

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE SAÏDA - Dr MOULAY TAHAR



FACULTE DES SCIENCES
Département de Chimie

MEMOIRE

Présenté par :
KADOUR BEN KADA MOHAMED
HODBI LAHCEN

En vue de l'obtention du

Diplôme de Master en Chimie

Spécialité : Chimie organique

Thème

**Optimisation des conditions d'extraction des composés
phénoliques dotés du pouvoir antioxydants à partir d'une
plante médicinale de la region de Saida**

Soutenu le 09/07/2019 devant le jury composé de :

Président	Houari OUCI	MCA	Université de Saida
Encadreur	Abdelkader BENHELIMA	MCB	Université de Saida
Examinatrice	Zahra OULD KADA	MCB	Université de Saida
Examineur	Tahar KEBIR	MCB	Université de Saida

Année universitaire 2018/2019

Remerciement



Ce travail a été effectué au sein de Laboratoire de faculté de Technologie à l'université Dr. TAHAR MOULAY de Saida.

Nous exprimons nos profonds remerciements et nos vive reconnaissance à monsieur BENHELIMA Abdelkader Docteur à l'université de Dr. TAHAR MOULAY de Saida d'avoir accepté de diriger ce travail, ainsi que pour l'aide qu'il nous a apporté et pour leur intérêt constant qu'il nous a cessé d'accorder à l'orientation et à la réalisation de ce mémoire. Qu'ils trouvent ici nos sentiments de gratitude.

Nous tenons également à exprimer tous nos sincères remerciements à Monsieur le docteur OUICI Houari qui nous a fait l'honneur de présider le jury de ce Mémoire.

Nous remercions également Dr. KEBIR Tahar et Dr. OULD KADA Zahra de l'université de Dr. TAHAR MOULAY de Saida pour avoir accepté de participer à ce jury et d'examiner ce modeste travail.

Nos remerciements vont aussi à toutes les personnes qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail.

Que mes collègues de l'université de Master 2 Option Chimie Organique à l'université de Dr. TAHAR MOULAY de Saida trouvent ici l'expression de nos reconnaissances.

Dédicace



Je dédie ce modeste travail à :

Mes très chers parents qui ont sacrifié pour que je réussisse.

Mes frères.

Tous mes collègues de travail.

Tout ma promotion.

Kaddour benkada mohamed

Dédicace



Je dédie ce modeste travail à :

Mes très chers parents qui ont sacrifié pour que je réussisse.

Mes frères.

Tous mes collègues de travail.

Tout ma promotion.

Hodbi Lahcen

Résumé :

Notre étude s'intéresse à la valorisation du *Rosmarinus officinalis* L. « Halhal », c'est une plante médicinale poussant à l'état spontané dans plusieurs régions différentes de l'Algérie. Notre étude consiste en premier lieu à optimiser les conditions d'extraction des composés phénoliques (solvant, concentration de solvant et temps d'extraction), à partir de la partie aérienne de *Rosmarinus officinalis* L., de la région de Saida par la méthode d'extraction macération. En deuxième lieu, l'étude de l'activité antioxydante par DPPH.

L'extraction des composés bioactifs a été réussie en utilisant le solvant éthanol à concentration (70 % / 30%).

D'une façon globale, l'extrait pur à l'eau et éthanolique de *Rosmarinus officinalis* L. a présenté des activités antioxydantes très puissantes ouvrant l'horizon vers d'autres utilisations dans différents domaines tel que le domaine pharmaceutique.

Les mots clés : *Rosmarinus officinalis* L., Activité antioxydante, Extraction, Plantes médicinales, flavonoïdes.

Abstract:

Our study focuses on the valorization of *Rosmarinus officinalis* L. «Halhal», a medicinal plant growing spontaneously in several different regions of Algeria. Our study consists first of optimizing the extraction conditions of phenolic compounds (solvent, solvent concentration and extraction time), from the aerial part of *Rosmarinus officinalis* L., of the Saida region by the extraction method maceration. Second, the study of antioxidant activity by DPPH.

The extraction of the bioactive compounds was followed by the use of the concentrated ethanol solvent (70% / 30%).

Overall, the pure water and ethanolic extract of *Rosmarinus officinalis* L. has presented highly capable antioxidant activities opening the horizon towards other uses in different fields such as the pharmaceutical field.

Key words: *Rosmarinus officinalis* L., Antioxidant activity, Extraction, Medicinal plants, flavonoids.

Table des matières

Introduction générale.....	1
Références bibliographiques.....	3

Chapitre 1 : Les plantes médicinales

1. Introduction	4
2. Définition de plante médicinales.....	4
3. L’histoire des plantes médicinales	4
4. Le pouvoir des plantes médicinales	6
5. Activité antimicrobienne, antivirale, antiparasitaire	6
6. Importance des plantes aromatiques et médicinales	7
6.1. La phytothérapie.....	7
6.2. Principes actifs des plantes médicinales	8
6.2.1. Les métabolites	8
6.2.2. Classification des métabolites secondaires.....	8
Références bibliographiques.....	13

Chapitre II : Etude botanique de *Rosmarinus Officinalis*.L

1. Introduction	15
2. Définition	15
3. Historique du romarin	16
4. Composition du romarin.....	17
4.1. Parties utilisées	17
4.2. Principe actifs	17
5. Description botanique	17
6. Origine et récolte de la plantes.....	18
6.1. Air géographique	18
6.2. Récolte de la plante.....	19
6.3. Saveur, arôme et valeur nutritive.....	19
6.4. Composition chimique du romarin	20
6.4.1. L’huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	20
6.4.2. Composition phénolique	22

7. Domaine d'utilisation du romarin	23
7.1. Industrie agro-alimentaire	23
7.2. Alimentation.....	23
7.3. Utilisation thérapeutique	23
7.4. Industrie cosmétique et parfumerie	24
Références bibliographiques.....	25

Chapitre 3 : Matériels et Méthode

1. Objectif.....	26
2. Recherche ethnobotanique	26
3. Matériel végétal.....	26
3.1. Préparation des échantillons.....	26
4. Optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques de <i>R. officinalis</i> L.	27
4.1. Extraction des composés phénoliques de <i>R. officinalis</i> L. par macération	27
4.2. Effet du type de solvant sur l'extraction des composés phénoliques de <i>R. officinalis</i> L.	27
4.3. Effet du pourcentage de solvant sur l'extraction des composés phénoliques de <i>R. officinalis</i> L.	28
4.4. Effet de la durée d'extraction des composés phénoliques de <i>R. officinalis</i> L.	28
5. Calcul du rendement.....	28
6. Etude phytochimique.....	28
6.1. Phytochimie qualitative.....	29
6.1.1. Flavonoïdes	29
6.1.2. Stérols et triterpènes.....	29
6.1.3. Tanins.....	29
6.1.4. Glycosides.....	29
6.1.5. Saponosides	29
6.1.6. Alcaloïdes	29
6.2. Phytochimie quantitative.....	30
6.2.1. Dosage des flavonoïdes totaux(TFC)	30
7. Activité antiradicalaire	31
7.1. Le test au DPPH.....	31
7.2. Expression des résultats	32

Références bibliographiques.....	34
----------------------------------	----

Chapitre 4 : Résultats et discussion

1. Introduction.....	37
2. Détermination de la teneur de fraction hydrique.....	37
3. Tests phytochimiques qualitatifs.....	37
4. Résultats d'optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	38
4.1. Effet du type de solvant sur l'extraction des composés phénolique de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	39
4.2. Effet de concentration de solvant sur l'extraction des composés phénolique de <i>Rosmarinus</i> <i>officinalis</i> L.	42
4.3. Effet de la durée de temps sur l'extraction des composés phénolique de <i>Rosmarinus</i> <i>officinalis</i> L.....	45
Références bibliographiques.....	49
Conclusion générale.....	52
Annexe.....	53

Liste des Figures

Figure 1 : Structure d'acide phénolique.....	10
Figure 2 : Structure de base de Coumarine	10
Figure 3 : Structure de quelques alcaloïdes.....	12
Figure 4 : Structure d'unité de terpenoïdes.....	12
Figure 5 : Photo de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	18
Figure 6 : Les structures chimiques des composants d'huile essentielle du <i>Rosmarinus officinalis</i>	21
Figure 7 : Structures des acides phénoliques dans le Romarin.....	22
Figure 8 : Les noms des flavones existant.....	22
Figure 9 : Carte géographique montrant la station de récolte.....	26
Figure 10 : Photos montrant <i>Rosmarinus officinalis</i> L. après séchage et broyage.....	27
Figure 11 : Forme libre et réduite du DPPH.....	32
Figure 12 : Teneur en eau dans la partie aérienne de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	37
Figure 13 : Effet du type de solvant sur le rendement des composés phénoliques.....	39
Figure 14 : Effet du type de solvant sur l'activité antioxydante par test DPPH.....	41
Figure 15 : Courbe d'étalonnage de catéchine (effet du type de solvant)	42
Figure 16 : Effet de concentration de solvant sur le rendement des composés phénoliques.....	43
Figure 17 : Effet du pourcentage de solvant sur l'activité antioxydante par test DPPH..	43
Figure 18 : Courbe d'étalonnage de catéchine (effet pourcentage de solvant).....	44
Figure 19 : Effet de la durée d'extraction sur le rendement des composés phénoliques..	45
Figure 20 : Effet de la durée d'extraction sur l'activité antioxydante par DPPH.....	46
Figure 21 : Courbe d'étalonnage de Catéchine (effet de la durée d'extraction).....	47

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Activités biologiques des composés polyphénoliques	09
Tableau 2 : Variétés et espèces de romarin.....	19
Tableau 3 : Composition des éléments nutritifs de romarin séché.....	20
Tableau 4 : Les composants majoritaires d'huile essentielle du <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	21
Tableau 5 : Résultats des tests phytochimiques qualitatifs.....	38

Liste des Abréviations

DPPH : 2,2-diphenyle-1-picrylhydrazyle

HE: huiles essentielles

TFC: Total Flavonoid Content.

R : Rendement exprimé en %.

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

M₀ : Masse en gramme du matériel végétal à traiter.

TFC : quantité des flavonoïdes totaux en CE mg/g

CE mg/g : équivalent de Catéchine en milligramme par gramme de plante sèche.

[CE] : Concentration de Catéchine obtenu de l'équation de ponté établie de la courbe d'étalonnage

V : Volume d'extrait (ml) = 0,1 ml

M : masse d'extrait de plante pure (g) = $0,1 \cdot 10^{-3}$ g

AA : Activité Anti oxydante

Abs : Absorbance à la longueur d'onde de 517 nm

Introduction générale

Introduction générale

Depuis très longtemps, les plantes médicinales jouent un rôle déterminant dans la conservation de la santé des hommes et dans la survie de l'humanité [1, 2]. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), plus de 4000 espèces sont des plantes médicinales, ce qui constitue 90% de la médecine traditionnelle en Afrique [3]. L'Algérie dispose d'une grande diversité floristique en particulier saharienne spontanées à des utilisations thérapeutiques très intéressantes [4].

Actuellement les industriels développent de plus en plus de procédés mettant en œuvre des extraits et des principes actifs d'origine végétale. Parmi ces nouveaux composés potentiellement intéressants, les antioxydants, tels que les polyphénols, qui ont été particulièrement étudiés en raison de leur utilisation dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires pour leurs effets bénéfiques pour la santé [5]. Notons aussi leurs diverses propriétés biologiques comme les activités anti-allergique, anti-atherogénique, anti-inflammatoire, hépatoprotective, antimicrobienne, anti-carcinogénique, anti-thrombotique, cardioprotective et vasodilatatoire citées dans la littérature [6-8].

Selon des statistiques récentes, on estime que deux tiers des médicaments actuels ont une origine naturelle [9] obtenus par héli-synthèse, à partir d'un pharmacophore ou par modification des produits naturels. Seul un tiers des médicaments commercialisés possède donc une origine purement synthétique [10].

Les extraits bruts, naturels de ces composés et l'isolement à partir des plantes utilisées en médecine traditionnelle, peuvent être une ressource de nouveaux médicaments. Ainsi, les plantes peuvent être considérées comme des réservoirs de molécules bioactives encore peu explorées. Les substances naturelles et les plantes en particulier représentent, entre autres, une immense source des composés phénoliques (acide phénolique, flavonoïdes, flavonols, tannins condensés...) [11].

L'objectif visé par notre étude, consiste en premier lieu à optimiser les conditions d'extraction des composés phénoliques (solvant, concentration de solvant, temps d'extraction), à partir de la partie aérienne de *Rosmarinus officinalis* L., de la région d'El-hassasna de la wilaya de

Saida par une seule méthode d'extraction qui est la macération. En deuxième lieu, l'étude de l'activité antioxydant par DPPH.

Dans ce contexte nous avons réalisé un travail comprenant quatre chapitres, le premier et le deuxième chapitre est une étude bibliographique qui comporte une description de la plante étudiée, des généralités sur les polyphénols et certaines méthodes d'extractions de ces composés. Le deuxième chapitre illustre la partie expérimentale qui se divise en deux axes : L'optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques des parties aériennes de la plante étudiée par une seule méthode d'extraction (macération), puis l'étude du pouvoir antioxydant des meilleurs extraits phénoliques de *Rosmarinus officinalis* L.. Le troisième chapitre est consacré à la présentation, l'analyse et l'interprétation des résultats obtenus.

Références bibliographiques :

- [1] ISERIN P., 2001.-Encyclopédie des plantes médicinales, Larousse VUEF, 2^{ème} Ed. Vol. 14. Paris. 335p.
- [2] MACHIEUX J., FLEURIET A., JAY-ALLEMAND C. 2005. Composés phénoliques des végétaux. Presses polytechniques et universitaires Romandes, 75-85 p.
- [3] OMS (Organisation Mondiale de la Santé) 2003. Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation relatives à la médecine traditionnelle, 31-35p.
- [4] HAMZAA N., BERKEA B., CHEZEA C., AGLIB A.N., ROBINSONA P., GINC H., MOOREA N. 2010. Prevention of type 2 diabetes induced by high fat diet in the C57BL/6J mouse by two medicinal plants used in traditional treatment of diabetes in the east of Algeria. *Journal of Ethnopharmacology*, 128: 513–518.
- [5] HIRASA K., TAKEMASA M. 1998. *Spice science and technology*. New York: Marcel Dekker.
- [6] MIDDLETON E., KANDASWAMI C., THEOHARIDES T. 2000. The effects of plants flavonoids on mammalian cells: Implication for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological reviews*, 52: 673-751.
- [7] KSOURI R., MEGDICHE W., DEBEZ A., FALLEH H., GRIGNON C., ABDELLY C., 2007. Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant Physiol. Biochem.*, 45: 244-249.
- [8] NIJVELDT J., VAN NOOD E., VAN HOORN D., BOELENS P., VAN NORREN K., VAN LEEUWEN P. 2001. Flavonoids : a review of probable mechanisms of action and potential applications. *American journal of clinical nutrition*, 74: 418-425.
- [9] MOREL S. 2011. Etude phytochimique et évaluation biologique de *Derris ferruginea* Benth. (Fabaceae). Thèse de doctorat. Université d'Angers, 265p.
- [10] VERPOORTE R., COTIN A., MEMELINK J. 2002. Biotechnology for the production of plant secondary metabolites. *Phytochemistry Reviews*, 1 (1): 13-25.
- [11] KARMAKAR I., DOLAI N., SAHA P., SARKAR N., BALA A., KANTI P. 2011. Scavenging activity of *Curcuma caesia* rhizome against reactive oxygen and nitrogen species. *Orient Pharmacology Experimental medicine*, 11: 221-228.

Chapitre I

Généralités sur les plantes
médicinales

1. Introduction :

Les plantes médicinales et leur préparation constituent la seule source de médicaments. La nature, diversifiée par ces habitats, est considérée comme une grande usine de fabrication des plantes, celles-ci très diversifiées à leur tour par leur forme et leurs substances. Elle nous fournit l'outil végétal précieux pour la guérison de nos maladies [1].

Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement parce que les constituants des plantes sont utilisés directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matières premières pour la synthèse de médicaments ou comme modèles pour les composés pharmacologiquement actifs [2].

2. Définition de plante médicinale :

La définition d'une plante médicinale est très simple. En fait il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses.

Environ 35 000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne [3].

Ce sont les plantes utilisées en médecine traditionnelle dont au moins une partie d'eaux possède des propriétés médicamenteuses. Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents [2].

Donc, les plantes médicinales sont toutes les plantes qui possèdent une activité pharmacologique pouvant conduire à des utilisations thérapeutiques, grâce à la présence d'un certain nombre de substances actives dont la plupart agissent sur l'organisme humain [4].

3. L'histoire des plantes médicinales :

Selon l'histoire des peuples, les plantes aromatiques médicinales ont toujours occupées une place importante dans l'alimentation, en médecine et pour la composition des parfums.

D'après l'historique des plantes médicinales et aromatique, la Chine fut le berceau de la phytothérapie l'empereur Chen-Nong (2800 avant Jésus Christ) consigne sa connaissance des plantes médicinales dans un livre, le « **Pen Ts'ao** » qui regroupe plus de cent plantes. Ce livre fera autorité jusqu'au 16^{ème} siècle où il est revu et corrigé par un médecin et pharmacologue Li Che Tehen qui recense alors 1000 plantes médicinales.

En Inde, L'Ayurveda, le livre sacré écrit par Bahamas révèle les secrets de la langue vie grâce aux plantes aromatiques aux usages thérapeutique. Trente siècles avant, le célèbre médecin connaissait déjà l'Arte de l'anesthésie à l'aide du chanfreinaient ainsi que l'usage des plantes aromatiques pour la santé et la diététique.

Au Moyen-Orient, 4000 ans avant Jésus Christ, les Sumériens usaient des plantes médicinales et aromatiques. Les Arabes conservèrent pendant des millénaires le monopole du commerce des épices et contribuèrent largement au progrès des techniques d'extraction des huiles et parfums.

En Egypte, vers 2700 avant Jésus Christ, les plantes aromatiques étaient vendues à prix d'or. Les Egyptiens fabriquaient des produits aromatiques comme huiles, eaux parfumées, produit de beauté, mais aussi des préparations destinées à l'embaumement des momies. Les rempiles recelaient de véritables laboratoires de parfums et de nombreuses recettes sont parvenues jusqu'à nous, mais beaucoup d'entre elles reste énigmatiques jusqu'à ce jour et font l'objet beaucoup de sujets de recherches.

Pour les Hébreux qui héritèrent des connaissances des Egyptiens, les substances aromatiques figuraient parmi les offrandes qu'apportèrent les rois mages à l'enfant Jésus. Les huiles étaient réservées aux prêtres.

En Grèce, XII avant Jésus Christ les marchands phéniciens ramenaient de leurs voyages des épices, des encens. On retrouve des noms de la mythologie grecque sur certaines plantes comme l'achillée meilleure feuille, la centaurée la pivoine (Paeonia). Les plantes aromatiques servent à la médecine psychosomatique, à la magie, Hippocrate de Cos (460-377 avant Jésus Christ) écrit l'œuvre Corpus hyppocratum en 72 livres, ils traitent entre autre de la maladie sortant de sons aura magique et avec des indications naturelles d'auto guérison.

A l'époque d'Alexandre le Grand, le commerce des épices est à son point culminant, l'Alexandrie devient avec sa bibliothèque de 700 000 volumes et son jardin aromatiques, le phare de la science antique d'Euclide à Théophraste.

Les Romains consommaient beaucoup d'épices et de plantes aromatiques, des ouvrages comme Histoire Naturelle universelle (Pline L'Ancien et DE Materiamedica) où sont recensées 519 espèces de plantes, cet ouvrage fait autorité pendant plus de 1000 ans.

Un progrès décisif dans l'histoire de la pharmacie est apporté un siècle plus tard par Galien (médecin des empereurs). La galénique (mode de préparation des médicaments) est instaurée par lui. A cette époque, les plantes étaient de toutes fêtes et aucun plat n'était servi sans accompagnement d'épices et condiments.

Les Gaulois avait un bon herbier, le gui plante rituelle utilisées par les druides côtoyait dans la vie quotidienne les simples aromatique locaux (ail, armoise, fenouil, laurier, menthe, thym ...) et d'autre apportée par les conquérants romain.

En Amérique, les Aztèques, les Mayas, les Incas et les habitants de la forêt tropicale avaient une parfaite connaissance des plantes médicinales et aussi des drogues et plantes toxiques.

En Afrique la médecine traditionnelle utilise depuis des millénaires les plantes médicinales. Plusieurs milliers des produits ont été recensés.

Au moyen âge, après la chute de l'empire romain, l'Europe connaît un retour à la barbarie, un déclin général du savoir et une longue période d'obscurantisme. Il faudra attendre l'apport des Arabes pour assiste à une véritable renaissance. Vers le 12^{ème} siècle, les croisades relancent les échanges entre l'Europe et le Moyen-Orient et contribue à la renaissance Italienne, le commerce des épices renait.

Concernant les arabes et les musulmans en particulier ; ils ont développés la médecine d'une façon très surprenante. Rappelons : DJABER IBN HAYAN et RAZI : puis IBN SINA (980, 1037) qui avait décrit plusieurs traités à ce sujet, le plus célèbre était «KANOUN EL TIB (les lois de la médecine)» [5].

4. Le pouvoir des plantes médicinales :

Plusieurs plantes du monde végétal ont des vertus médicinales reconnues par la communauté scientifique. Ces éléments de la nature, outils principaux de l'herboriste, sont des gages de réussite pour notre santé.

L'action de la phytothérapie sur l'organisme dépend de la composition des plantes, depuis XVIII^{ème} siècle, au cours duquel des savants ont commencé à extraire et à isoler les substances chimiques qu'elles contiennent. On considère les plantes et leurs effets en fonction de leurs principes actifs. La recherche des principes actifs extraits des plantes est d'une importance capitale car elle a permis la mise au point de médicaments essentiels. Aujourd'hui les plantes sont de plus en plus utilisées par l'industrie pharmaceutique, il est impossible d'imaginer le monde sans la quinine qui est employée contre la malaria ou sans la diagoxine qui soigne le cœur, ou encore l'éphédrine que l'on retrouve dans de nombreuses prescriptions contre les rhumes [3].

5. Activité antimicrobienne, antivirale, antiparasitaire :

Depuis la nuit des temps, Les produits naturels issus des plantes ont joué un rôle important dans la découverte de nouveaux agents thérapeutiques comme la quinine obtenue à partir du quinquina "Cinchona" dont a été avec succès employée pour traiter la malaria, l'arbre de thé (*Melaleuca alternifolia* L) est reconnu pour ces propriétés: antibactériennes, anti-infectieux,

antifongiques et antivirales. En parallèle ; *Azadirachta indica*, *Aloe vera*, *Andrographis paniculata*, *Withania somnifera*, *Astragalus membranaceus*, *Curcuma longa*... ce sont des plantes célèbres par leurs effet antiviral mais aucune plante n'est aussi efficace que les médicaments antirétroviraux pour arrêter la réplication du HIV [6].

6. Importance des plantes aromatiques et médicinales :

Au cours des dernières décennies, la recherche pharmaceutique a décrypté la composition chimique des propriétés de nombreuses plantes médicinales. L'industrie pharmaceutique a réussi à reproduire chimiquement un grand nombre de leurs composantes et à découvrir de nouvelles combinaisons, pour le bénéfice de patients et celui de la protection des ressources naturelles.

Chaque plante est composée de milliers de substances actives, présentes en quantité variable. Les premiers produits de la photosynthèse sont des substances à basse molécularité nommés métabolites primaires : les oses (sucres), les acides gras et les acides aminés. Par la suite sont produits les métabolites spécialisés. Certains possèdent des vertus thérapeutiques [1].

Plusieurs milliers de plantes sauvages ont une grande importance économique et culturelle, en fournissant de la nourriture, des médicaments, du carburant, des vêtements et des abris pour l'homme dans le monde entier. Les plantes jouent également un rôle clé dans le maintien de l'équilibre écologique de la terre et de la stabilité des écosystèmes. Elles fournissent des habitats pour les animaux et les insectes.

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie: elles présentent en effet des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus [7].

6.1.La phytothérapie :

La phytothérapie est la science des plantes médicinales, elle est basée sur l'étude de la composition et les effets des substances naturelles d'origine végétales. A travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales. Beaucoup de remèdes phytothérapeutiques sont nés des observations, de l'inspiration et de l'expérience des guérisseurs, devenus des personnages révéérés dans toutes les tribus et chez tous les peuples.

Le ou les principes actifs d'une plante médicinale sont les composants naturellement présents dans cette plante; ils lui confèrent son activité thérapeutique.

Les éléments actifs des plantes sont : les phénols, les flavonoïdes, les tanins, les anthocyanes, les saponines, les vitamines, les glucosides et les minéraux [7].

6.2.Principes actifs des plantes médicinales :

6.2.1. Les métabolites :

La plante est le siège d'une intense activité métabolique aboutissant à la synthèse de principes actifs les plus divers. Ce processus métabolique est lié aux conditions mêmes de vie de la plante ; la plante doit faire face à de multiples agressions de l'environnement dans les quels elle vit ; prédateurs, microorganismes pathogènes, etc.

On conçoit donc que la plante puisse développer un métabolisme particulier lui permettant de synthétiser les substances les plus diverses pour se défendre; dont les métabolites secondaires [8].

➤ Les métabolites primaires :

Un métabolite primaire est un type de métabolite qui est directement impliqué dans la croissance, le développement et la reproduction normale d'un organisme ou d'une cellule. Ce composé a généralement une fonction physiologique dans cet organisme, c'est-à-dire une fonction intrinsèque.

Il est typiquement présent dans de nombreux organismes taxonomiquement éloignés. Il est également désigné par métabolite central, qui prend même le sens plus restrictif de métabolite présent dans tous les organismes ou cellules en croissance autonome [9, 10].

➤ Les métabolites secondaires :

Ce sont des molécules qui ne participent pas directement au développement des plantes mais plutôt interviennent dans les relations avec les stress biotique et abiotique ou améliorent l'efficacité de reproduction.

6.2.2. Classification des métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires sont produits en très faible quantité, il existe plus de 200 000 métabolites secondaires classés selon leur appartenance chimique en l'occurrence, les terpènes, les alcaloïdes, les composés acétyléniques, les cires et les composés phénoliques [11-12].

On distingue trois classes principales :

➤ Les composés phénoliques :

❖ Les phénols :

Petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle, elles peuvent être également estérifiées, étherifiées et liées à des sucres sous forme d'hétérosides. Leur biosynthèse dérive de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique. Ayant tendance à s'isomériser et à se polymériser, ces phénols sont solubles dans les solvants polaires. Ce sont surtout des antiseptiques, des antalgiques et des anti-inflammatoires.

On suppose que les plantes, en les produisant, cherchent à se prémunir contre les infections et les insectes phytophages.

Il existe une très grande variété de phénols (Tableau 1), de composés simples à des substances plus complexes [13].

Tableau 1: Activités biologiques des composés polyphénoliques

Polyphénols	Activités
Acides Phénols (cinnamiques et benzoïques)	Antibactériennes Antifongiques Antioxydantes
Coumarines	Protectrices vasculaires et antioedémateuses
Flavonoïdes	Antitumorales Anticarcinogènes Anti-inflammatoires Hypotenseurs et diurétiques Antioxydantes
Anthocyanes	Protectrices capillaro-veineux
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène Antioxydantes Antitumorales Antifongiques Anti-inflammatoires
Tanins galliques et catéchiques	Antioxydantes

➤ **Classification des composés phénoliques :**

❖ **Les acides phénoliques :**

Ils sont solubles dans l'éther et ils peuvent être associés à la lignine, présents sous forme d'ester, ou bien localisés dans la partie de feuille insoluble dans l'alcool [14]. Ils présentent des propriétés biologiques intéressantes: anti-inflammatoires, antiseptiques urinaire, antiradicalaires, immunostimulants [15].

On distingue: Les dérivés de l'acide benzoïque (constitués d'une squelette à sept carbones). Les dérivés d'esters hydroxycinnamiques (constitués d'une structure de type C6-C3) (figure 1) [14].

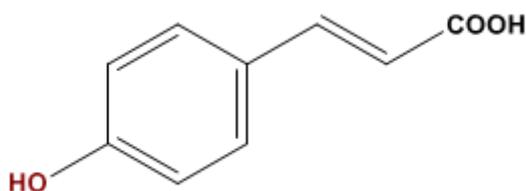


Figure 1: Structure d'acide phénolique

❖ **Les coumarines :**

Les coumarines sont parmi les composés phénoliques les plus connus (figure 2).

Les coumarines, de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses. Elles sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes [16].

Les coumarines sont connues par leurs activités cytotoxiques, immunostimulantes, antivirales, tranquillisantes, vasodilatatrices, hypotensives, anticoagulantes (au niveau du cœur), elles sont également bénéfiques contre les affections cutanées [17].

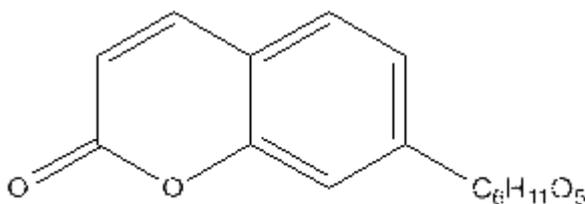


Figure 2: Structure de base de Coumarine

❖ **Les quinones :**

Ce sont des substances colorées et brillantes, en général rouges, jaunes ou orange et possédant deux fonctions cétones. On trouve les quinones dans les végétaux, les champignons et les bactéries.

Les organismes animaux contiennent également des quinones, comme par exemple la vitamine K, qui est impliquée dans la coagulation du sang. Les quinones sont utilisées dans les colorants, dans les médicaments et dans les fongicides [8].

❖ **Les anthocyanes :**

Les anthocyanes sont des hétérosides oxygénés (un ou plusieurs oses (glucose, galactose, rhamnose, arabinose) liés par leur fonction réductrice à une molécule non glucidique dite

aglycone) dont la partie aglycone est appelée anthocyanidine. On peut aussi en ne les rattachant qu'à leur partie aglycone, les qualifier de flavonoïdes.

Les anthocyanes sont les matières colorantes des feuilles, des fleurs, des fruits et des racines de beaucoup de plantes terrestres (ce sont des pigments notamment présents dans les feuilles de vigne, la pellicule des raisins noirs, la pulpe des cépages teinturiers mais aussi dans les mûres, les prunes, les oeillets....). ; en automne, les couleurs caractéristiques des feuilles des arbres sont dues aux anthocyanes et aux carotènes qui ne sont plus masqués par la chlorophylle [18].

❖ **Les tanins :**

Substances poly-phénoliques à saveur astringente, elles tannent la peau pour la rendre imputrescible.

Très répandus dans la famille des Rosacées et Fabacées, ils ont la propriété d'être anti-diarrhéiques, anti-inflammatoires et vasoconstricteur [19].

❖ **Les flavonoïdes :**

Les flavonoïdes constituent chez les plantes un groupe très diversifié de métabolites secondaires qui se produisent naturellement sous leurs formes conjuguées. Ils sont des composés phénoliques et interviennent probablement pour protéger les plantes des herbivores et contrôler le transport des auxines.

Les flavonoïdes hétérosidiques sont hydrosolubles et solubles dans les alcools. Les flavonoïdes lipophiliques des tissus superficiels des feuilles sont solubles dans les solvants polaires et dans les solvants moyennement polaires (comme par exemple le dichlorométhane). Ils possèdent de nombreuses vertus thérapeutiques. Ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation. Certains ont aussi des propriétés anti-inflammatoire, anti-oxydante anti-enzymatique et hépatoprotectrice ; ils jouent un rôle important dans le système de défense et anti virales [13].

➤ **Les alcaloïdes :**

Les alcaloïdes sont un groupe de composés azotés faiblement basiques issus principalement des végétaux (figure 3). Ils présentent des réactions communes de précipitation. Après extraction, ils sont détectés par des réactions générales de précipitation fondées sur leurs capacités de se combiner avec des métaux.

Les propriétés toxiques ou médicamenteuses des alcaloïdes font de ce groupe de métabolites secondaires un intérêt particulier. Au niveau du système nerveux central ils agissent comme déprimeurs (morphine, scopolamine) ou comme stimulants (caféine, strychnine,...) [8].

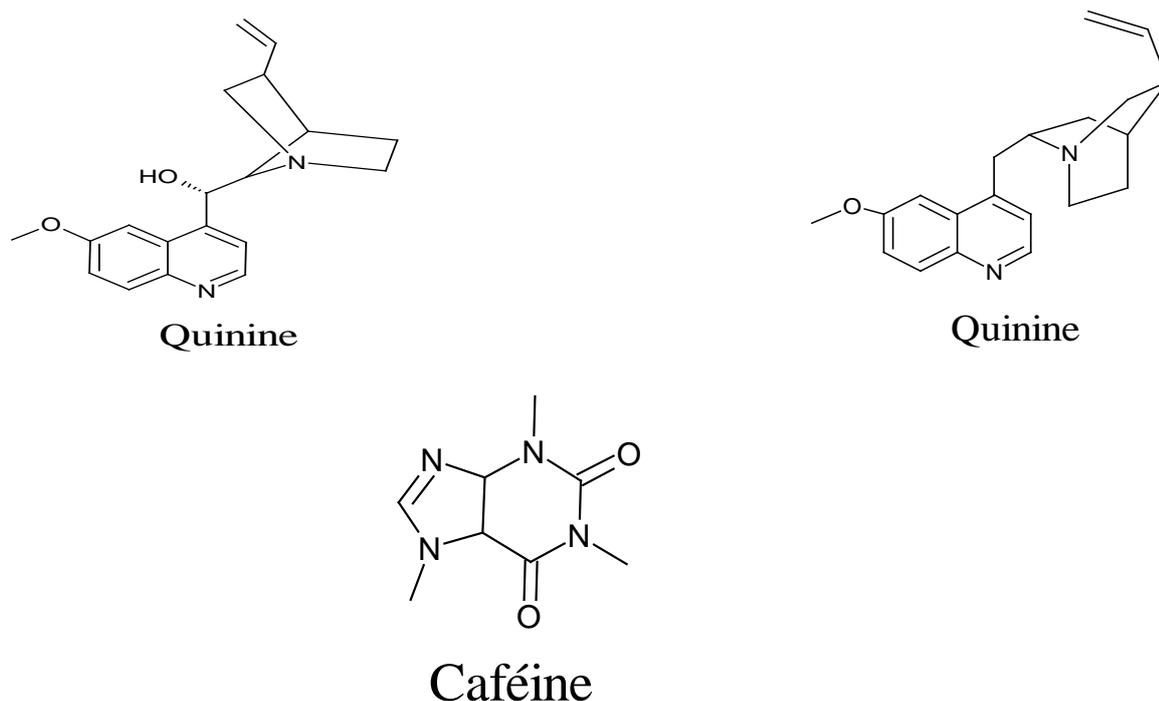


Figure 3: Structure d'quelques alcaloïdes

➤ **Les isoprénoïdes (Terpénoïdes) :**

Les isoprénoïdes sont des composés issus de la condensation d'unités de base à 5 carbones de type isoprène. On parle également des composés terpéniques ou terpenoïdes, l'unité monoterpène correspondant à des molécules à 10 carbones formées à partir de deux unités isoprènes (figure 4).

De façon analogue à la famille des composés phénoliques, les isoprénoïdes regroupent à la fois des molécules de faibles poids moléculaires, volatiles et composants principaux d'huiles essentielles, et des molécules hautement polymérisées comme par exemple le caoutchouc. [15-20]

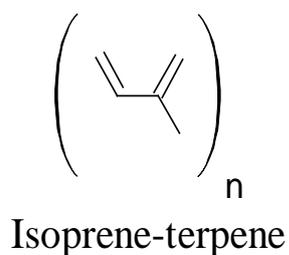


Figure 4: Structure d'unité de terpenoïdes

Références Bibliographiques :

- [1] BARKA Ikram, Inventaire des plantes médicinales de la réserve de Chasse de Moutas (Tlemcen), Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master Option : Pathologie des écosystèmes, 2017.
- [2] CHAKOU Fatma Zohra, MEDJOUNDJA Kenza, Etude bibliographique sur la phytochimie, Projet de Fin d'Etudes En vue de l'obtention du diplôme de Licence en Biologie, Spécialité : Biochimie fondamentale et appliquée, 2013/2014.
- [3] Zeghad Nadia, Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne, Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magister (Ecole doctorale) Option : Biotechnologie végétale, 2008 / 2009.
- [4] Berkane amina. La détermination des propriétés thermodynamiques d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L., mémoire du projet de fin d'étude pour l'obtention de diplôme master, en chimie, option : chimie pharmaceutique et substances naturelles 2015.
- [5] BOUZIANE Zahira, Contribution à l'étude ethnobotanique des plantes médicinales de la région d'Azail (Tlemcen –Algérie), MEMOIRE, En vue de l'obtention du diplôme du MASTER En Ecologie, 2017.
- [6] BELOUD A., Plante médicinales d'Algérie. Offices des publications universitaires 2003.
- [7] HABA Khedidja, Contribution à l'étude ethnobotanique des plantes Sahariennes d'intérêt médicinal dans la région d'Oued Righ., MÉMOIRE DE MASTER Sciences de la Nature et de la Vie Sciences Agronomiques Production Végétale, 2018.
- [8] Kansole, M.M.R. Etude ethnobotanique, phytocuinique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucas martinicensis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundia oppossta* vahl et *Orthosiphon pallidus* royle ex benth. Mémoire pour obtenir un diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso, 2009.
- [9] A. Djerdane, « Evaluation du pouvoir antioxydant...», thèse de doctorat (L'école normale supérieur de KOUBA-ALGER DOCTEUR), 2008.
- [10] René-Raymond Paris, Moyse H., Précis de matière médicale, Tome 1, Masson et Cie, Editeurs. 1965.
- [11] Cuendet, M. Recherche de nouveaux composés capteurs de radicaux libres et antioxydants à partir d'une plante d'Indonésie: « *Fagraea blumei* » (Loganiaceae) et de trois plantes d'altitude: « *Bartsia alpina* » (Scrophulariaceae), « *Loiseleuria procumbens* » (Ericaceae) et Camp, Thèse de doctorat, 1999.

- [12] Vermerris, W. Phenolic compound biochemistry, Springer, Dordrecht. ISBN-10 14020-5163-8 (HB), 2006.
- [13] MAKHLOUFI AHMED, Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru, Thèse Présentée à l'université aboubaker belkaid Faculté des sciences laboratoire produits naturels, pour obtenir le grade de doctorat d'état en biologie Spécialité : Microbiologie et sécurité sanitaire des aliments.
- [14] Barboni, T. Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes (EGE) et de risques d'incendie. Thèse de doctorat. L'université de Corse, 2006.
- [15] Bruneton, J. Pharmiognosie, phytochimie, plantes médicinales, 2^{ème} édition, Paris: Editions médicales Internationales, Tec et Doc Lavoisier, 1999.
- [16] Igor Passi, L.B. Etude des activités biologique de *Fagara zanthoxyloïdes*, lam (Rutaceae). Thèse de pharmacie, Bamako, 2002.
- [17] Gonzalez, A. G; Estevez-Braun, A. Coumarins, Nat. Prod. Reprod, 1997.
- [18] <https://tice.ac-montpellier.fr/ABCDORGA/ORGANIQUE.htm> visité le 09/04/2019.
- [19] <https://tresornature.com/principes-actifs-plantes-medicinales/> visité le 09/04/2019.
- [20] Harborne, J.B. Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plants analysis. Third Edition 1998.

Chapitre II

Rosmarinus Officinalis.L

1. Introduction :

Depuis toujours, dans toutes les civilisations et sur tous les continents, l'Homme s'est servi des plantes et surtout des plantes, d'abord dans son alimentation, puis en tant qu'encens puis pour se soigner. A l'heure actuelle, le Romarin est une des plantes médicinales les plus intéressantes dans la protection et la conservation de la santé.

Le Romarin, considéré comme ayant des usages condimentaires et/ou alimentaires, se retrouve dans la cuisine méditerranéenne; c'est aussi une plante mellifère.

Rosmarinus officinalis L., pousse à l'état sauvage sur le pourtour méditerranéen, surtout dans les garrigues rocailleuses et arides, sur terrains calcaires. En botanique, la garrigue (du provençal garrigo) est une formation végétale proche du maquis caractéristique des régions méditerranéennes. Elle est constituée de Chênes kermès, d'arbustes aux feuilles persistantes et coriaces (Ciste, Arbousier, Lentisque, Myrte, Lavande, Thym) et de quelques herbes annuelles.

2. Définition :

Nom scientifique : *Rosmarinus officinalis*

Noms communs : Romarin officinal, Herbe aux couronnes, Herbe aux troubadours, Encensier, Arbre de Marie, Rose de mer, Rose des marins, Roumaniou en provençal

Nom anglais : Rosemary

Le nom « romarin » viendrait du latin « ros marinus » (rosée de mer), ou bien du grec « rhaps myrinos » (buisson aromatique), ou encore du latin « rhus marinus » (sumac de mer). On l'appelle également « herbe-aux-couronnes », et en provençal, « encensier » [1].

Le romarin est un arbrisseau de la famille des Lamiaceae (Lamiacées), poussant à l'état sauvage sur le pourtour méditerranéen.

Il existe 3 espèces de romarin :

- *Rosmarinus officinalis* ou romarin commun, de population, qui présente une grande variabilité ;
- *Rosmarinus eriocalyx*
- *Rosmarinus eriocalyx* ssp. *Tomentosus*

Ces trois espèces sont endémiques du bassin méditerranéen mais le romarin de population, *Rosmarinus officinalis* est la principale espèce présentant un intérêt agronomique.

On compte aujourd'hui de nombreuses variétés et de nombreux clones de romarin officinal, sélectionnés pour leurs caractéristiques particulières, les principaux sont :

- 🚩 Le clone pyramidal, à port érigé, tolérant au froid et moyennement concentré en huile essentielle (1,5 à 2 %) ;

- ✚ La variété SLT (sélection CRIEPPAM), moins tolérante au froid mais plus productive (huile essentielle 1,5 à 2 %) ;
- ✚ La variété VAU 3 (sélection CRIEPPAM), à teneur importante en huile essentielle (3,5 % environ) ;
- ✚ Les variétés du CNPMAI : CNPMAI 4, 8 et 12
- ✚ Le romarin verbénone. Ce romarin, dit romarin de Corse, est riche en verbénone (6 à 7 %) et en α -pinène.

Les principaux usages du romarin sont :

- ❖ Culinaires, comme aromate (sec, ou dans les bouquets garnis frais) ;
- ❖ Médicinal et cosmétique avec l'huile essentielle.

A noter que le romarin est considéré comme une Plantes à Parfum, Aromatiques et Médicinales (PPAM) et entre dans la composition du mélange du label rouge « herbes de Provence » [2].

Utilisé comme aromate, le romarin parfume discrètement les plats. Il regorge de flavonoïdes et soulage les tensions (musculaires ou nerveuses). Il est aussi préconisé lors de fatigues et de dépresses passagères. Le romarin stimule les sécrétions biliaires et en facilite l'expulsion. On en fait alors des huiles essentielles, qui peuvent être utilisées en massages ou dans le bain.

3. Historique du romarin :

Le romarin fait l'objet de très nombreuses mentions historiques et légendaires. Les anciens lui vouaient une grande vénération. On s'en servait généreusement dans toutes les fêtes, qu'il s'agisse de cérémonies nuptiales, funéraires ou de célébrations profanes. Les mariées portaient des couronnes de romarin, symboles d'amour et de fidélité, tandis que les invités recevaient des branches enjolivées de rubans de soie multicolores. On mettait aussi des brins de romarin sous les oreillers pour chasser les mauvais esprits et les cauchemars.

Les Égyptiens plaçaient des rameaux de romarin dans la tombe des pharaons afin de fortifier leur âme. Le romarin est un symbole du souvenir et de l'amitié. Les étudiants grecs s'en confectionnaient des couronnes, qu'ils portaient durant les examens pour stimuler leur mémoire.

Durant les épidémies de peste, le romarin était très populaire : on en faisait brûler des rameaux pour purifier l'air et on portait des sachets sur soi, que l'on respirait lorsqu'on passait dans les endroits touchés par cette terrible maladie. L'histoire veut aussi que la reine de Hongrie, qui souffrait de rhumatismes chroniques, ait été délivrée de ses problèmes grâce à un remède à base de romarin lorsqu'elle était âgée de 72 ans.

Dans certaines régions rurales, on fait tremper du romarin dans du vin rouge pour obtenir une boisson fortifiante. On utilise aussi le romarin sous forme d'extrait à base d'alcool pour les plaies et sous forme d'onguent ou de baume pour soulager les rhumatismes et les névralgies, tant chez les humains que chez les animaux.

L'huile essentielle de romarin est largement utilisée comme composant aromatique dans l'industrie des cosmétiques (savons, parfums, crèmes, etc.), mais aussi dans l'industrie alimentaire (boissons alcoolisées, desserts, bonbons, conservation des lipides, etc.) [3].

4. Composition du romarin :

4.1. Parties utilisées :

Ce sont les feuilles, les sommités fleuries, que l'on aura pris le soin de sécher, ou l'huile essentielle qui sont utilisées en phytothérapie.

4.2. Principes actifs :

Ses huiles essentielles renferment des essences de camphre, de cinéol, de verbénone ou de pinènes. Le romarin contient des flavonoïdes (diosmine, lutéoline), des diterpènes, comme le rosmadial et l'acide carnosolique, mais aussi des lipides (alcanes et alcènes). On trouve également des stéroïdes et des triterpènes (acide aléanolique, acide ursotique) et des acides phénoliques (acide rosmarinique, acide chlorogénique). Des phytoestrogènes ont des effets comparables aux hormones féminines [4].

5. 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 avril-mai. La couleur des fleurs varie du bleu pâle au violet (on trouve plus rarement la variété à fleurs blanches *Rosmarinus officinalis albiflorus*) (Fig. 5). 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) [5].



Fig. 5 : Photo de *Rosmarinus officinalis* L.

- **Embranchement :** *Angiospermes*
- **Classe :** *Dicotylédones*
- **Ordre :** *Tubiflorae*
- **Famille :** *Labiatae*
- **Genre :** *Rosmarinus*
- **Espèce :** *Officinalis*



6. Origine et récolte de la plante :

6.1. Air géographique :

Le romarin spontané qui pousse sur les cotes méditerranéennes, et le sud-ouest de l'Asie est souvent cultivé dans les jardins comme clôture, le romarin affectionne particulièrement les terrains calcaires ; c'est pourquoi on le trouve essentiellement dans les garrigues maquis non loin de la mer.

En Algérie le romarin est l'une des sept espèces végétales excédant 50.000 hectares sur le territoire nationale.

Appellations régionales en Algérie, le plus souvent :

- 🚩 Région de l'est : Eklil
- 🚩 Région de l'ouest : Helhal
- 🚩 Région du centre : Yazir

6.2.Récolte de la plante :

La récolte du romarin en fleurs est possible pendant presque toute l'année, mais on la pratique avec plus de profit de mai à juillet ou septembre en temps chaud et sec [6].

Variétés et espèces : [7]

Il existe trois espèces de romarin de la famille des Lamiacées qui poussent naturellement dans la région méditerranéenne ; *Rosmarinus officinalis* L., *Rosmarinus tournefortii* (*ericalyx* Jordan & Four) et le *Rosmarinus tomentosus* (Hub-Mor & Maire).

Tableau 2 : Variétés et espèces de romarin

Nom Latin	Nom français	Chémotype
Romarin officinal	<i>Rosmarinus officinalis</i>	
<i>Rosmarinus officinalis</i> cv. 'Alderney'	Romarin 'Alderney'	α-pinène
<i>Rosmarinus officinalis</i> cv. 'Corsican Blue'	Romarin 'Corsican Blue'	
<i>Rosmarinus officinalis</i> cv. 'Pyramidal'	Romarin 'Pyramidal'	
<i>Rosmarinus officinalis</i> cv. 'Sudbury Blue'	Romarin 'Sudbury Blue'	
<i>Rosmarinus ericalyx</i> ssp. <i>ericalyx</i>	Romarin ericalyx	Camphène
<i>Rosmarinus officinalis</i> cv. 'Primley Blue'	Romarin 'Primley Blue'	Camphre
<i>Rosmarinus officinalis</i> cv. 'Tden Blue Boy'	Romarin 'Tden Blue Boy'	
<i>Rosmarinus officinalis</i> cv. 'Marjoca Pink'	Romarin 'Marjoca Pink'	
<i>Rosmarinus officinalis</i> cv. 'Roseus'	Romarin 'Roseus'	Myrcène
<i>Rosmarinus officinalis</i> cv. 'Gorizia'	Romarin 'Gorizica'	Cineol
<i>Rosmarinus officinalis</i> cv. 'Albiflorus'	Romarin 'Albiflorus'	
<i>Rosmarinus officinalis</i> cv. 'Toscan Blue'	Romarin 'Toscan Blue'	
<i>Rosmarinus officinalis</i> cv. 'Upright'	Romarin 'Upright'	

Variétés de romarin avec les chémotypes

6.3.Saveur, arôme et valeur nutritive :

Le romarin possède une odeur légèrement camphrée et une saveur piquante et parfumé assez prononcée, leur composition est définie comme suite (Tableau 3) :

Tableau 3 : Composition des éléments nutritifs de romarin séché

Nutriments	unités	Valeurs par 100 g
eau	g	9.31
énergie	kcal	331
protéine	g	4.88
Total des lipides (matières grasses)	g	15.22
Glucides, par différence	g	64.06
Totale des Fibres alimentaires	g	42.6
Calcium, Ca	mg	1,280
Total d'acide ascorbique (vitamine C)	mg	61.2
vitamine B-6	mg	1.740
vitamine B-12	µg	0.00
Total des acides gras saturés	g	7.371
Total des acides gras, mono insaturés	g	3.014
Total des acides gras, polyinsaturés	g	2.339

Composition des éléments nutritifs de romarin séché

6.4.Composition chimique du romarin :

La composition chimique de la plante dans son ensemble dépend du lieu de croissance et de récolte ainsi que du moment de la récolte dans le cycle végétatif (idéal quand le végétal a le maximum d'essence).

6.4.1. L'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. :

Selon la Pharmacopée Européenne, l'huile essentielle (HE) est un «produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'HE est le plus souvent séparé de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition.

L'HE a une composition variable selon la période de récolte.

La plante aromatique utilisée pour extraire une HE doit être parfaitement définie avec :

- ❖ Sa dénomination internationale (latin) et française,
- ❖ Son chimiotype (composition de l'HE différente),
- ❖ Son origine géographique,
- ❖ La partie de la plante utilisée,
- ❖ La période de récolte.

➤ **Composition chimique :**

Il existe différents chémotypes ou chimiotypes (CT) en fonction de l'origine géographique du Romarin.

Pour avoir des HE dont la composition chimique est fiable et stable, la provenance devrait toujours être la même pour un CT donné. "Ces différences chémotypiques sont déterminées chromosomiquement" :

- ✚ Le Romarin originaire de Provence (d'Espagne) fournit une HE où le camphre est prédomine (CT camphre).
- ✚ Lorsqu'il est originaire du Maroc et de Tunisie, c'est le 1,8 cinéole qui est prédominant (CT 1,8 cinéole).
- ✚ Le Romarin cultivé en Corse quant à lui, contient de la verbénone et de l'acétate de bornyle, en majorité (CT verbénone) [8].

L'huile essentielle du *Rosmarinus officinalis* L. est généralement obtenue par hydrodistillation ; elle est incolore ou légèrement jaune.

Les composants majoritaires sont représentés dans le tableau 4 [9].

Tableau 4 : Les composants majoritaires d'huile essentielle du *Rosmarinus officinalis* L.

Composé	Pourcentage (%) dans les feuilles de la plante
1.8-cinéole	(15-30) %
Camphre	(10-25) %
α -pinène	(10-25) %
Borneol	(3-20) %
Camphène	(5-10) %
Acétate de bornyle	(1-5) %

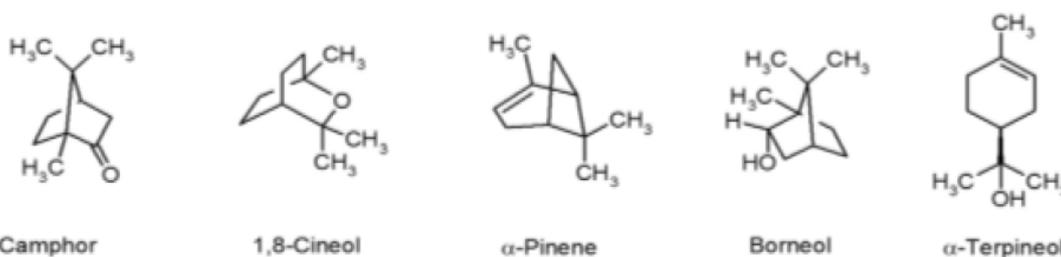


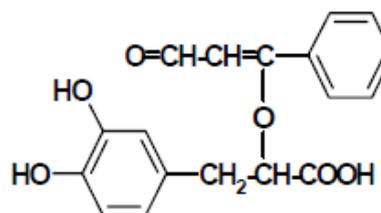
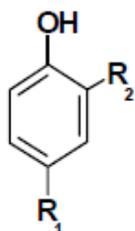
Fig. 6 : Les structures chimiques des composants d'huile essentielle du *Rosmarinus officinalis*

6.4.2. Composition phénolique : [10]

✚ Les acides phénoliques

Les acides phénoliques (Fig. 7) présents dans le Romarin et à des teneurs importantes sont:

- ❖ L'acide rosmarinique,
- ❖ L'acide caféique,
- ❖ L'acide vanillique.



	R ₁	R ₂
Acide vanillique	COOH	OCH ₃
L'acide caféique	CH=CH-COOH	OCH ₃

Fig. 7 : Structures des acides phénoliques dans le Romarin

✚ Flavonoïdes

Plus de dix flavonoïdes sont isolés et identifiés dans le Romarin, La plus part d'entre eux sont des dérivés de flavone parmi eux on cite : le genkwanine, le 6-méthoxy genkwanine, etc. (Fig. 5).

Flavones	
- Apigénine	- Lutéoline
- Genkwanine	- 6-méthoxy Lutéoline
- 6-méthoxy Lutéoline-méthyl éther	- Genkwanine-4- métyl éther
- 4-, 5, 7,8 tétra-OH flavone	- 6-méthoxy Lutéoline

Fig. 8 : Les noms des flavones existant

Diterpènes :

Actuellement, plus de douze diterpènes, sont isolés et identifiés dans le Romarin, à titre d'exemple : l'acide Carnosique, le carnosol, le 12-acide méthoxy carnosique, le Rosmanol, l'épirosmanol, etc., ils sont responsables de l'activité antioxydant de la plante.

L'acide carnosique est le constituant majoritaire dans cette fraction phénolique, Il a une teneur de plus de 0,35% de feuilles sèches de la plante ainsi qu'un pouvoir antioxydant le plus puissant qu'aux autre diterpènes.

7. Domaine d'utilisation du romarin : [10]

7.1.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, ces propriétés sont dues aux acides polyphénolique (rosmarinique, caféique).

7.2.Alimentation :

L'épice et l'huile sont largement utilisées en alimentation, l'épice est utilisé dans les boissons alcoolisées, les aliments cuits, viande et produits de viande, condiment et assaisonnement, les aliments industriels, sauces et autres, avec le niveau maximum utilise est d'environ 0,41% dans les aliments cuits.

L'huile est utilisée dans les boissons alcoolisées et non, les desserts glaces, confiseries, aliments cuits, gélatines et pouding, viande et produits de viande, condiment et assaisonnement, entre autres, avec le niveau maximum utilise est d environ 0,003%.

7.3.Utilisation thérapeutique :

-  Des infusions, des poudres, extrait sec ou autres préparations galéniques pour usage interne et externe, principalement contre les douleurs d'estomac.
-  Le romarin était déjà cité pour ses propriétés diurétiques qui sont dues à la présence des flavonoïdes à savoir des glucosides et les acides phénoliques.
-  Les feuilles de Romarin sont utilisées dans la phytomedicine européen pour brulures d'estomacs, des maladies rhumatismales ; en usage externe pour les problèmes de circulation.
- Les diterpènes phénoliques présentant dans le romarin tel que l'acide carnosique et le carnosol ont des effets d'inhibitions contre des virus de HIV-1 et certains cancers et d'autres entrants dans cette fraction.
- Le romarin est reconnu scientifiquement pour ses effets bénéfiques sur les troubles gastriques, les troubles rhumatismaux, la circulation sanguine, l'amélioration des fonctions du foie et comme antiseptique léger [11].

7.4. Industrie cosmétique et parfumerie :

Au 19^{ème} 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, de savonnerie, détergents, crèmes et la plupart des eaux de Cologne ; le taux d'utilisation maximum est rapporté à 1% dans la dernière catégorie.

Références Bibliographiques :

- [1] <https://fr.wikipedia.org/wiki/romarin> 22-03-2019.
- [2] Matias monzie, fiche technique production peu développée en languedoc-roussillon, filière plantes aromatique & à parfum, septembre 2008, romarin, lycée agricole de rivesalte.
- [3] https://www.passeportsante.net/fr/solutions/plantessupplements/fiche.aspx?doc=romarin_ps 22-3-2019.
- [4] <http://www.doctissimo.fr/html/sante/phytotherapie/plante-medicinale/romarin.htm>
- [5] Zeghad nadia. étude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne, mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magister (école doctorale) option : biotechnologie végétale, 2008 / 2009.
- [6] Zoubeidi chahinaz. étude des antioxydants dans le *Rosmarinus officinalis*. labiatea, mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de magister en chimie organique, option chimie organique industrielle, 2003-2004.
- [7] Berkane amina. La détermination des propriétés thermodynamiques d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L., mémoire du projet de fin d'étude pour l'obtention de diplôme master, en chimie, option : chimie pharmaceutique et substances naturelles.
- [8] Leplat marion. Le romarin, *Rosmarinus officinalis* L., une lamiacée médicinale de la garrigue provençale, en vue d'obtenir le diplôme d'état de docteur en pharmacie, juin 2017.
- [9] Lanseur radia. évaluation in-vitro des activités anti-oxydante et anti-inflammatoire des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* et *Rosmarinus officinalis* L. seules et en combinaison. mémoire de master filière: sciences biologiques, option: biochimie et biologie moléculaire, 2016/2017.
- [10] Abdoune sonia & slimani nedjima. Synthèse et caractérisation du cobalt par l'extrait de la plante romarin et son application comme capteur électrochimique pour la détection des sulfites. mémoire de fin d'études, en vue de l'obtention du diplôme de master ii en génie des procédés option : génie chimique, 2018.
- [11] <https://www.consoglobe.com/les-bienfaits-du-romarin-cg>.

Chapitre III

Matériels et méthodes

1. Objectif :

L'objectif de notre étude, consiste en premier lieu à optimiser les conditions d'extraction des composés phénoliques (solvant, concentration de solvant et temps d'extraction), à partir des parties aériennes de *Rosmarinus officinalis* L., de la région de Saida par la méthode d'extractions qui est la macération. En deuxième lieu, l'étude de l'activité antioxydante par DPPH des extraits obtenus, une étude phytochimique quantitative pour déterminer les taux de flavonoïdes des composés végétaux a été entreposée pour les meilleurs extraits (activité antioxydante).

2. Recherche ethnobotanique :

La médecine traditionnelle demeure le recours principal pour la grande majorité des populations pour résoudre leurs problèmes de santé. Elle a été transmise d'une génération à l'autre par la communication orale, posant le danger de perte d'une certaine connaissance.

Les études ethnobotaniques et ethno-médicinales sont aujourd'hui reconnues comme des méthodes de choix pour la connaissance des plantes médicinales et leurs utilisations [1, 2].

3. Matériel végétal :

Le matériel végétal est constitué des parties aériennes de *Rosmarinus officinalis* L. La récolte de notre plante a été effectuée au moins de mars 2019, au niveau de la région d'El-hassasna de la wilaya de Saida, Algérie (Figure 9).



Fig. 9 : Carte géographique montrant la station de récolte.

3.1. Préparation des échantillons :

Une fois la récolte du matériel végétal est réalisé, l'échantillon est séché à l'air libre dans un endroit sec pendant 15 jours puis broyé à l'aide d'un broyeur électrique (Figure 10). Les

poudres obtenues sont par la suite conservées dans des sachets en papier à l'abri de la lumière pour éviter la photo-oxydation des substances actives contenues dans la poudre et seront utilisées par la suite pour la préparation des extraits bruts.



Fig. 10 : Photos montrant *Rosmarinus officinalis* L. après séchage et broyage.

4. Optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques de *R. officinalis* L. :

Cette étape consiste à déterminer les meilleures conditions d'extraction des composés phénoliques contenus dans les parties aériennes de *Rosmarinus officinalis* L. par l'utilisation de la méthode d'extraction qui est la macération.

Des séries d'extractions ont été réalisées pour déterminer le type de solvant, la concentration (%) et la durée (min) d'extraction appropriée sur le pouvoir antioxydant et sur le contenu phénolique total TFC (Total Flavonoid Content).

Agitation : Facteur majeur, de nombreux travaux ont démontré qu'augmenter la vitesse d'agitation dans le mélangeur a une influence significative sur le rendement d'extraction [3].

4.1. Extraction des composés phénoliques de *R. officinalis* L. par macération :

Cette étape consiste à laisser une quantité de chaque poudre précédemment obtenue en contact avec un volume de solvant d'extraction.

4.2. Effet du type de solvant sur l'extraction des composés phénoliques de *R. officinalis* L. :

Les polyphénols sont extraits dans différents solvants aqueux et organiques (eau, acétone, éthanol et méthanol) [4-9].

L'extraction a été faite pendant 4 h, à température ambiante et répétée trois fois pour chaque solvant [10]. Après filtration nos extraits aqueux et organiques subissent une évaporation via un Rotavap. Après séchage, nos extraits sont pesés pour calculer le rendement. Le meilleur type de solvant a été choisi en fonction de la capacité antioxydante la plus importante.

4.3. Effet du rapport (L/L) de solvant sur l'extraction des composés phénoliques de *R. officinalis* L. :

En utilisant le meilleur type de solvant choisi, le rapport de solvant a été étudiée en utilisant des mélanges éthanol/eau à: 30%, 50%, 70% et 100% [11-14]. La meilleure concentration de solvant a été choisie en fonction de la meilleure valeur de l'activité antioxydante.

4.4. Effet de la durée de temps sur l'extraction des composés phénoliques de *R. officinalis* L. :

L'impact du durée d'extraction sur le contenu phénolique a été changé de 30, 60, 120 et 240 min [8, 15]. L'extraction a été accomplie en appliquant le meilleur rapport de solvant, sous la température ambiante. Les procédures d'extraction ont été répétées comme décrit précédemment. Le meilleur temps d'extraction a été choisi en fonction de valeur la plus élevée de l'activité antioxydante.

5. Calcul du rendement :

Le rendement en macéré est le rapport entre le poids de résidu extraite et le poids de la plante à traiter en gramme. Le rendement, exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante:

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

Où :

R : Rendement exprimé en %.

M : Masse en gramme de l'extrait sec résultant

M₀ : Masse en gramme du matériel végétal à traiter

6. Etude phytochimique :

La phytochimie de la plante est réalisée par un solvant polaire tel que l'éthanol. L'extrait brut (éthanolique) est préparé par macération de 10 g de la poudre végétale dans 100 ml de solvant.

6.1. Phytochimie qualitative :

La phytochimie qualitative consiste en la mise en évidence des différentes familles de

composés par la réalisation de réactions chimiques caractéristiques.

6.1.1. Flavonoïdes:

10 g de la plante, mise en poudre, est mélangé avec 100 ml d'une solution HCl (1%). Ce mélange est macéré durant 24 heures, après filtration on ajoute NH_4OH au filtrat jusqu'à la basicité. L'apparition d'une couleur jaune claire ou orange implique la présence des flavonoïdes [16, 17].

6.1.2. Stérols et triterpènes :

5 g de la plante, mise en poudre, a été mis dans 20 ml de chloroforme. Après filtration, la solution obtenue est répartie entre deux tubes à essais (l'un servira de référence). On ajoute d'abord l'anhydride d'acétate (Ac_2O), puis on a ajouté 1 ml H_2SO_4 au fond du tube sans agiter.

La formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contact entre les deux liquides et l'apparition d'une coloration violette de la couche surnageant révèlent la présence des stérols et des triterpènes. C'est la réaction de Liebermann-Buchard [18].

6.1.3. Tanins :

10 g de la plante, mise en poudre, a été l'objet d'une extraction par l'alcool éthylique (éthanol) 50%, puis filtré. Au filtrat obtenu on a additionné quelques gouttes de FeCl_3 (1%). En présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre [19].

6.1.4. Glycosides :

5 g de la plante, mise en poudre, on y ajoute 50 ml d'une solution de l'acide tartrique (2%) et 1 ml d'éthanol, on a effectué un chauffage à reflux durant 2 heures, après filtration et lavage avec l'éthanol, on a met le filtrat dans l'eau chaude.

Dans un tube à essai, on ajoute à 2 ml du filtrat 2 gouttes de la liqueur de Fehling, puis on chauffe, la réduction de la liqueur de Fehling montre la présence des glycosides [20].

6.1.5. Saponosides :

2 g de poudre de la plante est mélangé avec 80 ml d'eau distillée puis porter à l'ébullition pendant 5 minutes. Ensuite on filtre, l'extrait ainsi résultant est refroidi et agité vigoureusement pendant 2 minutes. La formation d'une mousse plus ou moins importante indique la présence des saponosides [21].

6.1.6. Alcaloïdes :

10 g de la plante, mise en poudre, est pesé puis mélangé avec 50 ml d'une solution HCl (1%). Ce mélange est ensuite filtré puis on y ajoute quelques millilitres de NH_3 jusqu'au attendre un $\text{pH} = 8$ à 9 , puis on exerce une extraction par CHCl_3 (3 fois). Après évaporation de solvant chloroformique (CHCl_3), on ajoute à l'extrait sec 2 ml HCl (1%), puis 3 gouttes de réactif de

Mayer. L'apparition de précipité blanc ou une phase trouble indique la présence des alcaloïdes [21].

- *Réactif de Mayer* : 5 g de KI et 1,358 g de HgCl₂ solubilisés dans 100 ml d'eau distillée.

6.2. Phytochimie quantitative :

6.2.1. Dosage des flavonoïdes totaux (TFC) :

L'estimation de la quantité des flavonoïdes a été effectuée par une méthode adoptée de Lamaison et Carnat [22], dans ce test les flavonoïdes ont été quantifiés par un dosage direct à l'aide d'une solution aqueuse de trichlorure d'aluminium (AlCl₃). Cette solution forme un complexe très stable avec les groupements hydroxyles (OH) des phénols. Ce complexe de couleur jaune absorbe dans le visible à une longueur d'onde 510 nm. Dans cette méthode la Catéchine a été utilisée comme flavonoïde standard.

📊 Courbe d'étalonnage :

A partir d'une solution mère de concentration 1 g/l, des solutions filles hydroalcoolique de Catéchine sont préparés. A une quantité de 0.5 ml de chaque solution de Catéchine ainsi préparée on ajoute 0.15 ml de la solution de chlorure d'aluminium de (10%) et 0.15 ml d'une solution de NaNO₂ (7%), après une incubation de 5 min à l'obscurité et à la température ambiante, 1 ml d'hydroxyde de sodium NaOH (4%) est ajouté puis le volume total est complété jusqu'au 5 ml.

Après une incubation de 15 minutes. L'absorbance du mélange a été mesurée à une longueur d'onde de 510 nm contre un blanc en utilisant toujours le même spectrophotomètre UV-Visible. On trace la courbe d'étalonnage de la Catéchine qui représente la variation de l'absorbance du mélange des solutions déjà préparées en fonction des concentrations des solutions filles [22].

La quantité des flavonoïdes dans les extraits étudiées a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de la catechine et exprimée en mg/g et en équivalent de la Catéchine. Le taux des flavonoïdes totaux (TFC) est exprimé en (CE mg/g) par la Formule générale suivante:

$$\text{TFC} = [\text{CE}] \times \text{V/M}$$

Où :

TFC : quantité des flavonoïdes totaux en CE mg/g

CE mg/g : équivalent de Catéchine en milligramme par gramme de plante sèche.

[CE] : Concentration de Catéchine obtenu de l'équation de ponté établie de la courbe d'étalonnage

V : Volume d'extrait (ml) = 0,1 ml

M : masse d'extrait de plante pure (g) = $0,1 \cdot 10^{-3}$ g

7. Activité antiradicalaire :

Le DPPH (1,1 Diphényl 2 Pycril Hydrazil) est un radical libre. Dans ce test les antioxydants réduisent le (DPPH) ayant une couleur violette en un composé jaune, l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons et électrons [23].

7.1. Le test au DPPH :

Le DPPH est un radical de couleur violet intense. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant (capacité à fixer des radicaux libres, donc arrêter la propagation de la réaction en chaîne) se fait en mesurant la diminution de la coloration violette, due à une recombinaison des radicaux DPPH \cdot

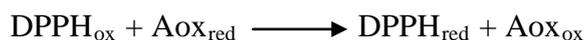


Schéma 1 : Réaction de réduction

De nombreuses méthodes sont développées permettant d'évaluer les capacités antioxydantes de composés naturels ou bien issus de la synthèse chimique. L'une d'entre elle, couramment utilisée, fait appel à l'utilisation d'un radical libre stable, le (1,1-Diphényl-2-Picryl Hydrazyl) (DPPH). La stabilité de ce radical résulte de la délocalisation importante de l'électron célibataire sur la totalité de la molécule empêchant ainsi la dimérisation de se produire comme c'est souvent le cas pour les autres radicaux (Figure 11).

D'autre part, cette délocalisation est à l'origine de la coloration violette en solution hydro-alcoolique (éthanol/eau) caractérisée par une bande d'absorption dans le visible à une longueur d'onde de 517 nm.

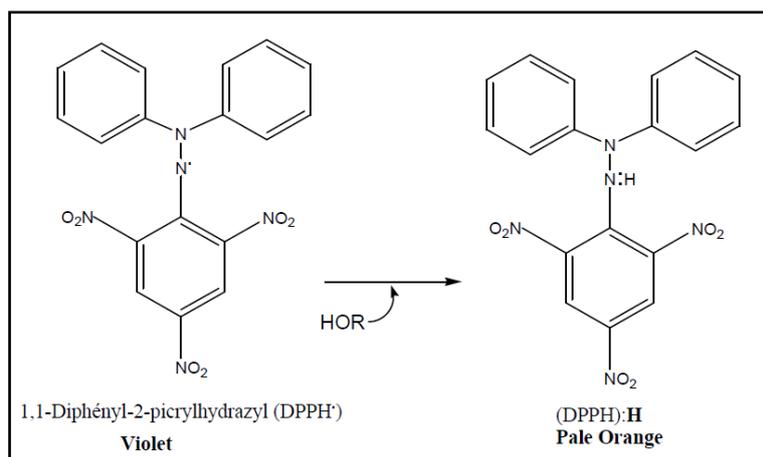


Schéma 2 : Forme libre et réduite du DPPH [24]

Dans des tubes secs et stériles, on introduit 2.5 ml de la solution à tester, on ajoute 1ml de solution au DPPH. Après agitation, les tubes sont placés à l'obscurité, à une température ambiante pendant 30 minutes. Pour chaque concentration, le test est répété 3 fois.

La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm par un spectrophotomètre. Pour chaque dilution, on prépare un blanc, constitué de 2.5 ml de la solution a testé additionné de 1 ml d'un mélange hydro-alcoolique. Le contrôle négatif est composé de 1 ml de la solution hydro-alcoolique au DPPH (0,3 mM) et de 2.5 ml d'hydro-alcoolique.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard; l'acide ascorbique dont l'absorbance est mesuré dans les mêmes conditions que l'échantillon test.

7.2.Expression des résultats :

Pour obtenir la concentration efficace qui réduit la concentration initiale de DPPH de 50% (IC₅₀), les résultats sont exprimés en activité antioxydante.

Cette activité qui exprime la capacité de piéger le radical libre est estimée par le pourcentage de décoloration du DPPH en solution dans le solvant hydro-alcoolique (eau/éthanol).

L'activité antioxydante "AA%" est donnée par la formule suivante : [25]

$$AA \% = 100 - \left\{ \frac{(Abs_{test} - Abs_{Blanc}) \times 100}{Abs_{control}} \right\}$$

Où :

AA : Activité Antioxydante

Abs : Absorbance à la longueur d'onde de 517 nm.

Les résultats sont exprimés par la moyenne de trois mesures \pm écart type.

La valeur EC_{50} (autrement appelée la valeur IC_{50}) est déterminée pour chaque extrait, est défini comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH (couleur) (exprimée en mg de substrat/g de DPPH). Ou encore, c'est la concentration de l'échantillon exigé pour diminuer de 50% l'absorbance de la solution contrôle constitué de solvant hydro-alcoolique et DPPH [26].

References bibliographiques:

- [1] ADJANAHOUN E, AHYI M.R.A, AKE-ASSI L, ELEWUDE J.A, DRAMANE K, FADOJU S.O, GBILE Z.O, GOUDOLE E, JOHNSON C.L.A, KEITA A, MORAKINYO O, OJEWOLE, J. A. O, OLATUNJI, A. O, SOFOWORA, E.A, Traditional medicine and pharmacopoeia. Contribution to ethnobotanical floristic studies in Western Nigeria, Pub. Organization of African Unity. Scientific Technical and Research Commission Lagos Nigeria, 1991.
- [2] FARNSWORTH N.R, AKERELE O, BINGEL A.S, SOEJARTO D.D, GUO Z, Places des plantes médicinales dans la thérapeutique, Bulletin de l'organisation mondiale de la santé, 1986.
- [3] Dibert, K., Cros, E., & Andrieu, J. Solvent extraction of oil and chlorogenic acid from green coffee. Part II: Kinetic data. Journal of food engineering, 1989.
- [4] ESCRIBANO-BAILON, SANTOS-BUELGA. 2003.-Polyphenols extraction from foods. In Methods in polyphenol analysis. Royal Society of Chemistry. Thomas Graham House, Science.
- [5] NACZK M., SHAHIDI F. 2004.-Extraction and analysis of phenolics in food. Journal of Chromatography A., 1054: 95-111.
- [6] MAKHLOUF C., NOUREDDINE T., HAYETTE L. 2013.-Extraction des compounds phénoliques et activité antioxydante in vitro des graines de figue de barbarie. Journal of economic development, 67: 467-475.
- [7] VANESSA M., RENATA L., JOSÉ R., SOUZAB C., ZEQUIC E., LEITE M., GISELY C., LOPESA M. 2014.-Extraction of flavonoids from *Tagetes patula*: process optimization and screening for biological activity. Rev Bras Farmacogn, 24: 576-583.
- [8] SHUANGQIN M., XIJUAN T., JIANGTAO D., PENG L., WENCHAO Y., XIAOQING M., WENBIN C., ZHENHONG W. 2015.-Soxhlet-assisted matrix solid phase dispersion to extract flavonoids from rape (*Brassica campestris*) bee pollen. Journal of Chromatography B., 1005: 17-22.
- [9] DUONG T., PHAN T., HA T. 2015.-Effects of extraction process on phenolic content and antioxidant activity of soybean. Journal of Food and Nutrition Sciences, 3(1-2): 33-38.
- [10] CUJIC N., ŠAVIKIN K., JANKOVIC T., PLJEVLJAKUŠIĆ D., ZDUNIC G. 2016. Optimization of polyphenols extraction from dried chokeberry using maceration as traditional technique Svetlana Ibric. Food Chemistry, 194: 135-142.
- [11] CHIRINOS R., ROGEZ H., CAMPOS D., PEDRESCHI R., LARONDELLE Y. 2007. Optimisation of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from

- mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón) tubers. *Journal of Separation and Purification Technology*, 55: 217-225.
- [12] KIM J. M., CHANG S. M., KIM I. H., KIM Y. E., HWANG J. H., KIM K. S., KIM W. S., 2007.-Design of optimal solvent for extraction of bio-active ingredients from mulberry leaves. *Biochemical Engineering Journal*, 37: 271-278.
- [13] SPIGNO G., TRAMELLI L., De FAVERI D. M. 2007.-Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering*, 81: 200-208.
- [14] TLILI M. L. 2015.-Contribution à la caractérisation physico-chimique et biologique des extraits de *Pergularia tomentosa* issue de quatre sites sahariens différents (Sahara septentrional). Thèse de Magister. Université Kasdi Merbah-Ouargla. 120p.
- [15] MEHMET A., AKALINA K., KUBILAY T., SELHAN K. 2015.-Sage oil extraction and optimization by response surface methodology Mehmet. *Industrial Crops and Products*, 76:829-835.
- [16] Dibert, K., Cros, E., & Andrieu, J. Solvent extraction of oil and chlorogenic acid from green coffee. Part II: Kinetic data. *Journal of food engineering*, 1989.
- [17] Pousset JL. *Plantes médicinales africaines*. Edition Ellipses, 1989.
- [18] Karumi Y, Onyeyili PA, Ogugbuaja VO.; Identification of active principles of *M. balsamina* (Balsam Apple) leaf extract. *J Med Sci*, 2004.
- [19] Edeoga HO, Okwu DE, Mbaebie BO. Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 2005.
- [20] Bruneton J. *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales*. Ed TEC et DOC, 3^{ème} édition, 1999.
- [21] Michel Hautefeuille. Dan Véléá, *Les drogues de synthèse*, Presses Universitaires de France, coll. « Que sais-je ? », (ISBN 2-13-052059-6) , 2002.
- [22] Lamaison, J.L.C. and Carnet, A. (1990) Teneurs en Principaux Flavonoïdes des fleurs de *Crataegus Monogyna* Jacq et de *Crataegus Laevigata* (Poiret D. C) en Fonction de la Vegetation. *Pharmaceutica Acta Helvetia*, 65, 315-320.
- [23] Quetier.Delen.C et AL. Phenolic Compounds and antioxidant activities of buckwheat hulls and flour. *Journal of Enmapharmacology*, 2000.
- [24] Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 2004.
- [25] Heilerová L., Bučková M., Tarapčík P., Šilhár S. et Labuda J. Comparison of Antioxidative Activity Data for Aqueous Extracts of Lemon Balm (*Melissa officinalis*

L.), Oregano (*Origanum vulgare* L.), Thyme (*Thymus vulgaris* L.), and Agrimony (*Agrimonia eupatoria* L.) obtained by Conventional Methods and the DNA-Based Biosensor. *Czech J. Food Sci*, 2003.

- [26] Mensor L. L., Menezes F. S., Leitão G. G., Reis A. S., Santos T. C., Coube C. S. et Leitão S. G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant isoactivity by the use of DPPH free radical method. *Phytother. Res*, 2001.

Chapitre IV

Résultats et discussion

1. Introduction

Cette étude est portée sur l'optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques à partir des parties aérienne de la plante *Rosmarinus officinalis* L. par la méthodes d'extraction (macération), ainsi que le Criblage phytochimique, Dosage des flavonoïdes totaux (TFC) et l'évaluation de quelques activités (activité antiradicalaire).

Dans notre étude, nous avons déterminé qualitativement (Criblage phytochimique) la composition chimique de notre espèce et essayé de la corrélée avec la capacité antioxydante des extraits phénoliques de manière in vitro grâce au test (DPPH) 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle sous sa forme radicalaire (DPPH•), impliquant le transfert d'atome d'hydrogène et le transfert d'électron. La détermination du rendement et la concentration en composés phénoliques flavonoïdes (TFC) ont également été évalués.

2. Détermination de la teneur de fraction hydrique :

Les résultats obtenus pour la détermination de la teneur en eau sont résumés dans la figure 12 ci-dessus.

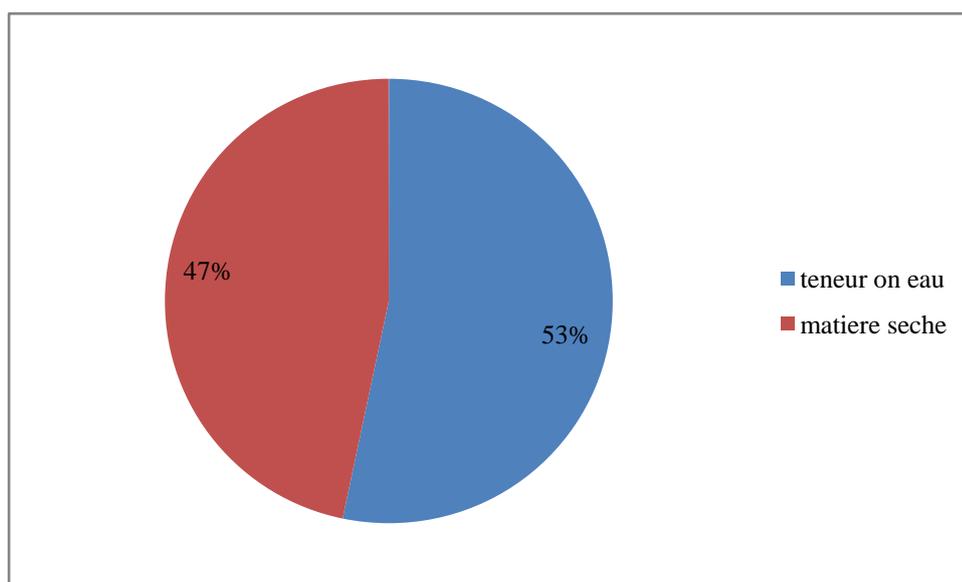


Fig. 12 : Teneur en eau dans la partie aérienne de *Rosmarinus officinalis* L.

Ce test nous a permis de déterminer le taux hydrique présent dans l'espèce *Rosmarinus officinalis* L. qu'est 53 %.

3. Tests phytochimiques qualitatifs :

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de quelques métabolites secondaires au niveau des feuilles et des tiges de *Rosmarinus officinalis* L. La

détection de ces composés est basée sur des essais de solubilité des constituants, des réactions de précipitation et de turbidité, un changement de couleur spécifique. Les résultats sont présentés dans le tableau 5.

Ces tests phytochimiques ont été réalisés pour détecter la présence des différentes familles de composés. Cela était basé sur l'observation visuelle d'un changement de couleur ou de précipité après l'ajout des réactifs spécifiques.

Tableau 5 : Résultats des tests phytochimiques qualitatifs.

Métabolite secondaire	La plante <i>Rosmarinus officinalis</i> L	Photo
Saponosides	++	
Alcaloïdes	++	
Flavonoïdes	+++	
Glycosides	+	

		
Tanins	+	
Stérols et triterpènes	-	

(+) : présence, (-) : absence.

Les réactions de caractérisations ont permis de mettre en évidence plusieurs familles chimiques.

❖ **Flavonoïdes :**

L'apparition d'une coloration jaune claire dans la partie supérieure du tube indique la présence des flavonoïdes en forte quantité ; les flavonoïdes sont des composés polyphénolique qui se trouve abondamment dans les feuille des végétaux ; ils sont connu par leur effet bénéfique sur la santé surtout l'effet antioxydant qui est l'effet principalement étudié [1].

❖ **Saponosides :**

On a obtenu un résultat positif des saponosides dont la hauteur de la mousse obtenu est à l'ordre de 2 cm.

❖ **Tanins :**

Pour le test des tanins, l'apparition d'une coloration bleu verdâtre (intense) indique la présence des tanins gallique [2].

❖ Glycosides :

La recherche des glycosides est marquée positif dans l'extraits des feuilles de *Rosmarinus officinalis* L.

❖ Stérols et Terpènes :

Dans cette recherche on a marquée l'absence de stérols et terpène.

❖ Alcaloïdes :

La présence d'un précipité blanc au fond du tube confirme la présence des alcaloïdes dans la plante *Rosmarinus officinalis* L. qui sont considérés comme des molécules toxiques [3].

4. Résultats d'optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques de *Rosmarinus officinalis* L. :

Afin d'évaluer les meilleures conditions d'extraction des composés phénoliques en expérience pour *Rosmarinus officinalis* L, trois paramètres ont été étudiés ; nature de solvant, pourcentage en mélange hydro-alcoolique et rapport de temps d'extraction. L'évaluation a porté sur le pouvoir de piéger les radicaux libres par le test DPPH, nos meilleurs extraits ont été quantifié en taux de (TFC) flavonoïdes totaux.

4.1. Effet du type de solvant sur l'extraction des composés phénolique de *Rosmarinus officinalis* L. :

Les extraits phénoliques obtenus à partir de différents solvants : acétone, éthanol, méthanol et eau ont subi différents tests.

🚦 Détermination de Rendement d'extraction (R%) :

Les rendements d'extraction de *Rosmarinus officinalis* L. préparés par macération, dans les quatre solvants (éthanol, méthanol, acétone et eau), sont présentés dans la figure 13.

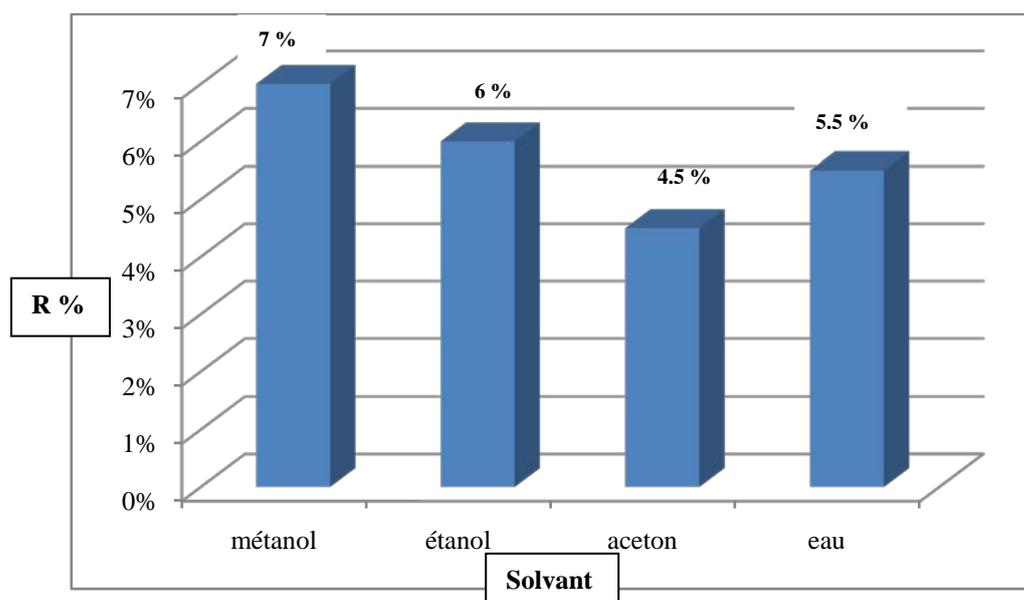


Fig. 13: Effet du type de solvant sur le rendement des composés phénoliques.

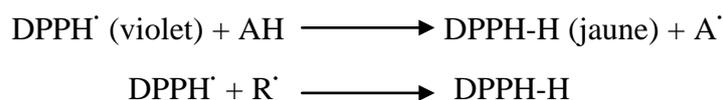
Le rendement le plus élevé pour la méthode de macération était celui de l'extrait méthanolique (7 %), suivi de l'extrait éthanolique (6 %), suivi de celui d'extrait aqueux (5.5 %) et enfin celui à l'acétone (4.5 %). Cette différence est expliquée par la différence de diffusion du solvant dans la poudre des plantes dans l'étape de macération et probablement à la nature des solvants utilisés pour l'extraction [4]. A titre indicatif, les résultats obtenus par MAHMOUDI et al., [5], montrent que l'acétone est le meilleur solvant d'extraction avec un rendement de 19,29 %, suivi par l'eau et le méthanol avec les valeurs (16,75 %) et (14 %) respectivement.

✚ Effet du type de solvant sur l'activité antioxydante (DPPH) :

Plusieurs essais sont utilisés pour la mesure de l'activité antioxydante des extraits de la plante investiguée, compris le test de DPPH[•] (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle).

Les capacités antioxydantes des extraits de la plante étudiée ont été déterminées et comparées aux activités des composés anti-radicalaires étalons (Acide ascorbique «AA» et Hydroxyanisole butylé «BHA»).

Le radical DPPH[•] est l'un des substrats les plus utilisés généralement pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicalaire et la simplicité de l'analyse [6]. L'activité antioxydante est déterminée par la diminution de l'absorbance d'une solution alcoolique de DPPH[•] à 515 nm, qui est due à sa réduction à une forme non radicalaire DPPH-H par les antioxydants (AH) donneurs d'hydrogènes présents dans l'extrait végétal ou par une autre espèce radicalaire comme le montre les équations suivantes [7, 8].



Dans notre travail nous avons étudié l'activité antioxydante des différents extraits de *Rosmarinus officinalis* L. afin de préjuger et localiser l'extrait le plus efficace.

Les valeurs d'IC₅₀ de chaque extrait ont été calculées à partir de la courbe d'étalonnage. Les résultats obtenus sont présentés dans les figures 14.

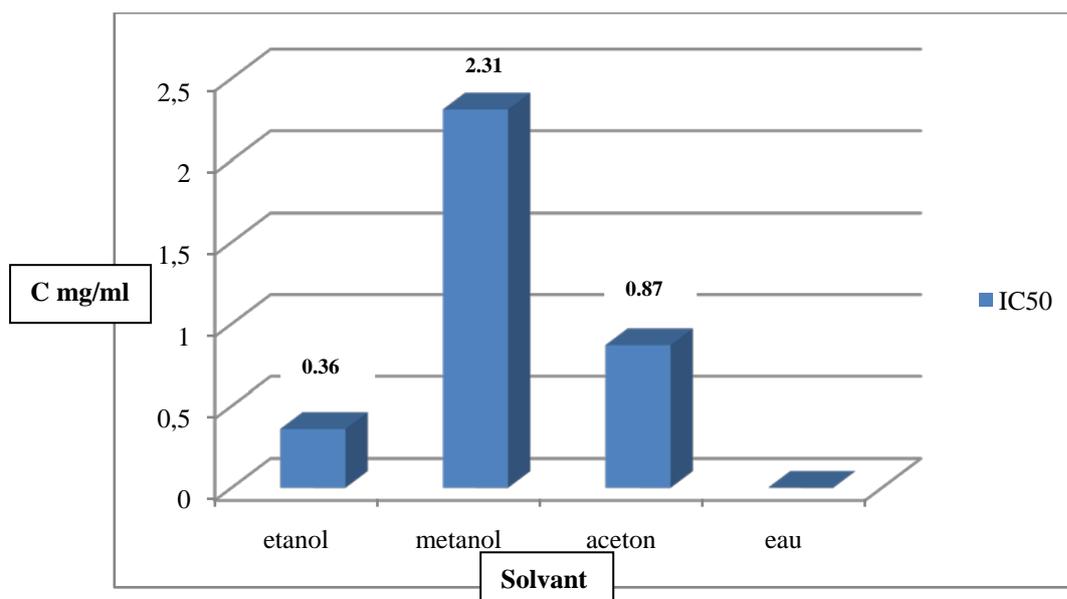


Fig. 14 : Effet du type de solvant sur l'activité antioxydante par test DPPH

Les résultats présentés dans la Figure 14, indiquent que l'éthanol est le meilleur solvant, suivi par l'acétone, le méthanol et enfin l'eau distillée pour la méthode d'extraction macération.

Les résultats de la présente étude sont similaires avec ceux de [9], qui ont étudié l'extraction des composés phénoliques dans différents solvants où l'éthanol était le meilleur solvant, en raison de leur polarité et de leur bonne solubilité pour ces composés [10].

Selon [11], les extractions ont été faites dans un solvant vert, accessible et universel : l'éthanol. Bien qu'étant un solvant organique, il possède une grande polarité qui lui permet d'extraire autant des molécules polaires, comme les polyphénols, que non-polaires, comme les triterpènes ou les phytostérols.

Après le choix du meilleur solvant (éthanol), le Dosage des flavonoïdes totaux (TFC) est entreposé.

🌈 Dosage des flavonoïdes totaux (TFC) :

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode colorimétrique décrite par Lamaison et Carnat. La catéchine considérée comme contrôle positif a permis de réaliser une courbe d'étalonnage, d'où on a calculé la teneur en flavonoïdes de meilleure extraits qui est exprimé en mg équivalent de catéchine (CE) par gramme de matière végétale sèche (mg CE/g). (Figure 15).

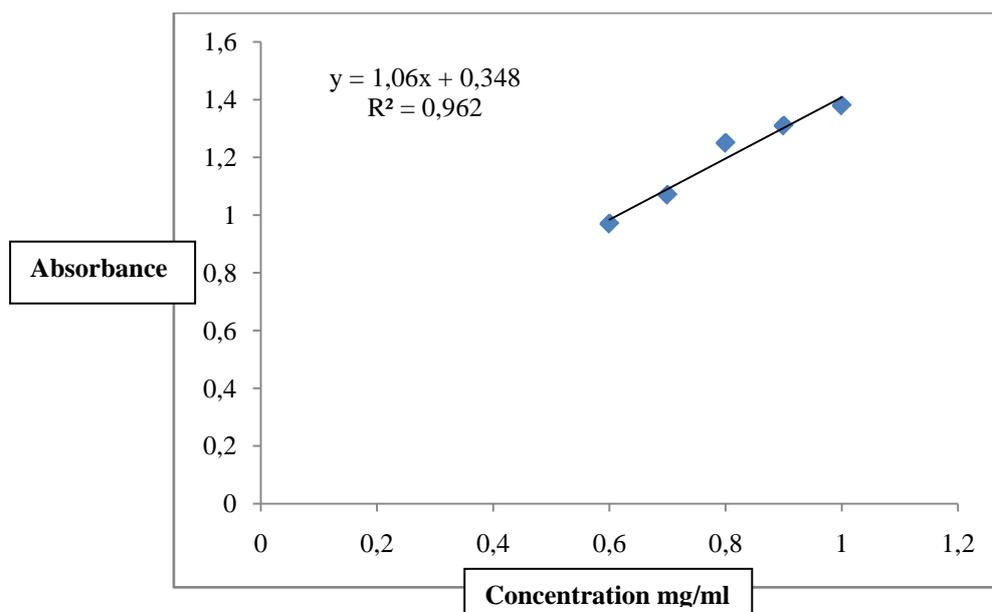


Fig. 15 : Courbe d'étalonnage de Catéchine (effet du type de solvant)

D'après la Figure 15, nous avons observé des teneurs calculées en flavonoïdes pour le solvant utilisé dans la plante, *Rosmarinus officinalis* L. elle représente une valeur de 7.12 mg CE/g.

MAHMOUDI et al., [5], montrent que les extraits éthanoliques enregistrent les teneurs en polyphénols totaux les plus élevées (21,9 mg EAG/g matière végétale sèche).

Dans notre étude, le choix du meilleur solvant ne se fait pas à partir du dosage de TPC, car cette méthode est peu spécifique, puisque beaucoup d'autres composés réducteurs peuvent interférer lors de l'extraction, telles que les sucres, les protéines et les pigments [10, 12].

4.2. Effet de rapport (L/L) de solvant sur l'extraction des composés phénolique de *Rosmarinus officinalis* L. :

🚦 Détermination de Rendement d'extraction (R%):

L'extraction des composés phénoliques s'est faite dans différents rapports du solvant, **EA** (30% éthanol/70% eau), **EB** (70% éthanol/30% eau) et **EC** (50% éthanol/50% eau).

Les résultats obtenus sont indiqués dans la figure 16 ci-dessous.

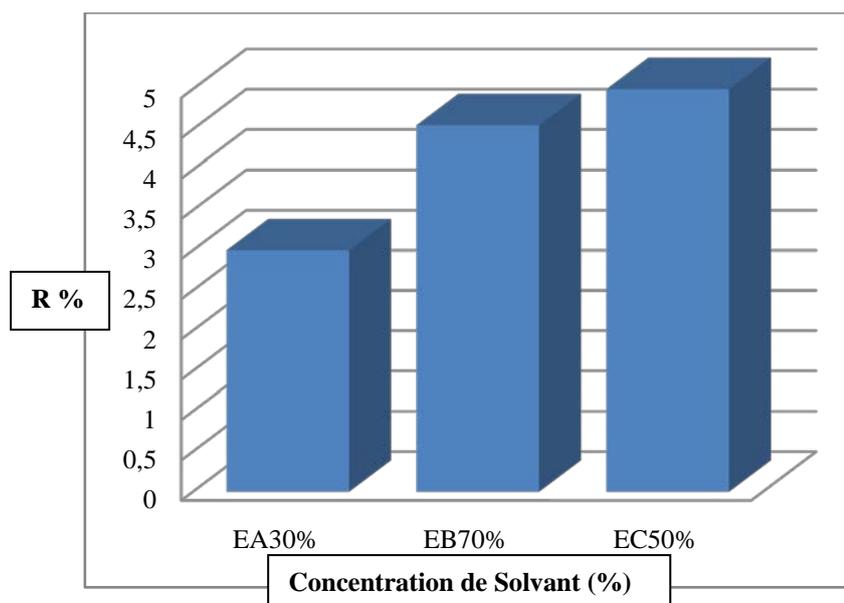


Fig. 16 : Effet de rapport de solvant sur le rendement des composés phénoliques

D'après les résultats obtenus, nous avons enregistré des rendements d'extraction importants, 3% pour l'extrait hydro-alcoolique EA suivi par 4.55% pour l'extrait hydro-alcoolique EB et finalement 5% pour l'extrait hydro-alcoolique EC pour *Rosmarinus officinalis* L.

✚ Effet de concentration de solvant sur l'activité antioxydante (DPPH) :

Les résultats de l'effet de rapport d'éthanol sur l'activité anti-antioxydante réalisés par la méthode DPPH sont regroupées dans les figures suivante, (Figure 17).

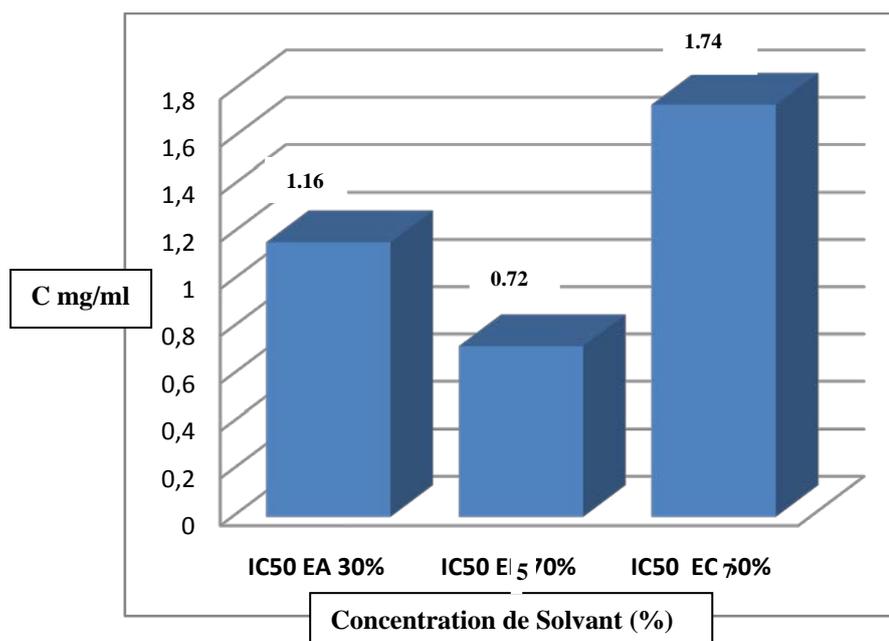


Fig. 17 : Effet du rapport de solvant sur l'activité antioxydante par test DPPH.

L'histogramme illustré par la figure 17 montre que les effets antioxydants varient considérablement entre les extraits des différents rapports étudiés. Ces résultats révèlent que l'extrait à 70% a un pouvoir antioxydant important avec les tests.

Le meilleur rapport d'éthanol est de 70% car les composés phénoliques dans les plantes sont des composés polaires et sont généralement extraites avec des solvants polaires. Les combinaisons des solvants tels que le méthanol, l'éthanol et l'acétone avec l'eau font améliorer l'extraction des composés phénoliques.

En particulier, les mélanges éthanol-eau sont plus efficaces pour l'extraction des composés phénoliques que l'eau pure et l'éthanol pure. L'eau joue un rôle important dans le gonflement de la matière végétale, tandis que l'éthanol est responsable de perturber la liaison entre les solutés et la matrice végétale et permettre aussi un meilleur transfert de masse des composés.

Par conséquent, le mélange d'eau et d'éthanol en tant qu'agent solvant montre synergique l'effet qui facilite l'extraction phénolique [13].

Selon [14], l'eau et l'éthanol sont les solvants les plus couramment utilisés pour l'obtention d'extraits phénoliques possédant un pouvoir antioxydant.

L'eau et les solvants à faible pourcentage en éthanol peuvent accéder aux cellules, mais un fort pourcentage d'éthanol peut provoquer la dénaturation des protéines, ce qui empêche la dissolution des polyphénols lors de l'extraction [15].

Le système éthanol à 70 % a été choisi pour la détermination de l'effet de la durée d'extraction sur la TFC et l'activité antioxydante pour les extraits de la plante étudiée.

🚦 Dosage des flavonoïdes totaux (TFC) :

Le dosage des flavonoïdes totaux montre que la teneur la plus élevée des flavonoïdes dans 10 g de matière végétal est déterminé à partir de multiplication des résultats obtenue.

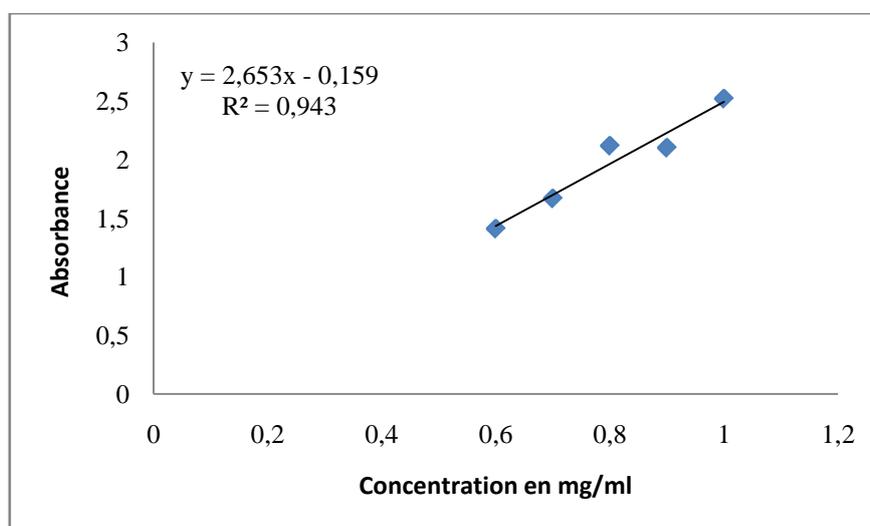


Fig. 18 : Courbe d'étalonnage de Catéchine (effet pourcentage de solvant)

L'effet de pourcentage en solvant d'éthanol sur le contenu en flavonoïdes des extraits de la plante à caractère médicinale étudiée est calculé.

D'après nos résultats, il ressort que la concentration d'extrait en TFC est de 9.02 mg CE/g d'extrait).

Dans la littérature consultée, l'extrait hydro-éthanolique (80%) donne la teneur maximale en TPC, tandis que les teneurs les plus faibles ont été obtenues lorsque le milieu d'extraction est entièrement fait d'eau ou d'éthanol [16-19].

4.3. Effet de la durée de temps sur l'extraction des composés phénolique de *Rosmarinus officinalis* L. :

✚ Détermination de Rendement d'extraction (R%) :

Cette optimisation nous permet de préciser le temps optimum pour un meilleur rendement d'extraction des antioxydants et des flavonoïdes totaux.

L'influence du temps sur l'extraction des extraits de la plante de *Rosmarinus officinalis* L. avec 70% de solvant éthanol est étudiée avec les différents temps à savoir ; 1 heure, 2 heures et 4 heures.

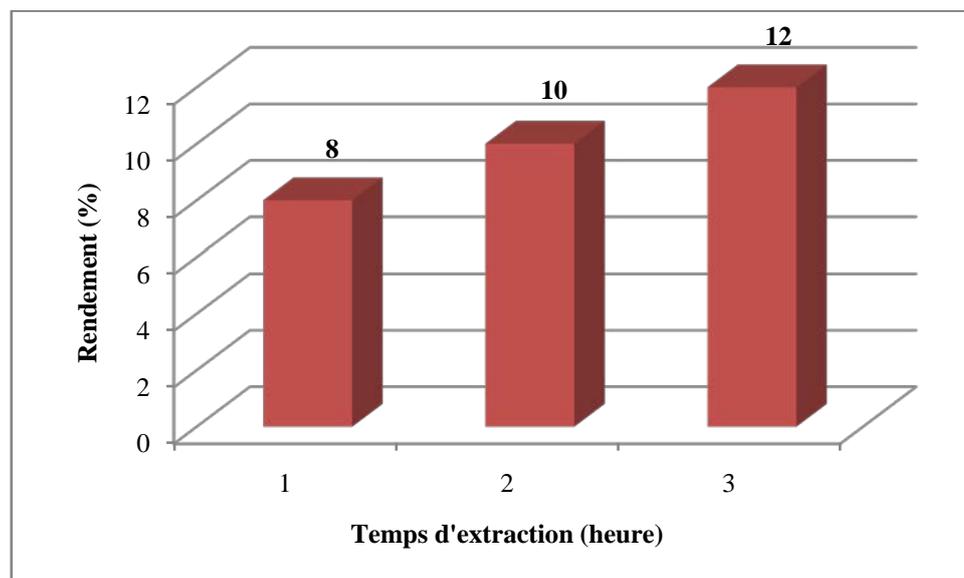


Fig. 19 : Effet de la durée d'extraction sur le rendement des composés phénoliques

D'après les résultats de la Figure 19, on remarque que le meilleur rendement obtenu à 180 min. La prolongation du temps d'extraction des composés phénoliques par des solvants d'extraction fait accroître leur rendement selon plusieurs auteurs [16, 17, 20, 21, 22].

✚ Effet de la durée de temps sur l'activité antioxydante (DPPH) :

Il ressort de l'histogramme Figure 20 que l'effet antioxydant le plus important est révélé à 2 heures pour la macération.

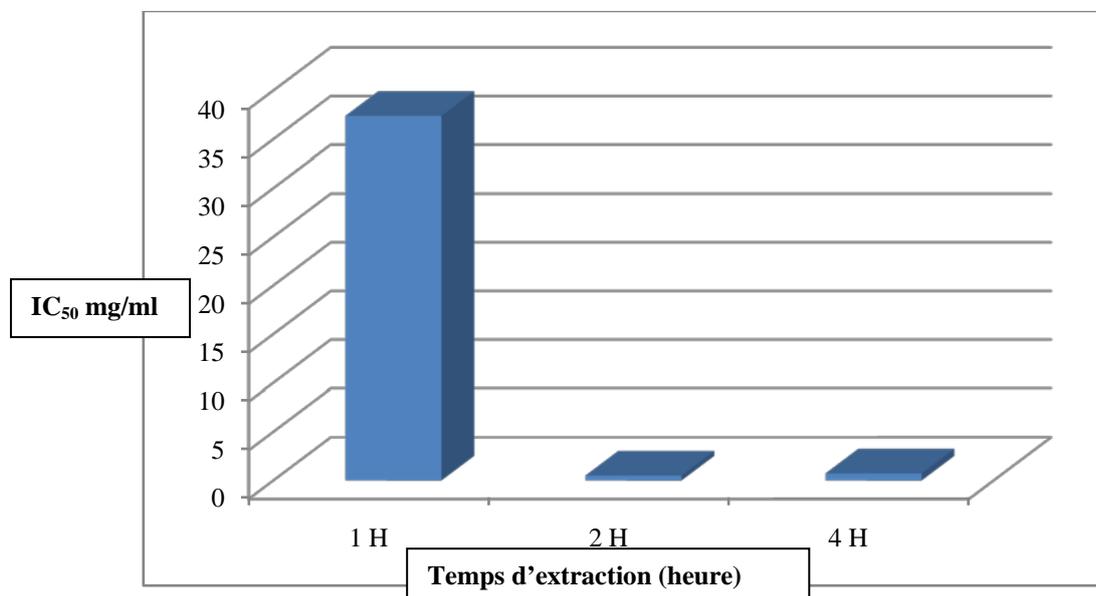


Fig. 20 : Effet de la durée d'extraction sur l'activité antioxydante par DPPH

Nous utilisons dans ce travail trois temps d'extraction par macération (1 heure, 2 heures et 4 heures).

A l'issue des résultats obtenus, nous avons constaté que l'éthanol à 70%, et une durée de 180 min pour l'extraction sont les meilleures conditions d'extraction des composés phénoliques de notre plante.

Nos meilleures valeurs d'IC₅₀, ont été obtenues à 120 min et 240 min respectivement, donnent des pourcentages d'inhibition les plus importants utilisant le test DPPH. Dans cette étude, la durée d'extraction a un effet significatif sur l'activité antioxydante.

Plusieurs études ont montré que l'extraction prolongée conduit à une diminution de la teneur en composés phénoliques des extraits bruts due à l'oxydation de ces composés en prolongeant l'exposition à des facteurs environnementaux tels que la lumière et l'oxygène [24, 23, 24, 25].

Selon [26], deux phases d'extraction ont pu être observées, une première augmentation de la concentration en polyphénols dans le début du processus suivi par une extraction lente (après 60 min) caractérisé par une faible amélioration de la teneur en polyphénols des progrès l'extraction.

✚ Dosage des flavonoïdes totaux (TFC) :

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode colorimétrique décrite par Lamaison et Carnat. La catéchine considérée comme contrôle positif a permis de réaliser une courbe d'étalonnage, d'où on a calculé la teneur en flavonoïdes de meilleurs extraits de *Rosmarinus officinalis* L. qui est exprimé en mg équivalent de catéchine (CE) par gramme de matière végétale sèche. (Figure 21).

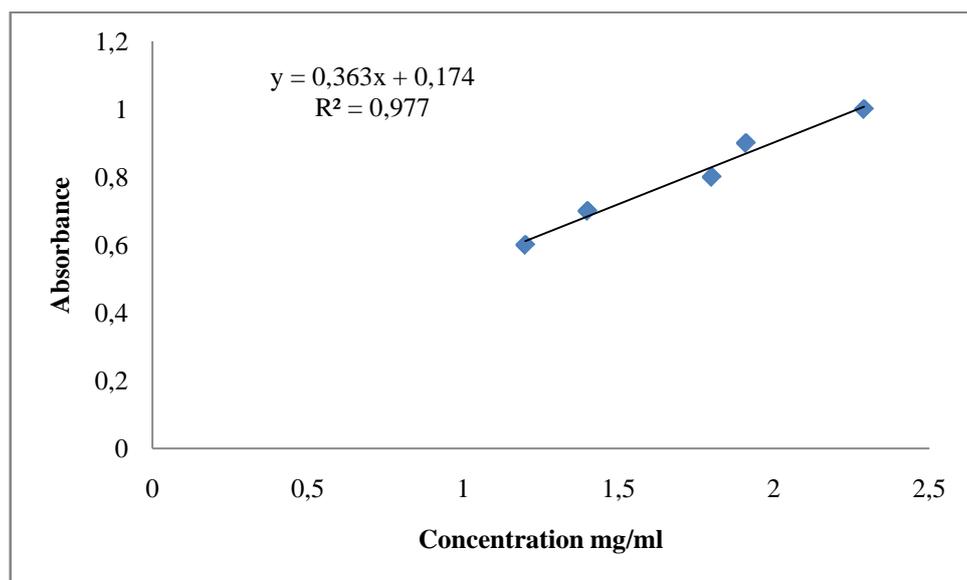


Fig. 21 : Courbe d'étalonnage de Catéchine (effet de la durée d'extraction)

La comparaison des résultats obtenus nous a permis de déduire que l'extrait par macération a un taux de 11.27 mg CE/g d'extrait.

TELLI et al., [16], ont trouvés que l'évolution de la teneur en TFC pour l'extrait hydroéthanolique (80%) à partir de dattes est rapide entre 30 min et 5 h, alors qu'elle est lente entre 5 h à 9 h.

Néanmoins, plusieurs chercheurs ont attiré l'attention à la possibilité d'oxydation des composés phénoliques si le temps d'extraction est long, ce qui peut mener à l'inverse des résultats escomptés (teneurs très basses) [4, 17, 20, 23, 27].

Références bibliographiques:

- [1] Min K. & S.E. Ebeler. 2008. Flavonoid effects on DNA oxidation at low concentrations relevant to physiological levels. *Food and Chemical Toxicology*, 46: pp 96-104.
- [2] Shaghaghia. M.A. Hardinga, S.V . & P.J.H., Jones. 2010. Water dispersible plant sterol formulation shows improved effect on lipid profile compared to plant sterol esters. *Journal of functional foods*, 6 : pp 280-289.
- [3] Hartmann T. & L. Witte. 1995. Alkaloids: Chemical and biological perspectives, Ed.S.W. Pelletier 1995, Vol 9, Ch.4.155.
- [4] NACZK M., SHAHIDI F. 2004. Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A.*, 1054: 95-111.
- [5] MAHMOUDI S., KHALI M., MAHMOUDI N. 2013. Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus L.*). *Nature et Technologie*, 2:35-40.
- [6] Bozin, B; Mimica-Duric, N; Samojlik, I; Goran, A; Igetic, R. 2008. Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum L.* Alliaceae), *Food Chemistry*, 111: pp 925-929.
- [7] Maisuthisakul, P; Suttajit, M; Pongsawatmmit, R. 2007. Assessment of phenolic content and free radical scavenging capacity of some that indigenous plants, *Food Chemistry*, 100: pp 1409-1418.
- [8] Da Silva Pinto, M; Maria Lajolo, F; Innés Genovese, M. 2008. Bioactive compounds and quantification of total ellagic acid in strawberries (*Fragaria x ananasa Duch*), *Food Chemistry*, 107: pp 1629-1635.
- [9] AMMAR A.S.M., MOHSEN S.M. 2009. Total phenolic contents and antioxidant activity of corntassel extracts. *Food Chem*, 112: 595-598.
- [10] ATHAMENA S., CHALGHEM I., KASSAH-LAOUAR A., LAROUUI S., KHEBRI S. 2010. Activite anti-oxydante et antimicrobienne d'extraits de *cuminum cyminum L.* *Lebanese Science Journal*, 11:1-13.
- [11] ST-PIERRE F. 2012. Caractérisation physico-chimique de bois et d'écorces de *Betula alleghaniensis* et *Acer saccharum* de différentes vigueurs. Mémoire du grade de Maître ès sciences. Université Laval. 76p.
- [12] MACHIEUX J., FLEURIET A., JAY-ALLEMAND C. 2005. Composés phénoliques des végétaux. *Presses polytechniques et universitaires Romandes*, 75-85 p.
- [13] KHENFER S., MEDJOUEL M. 2016. Optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques d'une plante médicinale de la région sud du Sahara Algérien, Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de master académique, filière biologie, Spécialité : Biochimie appliquée, université kasdi merbah ouargla.

[14] WANG L., WELLER C.L. 2006. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*.

[15] PRASAD K.N., YANG B., ZHAO M.M., RUENROENGLIN N., JIANG Y.M. 2009. Application of ultrasonication or high-pressure extraction of flavonoids from Litchi fruit pericarp. *Journal Food Process Engineering*.

[16] TELLI A., MAHBOUB N., BOUDJENEH S., SIBOUKEUR O. E. K. , MOULTI-MATI. F., 2010. Optimisation des conditions d'extraction des polyphenols de dattes lyophilisées (*Phoenix dactylifera* L) variété ghars. *Annales des Sciences et Technologie*, 2 (2) : 107-115.

[17] CHIRINOS R., ROGEZ H., CAMPOS D., PEDRESCHI R., LARONDELLE Y. 2007. Optimisation of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) tubers. *Journal of Separation and Purification Technology*, 55: 217-225.

[18] KIM J. M., CHANG S. M., KIM I. H., KIM Y. E., HWANG J. H., KIM K. S., KIM W. S., 2007. Design of optimal solvent for extraction of bio-active ingredients from mulberry leaves. *Biochemical Engineering Journal*, 37: 271-278.

[19] SPIGNO G., TRAMELLI L., De FAVERI D. M. 2007. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering*, 81: 200-208.

[20] DRUŻYŃSKA B., STEPNIEWSKA A., WOŁOSIAK R. 2007. The influence of time and type of solvent on efficiency of the extraction of polyphenols from green tea and antioxidant properties obtained extracts. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 6: 27-36.

[21] SILVA E. M., ROGEZ H., POMPEU D.R. 2009. Optimisation of extraction of phenolics from fruits of *Euterpe oleracea* using Response Surface Methodology. *Bioresource Technology*, 100: 6076-6082.

[22] NICOLA E. D., OWEN J. C., J. G., ROSEMARY F. W., KEVIN A. M., YEAP F., NIGEL B. P 2007. Extraction of phenolics and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using ethanol-water mixtures. *Food Chemistry*, 101: 1417-1424.

[23] YAP.C.F., C.W. HO., WAN AIDA W.M., CHAN S.W., LEE C.Y., LEONG Y. S., 2009. Optimization of Extraction Conditions of Total Phenolic Compounds from Star Fruit (*Averrhoa carambola* L.) Residues. *Sains Malaysiana*, 38(4): 511-520.

- [24] UMA D.B., HO C.W., WAN AIDA W.M. 2010. Optimization of extraction parameters of total phenolic compounds from Henna (*Lawsonia inermis*) leaves. *Sains Malaysiana*, 39(1): 119-128.
- [25] HISMATH I., WAN A. M., HO C.W. 2011. Optimization of extraction conditions for phenolic compounds from neem (*Azadirachta indica*) leaves. *International Food Research Journal*, 18(3): 931-939.
- [26] GALVAN D., KRIAA K., NIKOV I., DIMITROV K. 2012. Ultrasound assisted extraction of polyphenols from black chokeberry. *Separation and Purification Technology*, 93: 42-47.
- [27] NAZCK M., SHAHIDI F. 2006. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41: 1523-1542.

Conclusion générale

Conclusion générale

Une étude sur l'optimisation des conditions d'extractions des composés phénoliques à partir de la plante *Rosmarinus officinalis* L., a été réalisée. Il s'agit, en l'occurrence, de l'extraction de ces métabolites dans différentes conditions.

La comparaison porte sur le rendement d'extraction des métabolites visés, le criblage phytochimiques, le dosage quantitatif de ces métabolites et l'activité anti-radicalaire des extraits obtenus.

Les tests phytochimiques ont révélé que les feuilles de cette plante sont riches en composés phénoliques et en flavonoïdes, comme en témoigne l'apparition de colorations vert-noirâtre et orange, par addition de FeCl_3 et de cyanidine, respectivement.

L'étude comparative a montré que l'extraction avec un solvant hydro-éthanolique (70 % / 30 %) pendant 180 min donne le meilleur rendement en composés phénoliques, et possède un pouvoir très puissant à piéger les radicaux libres avec des valeurs d' IC_{50} de 0.7 mg/ml.

En conclusion et en se basant sur les résultats obtenus, on peut affirmer qu'il n'est pas utile de prolonger l'extraction au-delà de 2 heures.

Les résultats obtenus sont très encourageants et incitent à la poursuite de ce travail. Ainsi, nous espérons réaliser, dans un avenir proche, des études sur l'influence de la température, nombre de cycles d'extraction, le rapport solide/liquide et taille des particules sur le rendement et extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de cette plante, *Rosmarinus officinalis* L.

Annexe

Annexe 1: représentation les valeurs de rendement des composés phénoliques.

Solvant	Ethanol	Méthanol	acétone	L'eau distille
Rendement	6%	7%	4.5%	5.5%

Annexe 2: représentation des valeurs d'activité antioxydante des extraits exprimée en IC₅₀.

Extrait	IC ₅₀ (mg/ml)
Extrait Éthanol	0.36
Extrait méthanol	2.31
Extrait acétone	0.87
Extrait Eau distille	0.1

Annexe 3: représentation les valeurs d'absorbance en fonction de concentration de solvant méthanol du activité anti oxydante (DPPH).

Concentration mg/ml	0.25mg/ml	0.5 mg/ml	1 mg/ml
Ab 1	0.917	0.898	0.847
Ab2	0.917	0.883	0.710
Ab moy	0.917	0.890	0.778

Annexe 4: représentation les valeurs d'absorbance en fonction de concentration de solvant éthanol du activité anti oxydante (DPPH).

Concentration	0.25 mg/ml	0.5mg/ml	1mg/ml
Ab1	0.460	0.448	0.331
Ab2	0.481	0.3386	0.330
Ab 3	/	/	/
Ab moy	0.470	0.441	0.331

Annexe 5: représentation les valeurs d'absorbance en fonction de concentration de solvant acétone du activité anti oxydante (DPPH).

Concentration	0.5 mg/ml	1mg/ml	2mg/ml
Ab1	0.850	1.118	0.710
Ab2	0.867	0.773	0.69
Ab3	0.855	0.630	0.711
Ab moy	0.858	0.840	0.700

Annexe 06: représentation les valeurs d'absorbance en fonction de concentration de Catéchine de solvant (100% éthanol) TFC

Concentration	0.6 mg/ml	0.7 mg/ml	0.8 mg/ml	0.9 mg/ml	1 mg/ml	l'extrait plant
Test 1	0.709	1.234	1.235	1.26	1.49	1.513
Test 2	0.793	0.65	1.31	1.088	1.103	1.546
Test 3	1.43	1.34	1.21	1.6	1.552	0.406
Moyene	0.97	1.07	1.25	1.31	1.381	1.15

Annexe 07: représentation les valeurs de rendement de différentes concentration d'extraits éthanoïques.

Solvant	Ethanol 70%	Ethanol 50%	Ethanol 30%
Rendement	4.5%	5%	3%

Annexe 08: représentation les valeurs de Activité antioxydante de différentes concentration d'extraits éthanoïques qui exprimée en IC₅₀.

Extrait	IC ₅₀ (mg/ml)
Extrait Éthanol (70% éthan /30% eau)	0.72
Extrait éthanol (50% éthan /50% eau)	1.74
Extrait éthanol (30% éthan /70% eau)	1.16

Annexe 09: représentation les valeurs d'absorbance en fonction de concentration de solvant éthanol (30% éthanol/70%eau) d'activité anti oxydante (DPPH).

Concentration	0.25 mg/ml	0.5 mg/ml	1 mg/ml
Ab1	0.409	0.464	0.496
Ab2	0.411	0.490	0.485
Ab moy	0.410	0.477	0.490
IC%	48%	40/%	38/%

Annexe 10: représentation les valeurs d'absorbance en fonction de concentration de solvant éthanol (50% éthanol/50%eau) d'activité anti oxydante (DPPH).

Concentration	0.25 mg/ml	0.5mg/ml	1mg/ml
Ab1	0.2341	0.215	0.196
Ab2	0.2266	0.208	0.188
Ab moy	0.23	0.211	0.192
IC%	26%	32%	38%

Annexe 11: représentation les valeurs d'absorbance en fonction de concentration de solvant éthanol(70% éthanol/30% eau) d'activité anti oxydante (DPPH).

Concentration	0.25mg/ml	0.5mg/ml	1mg/ml
Ab1	0.71	0.691	0.478
Ab2	0.84	0.542	0.317
Ab moy	0.77	0.616	0.397
IC%	27%	41%	62%

Annexe12: représentation les valeurs d'absorbance en fonction de concentration de Catéchine de solvant (70% éthanol) TFC

Concentration	0.6 mg/ml	0.7 mg/ml	0.8 mg/ml	0.9 mg/ml	1 mg/ml
1esy	1.150	1.22	2.027	1.845	2.382
2esy	1.667	2.07	1.770	2.148	2.506
3esy	1.432	1.714	2.557	2.302	2.700
Moy	1.410	1.668	2.118	2.101	2.52

Annexe 13: représentation les valeurs de rendement de différentes durée (temps) d'extraits éthanologiques.

Solvant	Ethanol 70%	Ethanol 70%	Ethanol 70%
	1 heure	2 heures	4 heures
Rendement	8%	10%	12%

Annexe 14: représentation les valeurs d'activité antioxydante de différentes les durées d'extraits éthanologiques qui exprimée en IC₅₀.

Extrait	IC ₅₀ (mg/ml)
Extrait Éthanol (70% Ethan /30% eau) (4heur)	0.72
Extrait éthanol (70% Ethan /30% eau) (2heur)	0.50
Extrait étanole (70% Ethan /30% eau) (1heur)	37.38

Annexe 15: représentation les valeurs d'absorbance en fonction de rapport de solvant éthanol (70%) le temps de extraction 4 heures d'activité anti oxydante (DPPH).

Concentration	0.25 mg/ml	0.5 mg/ml	1 mg/ml
Ab1	0.71	0.691	0.478
Ab2	0.84	0.542	0.317
Ab moy	0.77	0.616	0.397
IC%	27%	41%	62%

Annexe 16: représentation les valeurs d'absorbance en fonction de rapport de solvant éthanol (70%) le temps de extraction 2 heures d'activité anti oxydante (DPPH).

Concentration	0.25 mg/ml	0.5 mg/ml	1 mg/ml
Ab1	0.757	0.603	0.156
Ab2	0.825	0.540	0.219
Ab moy	0.791	0.571	0.187
IC%	14%	38%	79%

Annexe 17: représentation les valeurs d'absorbance en fonction de rapport de solvant éthanol (70%) le temps de extraction 1 heure d'activité anti oxydante (DPPH).

Concentration	0.25 mg/ml	0.5 mg/ml	1 mg/ml
Ab1	0.792	0.704	0.127
Ab2	0.876	0.775	0.215
Ab moy	0.834	0.739	0.171
IC%	28%	36%	85%

Annexe 18: représentation les valeurs d'absorbance en fonction de concentration de Catéchine de solvant (70% éthanol) de meilleure temps (2 heures)

Concentration	0.6 mg/ml	0.7 mg/ml	0.8 mg/ml	0.9 mg/ml	1 mg/ml	L'extrait plant
Test 1	0.778	1.345	1.989	1.218	2.200	2.18
Test 2	1.635	1.463	1.620	2.613	2.181	2.007
Moyenne	1.206	1.404	1.811	1.91	2.09	1.98