'activité antioxydante vis-à-vis du radical libre DPPH.

➤ Afin de déterminer l'efficacité de chacun des extraits et d'établir la relation pouvant exister entre l'évolution des composés phénoliques et cette dernière.

❖ Cette étude sera subdivisée en deux parties :

1. Une revue bibliographique où nous apportons des études sur la phytothérapie, données générales sur l'espèce étudiée, les polyphénols.
2. Une seconde partie dans laquelle nous rapportons les méthodes utilisées, les résultats obtenus ainsi que leur discussion.

L'interprétation des résultats obtenus a fait l'objet de comparer nos résultats avec des résultats de recherches antérieures, tout en essayant de les expliquer sur la base de notions fondamentales, et nous finirons par une conclusion générale portant sur les possibilités d'utilisation de cette plante dans le domaine de la phytothérapie

.

Partie Bibliographique

Chapitre 01
Rosmarinus officinalis L

I. Description

Le romarin possède des tiges ligneuses, très rameuses pourvues de feuilles linéaires de 1 à 2 cm, sessiles, opposées, de couleur verte en dessus et blanchâtre en dessous (**Couplan et Styner, 2012**) avec un sommet obtus ou arrondi, une face supérieure faiblement ridée et une face inférieure caractérisée par une nervure médiane très saillante (**Godet, 2004**).

Les fleurs de cette espèce sont réunies en petites grappes axillaires, mêlées de feuilles et terminales (**Couplan et Styner, 2012**), avec un calice en cloche, bilabié et une corolle bleu pâle ou blanchâtre à 2 lèvres (**Quézel et Santa, 1963**).

Le romarin (**Photo1et2**) a une inflorescence en épis très courts, à bractées squamiformes de 1 - 2 mm rapidement caduque (**Quézel et Santa, 1963**) et ses fruits sont formés de 4 petits akènes avec une floraison toute l'année (**Couplan et Styner, 2012**).



Figure 01 : *Rosmarinus Officinalis*. (Quézel et Santa, 1963)

II. Habitat

Le romarin est spontané dans les régions méditerranéennes où il croît dans les terrains calcaires, les lieux secs et arides du Midi, surtout au voisinage du littoral, en Corse ; dans tout le bassin méditerranéen (**Figure 2**), où il fleurit toute l'année (**Goetz et Ghedira, 2012**).

Le romarin pousse aussi spontanément dans le sud de l'Europe. On le cultive dans le monde entier à partir de semis ou de boutures au printemps. Il apprécie les climats chauds, modérément secs (**Iserin, 2007**).



Figure 02 : Distribution géographique du *Rosmarinus Officinalis* accordée au GBIF

III. Systématique

- **Règne :** végétal
- **Sous règne :** Cormophytes
- **Embranchement :** Spermaphytes
- **Sous Embranchement :** Angiospermes
- **Classe :** Eudicot
- **S. Classe :** Gamopétales
- **Ordre :** Lamiales
- **Famille :** Lamiacées
- **Genre espèce :** *Rosmarinus officinalis* L.

(QUEZEL et SANTA, 1963)

IV. Composition

Le romarin est riche en principes actifs. Il contient des flavonoïdes, des acides phénols, notamment l'acide rosmarinique (2 à 3 %).

Les feuilles de romarin contiennent de la résine, de tanin, une substance amère et environ 1,50% d'une essence spéciale à odeur aromatique, saveur chaude et camphrée, de cinéole et de camphre ordinaire. Perrot a découvert la présence de poils sécréteurs de deux sortes dans le limbe de la feuille de romarin. Les sécrétions sont les produits du métabolisme végétal qui comprennent les huiles essentielles, les gommes et les mucilages, les tanins, les alcaloïdes, les nectars, etc. D'autre part, Spiro et Chen rapportent que l'huile essentielle de romarin est contenue dans des glandes épidermiques appelées trichomes, divisées essentiellement en deux types principaux (**peltate et capitate glands**).

Le premier type serait le site de stockage le plus important de l'huile essentielle de romarin. Il faut rappeler que la libération de l'huile n'est possible que si un facteur externe intervient (Zermane,2010).

A) Les principaux constituants de l'huile essentielle de Romarin sont :

- **Huile essentielle** : 1,8 cinéole, α -pinène, camphre
- **Acides phénols** : acides caféique, rosmarinique et chlorogénique
- **Diterpènes phénoliques** : acide carnosolique et carnosol
- **Tanins**; Triterpènes et stéroïdes : acides oléanoliques et ursoliques (brunton,1999)

B) Appareil végétatif :

- **Racine** : la racine du *Rosmarinus officinalis*. Est profonde et pivotante. (Figure n 05).
- **Tige** : arbuste ou sous arbrisseau, rameau **de 0.5 à 2 mètres** cette tige est tortueuse, anguleuse et fragile. L'écorce est linéaire à cyme plus ou moins simulant des épis. (Sanon., 1992).
- **Feuille** : linéaire, gaufrée, feuilles coriaces, sessiles, opposées, rigides brillantes à bords repliés verdâtre en dessus plus ou moins hispides blanchâtre en- dessous de **18 à 50 x 1.5 à 3 mm** Les feuilles sèches dégagent une forte odeur et un gout amer. Elles contiennent jusqu'à **2% d'huile** essentielle oléum *Rosmarinus* = Oléum anthos, renfermant du Cinéol et du Bornéol, des alcaloïdes et des acides organiques. Ces feuilles, voire l'essence de romarin, entrent dans la composition de nombreux produits Antirhumatismaux du fait de leur fortement rubéfiant sur la peau alcool spiritus *Rosmarinus* (Janvola et Jinistodola.1983).

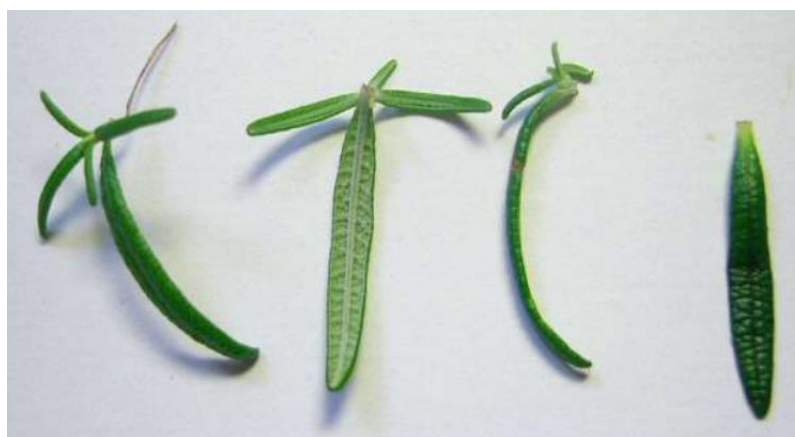


Figure 03 : Feuille de *Rosmarinus officinalis* L (Source : Academic, 2000-2014)



Figure 04 : Feuille linéaire de *Rosmarinus officinalis* L.



Figure 05 : Racine de *Rosmarinus officinalis* L.

C) Appareil reproducteur :

- **Fleurs :** en mai, très courtes grappes axillaires et terminales. Chaque fleur environ 1 cm de long de couleur purpurin ; bleu pâle ou blanchâtre en cloche bilabée à lèvre supérieure ovale entière et à lèvre à 2 lobes lancéolés. Lèvre supérieure en casque légèrement bifide. Lèvre inférieure à 3 lobes dont le médian est large et concave. Les 2 étamines Sont plus longues que la corolle. L'ovaire présente 2 carpelles surmontées d'un style long courbe et bifide. (Coste., 1906).
- **Fruit :** est tétrakène de forme ovale située au fond du calice. Peut être sous forme de baie, sèche et lisse (Coste., 1906).



Figure 06 : La fleur de *Rosmarinus officinalis* L. Source : photo prise par (Valter Jacinto ,2015)

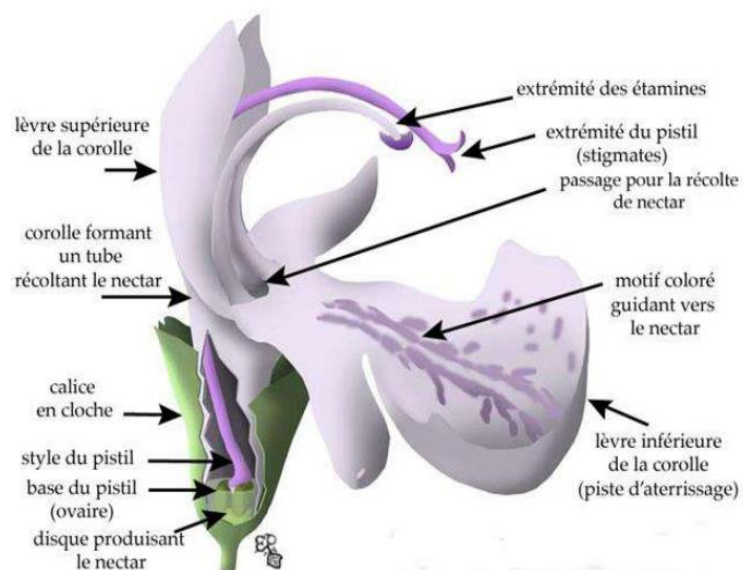


Figure 07 : l'organisation de la fleur de *Rosmarinus officinalis* L. (Source : ullmann ., 2005)



Figure 08 : Fruit de *Rosmarinus officinalis* L (Source : Valter Jacinto, 2015)

D) Usages thérapeutiques

Le romarin est une plante aromatique aux nombreuses propriétés thérapeutiques (Lacoste, 2014) :

- La drogue est utilisée en compresses pour éviter les retards de cicatrisation et l'eczéma et comme insecticide.
- Utilisée comme additif de bain (**drogue ou huile essentielle**) pour stimuler la circulation sanguine et pour son effet vasodilatateur (Goetz et Ghedira, 2012).
- Apaise les douleurs rhumatismales et la chute des cheveux sous forme d'huiles, de pommades et de liniments (Chaïb, 2015).
- Elle est également utilisée en cas de nez bouché et de rhume et en bain de bouche pour l'hygiène buccale (Goetz et Ghedira, 2012).
- En raison de sa teneur en huile essentielle, la drogue est utilisée comme carminatif et stomachique dans les troubles digestifs, les ballonnements, les flatulences et pour stimuler l'appétit et la sécrétion gastrique.
- Une action tonique sur le cerveau, les muscles et le système cardio-vasculaire.
- Elle est également indiquée comme cholagogue et cholérétique.
- Elle peut être employée aussi comme un anti-inflammatoire, un antiseptique léger et cicatrisant par voie locale (Goetz et Ghedira, 2012)

V. Indication usuelle

Elle est prescrit dans le soin des troubles-digestifs liés à une insuffisance de la Fonction biliaire : dyspepsie, crampes, ballonnements, constipation. Il peut être utilisé dans les infections bronchiques et **ORL (grippe, bronchite...)** et il est recommandé en cas de Grande fatigue. En usage externe, il apaise les douleurs rhumatismales et inflammatoires (Berkani et al., 2013).

Chapitre 02

Les composés phénoliques

I. Généralités

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés Par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un Groupement hydroxyle libre (Bruneton., 1999 ; Lugasi et al., 2003).

Ils sont des composés phénoliques hydrosolubles, de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Dalton (Dangles et al., 1992 ; Hagerman et al., 1998 ; Cheynier et Sarni-Manchado., 2006).

Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieures (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) ; et sont impliqués dans des nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la germination des graines et la maturation des fruits (Boizot et Charpentier., 2006).

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 symbiose, ou beine 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 milieu naturel (Macheix et al., 2005).

II. Classification

Plus de 800 composés phénoliques ont été isolés dans une grande variété de formes (Erdman et al., 2007 ; Harnly et al., 2007 ; Batra et Sharma., 2013).

La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples acides phénoliques simples vers les molécules les plus hautement polymérisés (tanins condensés) (Harnly et al., 2007). Les polyphénols sont repartis en plusieurs classes illustrées dans le tableau.

Structure	Class
C6	Les acides phénoliques simples, benzoquinones.
C6-C1	Acides hydroxybenzoïques
C6-C2	Acéthophénones, acides phénylacétiques
C6-C3	Acides hydroxycinnamiques, acides phénylacétiques (coumarins, Isocoumarins, chromones, chromènes)
C6-C4	Napthoquinones

C6-C1-C2	Xantones
C6-C2-C6	Stilbènes, anthraquinones
C6-C3-C6	Flavonoïdes, isoflavonoïdes
(C6-C3)2	Lignanes, neolignanes
(C6-C3-C6)2	Biflavonoïdes
(C6-C3) n	Lignines
(C6-C3-C6) n	Tanins condensés

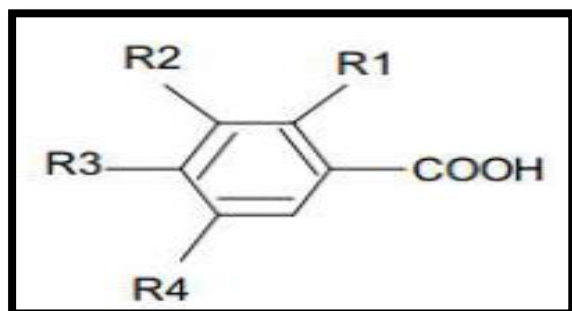
Tableau 01 : principales classes des composés phénoliques (Balasundram et al., 2006).

II.1. Acides phénols simples

Le terme acide-phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique. Ces composés peuvent être divisés en deux catégories : les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique (Massimo et al., 2007).

II.1.1 Acide hydroxybenzoïques

Ils sont des dérivés de l'acide benzoïque et ont une structure générale de base de type (C6-C1). Ils existent fréquemment sous forme d'esters ou de glucosides (Macheix et al., 2005).

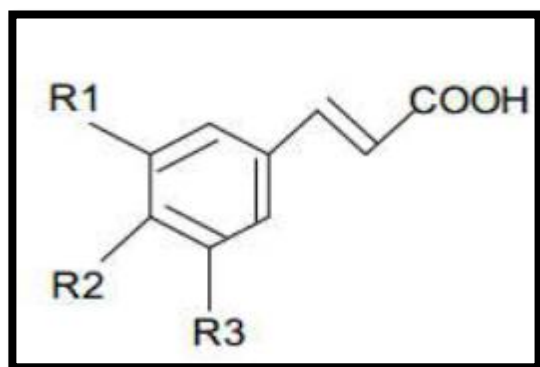


R1	R2	R3	R4	Nom
H	H	OH	H	Acide phénolique
H	OH	H	H	Acide phydroxy Benzoïque
H	OH	OH	H	Acide protocatechique

Figure 09 : principaux acides hydroxybenzoïques (Sarni-Manchado et Cheynier., 2006).

II.1.2 Acide hydroxycinnamiques

Il représente une classe très importante dont la structure de base est (C6-C3) dérivé de celle d'acide cinnamique grâce à des substitutions au niveau du cycle aromatique (Psotova et al., 2003). Ils entrent dans la composition de nombreux végétaux (surtout les fruits) et existent sous forme d'esters hydrosolubles (acide caféique) ou insolubles, associés aux fibres (acide férulique) (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).



R1	R2	R3	Acide
H	H	H	Acide cinnamique
H	OH	H	Acide P coumarique
OH	OH	H	Acide caféique

Figure 10 : Principaux acides hydroxycinnamiques (Sarni-Manchado et Cheynier., 2006).

II.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont les principaux métabolites secondaires végétaux (Ralston et al., 2005). Ils constituent un grand groupe de composés phénoliques ayant une structure benzo- γ -pyrone et sont omniprésents dans les plantes. Ils sont synthétisés par voie des phénylpropanoïdes (Winkel-Shirle., 2000).

Ils se trouvent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycosides, en général dans toutes les plantes vasculaires, ou ils peuvent être localisés dans divers organes comme les racines, les tiges, les feuilles, les fleurs et les fruits (Havsteen et al., 2002).

Plus de 4000 variétés de flavonoïdes ont été identifiés, dont beaucoup sont responsables des couleurs attrayantes de fleurs, de fruits, et des feuilles (Nijveldt et al., 2001 ; Batra et Sharma, 2013). Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune, par conséquent, il possède tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone, constitué de deux noyaux aromatiques (noyaux A et B) et d'un hétérocycle central C (Erdman et al., 2007).

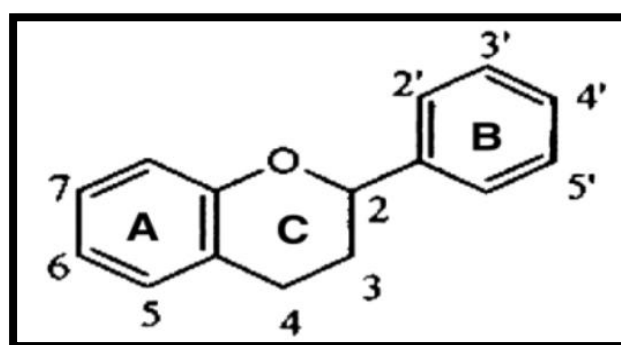


Figure 11 : structure de base des flavonoïdes (Erdman et al., 2007 ; Stefk., 2011).

Les flavonoïdes peuvent être divisés en différentes classes sur la base de leur structure moléculaire. Les 5 principaux groupes de flavonoïdes, ainsi que les exemples les plus

connus de chaque groupe, la structure moléculaire de chaque groupe de flavonoïdes et la source de nourriture dans laquelle ils sont présents est donnée dans le tableau IV (Nijveldt et al., 2001 ; Harnly et al., 2006).

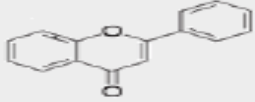
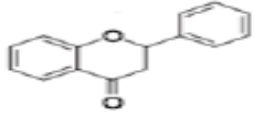
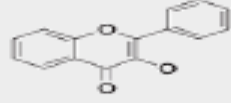
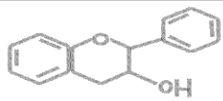
Familles	Exemples	Structures
Flavones	Apigénine, lutéoline	
Flavanones	Naringénine, Butine	
Flavonols	Kaempféol, Isorhamnetine, Quercétine, Myricétine	
Anthocyanidines	Cyanidine, delphicianidine, pelargonidine, péonidine, petunidine	
Flavone-3-ol=Flavanol	Catéchine, gallo catechine, Epicatechine, Gallate	

Tableau 02 : Les principales familles de flavonoïdes (Nijveldt et al., 2001 ; Malesev et al., 2007 ; Massimo et al., 2010).

II.3. Anthocyanines :

Les anthocyanines sont des composés phénoliques d'origine naturelle responsable de la couleur de nombreuses fleurs, fruits et baies. Ils sont glycosylés. Polyhydroxylés (figure) et ont une large distribution dans le règne végétal (longo et al., 2005 ; currie et al., 2006 ; qin et al., 2010). L'intérêt pour ce type de pigment a augmenté essentiellement en raison de leur possible utilisation comme colorant. A cause de leur hydrosolubilité (**les anthocyanes sont le plus grand groupe de pigments soluble dans l'eau**). Ils peuvent être en effets bénéfique pour la santé comme agents anti-inflammatoire (longo et al. 2005), et agent antioxydant (Ghosh et konishi, 2005).

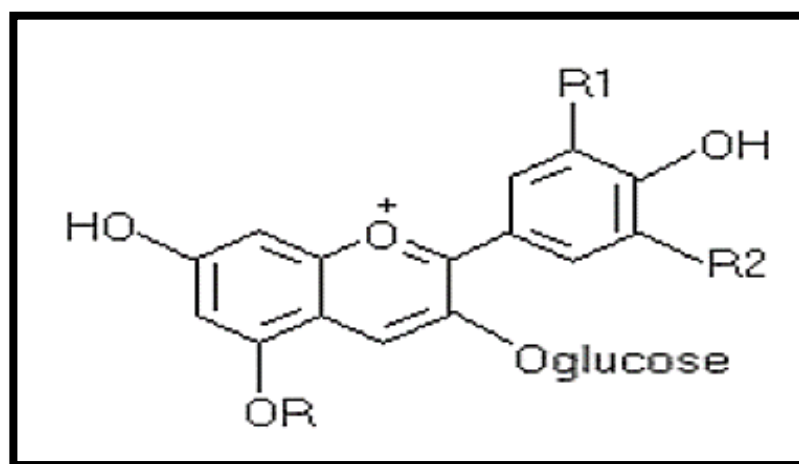


Figure 12 : La structure chimique d'anthocyane (sava et *al.*, 2006).

II.4. Stilbènes

Les stilbène sont de petits poids moléculaire (environ 200-300g/mol), des composés d'origine naturel et se retrouvent dans un large éventail de source végétales, des produits d'aromathérapie, et des compléments alimentaires.

Les Stilbènes agissent comme agents protecteur naturels pour défendre la plante contre les attaque virales et microbiennes et exposition aux ultraviolets excessive (**Roupe et *al.*, 2006**). Parmi les stilbènes les plus abondant, le resvératrol (**figure13**) qui est connu essentiellement pour ses diverses propriétés biologiques d'où son utilité pharmaceutique et médicinales (**Delmas et *al.*, 2003**).

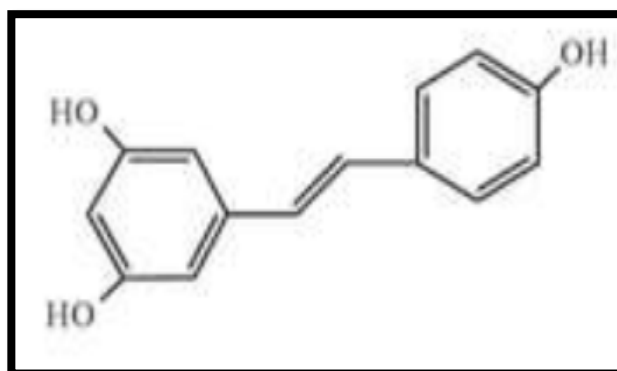


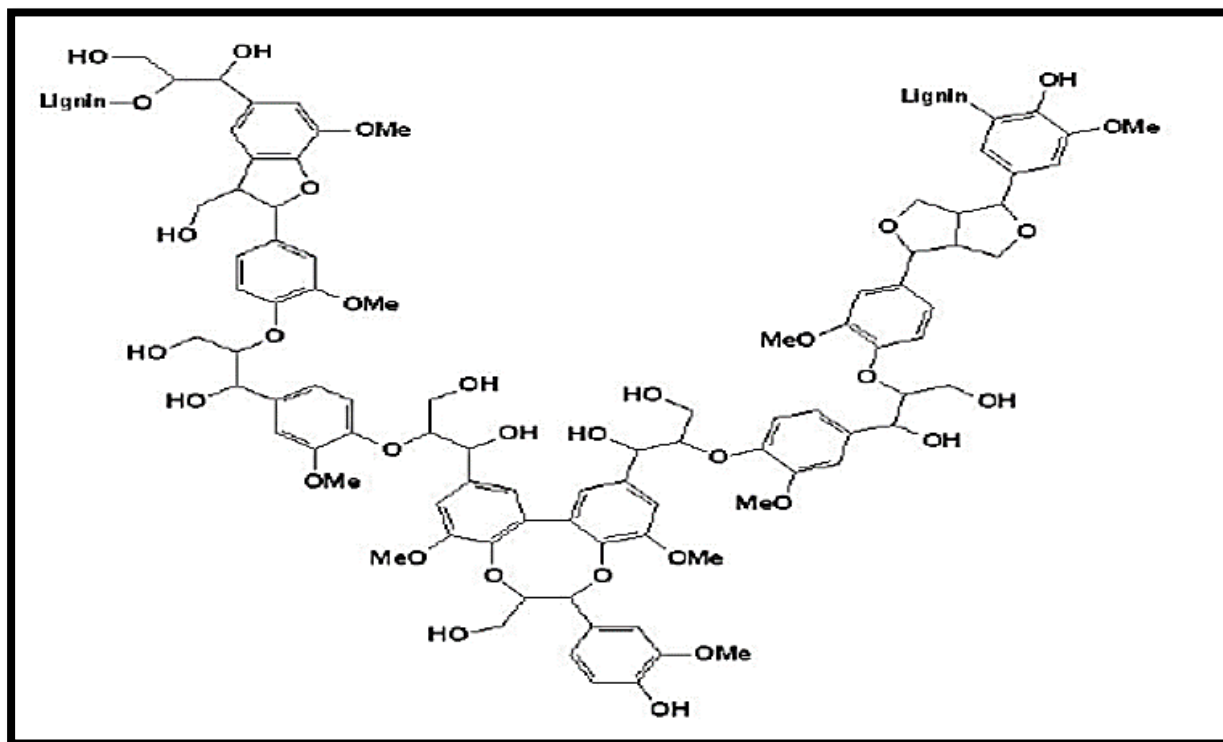
Figure 13 : Un exemple de stilbènes (resvératrol) (macheix et *al.*, 2005)

II.5. Lignines

Ce sont les composants majeurs de la paroi cellulaire. Les lignines (**du latin *lignum*, bois**) sont les polymères les plus abondants après la **cellulose (forme la paroi végétale)** (**Ralston et *al.*, 2005**).

Ils forment une structure hétérogène et agissent à la fois sur le maintien de l'intégrité structurale de la paroi cellulaire, ainsi qu'un échafaudage pour les polysaccharides. Les polysaccharides augmentent le caractère hydrophobe de la structure de la lignine, ce qui facilite le transport de l'eau dans les tissus, en empêchant l'absorption d'eau.

Cette structure hydrophobe est cruciale pour l'action capillaire, ce qui permet à l'eau de passer à travers les capillaires de lignine double sans absorber dans la cellule végétale



(Holderness et al ; 2008).

Figure 14: structure chimique des lignines (wertz et al ., 2015)

II.6. Tannins

Les tannins sont des formes phénoliques condensées. Ayant un poids moléculaire allant de 500 à 3000 daltons. Dans la nature les tannins se trouvent dans le monde entier dans de nombreuses familles de différentes plantes supérieures telles que châtaignier et le bois de chêne (Paolina et al.,2003). Ils sont solubles dans l'eau (Akiyma et al.,2010).

Le terme tannin vient de la source de tannins utilisée pour le tannage des peaux d'animaux en cuire (Khanbabae et Ree., 2001).

En outre, ils ont certaines propriétés spéciales telles qu'aptitude à la précipitation des alcaloïdes. De la gélatine et des autres protéines. Selon la nature des assemblages moléculaire.

Les tannins sont classés en 2 groupes : les tannins hydrolysables et les tannins condensés (Reed *et al.*, 1995 ; Sereme *et al.*, 2010).

II .6.1. Tannins hydrolysables

Les tannins hydrolysables (**Figure 15**) sont des résidus d'acide gallique qui contiennent un noyau de sucre entouré des groupes phénoliques.

Ces résidus peuvent être modifiés par la suite par une autre addition de groupements phénoliques et de chaînes latérales comprenant un à *n* monomères d'acides galliques. Des liaisons carbonées entre noyaux conduisent à des molécules plus rigides (Nanoka., 1989).

Ils sont nommés tannins hydrolysables parce que le traitement avec des acides faibles hydrolyse facilement les résidus d'acide gallique et produit des acides phénoliques avec un hydrate de carbone coré.

Cependant, la production de diverses structures tanniques hydrolysables suggère qu'ils sont employés dans une fonction spécialisée. Une utilisation indiquée des tannins hydrolysables dans la défense des plantes contre les toxines et pour éviter la prédation herbivore (Holderness *et al.*, 2008).

Les tannins hydrolysables sont divisés en deux groupes, Gallotannins et Ellagitannins dont le premier groupe est formé à partir de l'acide phénolique et le deuxième groupe est obtenu à partir de l'acide gallique (Khanbabaei *et al.*, 2001 ; Cai *et al.*, 2006).

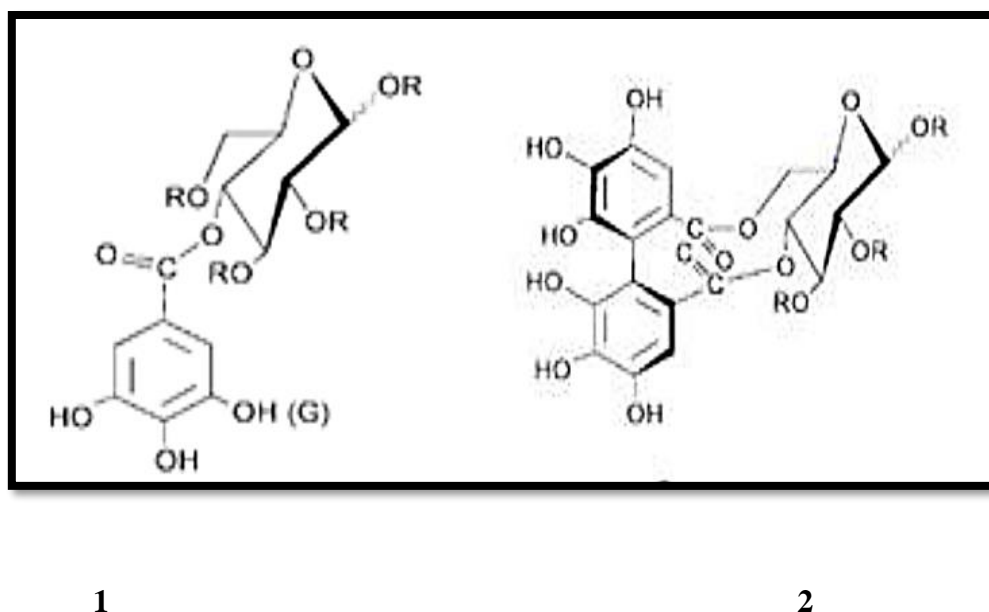


Figure 15 : Structure chimique d'un tannin hydrolysable (Gallotannins (1), Ellagitannins (2))

II .6.2. Tannins condensés

Les tannins condensés également appelés pro anthocyanidines sont des métabolites Secondaires synthétisés par intermédiaire de la voie biosynthétique des flavonoïdes et sont largement répandu dans l'alimentation (**fruit, vin, thé...**) et jouent un rôle important dans la défense contre les herbivores (**Bogs et al., 2005 ; Holderness et al., 2008**).

Les tannins condensés résultent de la polymérisation de molécules élémentaire de flavane (**flavane ol-3, flavane ol-4, flavane diol -3,4**). Ils sont désignés aussi sous le nom de tannins « caté chiques ».

Les proanthocyanidols ont été isolés ou identifiés dans tous les groupes de végétaux, gymnospermes et fougères compris (**Tanner et al., 2003**).

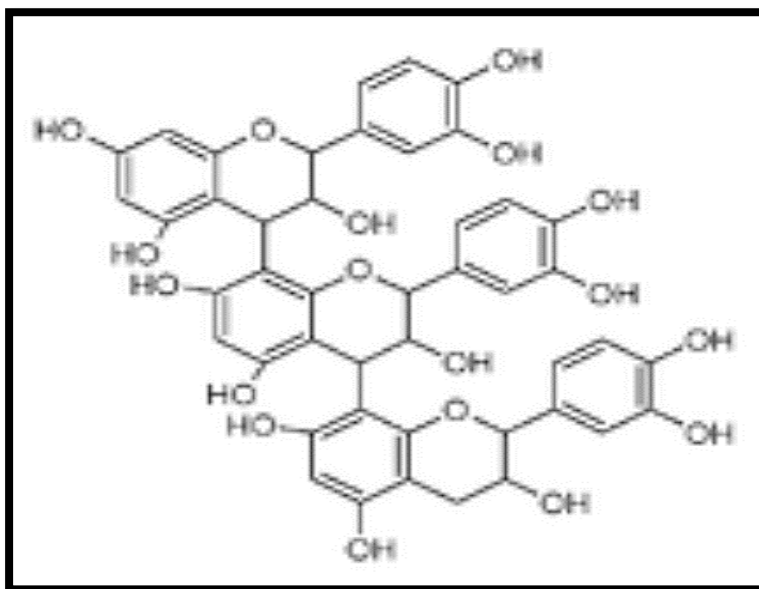


Figure 16 : Structure générale des pro anthocyanidines (khanbabaee et Ree., 2001).

III. Activité antimicrobienne des polyphénols

Les polyphénols sont reconnus par leur toxicité vis à vis des microorganismes (**Cowan.,1999**).

Une contamination des végétaux par des microorganismes pathogènes entraîne une forte augmentation des teneurs en composés phénoliques, ce qui correspond à la **mise** en place de mécanisme de défense de la plante (**Macheix et al., 2005**).

Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (**les protéases et les carbohydrolyses**) ou d'autre interactions pour inactiver les adhesines microbiennes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire (**Cowan., 1999**).

III.1. Activité antimicrobienne des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont parmi les plus communs des produits naturels qui présentent un large spectre d'activité antibactérienne (Xiao et al., 2014).

Des études scientifiques menées au cours des dernières années a généré un intérêt croissant dans leur rôle potentiellement important dans le maintien de la santé humaine. Un nombre considérable de plantes médicinales contiennent des flavonoïdes, qui ont été rapportés par de nombreux autres comme ayant des propriétés antibactériennes (Malesev et al., 2007).

L'activité de la quercétine, par exemple, a été au moins partiellement attribuée à l'inhibition de l'ADN gyrase de *colis*. La catéchine, flavonoïde isolée du thé vert, est douée de propriétés antimicrobiennes (Cowan, 1999).

De nombreux groupes de flavonoïdes ont été isolé et identifié comme possédant une activité antifongique, antivirale et antibactérienne (Cushing et Lamb, 2005).

III.2. Activité antimicrobienne des tannins

Les tanins ont été isolés à partir des feuilles de *Solanum trilobite* L et testés contre des bactéries **Gram+** et **Gram-**, les résultats montrent que les tanins ont présentés une activité antibactérienne contre tous les micro-organismes testés (*S. aureus* et *E. coli*) (Doss et al.,2009).

D'autre études ont également révélé que d'acide tannique est actif contre les bactéries, les moisissures et les levures (Colak et al.,2010).

III.3. Activité antimicrobienne des acides phénoliques

L'activité antimicrobienne des acides phénoliques a été rapporté dans plusieurs recherches Les acides phénoliques comme d'acide P-coumarique, acide caféique agissent en tant que des facteurs empêchant la croissance de *Staphylococcus aureus* (Stojković et al., 2013).

L'activité antimicrobienne est liée a été la présence des groupements hydroxyles dans leur structure (Cowan, 1999).

Une étude in vitro faite par Khatkar et al., (2014) a également démontré que les dérivés synthétiques de l'acide P-coumarique possèdent une activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Escherichia coli*.

IV. Rôle et intérêt des composés phénoliques**IV.1. Chez les humains**

Le rôle des composés phénoliques est largement montré dans la protection contre certaines maladies en raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes et de leurs propriétés antioxydantes (Feurie et al., 2005).

Ils sont également connus pour moduler l'activité de plusieurs enzymes ou de récepteurs cellulaires. Ils limitent l'oxydation des lipides sanguins et contribuent à la lutte contre les plaques d'athérome. Ils sont aussi anxiolytiques et protègent nos artères contre l'athérosclérose et réduisent la thrombose (**caillots dans les artères**) (Bruneton., 1993).

Les exemples de quelques composés phénoliques et de leurs activités biologiques sont récapitulés dans le tableau suivant.

Polyphénols	Activités biologiques	Auteurs
Acides phénols (cinnamiques et benzoïques)	Antimicrobiennes, antiulcéreuses, antiparasitaire antifongiques, antioxydantes	(Sannomiya et al., 2005 et Gurbuzi et al., 2009).
Comarines	Protectrices vasculaires, anti-inflammatoire, antiparasitaires analgésiques et anti oedémateuses	(Ito et al., 2005 et Smyth et al., 2009)
Flavonoïdes	Antitumorales, antiparasitaires, vaso, dilatoires, antibactériennes, anticarcinogènes, anti-inflammatoires, analgésique, hypotenseurs, antivirales, diurétiques, ostéogène, antioxydantes, anti-atherogénique, antithrombotique, anti-allergique	(Wollgast et al., 2000 ; Hitara et al., 2009 ; Tripoli, et Shon et al., 2004)
Anthocyanes	Protectrices capillaro-veineux, anti oxydant	(Brunrton.,1993)
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène, antioxydante, antitumorales, antifongiques et anti-inflammatoires	(Masquellier et al., 1979)

Tannis galliques et catéchiques	Antioxydantes	(Okamura et <i>al.</i> , 1993 ; Kubata <i>etal.</i> , 2005)
Lignanes	Anti-inflammatoire, analgésiques	(Kim et <i>al.</i> , 2009)
Phytostérols	Agent de protection contre l'hormone dépendant du cancer de colons	(Oumou., 2003)
Saponines	Antitumorale, anticancérigène,	(Ekoumou., 2003)

Tableau03 : Propriétés biologiques des quelques polyphénols dans l'organisme.

IV.2. Chez les végétaux

Les composés phénoliques peuvent intervenir dans certains aspects de la physiologie de la plante (**lignification, régulation de la croissance , interaction moléculaires avec certains microorganismes symbiotiques ou parasites...**), dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (**relation avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV**) soit directement dans la nature soit lors de la conservation après récolte de certains végétaux : dans les critères de qualité (**couleur, astringence, amertume, qualité nutritionnelles...**) qui orientent les choix de l'homme dans sa consommation des organes végétaux (**fruit, légumes, tubercules...**) et des produit qui en dérivent par la transformation dans les variations de certaines caractéristiques des végétaux lors des traitements technologiques (**préparation des jus de fruit, des boissons fermentées...**) pendant lesquels apparaissent fréquemment des brunissements enzymatiques qui modifient la qualité du produit fini (Fleuriet et *al.*, 2005).

Chapitre 03

Stress Oxydatif

I . Généralité sur les antioxydantes :

I .1. Définition des antioxydants :

Une substance antioxydante est une substance qui a la capacité de neutraliser ou de réduire les effets nocifs des radicaux libres, qui sont des molécules hautement réactives produites lors du processus d'oxydation dans le corps (Sies, 1991)

Les antioxydants sont des substances qui sont présentes à des concentrations relativement faibles par rapport à un substrat oxydable. Ils agissent en neutralisant les radicaux libres et en inhibant les réactions d'oxydation qui pourraient endommager les substrats oxydables. Les antioxydants peuvent être présents naturellement dans certains aliments ou être ajoutés en tant qu'additifs pour prévenir l'oxydation des produits alimentaires ou pour fournir des bienfaits pour la santé (Leong et al. ,2002)

II .1. Différents types d'antioxydants :

II .1.1. Antioxydants naturels :

Diverses substances peuvent agir comme antioxydants in vivo. Parmi celles-ci, on retrouve le bêta-carotène, l'albumine, l'acide urique, les œstrogènes, les polyamines, les flavonoïdes, l'acide ascorbique, les composés phénoliques, la vitamine E, et bien d'autres. Ces antioxydants peuvent contribuer à stabiliser les membranes cellulaires en réduisant leur perméabilité. De plus, ils ont la capacité de se lier aux acides gras libres (Mohammedi, 2006).

II .1.2. Sources naturelles d'antioxydants :

Il est indéniable qu'une alimentation équilibrée et saine constitue une importante source d'antioxydants naturels essentiels au bon fonctionnement de l'organisme humain. Les fruits, les légumes, les céréales, la viande et le poisson fournissent une grande variété de ces composés antioxydants. Par ailleurs, il existe d'autres sources de composés antioxydants qui sont également très intéressantes et trouvent des applications dans divers domaines tels que la pharmacologie, la microbiologie médicale et clinique, la phytopathologie et la conservation des aliments (Daferera et al. 2000).

II .1.3. Antioxydants synthétiques :

Dans l'industrie agroalimentaire, certains antioxydants couramment utilisés sont le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT), le gallate de propyle et le tert-butylhydroquinone (TBHQ). Cependant, leur utilisation est soumise à des

réglementations strictes en raison des préoccupations concernant leur toxicité potentielle, notamment des troubles hépatiques et le risque de cancer (**Gulçinet al. 2010**).

III .1. Le stress oxydatif :

Le stress oxydatif se réfère à un déséquilibre entre la production de radicaux libres et la capacité du corps à neutraliser leurs effets nocifs. Les radicaux libres sont des molécules instables et réactives qui se forment naturellement lors du métabolisme cellulaire ou en réponse à des facteurs externes tels que la pollution, le tabagisme ou une exposition excessive aux rayons ultraviolets. Lorsque les niveaux de radicaux libres augmentent, ils peuvent endommager les cellules et les tissus du corps en causant des dommages oxydatifs aux lipides, aux protéines et à l'ADN. Cela peut contribuer à l'apparition de diverses maladies et affections, y compris les maladies cardiovasculaires, le vieillissement prématuré, les maladies neurodégénératives et certains types de cancer (**Favier, 2003**).

Le corps dispose d'un système de défense antioxydant pour contrer les effets des radicaux libres. Les antioxydants neutralisent les radicaux libres en leur fournissant un électron manquant, réduisant ainsi leur réactivité et prévenant les dommages cellulaires. Cependant, lorsque le déséquilibre entre les radicaux libres et les antioxydants favorise l'accumulation excessive de radicaux libres, le stress oxydatif se produit (**Favier, 2003**).

La capacité antioxydante d'un individu peut varier en fonction de plusieurs facteurs tels que ses habitudes alimentaires, son mode de vie, ses caractéristiques génétiques et l'environnement dans lequel il vit. La figure 1 illustre le mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques (**Favier, 2003**).

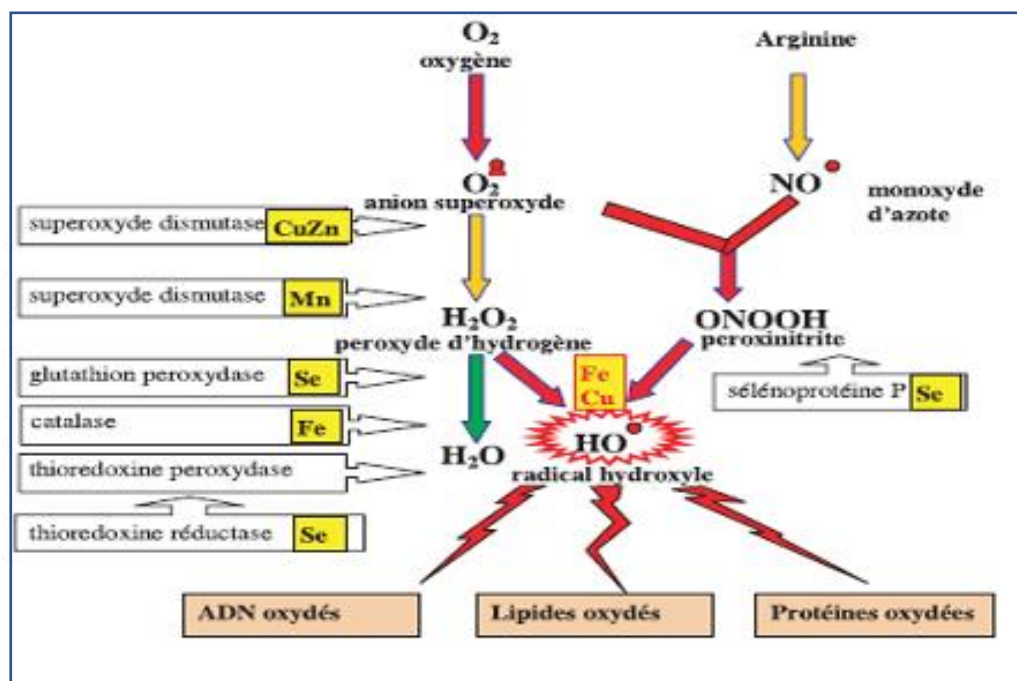


Figure 17 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques (Favier2003)

III .2. Le stress oxydatif et les composées phenoliques :

Les composés phénoliques ont été largement étudiés pour leur rôle dans la prévention et le traitement de ces maladies, en raison de leur activité antioxydante (Li et al. 2016). En effet, les polyphénols, les flavonoïdes et les acides phénoliques présents dans les plantes peuvent agir comme des antioxydants en neutralisant les radicaux libres et en réduisant le stress oxydatif (Scalbert et al. 2005).

Plusieurs études ont montré que les composés phénoliques peuvent également protéger les cellules contre les dommages causés par les radicaux libres en augmentant l'activité des enzymes antioxydantes endogènes, telles que la superoxyde dismutase et la catalase (Hassanpour et Yousefi, 2019; Sghaier et al. 2016). De plus, les polyphénols peuvent également réguler l'expression des gènes impliqués dans la défense antioxydante, ce qui contribue à renforcer les mécanismes de défense de l'organisme contre le stress oxydatif (Yang et al. 2018).

Il est important de noter que les effets bénéfiques des composés phénoliques sur le stress oxydatif peuvent varier en fonction de leur structure chimique, de leur dose et de leur biodisponibilité (Manach et al., 2004). Par conséquent, une consommation régulière de fruits, légumes et autres aliments riches en composés phénoliques peut contribuer à réduire le stress oxydatif et à prévenir les maladies chroniques associées à ce dernier.

Partie Expérimentale

Chapitre 01

Matériel et méthodes

I. Matériels et méthodes

La partie expérimentale de notre étude a été réalisée au sein du laboratoire de l'Université du Relizane département des sciences biologiques relizane L'objectif de notre travail expérimental est la détermination de la teneur en polyphénols totaux de l'extrait acétonique du romarin (*Rosmarinus officinalis L*) . Ainsi la mise en évidence de son activité antioxydante.

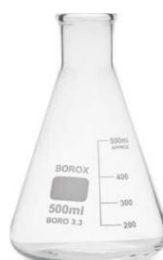
1) Matériels



Agitateur magnétique



Papier filtre



Erlen 500ml



Balance



boites de pétri en verre



Éprouvette 200ml



tubes a essaie



Papier aluminium



tubes a hémolysé



Etuve



Spectrophotomètre



Micro pipette



Les seringues jetables

2) Solutions :

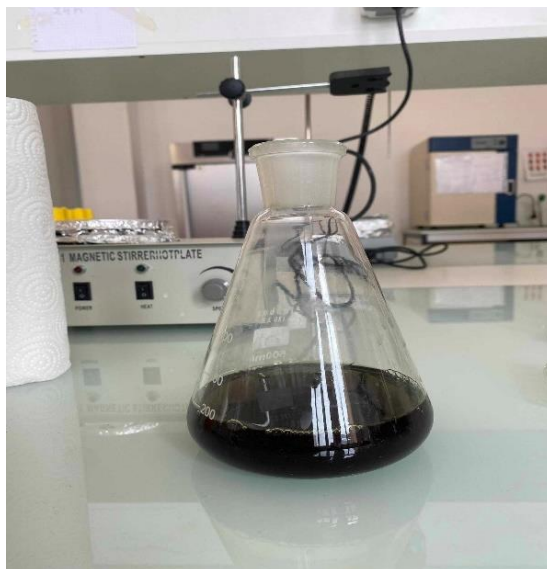


Solution DPPH (0,0024 g DPPH + 100 ml méthanol)



Solution d'acide ascorbique (0,005 g acide ascorbique +50 ml

Le matériel végétal utilisé est constitué de la partie arienne du romarin ,cette dernière a été récoltée en janvier 2024 dans de la région de Relizane .Elle a été nettoyée des impuretés ,séchée à l'abri de la lumière puis broyée à l'aide d'un mortier en poudre moyennement fine, à partir de laquelle des différents extraits ont été préparés. Le stockage a été fait dans des sachets en papiers et à l'abri de la lumière.



Extrait phénolique (1g extrait + 10ml eau distillé)

II. Extraction des polyphénols

A. Préparation des extraits phénoliques :

20g de la poudre végétale de romarin sont mises à macération **pendant 24** heures à température ambiante, dans un mélange **solvant-eau (70 :30 V/V)** ou dans **100 ml eau distillée**, le tout par la suite est filtré sur papier Whatman, l'extraction est refaite trois fois avec renouvellement du solvant. La série d'extraction permet d'obtenir l'extrait acétonique L extrait est séchés et conservés jusqu'à utilisation ultérieure

Macération → **Filtration** → **Évaporation** → **Aspect de l'extrait phénolique.)**

Figure 18 : les différentes étapes d'extraction (a-macération, b-filtration, c-évaporation, d-aspect de l'extrait phénolique.

A.1- L'extrait acétonique de la plante

La méthode d'extraction doit permettre l'extraction complète des composés d'intérêt et doit éviter leur modification chimique. L'eau, les mélanges aqueux de l'éthanol sont généralement utilisés pour l'extraction (Turkmen et al., 2007).

La solubilité des composés phénoliques est en fonction de leur degré de polymérisation, l'interaction avec les autres constituants et le type de solvant utilisé.

L'acétone a été recommandé et fréquemment employé pour l'extraction des composés phénoliques (Falleh et al., 2008).

L'acétone aqueux 70% est deux fois plus efficace que l'acétone pur, pour l'extraction des composés phénolique. (Vuorela, 2005)

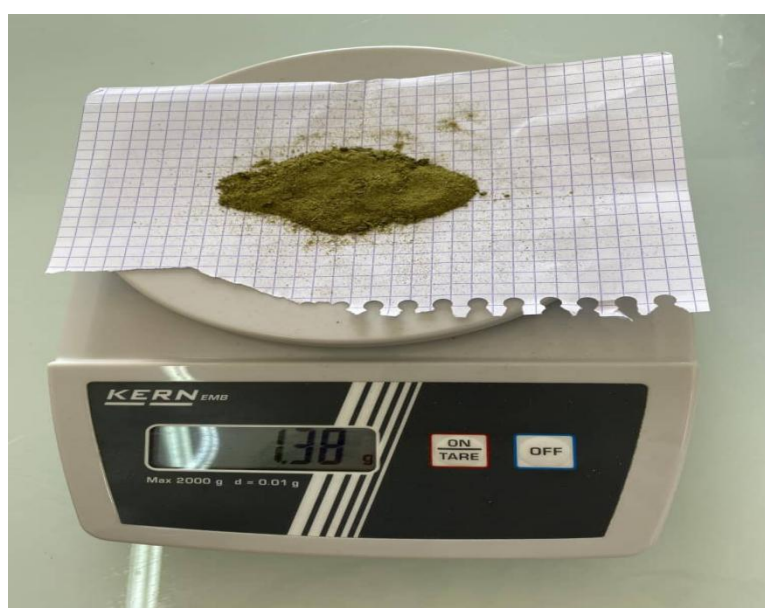


Figure 19 : L'extrait acétonique du romarin

L'extrait	L'aspect	La couleur
Acétonique du romarin	Poudre	Vert militaire

Tableau 04 : L'extrait acétonique du romarin

B. Rendement des extraits

Le calcul du rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait

$$R = (m / m_0) \times 100$$

obtenu et la masse de matière végétale à traiter (Belyagoubi, 2006) :

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

Rendement de l'extrait acétonique du romarin

L'extrait	Rendement
EAc	6,9

Tableau 05 : Rendement de l'extrait acétonique du romarin

L'extraction acétonique 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 (Seidel, 2005).

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 (Jones et Kinghorn, 2005).

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

III. Dosage phytochimique

A. Dosage des poly phénols totaux

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

B. Principe

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 (**Wong et al., 2006**).

Brièvement **200 µl** de chaque extrait (**dissous dans le méthanol**) ont été ajoutés à **1 ml** de réactif de Folin-Ciocalteu dilué **10 fois**. Les solutions ont été mélangées et incubées pendant **5 minutes** à **25 °C**.

Après l'incubation **800µ l** de la solution de carbonate de sodium **Na₂CO₃** à **7.5 % (p/v)** a été ajoutée dans les tubes.

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 **760 nm**.

A) Expression des résultats

La concentration des poly phénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, établie avec le standard étalon l'acide gallique (**5-200µg/ml**) et exprimée en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (**µg EAG/mg**).

IV. Evaluation de l'activité antioxydante :

A) Test de DPPH

L'effet scavenger des extraits aqueux et méthanolique de vis-à-vis du radical **DPPH** est évalué selon la méthode décrite par **Que et ses collaborateurs (2006)**.

B) Principe :

Le **DPPH** (2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle) est un radical libre stable que nous avons utilisé pour remplacer les radicaux libres produits par les cellules en réponses à des stress internes ou externes. En présence d'un antioxydant, la couleur violette caractéristique du **DPPH** virait au jaune et l'absorbance mesurée à **517 nm** s'abaissait. L'ajout de différentes dilutions des extraits à la solution de **DPPH** permettait de déterminer celle qui abaissait le plus l'absorbance.

C) Mode opératoire

Un volume de **2 ml** de la solution de **DPPH (0.1mM)** est mélangé avec **2 ml** des solutions d'extraits ou des antioxydants standards (**acide ascorbique**) à différentes concentrations. Après **30 minutes** d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est lue à **517 nm**.

À l'œil nu, la présence de l'activité antioxydante contre **le DPPH** se témoignait par le virage de la couleur de ce dernier du violet initial au jaune. Mais, la mesure de la valeur exacte de cette activité était calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Activité antiradicalaire (\%)} = [(Ac - At) / Ac] \times 100$$

Ac : absorbance du contrôle.

At : Absorbance du test.

La concentration effectrice (**EC50**) définie comme la concentration de l'échantillon qui produit 50% d'effet piègeur du radical **DPPH** est déterminée.

Chapitre 02

Résultats et discussion

V. Résultats et discussion :

A) Dosage Des Composés Phénoliques :

Les composés phénoliques comme les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tannins sont considérés comme les contributeurs majeurs à la capacité anti-oxydant des plantes (Li et al., 2007).

Ces composés possèdent aussi diverses activités biologiques telles que les activités anti-inflammatoire, antibactérienne, antivirale, antiallergique, antithrombotique et vasodilatatrice qui peuvent être reliées à leur activité anti- oxydante (Gulcin et al., 2010).

C'est la raison pour laquelle, les dosages des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tannins de *Rosmarinus officinalis* ont été effectués dans cette étude.

La teneur en polyphénols a été estimée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu. C'est l'une des méthodes les plus anciennes conçue pour déterminer la teneur en polyphénols, des plantes médicinales et les nourritures.

L'acide gallique est le standard le plus souvent employé dans la méthode de Folin Ciocalteu (Maisuthisakul et al., 2008).

La teneur de l'extrait acétonique du bulbe *Rosmarinus officinalis* en polyphénols est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage, établie avec le standard étalon l'acide gallique (5-200 µg/ml) et exprimée en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg) par l'équation type : $y = 0,0102x - 0,0519$ (figure 31).

La couleur bleue après 2h d'incubation confirme la présence des polyphénols qui ont réduit le réactif folin-ciocalteu. L'intensité de la couleur qui varie entre le bleu clair et le foncé est fonction de la teneur en polyphénols.

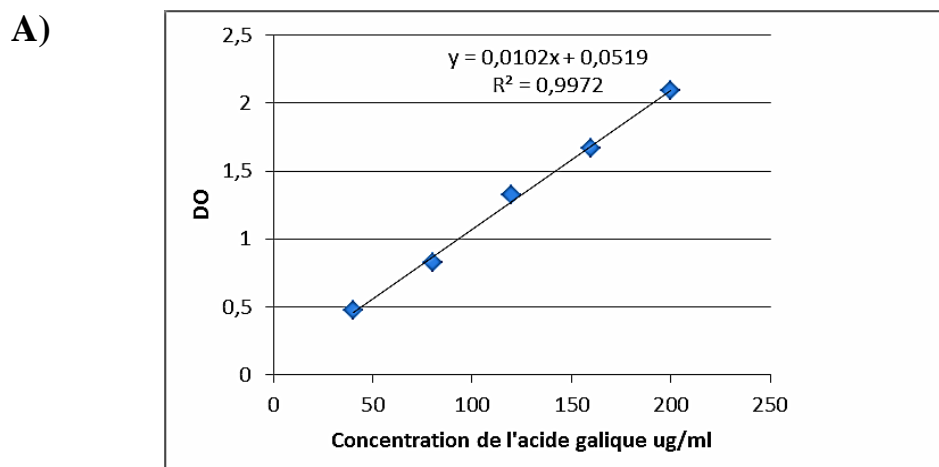


Figure 20 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

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. (Ozturk et al., 2007).

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. (Ebrahimi et al., 2008).
- Le patrimoine génétique, la période de la récolte et le stade de développement de la plante (Milia skas et al., 2004), le type de polyphénol, l'état de santé de fruit, la méthode de récolte et de stockage (Stratif et al., 2007)
- La méthode d'extraction et la méthode de peuvent également influencer l'estimation de la teneur des polyphénols totaux (Lee et al, 2003).

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 (Piquemal, 2008).

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 antioxydants de l'extrait qui dépend essentiellement du nombre des groupes hydroxyles de ces derniers (Balasunderamet al., 2006).

Extrait Acétonique

$Do=0.627$ $Y=0.01x+0.05$ $X=57.6$ Donc La Concentration Des Composés Phénoliques Dans Cet Extrait Est 57.6 Ug EAG /Mg

B) Activité Antioxydante de l'extrait acétonique

Le pouvoir antioxydant est très important de fait du rôle délétère des radicaux libres dans les systèmes biologiques (Gulçin et al., 2010).

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 (Gulçin et al., 2010)

L'activité anti-radicalaire de nos extraits a été estimée avec la méthode de **DPPH**. Cette méthode spectrophotométrique utilise le radical **DPPH** (2, 2'-diphényl-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 (Burits Et Bucar, 2000).

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 antiradicalaires (Majhenic et al., 2007 ; Locatelli et al., 2010).

Les valeurs obtenues ont permis de tracer une courbe ayant une allure exponentielle avec présence d'une phase stationnaire qui signifie la réduction presque totale du **DPPH** dans sa forme non radicalaire.

À partir de cette courbe, nous pouvons déterminer les pourcentages d'inhibition obtenus en fonction des concentrations utilisées ainsi que la valeur **d'IC50** de l'extrait qui correspondent à la concentration nécessaire pour réduire **50%** du radical **DPPH**.

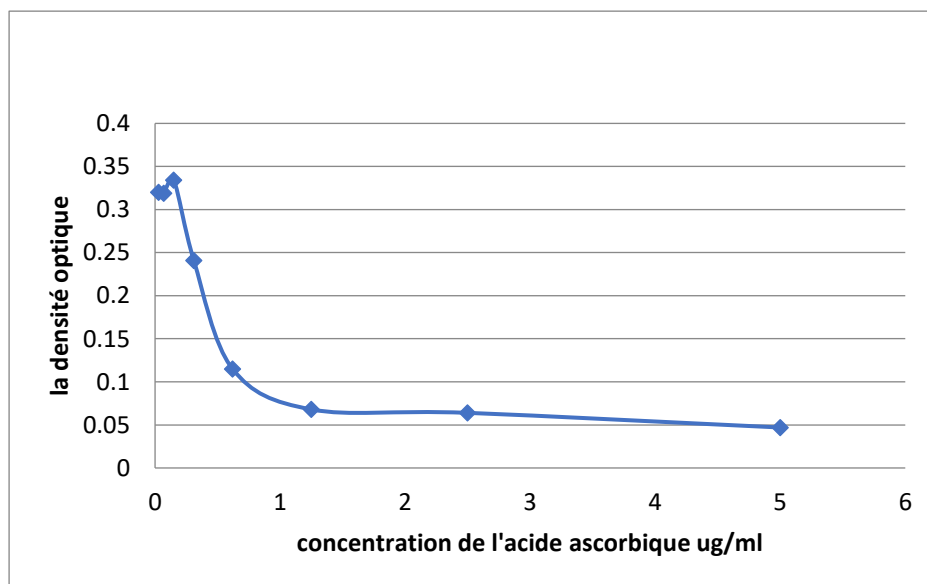


Figure 21 : variation de la densité optique en fonction de la concentration de l'acide ascorbique

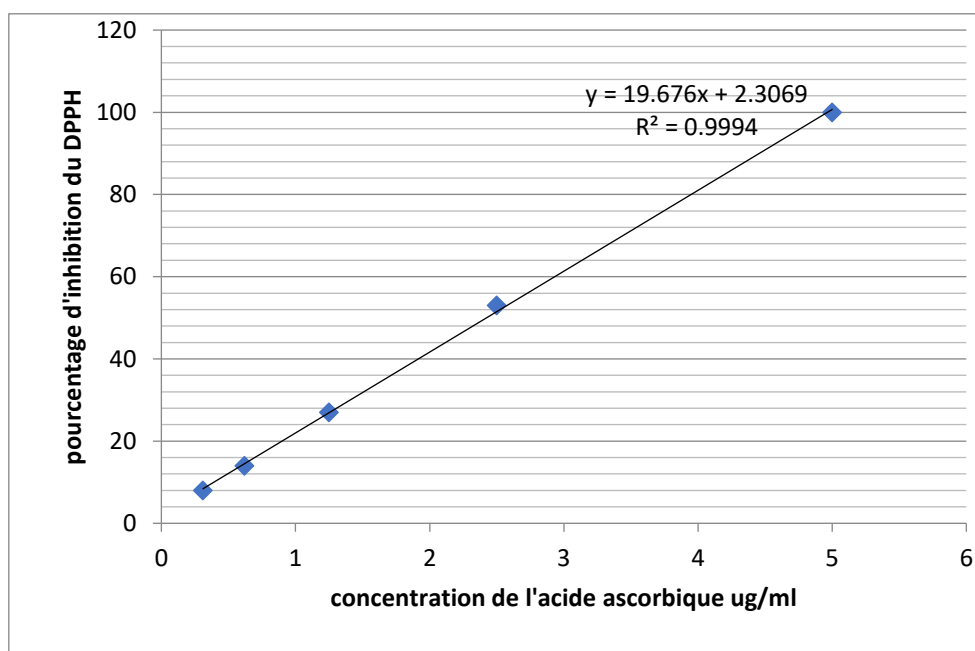


Figure 22 : activité antioxydante de l'acide ascorbique par le test DPPH

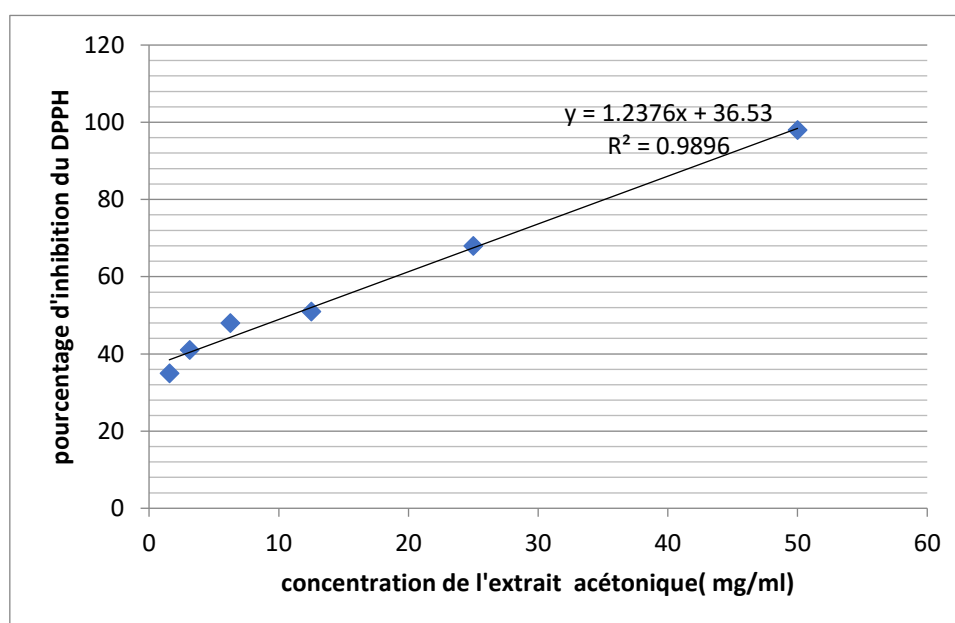


Figure 23 : activité antioxydante de l'extrait acétonique par le test DPPH $\text{IC}_{50} = 4.18$

Les résultats obtenus par le test de **DPPH** sont présentés dans la figure. Ils montrent que l'extrait acétonique du romarin a une activité antiradicalaire concentration-dépendante. Cela a été Prouvé par des auteurs ayant travaillé sur le romarin

Un effet antiradicalaire maximal de **99,9%** est exercé par l'extrait acétonique à de la concentration de **10mg /ml**. L'acide ascorbique, utilisé comme un antioxydant standard a montré un effet maximal de **100%** envers le radical **DPPH** à une concentration de **200 $\mu\text{g/ml}$** .

La concentration inhibitrice **IC50** a été calculée par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition = f (concentrations)].

Ce paramètre est défini comme étant la concentration efficace de l'extrait capable de piéger **50%** des radicaux **DPPH** dans le mélange réactionnel, où l'activité la plus forte correspond à l'**IC50** la plus faible. Les résultats obtenus (**l'IC50= 4,18mg /ml**).

Nos résultats suggèrent que l'extrait de romarin contient des agents piégeurs des radicaux libres agissant comme antioxydants primaires réduisent et décolorent le **DPPH (De Potter et Champ 1986)**.

L'action de ces antioxydants est supposée d'être due à leur capacité de donation d'atomes d'hydrogène ou d'électrons dérivée principalement de l'hydroxyle du cycle A des flavonoïdes (**Le et al., 2007**).

Les polyphénols contenus dans l'extrait de romarin sont probablement responsables de l'activité antioxydante de cet extrait.

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 leur richesse en composés phénoliques

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 **CI50** et la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes, à l'opposé d'autre études n'ont pas établie cette corrélation (**Athamena et al.,2010 ; Mariole al.,2010**).

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 (**Heimet al.,2002**) due à leur pouvoir de donner plus d'atomes pour stabiliser les radicaux libres (**Torres de pinedo et al.,2007**), 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 (**Popovici et al., 2010**).

Ainsi, l'effet antioxydant n'est pas seulement dose-dépendant mais également structure-dépendant (**Rodriguez-Bernaldo et al., 2010**)

Conclusion

Conclusion

L'étude et l'évaluation des plantes médicinales pour leurs activités biologiques a augmenté considérablement en Algérie. Ceci montre que les molécules isolées à partir des plantes médicinales sont certainement intéressantes pour être utilisées comme thérapie alternative ou comme modèle pour la synthèse de nouvelles substances bioactives.

Dans ce contexte, la présente étude a porté sur l'étude phytochimique et biologique d'extrait acétonique d'une plante médicinale LE ROMARIN. 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, l'acétone, donne généralement de meilleurs rendements d'extraction (6,9%) et de ce fait est très utilisée 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) du ROMARIN, contient $15 \pm 0,225$ μg EAG/mg d'extrait, exprimé en μg équivalent de l'acide gallique par milligramme.
- On a constaté que l'extrait acétonique du ROMARIN testé présente une activité 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 du ROMARIN d'intérêts biologiques afin de mieux connaître, de valoriser et d'utiliser cette ressource dans le domaine thérapeutique.
 - ✓ Il serait souhaitable, d'appliquer les techniques biotechnologiques dans le domaine des métabolites secondaires afin de tirer le maximum de ces molécules, et les utilisées pour l'intérêt de la santé humaine.
 - ✓ Les antioxydants naturels 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.

Conclusion

LE ROMARIN, possède des innombrables propriétés biologiques parmi lesquelles les activités antioxydante, qui étudiée dans ce mémoire donne des résultats préliminaires et nécessite des études complémentaires approfondies. Par ailleurs, Ils seraient nécessaires :

- De caractériser et d'isoler la ou les molécules potentiellement antioxydantes des fractions les plus actives.
- Valorisation et Caractérisation quantitative des composés polyphénoliques issus de différentes sources.

En fin, 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.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. 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.
2. Alaneme.K, Olusegun.J, Alo.W.. Corrosion inhibitory properties of elephant grass (*Pennisetum purpureum*) extract: Effect on mild steel corrosion in 1 M HCl solution *J. Alexandria Engineer*. 2016 ; 55 : 1069–1076.
3. Akiyama, H., Yan, X., & Yagi, K. (2010). Evaluation of effectiveness of enhanced-efficiency fertilizers as mitigation options for N₂O and NO emissions from agricultural soils: meta-analysis. *Global Change Biology*, 16(6), 1837-1846.
4. Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-product: antioxidant activity, occurrence; and potential uses. *Food Chemistry*, 9, 191 – 120.
5. Batra, P., & Sharma, A. K. (2013). Anti-cancer potential of flavonoids: recent trends and future perspectives. *3 Biotech*, 3, 439-459.
6. Berkani Imène Hamdi Hanene, R. N. (2013). Détermination de l'effet antibactérien de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*.
7. Bogs, J., Downey, M.O., Harvey, J.S., Ashton, A.R., Tanner, G.J. et Robinson, S. P. (2005). Proanthocyanidin Synthesis and Expression of Genes Encoding Leucoanthocyanidin Reductase and Anthocyanidin Reductase in Developing Grape Berries and Grapevine Leaves. *American Society of Plant Biologists*, 139: 652-663.
8. Boizot, N., & Charpentier, J. P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des orgnes d'un forestier. *Le cahier des techniques de l'Inra*, 79 – 82.
9. Boizot., Charpentier J.,(2006).Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier.Cahier des techniques de l'NRA,2006 :79-82.
10. Bruneton, J. (1993). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*, Technique & documentation, Lavoisier, Paris.
11. Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3ème Ed* Techniques et documentations. Paris. pp: 227-310-312-313-314.494.
12. Chaïb A. (2015). *Guide de phytothérapie : plantes et huiles médicinales*. Thala Editions, El Biar, Alger.
13. Cai, C., Xu, C., Li, X., Ferguson, I., & Chen, K. (2006). Accumulation of lignin in relation to change in activities of lignification enzymes in loquat fruit flesh after harvest. *Postharvest Biology and Technology*, 40(2), 163-169.

Références bibliographiques

14. Cheynier, V., Duenas-Paton, M., Salas, E., Maury, C., Souquet, J. M., Sarni-Manchado, P., & Fulcrand, H. (2006). Structure and properties of wine pigments and tannins. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(3), 298-305.
15. Couplan, F., Styner E. (2012). Guide des plantes sauvages comestibles et toxiques.
16. Cowan, M.M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol. Rev.* 12, 564– 582.
17. Coste, H. (1906). Flore descriptive et illustrée de la France, de la Corse, et des contrées limitrophes (Vol. 3). P. Klincksieck.
18. Dangles, O., & Brouillard, R. (1992). Polyphenol interactions. The copigmentation case: Thermodynamic data from temperature variation and relaxation kinetics. Medium effect. *Canadian Journal of Chemistry*, 70(8), 2174-2189.
19. Delmas, P. D., Genant, H. K., Crans, G. G., Stock, J. L., Wong, M., Siris, E., & Adachi, J. D. (2003). Severity of prevalent vertebral fractures and the risk of subsequent vertebral and nonvertebral fractures: results from the MORE trial. *Bone*, 33(4), 522-532.
20. Doss, A., Mubarak, H. M., & Dhanabalan, R. J. I. J. S. T. (2009). Antibacterial activity of tannins from the leaves of *Solanum trilobatum* Linn. *Indian Journal of Science and Technology*, 41-43.
21. Erdman Jr, J. W., Balentine, D., Arab, L., Beecher, G., Dwyer, J. T., Folts, J., ... & Burrowes, J. (2007). Flavonoids and Heart Health: Proceedings of the ILSI North America Flavonoids Workshop, May 31–June 1, 2005, Washington, DC1. *The Journal of nutrition*, 137(3), 718S-737S.
22. Ekoumou, C. (2003). Etude phytochimique et pharmacologique de 5 recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite. Bamako : Thèse de doctorat en pharmacie de l'Université de Bamako.
23. Fabricant Ds, Farsworth N.,(2001).The value of plans used in traditional medicine for drug discovery. *Environ health perspect* 109(SUPPL1) :69-75.
24. Fleuriet, A., Macheix, J. J., & Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques.
25. Godet, J. D. (2004). Arbres et arbustes aux quatre saisons. Delachaux et Nestlé SA, **Paris**.
26. Goetz P. Ghedira K. (2012) Phytothérapie anti-infectieuse. Edition Springer-Verlage, **Paris, France**.
27. Girodon F., Blache D., Monget A.D., Lombart M.,Brunet-Lecompte P., Arnaud J., Richard M.J.& Galan P., 1997.Effect of a two year supplementation with low doses of

Références bibliographiques

- antioxydant vitamins and/or minerals in elderly subjects on levels of nutrients and antioxidant defense parameters. *J Am Coll Nutr* 16:357-365.
28. Gulcin, I., Huyut, Z., Elmastas, M. et Aboul-Enein, HY. (2010). Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. *Arabian Journal of Chemistry* 3 : 43-53.
29. Guessoum Belkis.,(2021). Etude des extraits de la plante *Cyperus Conglomeratus*, leurs activités biologiques et leurs efficacités inhibitrices de la corrosion.. Présenté pour l'obtention du diplôme de DOCTORAT de 3^{ème} cycle. Université Kasdi Merbah Ourgla
30. Okamura, N., Takahashi, M., Nagai, T., Hamano, S., Kuwayama, M., & Okano, A. (1993). Effect of thiol compounds on in vitro development and intracellular glutathione content of bovine embryos. *Biology of reproduction*, 49(2), 228-232.
31. Özçelik, B., Gürbüz, I., Karaoglu, T., & Yeşilada, E. (2009). Antiviral and antimicrobial activities of three sesquiterpene lactones from *Centaurea solstitialis* L. ssp. *solstitialis*. *Microbiological Research*, 164(5), 545-552.
32. Hagerman, A.E., Riedl, K.M., Jones, G. A., Sovik, K.N., Ritchard, N.T., Hartzfeld, P. W., & Riechel, T.L. (1998). High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46(5), 1887-1892.
33. Havsteen, B. H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & therapeutics*, 96(2-3), 67-202.
34. Harnly, J.M., Lin, L.Z., Mukhopadhyay, S., Robbins, R.J. (2007). Identification and quantification of flavonoids of Mexican oregano (*Lippia graveolens*) by LC-DAD-ESI/MS analysis. *Journal of food composition and analysis*, 20(5), 361-369.
35. Harnly, J. M., Doherty, R. F., Beecher, G. R., Holden, J. M., Haytowitz, D. B., Bhagwat, S., & Gebhardt, S. (2006). Flavonoid content of US fruits, vegetables, and nuts. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(26), 9966-9977.
36. Holderness, J., Hedges, J.F., Daughenbaugh, K., Kimmel, E., Graff, J., Freedman, B. et Jutila, M.A. (2008). Response of γ T cells to plant-derived tannins. *Critical Review of Immunology*, 28(5): 377-402.
37. Holderness, J., Hedges, J.F., Daughenbaugh, K., Kimmel, E., Graff, J., Freedman, B. and Jutila, M.A. 2008. Response of $\gamma\delta$ T cells to plant-derived tannins. *Critical Review of Immunology*, 28(5): 377-402.
38. Iserin, P. (2007). *Larousse des plantes médicinales*. Ed. Larousse, **Paris, France**,
39. Jones WP, & Kinghorn AD (2005). Extraction of plant secondary metabolites. In : *Natural products isolation*. Humana Press (Totowa), pp: 323-411.

Références bibliographiques

40. Kubota, H., Fukushima, A., Ootani, Y., Yuasa, S., Ando, K., Maehara, H., ... & Suzuki, Y. (2005). Evaluation of spin-transfer switching in CoFeB/MgO/CoFeB magnetic tunnel junctions. *Japanese Journal of Applied Physics*, 44(9L), L1237.
41. Khanbabae, K. and Ree, T.R., (2001). Tannins:Classification and Defenition. *Journal of Royal Society of Chemistry*, 18: 641-649.
42. Lacoste S. (2014) Ma bible de la phytothérapie. Éditions Leduc.S.
43. Lee, K.W., Kim, Y.J., Lee, H.J., Lee, C.Y. (2003). Cocoa has more phenolic phytochemicals and a aigher Antioxydant capacity than theas and red wine. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. (3), 7292- 7295.
44. Li HB, Cheng KW, Wong CC, Fan KW, Chen F et Jiang Y. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chemistry*. 102, 771-776.
45. Macheix et al., 2005 Lazare Jean-Jacques. J.-J. Macheix, A. Fleuriet & C. Jay-Allemand, 2005 - Les composés phénoliques des végétaux. Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes, collection biologie, Lausanne. In: Le Journal de botanique, n°33, 2006. Le journal de botanique. p. 94.
46. Macheix, J.J., A. Fleuriet, A. et Jay-Allemand, C. (2005). Nature et diversité des composés phénoliques des végétaux. In : Les composés phénoliques des végétaux. Ed: Technique et documentation. Lavoisier.10- 15.
47. Macheix, J.J., Fleuriet A., et Sarni, M. (2005). Les composés phénoliques dans la plante : structure, biosynthèse, répartition et rôles. In: les polyphénols en agroalimentaire, Cheynier V., Sarni Manchado P. Lavoisier, Paris: 510 P.
48. Macheix, J.J., Fleuriet, F., Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polythechniques, p 134.
49. Massimo, D'Ascenzo, S., Millimaggi, D., C., Saccani-Jotti, G., Botrè, F., Carta, G., ... & Dolo, V. (2007). Detrimental effects of anabolic steroids on human endothelial cells. *Toxicology letters*, 169(2), 129-136.
50. Maisuthisakul P., Pasuk S. and Ritthiruang de J.P. (2008). Relationship between antioxidant properties and chemical composition of some Thai plants. *Journal of Food composition and Analysis*.21: 229-240.
51. Majhenic L., kerge M.S., et Knez Z. (2007) Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food Chemistry*. 104, 1258–1268.

Références bibliographiques

52. Malešev, D. and Kunti, V. (2007). Investigation of metal–flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal–flavonoid complexing reactions. *Journal of serbian chemical society*, 72 (10) 921–939.
53. Masquelier, J., Michaud, J., Laparra, J., & Dumon, M. C. (1979). Flavonoids and pycnogenols. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research. Internationale Zeitschrift fur Vitamin-und Ernährungsforschung. Journal international de vitaminologie et de nutrition*, 49(3), 307-311.
54. Mourad, B., Mihoub, Z. M., & Sétif, U. F. A. (2011). Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Mémoire pour l'obtention du diplôme de Magister, Université Ferhat Abbes-Setif.
55. *Nat. Prod. Rep.*, 18 : 641-649.
56. Nijveldt RJ, van Nood E, Hoorn V, Ec D, Boelens PG, van Norren K, et al. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr.* 1 oct 2001;74(4):418-25.
57. Nonaka, G. I (1989). Isolation and structure elucidation of tannins. *Pure & Application Chemistry*, 61(3): 357-360. *Organique II*, Univ. Sherbrooke, Canada, 6 p.
58. 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.
59. 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.
60. Psotová, J., Lasovsky, J. et Vicar, J., 2003. Metal –chelating Propertyts, lectrochemical Behaviour, Scavenging and cytoprtoective Activities of six Natural phenolic., s.l.: Biomed. Papers 147(2), 147 153.
61. Quézel, P. Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionale. Tome II Edition, CNRS, **Paris**.
62. Ralston, S., & Field. (2005). Spatial variability in rockfish (*Sebastes* spp.) recruitment events in the California Current System. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 62(10), 2199-2210.
63. Reed, J.D. (1995). Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. *Journal of animal and science.* 73 : 1516-1528.
64. Rodriguez-Bernaldo, A. Q. F. S., Frecha, P. A., Vidal., & Lopez, H. J. (2010). Antioxydant compounds in edible brown seweeds. *European Food Research & Technology*, 231 (3), 495 – 498.

Références bibliographiques

65. Roupe, K. A., Remsberg, C. M., Yáñez, J. A., & Davies, N. M. (2006). Pharmacometrics of stilbenes: segueing towards the clinic. *Current clinical pharmacology*, 1(1), 81-101.
66. Sarni-Manchado, P., & Cheynier, V. (Eds.). (2006). *Les polyphénols en agroalimentaire. Techniques & documentation*.
67. Sarni-Manchado, P., Cheynier, V., Duenas-Paton, M., Salas, E., Maury, C., Souquet, J. M., & Fulcrand, H. (2006). Structure and properties of wine pigments and tannins. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(3), 298-305.
68. Sannomiya, M., Fonseca, V. B., Da Silva, M. A., Rocha, L. R. M., Dos Santos, L. C., Hiruma-Lima, C. A., ... & Vilegas, W. (2005). Flavonoids and antiulcerogenic activity from *Byrsonima crassa* leaves extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 97(1), 1-6.
69. Seidel V (2005). Initial and bulk extraction. In: *Natural products isolation*. Humana Press (Totowa), pp: 27-37.
70. Sereme, A., Millogo-Rasolodimby, J., Guinko, S et Nacro, M. (2010). Anatomie et concentration des tanins des plantes tannifères du Burkina Faso. *Journal des sciences*, 10: 24 -32.
71. Sergeant C., Hamon C., Simonoff M., Constans J., Conri C., Peuchant C., Delmas-Beauvieux M-C., Clerc C., Pellegrin J.L., Leng B.,Pellegrin I. & Fleury H. 1998.Oxidative Stress in Cancer, AIDS and neurodegenerative diseases. Editors: L. Montagnier, R.
72. Sharaf A.T., Sawidis T., Diannelidis B.E., and Delivopoulos S., 2006 -Anatomical
73. Olivier,C. Pasquier; Marcel Dekker. Inc. New York-Basel-Hong Kong, 409-427.
74. 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.
75. Turkmen N., Sedat Velioglu Y., Sari F. et Polat G. 2007. Effect of Extraction Conditions on Measured Total Polyphenols Contents and Antioxidant and Antibacterial Activities of Black Tea. *Molécules* .12:484-496.
76. Wong CC, Li HB, Cheng KW, Chen F. (2006) : A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chemistry*, 97, 705-711.
77. Xiao, Z.T., Zhu, Q and Zhang, H.Y. (2014). Identifying antibacterial targets of flavonoids by comparative genomics and molecular modeling. *Open journal of genomics*, vol, 3.
78. Zermame, A., Meniai, A. H., & Barth, D. (2010). Supercritical CO2 extraction of essential oil from Algerian rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Chemical Engineering & Technology: Industrial Chemistry-Plant Equipment-Process Engineering-Biotechnology*, 33(3), 489-498.

Références bibliographiques

Webographie :

- <https://fac.umc.edu.dz/snv/faculte/becol/2022/Pr-LABBANI-Compos%C3%A9s%20ph%C3%A9noliques.pdf>