

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*  
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Physico-chimique  
Filière : Sciences Biologiques  
Option : Biochimie Appliqué



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle  
En vue de l'obtention du diplôme

## **MASTER**

### *Thème*

***Propriétés antioxydantes des extraits d'une  
plante médicinale (Rosmarinus officinalis)***

Présenté par :

**Rili Cylia & korichi Amal**

Soutenu le : **22 Juin 2017**

Devant le jury composé de :

Mme Kara- Kendi S	MAA	Présidente
Mme Issaadi O	MCA	Encadreur
Mme Alioui-Zemouri S	MAA	Examinatrice

**Année universitaire : 2016 / 2017**



# Dédicaces

*Je dédie ce travail à mes très chers parents, qu'ils trouvent ici toute ma gratitude pour leur soutien tout au long de mes études.*

*A ma grande mère, ma soeur yasmine et mon frère hicheme.*

*A mon très chers fiancé Rahim pour son aide et encouragement pendant ce travaille.*

*A ma binome Amal et a mes amis les plus chers , ainssi qu'a toute la promotion biochimie appliqué.*

*En fin, sans oublier tout ceux ou toutes celles qui ont contribués de prés ou de loin à la réalisation de ce mémoire.*

*Cylia*

# Dédicaces

*Je dédie ce travail à mes chers parents, qu'ils trouvent ici toute ma gratitude pour leur soutien tout au long de mes études.*

*A mes chers frères walid et abdraouf , ainsi a mes soeurs chahinaze et cilia*

*A mes chère tentes : hasina, samia, nadia, samira, malika, habiba , nora, aicha, jamila et surtout ma tente hada .*

*A mes oncles : laid, rabah, abd azize et ses femmes et leurs enfants.*

*A mon grand père : layachi et sa femme*

*A tous mes amies surtout : Fatene, Ahlame, Linda, les deux Rima, Ghanima, Amina, Hizia, Rbiha, Soraia, Nesrine, Chaima, Romaiissa , Dida, Wanissa, Naoual, kanza .*

*A ma binôme Cylia et à toute la promotion biochimie appliqué*

*En fin, sans oublier tout ceux ou toutes celles qui ont contribués de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.*

*Amal*



# Remerciements

*Avant tout, nos remerciements infinis sont adressés à « Dieu le Tout Puissant » de nous avoir donné le courage et la santé pour achever ce travail.*

*Nous remercions tout d'abord notre famille pour leurs encouragements et leurs sacrifices envers notre formation et même notre éducation.*

*Nous tenons à remercier notre promotrice Madame Issaadi pour nous avoir suivis, pour son savoir et l'aide qu'elle nous a fournie au cours de ce travail, ainsi que pour ses conseils.*

*Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à tous nos professeurs qui ont contribué à notre formation.*

*Nos remerciements vont aussi aux membres de jury Mme Kara et Mme Zemouri de nous avoir fait l'honneur d'accepter d'évaluer ce travail.*

*A tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation et au bon déroulement de ce travail.*

## *SOMMAIRE*

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abreviation

Introduction.....1

### *Partie I :Synthèse bibliographique*

**I- Généralité sur la plante..... 3**

**I-1- Historique et habitat.....3**

**I-2- Description botanique.....3**

**I-3- Composition biochimique du romarin .....4**

**I-4-Propriétés pharmacologiques et thérapeutiques du romarin .....4**

**II- Antioxydants.....5**

**II-1- Types d'antioxydants .....5**

**II-2- Généralités sur les composées phénoliques .....5**

**II-2-1- Composés phénoliques.....5**

**II-2-2- Classification.....6**

**III-Stress oxydant.....9**

**III-1- Définition.....9**

**III-2- Radicaux libres.....9**

**IV-Propriété antioxydante des polyphénols.....11**

**IV-1- Acides phénoliques.....11**

<b>IV-2- Flavonoïdes</b> .....	11
<b>IV-3- Tannin</b> .....	12
<b>V-Mécanisme d'action des composés phénolique</b> .....	13
<b>V-1-Inhibition enzymatique</b> .....	13
<b>V-2-Chélation des ions métalliques</b> .....	13
<b>V-3-Piégeage des radicaux libres</b> .....	13

### *PartieII : Matériels et Méthodes*

<b>I-Matériels</b> .....	15
<b>I-1-Matériel végétal</b> .....	15
<b>II-Méthodes</b> .....	16
<b>II-1-Taux d'humidité</b> .....	16
<b>II-2-Extraction des composés phénoliques</b> .....	16
<b>II-3-Dosage des antioxydants des extraits phénoliques</b> .....	18
<b>II-3-1- Polyphénols totaux</b> .....	18
<b>II-3-2- Flavonoïdes</b> .....	18
<b>II-3-3- Flavonols</b> .....	19
<b>II-3-4-Ttanins condensés</b> .....	19
<b>III-Activité antioxydants</b> .....	20
<b>III-1-pouvoir réducteur ( FRAP)</b> .....	20
<b>III-2- Activité réductrice du molybdate d'ammonium</b> .....	20
<b>III-3- Effet scavenger (DPPH)</b> .....	21
<b>III-4- Effet scavenger (ABTS)</b> .....	22

---

<b>IV- Analyses statistiques.....</b>	<b>23</b>
---------------------------------------	-----------

*Partie III : Résultats et Discussions*

<b>I-Taux d’humidité .....</b>	<b>24</b>
<b>II-Dosage des antioxydants.....</b>	<b>26</b>
<b>II-1- Polyphénols totaux.....</b>	<b>26</b>
<b>II-2- Flavonoïdes.....</b>	<b>27</b>
<b>II-3- Flavonols.....</b>	<b>28</b>
<b>II-4-Ttanins condensés.....</b>	<b>29</b>
<b>III- Activité antioxydant .....</b>	<b>30</b>
<b>III-1- Effet scavenger (DPPH).....</b>	<b>30</b>
<b>III-2- Effet scavenger (ABTS).....</b>	<b>31</b>
<b>III-3-Pouvoir réducteur (FRAP).....</b>	<b>32</b>
<b>III-4- Pouvoir réducteur du molybdate d’ammonium .....</b>	<b>33</b>
<b>IV- Corrélation entre l’activité antioxydante et les composés phénoliques.....</b>	<b>34</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>36</b>

**Références bibliographique**

# Liste des tableaux

**Tableau I** : les différentes classes des flavonoïdes.....7

**Tableau II** : Activités biologiques de quelques composés phénoliques.....15

# Liste des figures

<b>Figure 1:</b> <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	3
<b>Figure 2 :</b> Systèmes de défense contre les radicaux libres.....	5
<b>Figure 3:</b> Structure d'un phénol.....	6
<b>Figure 4 :</b> Structure de base des flavonoïdes.....	6
<b>Figure 5:</b> Déséquilibre de la balance entre pro-oxydants et antioxydants.....	9
<b>Figure 6:</b> Origine extra- et intracellulaire des radicaux libres oxygénés (RLO) (XO: xanthine oxydase; P-450 : cytochrome P-450). .....	10
<b>Figure 7 :</b> Eléments essentiels pour l'activité antioxydante des flavonoïdes.....	12
<b>Figure 8:</b> Piégeage des ERO (X•) par un noyau catéchol.....	14
<b>Figure 9 :</b> Protocole d'extraction des composés phénoliques.....	17
<b>Figure 10 :</b> Réaction du DPPH avec un antioxydant.....	21
<b>Figure11 :</b> Taux d'humidité et de la matière sèche des échantillons étudiés.....	23
<b>Figure 12:</b> Taux d'humidité et de la matière sèche des échantillons analysé.....	24
<b>Figure13:</b> Teneurs en polyphénols totaux des échantillons étudiés.....	25
<b>Figure 14 :</b> Teneurs en flavonoïdes des échantillons étudiés.....	26
<b>Figure15 :</b> Teneurs en flavonols des échantillons étudiés.....	27
<b>Figure 14 :</b> Teneurs en tanins condensés des échantillons analysés.....	28
<b>Figure 15:</b> Activité antiradicalaire du DPPH des échantillons étudiés.....	29
<b>Figure 16:</b> Activité antiradicalaire d' ABTS des échantillons étudiés.....	30
<b>Figure 17:</b> Pouvoir réducteur des échantillons de <i>Rosmarinusofficinalis</i> .....	31
<b>Figure 18:</b> Pouvoir réducteur du molybdate d'ammonium .....	32

# Liste des abreviation

**CIMAP:** Central Institute of Medicinal and Aromatic Plants.

**Da :** Dalton

**XO :** Xanthine oxydase.

**RLO:** Radicaux libres oxygénés.

**P-450:** Cytochrome P-450.

**LDL:** Low density lipoprotein.

**NADP :** Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.

**ROS :** Reactive oxygen species.

**SOD:** Superoxyde dismutase.

**VIH :** Virus de l'Immunodéficience Humaine.

**Abs :** Absorbance.

**EAG:** Equivalent en acide gallique.

**ROS :** Reactiveoxygenspecies = Espèces réactifs de l'oxygène.

**UV :** Ultraviolet.

**ONOO:** Peroxynitrite.

**MS :** Matière sèche.

**NADPH :** Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.

**FS :** Feuilles de sidi aiche

**FK** :Feuilles de kherrata

**FLS** :Fleurs de sidi aiche

**FLK** :Fleurs de kherrata

**TS** :Tiges de sidi aiche

**TK** :Tiges de kherrata

# Introduction

## **Introduction**

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité, pour soulager et guérir des maladies. En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voire des milliers de composés naturels bioactifs appelés: les métabolites secondaires. Ces derniers sont par la suite accumulés dans différents organes et parfois dans des cellules spécialisées de la plante. **(Sefi et al., 2010).**

Actuellement, le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques et la toxicité des antioxydants synthétiques ont conduit les chercheurs à puiser dans le monde végétal et particulièrement les plantes médicinales et culinaires en quête de molécules naturelles efficaces et dénuées de tout effet adverse.

De nombreuses études ont mis en évidence la présence des métabolites secondaires doués d'activités biologiques telles que les polyphénols, alcaloïdes, terpènes ...etc.

Les polyphénols sont en effet doués de multiples vertus thérapeutiques, ils jouent un rôle très important, principalement, dans la lutte contre les cancers, les maladies cardiovasculaires et la peroxydation lipidique. Expliquant de ce fait leur grande utilisation dans la fabrication des médicaments. Ils interviennent aussi dans la protection des plantes contre les différentes attaques microbiennes (surtout fongiques) risquant de causer la perte d'une grande quantité de végétation **(Bruneton, 1999).**

Cependant, l'évaluation des propriétés : phytopharmaceutiques, antioxydante et antimicrobiennes demeure une tâche très intéressante et utile, en particulier pour les plantes d'une utilisation rare ou moins fréquente ou non connue dans la médecine traditionnelle. Ces plantes représentent une nouvelle source de composés actifs **(Silva, 2004).**

Le genre *Rosmarinus officinalis* inclut des espèces végétales médicinales possédants diverses propriétés biologiques,est une herbe aromatique de la famille des Labiées, appréciée pour ses propriétés aromatiques, anti-oxydantes, antimicrobiennes, antispasmodiques, emménagogues et anti-tumorales, largement utilisée dans les produits pharmaceutiques et en médecine traditionnelle. **( bekkara et al., 2007).**

Le but de notre étude est l'évaluation de l'apport en substances à activité antioxydante (composés phénoliques totaux, flavonoïdes, flavonols et tanins condensés) et la détermination du potentiel antioxydant (activités antiradicalaires :DPPH et ABTS , pouvoirs réducteurs : molybdate d'ammonium et FRAP) d'extraits éthanoliques des feuilles, fleurs ,tiges des deux régions( kherrata et sidi aiche) de la plante *Rosmarinus officinalis*.

# la partie théorique

*la partie théorique*

## I-Généralité sur *Rosmarinus officinalis*

### I-1-Historique et origine

Le romarin est un Symbole des fêtes, funéraires, il était abondamment utilisé pour confectionner des couronnes. Tout d'abord destinées à parer les jeunes épouses lors de la cérémonie, ces feuilles ont par la suite orné les têtes des étudiants en Grèce, car le romarin était reconnu pour avoir une action stimulante sur les fonctions mentales. C'est grâce à l'énigmatique reine Donna Isabella de Hongrie qu'il a véritablement pris ses lettres de noblesses. L'histoire veut qu'un ermite ait glissé dans une eau de romarin, la formule d'une éternelle jeunesse. Celle-ci aurait permis à Donna Isabella, septuagénaire, laide, paralytique et goutteuse de retrouver la splendeur de ses 20 ans et de séduire un jeune Roi de Pologne ( **Bellakhdar, 2006**).

Le mot romarin (*Rosmarinus*) dérive du latin «Ros» rosée, «Marinus» : marin ou de marin.

### I-2-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. 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).(**Bekkara et al., 2007**).



**Figure1:** *Rosmarinus officinalis*.

### **I-3-Composition phytochimique du Romarin**

L'huile essentielle du *Romarin* (1 à 2% dans la plante) contient: de l' $\alpha$ -pinène (7 à 80%), de la verbénone (1 à 37%), du camphre (1 à 35%), de l'eucalyptol (1 à 35%), du bornéol (4 à 19%), de l'acétate de bornyle (jusqu'à 10%) et du camphène. En plus d'huiles essentielles ont été obtenues dans le *Romarin*: 2 à 4 % de dérivés triterpéniques tels que : l'acide ursolique, l'acide oléanolique, l'acétate de germanicol; des lactones diterpéniques, picrosalvine, dérivés de l'acide canosolique, romanol, romadial, des acides phénoliques, des acides gras hydroxylés surtout des dérivés de l'acide décanoïque, des acides gras organiques : l'acide citrique, glycolique, et glycérique, des stérols, de la choline, du mucilage et de la résine. (Bellakhdar, 1997).

Les principaux constituants du romarin responsables des différentes propriétés sont

- 1. Acides phénoliques :** acide vanillique, acide caféique, acide p-coumarique. (Ibañez et al., 2003).
- 2. Flavonoïdes :** genkwanine, cirsimaritrine, ériocitrine, hespéridine, diosmine, lutéoline (Okamura et al., 1994), apigénine. (Yang et al., 2008).
- 3. Tanins condensés.**

### **I-4-Propriétés pharmacologiques et thérapeutiques du romarin :**

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

- Anti-spasmodiques, diurétiques, hépatoprotectrices, soulagement des troubles respiratoires. (Hannebelle et al., 2004).
- Antibactériennes, antimutagéniques, antioxydantes, chémopréventives
- Anti-inflammatoires, antimétastatiques. (Cheung et Tai, 2007).
- Inhibition de la genèse des tumeurs mammaires et la prolifération des tumeurs cutanées. (Huang et al., 1995).

D'autres études montrent que les composants du romarin inhibent les phases d'initiation et de promotion de cancérogénèse. Carnosol du romarin possède une activité antivirale contre le virus du SIDA (HIV) alors que l'acide carnosique a un effet inhibiteur très puissant contre la protéase de HIV-1. (Paris et al., 1993).

## II- Antioxydants

Les antioxydants sont largement présents dans nos aliments, soit sous forme naturelle, soit sous forme d'additifs utilisés dans l'industrie agroalimentaire.

### II-1-Types d'antioxydants

Pour se protéger des effets délétères des EOA, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydantes. Les deux sources d'antioxydants ont été distingué : l'une est apportée par l'alimentation sous forme de fruits et légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes, glutathion ou acide lipoïque; l'autre est endogène et se compose d'enzymes (superoxy de dismutase, glutathion peroxydase, catalase), de protéines (ferritine, transferrine, céruléoplasmine, albumine) et de systèmes de réparation des dommages oxydatifs comme les endonucléases. A cela s'ajoutent quelques oligoéléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes antioxydantes. (Kohen et Nyska, 2002).

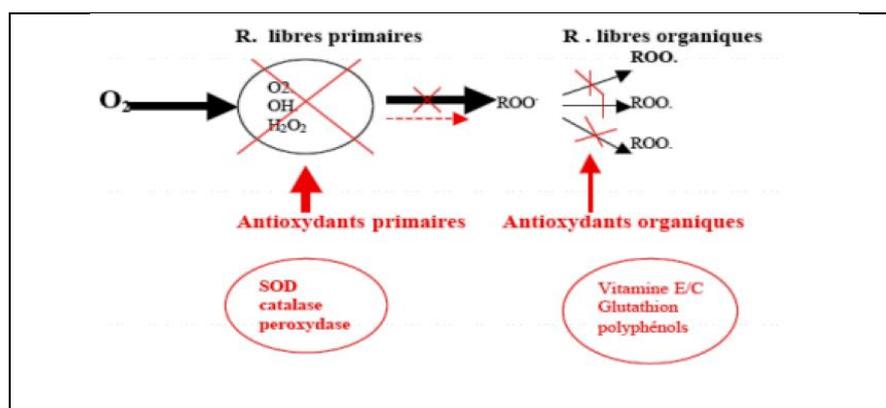
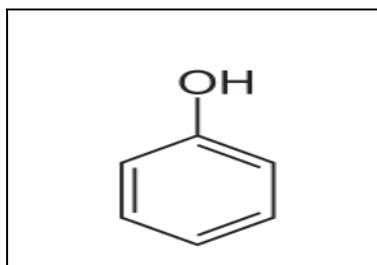


Figure 2 : Systèmes de défense contre les radicaux libres. (Kohen et Nyska, 2002).

## II-2- Généralités sur les composées phénoliques

### II-2-1- Composés phénoliques

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés par la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester, hétéroside...etc. (Hennebelle et al., 2004).



**Figure 3:** Structure d'un phénol (Sarni-Manchado, 2006 ; Cheynier , 2006).

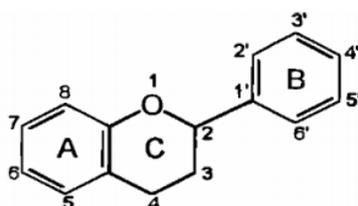
Les composés phénoliques sont principalement synthétisés à partir des hydrates de carbone via la voie de l'acide shikimique et la voie de l'acétate, la première conduisant après transamination et désamination aux acides cinnamiques et leurs dérivés (acides benzoïques, phénols simples, coumarines...) et la seconde conduisant aux  $\beta$ -cetoestéropolyacétates (Bruneton, 1999).

## II-2-2- Classification

### 1-Flavonoïdes

Le nom flavonoïde proviendrait du terme flavedo, désignant la couche externe des écorces d'orange, cependant d'autres auteurs supposaient que le terme flavonoïde a été plutôt prêté du flavus ; (flavus=jaune) (Hennebelle et al., 2004). Les flavonoïdes constituent un large groupe de plus de 6000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires (Erlund, 2004). Ils constituent des pigments responsables de la couleur des différents organes végétaux.

Les flavonoïdes sont le produit des deux voies de synthèse des composés phénoliques (Al-awwadi et al., 2005). Ils peuvent se présenter sous forme glycone ou génine ou d'hétéroside portant un ou plusieurs résidus osidique. (Havsteen, 2002).



**Figure4 :** Structure de base des flavonoïdes. (Bravo, 1988).

Selon le degré d'oxydation du noyau pyranne centrale, les flavonoïdes peuvent être subdivisés en différentes classes (Bruneton, 1999).

**Tableau I** : Différentes classes des flavonoïdes (**Bravo, 1988 ; Cook Samman, 1996**).

Classe	Exemples
Anthocyanins	Cyanidin
flavanols	Catechins, Epicatechin
Flavanonoies	Hesperidin, Naringenin
Flavones	Apigenin, Luteolin
Flavonols	Kaempferol, Quercetin, Rutin
Flavanonols	Taxifolin
Isoflavones	Daizein, Genistein, Glycitein

Les flavonoïdes ont des rôles variés dans la plantes, impliqués dans les processus de défense contre les UV, la pigmentation, la stimulation des nodules de fixation de l'azote. Ils ont également une activité antioxydante (**Yao et al., 2004**).

## 2- Acides phénoliques

### ❖ Acides hydroxycinnamiques

Les acides hydroxycinnamiques dérivent de l'acide cinnamique et ont une structure générale de base de type C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>. Ils existent souvent sous forme combinée avec des molécules organiques. Les degrés d'hydroxylation et de méthylation du cycle benzénique, conduisent à une réactivité chimique importante de ces molécules. (**Skerget et al., 2005**).

### ❖ Acides hydroxybenzoïques

Les acides hydroxybenzoïques sont des dérivés de l'acide benzoïque et ont une structure générale de base de type C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>. Ces molécules existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides. (**Bruneton, 2008**).

### ❖ Coumarines

Les coumarines dérivent des acides hydroxycinnamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale. Les coumarines ont fréquemment un rôle écologique ou biologique. (**Macheix et al., 2005**).

### **3- Tanins**

Les tanins sont des substances polyphénoliques de structure variée, de saveur astringente ayant en commun la propriété de tanner la peau, cette aptitude est liée à leur propriété de se combiner aux protéines. Leur poids moléculaire est compris entre 500 et 3000 Da .

#### **a-Tanins hydrolysables**

Les tanins hydrolysables sont des polyesters de glucides et d'acides phénols, ils sont facilement scindés par les enzymes de tannasses en oses et en acide phénol, selon la nature de celui-ci ils existent : les tanins galliques, et les tanins éllagiques.(Bruneton, 1999).

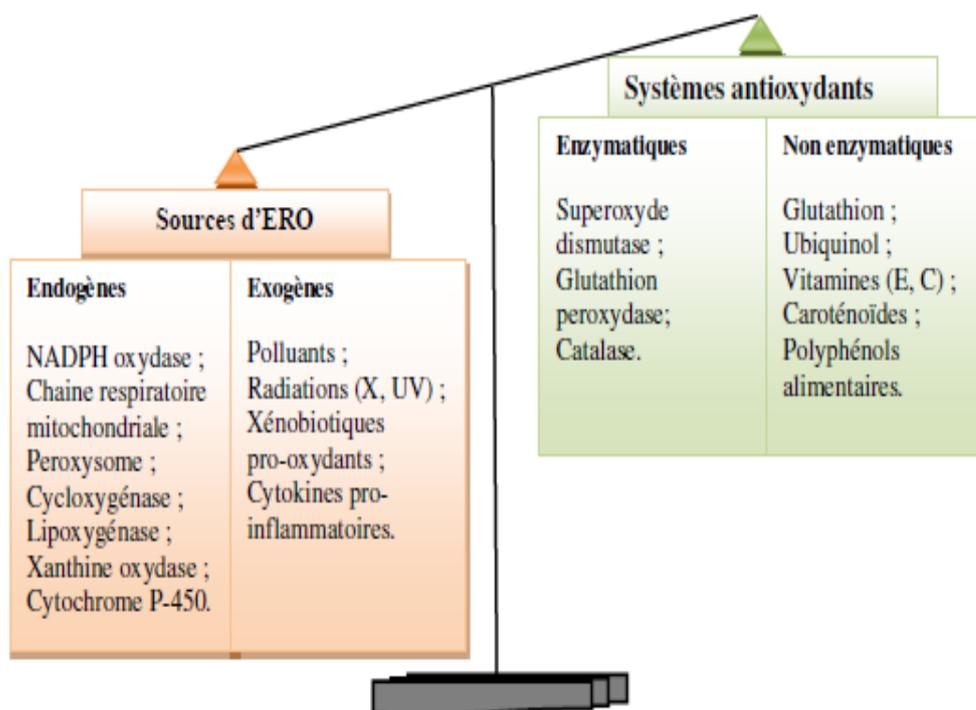
#### **b-Tanins condensés**

Les tanins condensés sont des polymères flavanoliques constitués d'unités flavan-3-ols, le plus souvent épicatechine, sont des molécules hydrolysables, leur structure voisine de celle des flavonoïdes, qui est caractérisée par l'absence de sucre. (Sheffield et al., 2001).

### III-Stress oxydant

#### III-1- Définition

. Le stress oxydant apparaît dans une cellule quand l'équilibre entre les espèces pro-oxydantes et anti-oxydantes est rompu en faveur de l'état pro-oxydant (Pincemait et al., 2007).



**Figure 5:** Déséquilibre de la balance entre pro-oxydants et antioxydants. (Pincemait et al., 2007).

#### III-2- Radicaux libres

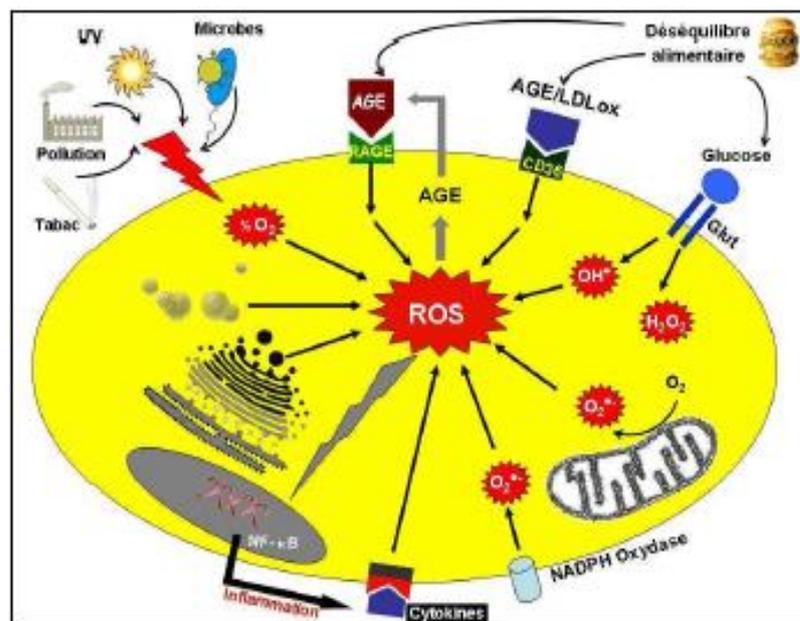
Un radical libre est une espèce chimique, atome ou molécule, contenant un électron non apparié. Extrêmement instable, ce composé peut réagir avec les molécules les plus stables pour appairer son électron. L'appellation ROS inclut les radicaux libres de l'oxygène : anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ), radical hydroxyle ( $OH^{\bullet}$ ) mais aussi certains dérivés oxygénés non radicalaires dont la toxicité est importante tels que le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ). (Jacques et André, 2004).

A côté des ROS, il existe des ERN (espèces réactives nitrogénées) dont le représentant majeur le monoxyde d'azote ( $NO^{\bullet}$ ). C'est un agent vasodilatateur. Il est

synthétisé par les NO synthases (NOS). Le  $\text{NO}\cdot$  est un radical peu réactif mais peut se lier aux radicaux libres oxygénés pour former des molécules plus toxiques comme les peroxy-nitrites. (Martinez-Cayuela, 1995).

### III-2-1- Sources des ROS :

- Les radiations X ou gamma peuvent par différents mécanismes faire apparaître des radicaux libres en scindant la molécule d'eau en deux radicaux.
- Les rayonnements UV sont capables de produire des anions superoxydes ou de l'oxygène singulet après activation des photos sensibilisantes.
- Les NAD(P) H oxydases sont des enzymes présentes dans la paroi vasculaire et qui génèrent  $\text{O}_2\cdot^-$  en utilisant NADH ou NADPH comme substrat.
- La xanthine-oxydase joue un rôle important dans la production des ROS (particulièrement  $\text{O}_2\cdot^-$  et  $\text{H}_2\text{O}_2$ ), lors de l'ischémie/reperfusion. (Jacques et André, 2004).



**Figure 6:** Origine extra- et intracellulaire des radicaux libres oxygénés (RLO) (XO: xanthine oxydase; P-450 : cytochrome P-450). (Favier, 2003).

#### IV-Propriété antioxydante des polyphénols

Les composés phénoliques ont des propriétés antioxydantes dues à la présence des groupements hydroxyles et des noyaux aromatiques qui leur permettent de neutraliser les radicaux libres ( $-R\cdot$ ) par chélation de l'oxygène singulet et triplet ou décomposition des peroxydes par transfert d'un atome d'hydrogène ( $-RH$ ) ou d'un électron ( $-R\cdot$ ), en chélatant des ions métalliques dans des solutions aqueuses et en se liant et précipitant les protéines.

##### IV-1- Acides phénoliques

Leur activité antioxydante dépend du nombre et de la position des groupements hydroxyles par rapport aux groupements fonctionnels carboxyliques. Elle augmente avec le degré d'hydroxylation.

Les acides hydroxycinnamiques exercent une activité antioxydante plus élevée que celle des acides hydroxybenzoïques ; ceci est dû au groupement  $CH=CH-COOH$ , qui assure une meilleure capacité de transfert d'hydrogène et de stabilisation des radicaux libres, que le groupement  $-COOH$  dans les acides hydroxybenzoïques. Ils inhibent aussi l'oxydation des lipoprotéines à basse densité (LDL) *in vitro* (Kähkönen *et al.*, 1999).

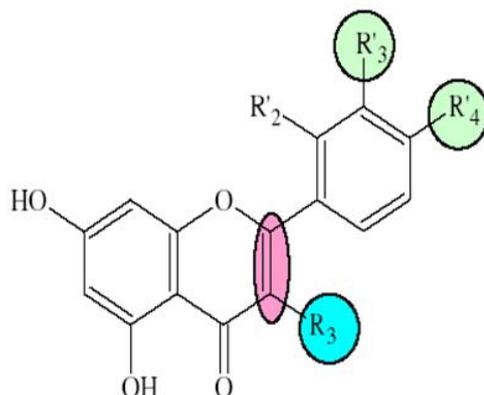
##### IV-2- Flavonoïdes

Leur capacité antioxydante réside dans leur faculté à « terminer » les chaînes radicalaires par des mécanismes de transfert d'électrons et de protons, et par chélation des métaux de transition. Ils sont aussi capables de catalyser la peroxydation lipidique (Schroeter *et al.*, 2002; Leopoldini *et al.*, 2011). De façon générale, l'activité biologique des flavonoïdes est fortement dépendante de la nature et de la position des substituants, en particulier du nombre de groupements hydroxyles (Schroeter *et al.*, 2002).

Les composés les plus actifs sont ceux qui combinent les trois critères suivants :

- 1- La structure ortho-dihydroxy sur le cycle B (groupement catéchol) qui confère la stabilité au radical flavonoxy et participe à la délocalisation des électrons.
- 2- La double liaison  $C_2-C_3$  en conjugaison avec la fonction 4-oxo.
- 3- La présence du groupe 3-OH en combinaison avec la double liaison  $C_2-C_3$ .

A titre d'exemple, la quercétine satisfait à ces trois critères, elle a une structure particulière, lui confère les caractéristiques les plus souvent mises en avant dans l'activité d'un flavonoïde. Par conséquent, c'est le composé le plus actif (Marfak, 2003).



**Figure 7:** Eléments essentiels pour l'activité antioxydante des flavonoïdes.(Marfak,2003).

#### IV-3- Tannins condensés

Les tannins ont des capacités antioxydantes importantes dues à leurs noyaux phénols. Ils sont plus efficaces que les phénols simples. Les tannins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques. Des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'auto-oxydation des lipides. (Aouissa, 2002 ; Diallo, 2005 ; Judith, 2005).

Des essais *in vitro* sur différents extraits montrent que les activités antioxydantes varient selon les composés ; vu la richesse des tannins hydrolysables en groupements hydroxyles, ils sont ainsi des antioxydants puissants (Watson, 2009) et de bon piègeurs de radicaux libres. Ils inhibent également l'auto-oxydation de l'acide ascorbique et du linoléate, et la peroxydation lipidique des mitochondries du foie et des microsomes. (Aouissa, 2002 ; Judith, 2005).

## V-Mécanisme d'action des composés phénoliques

L'activité antioxydante est exprimée principalement par les flavonoïdes qui exercent ces mécanismes.

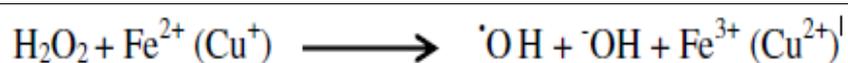
### V-1-Inhibition enzymatique

Les polyphénols possèdent une affinité pour une grande variété de protéines, via des interactions de van der Waals (cycles aromatiques) et des liaisons hydrogènes (groupements OH phénoliques). Par exemple, les aglycones des flavonoïdes, ont une capacité de se lier avec beaucoup de protéines globulaires, notamment des enzymes, des récepteurs et transporteurs (**Dangles, 2012**).

De nombreux flavonoïdes sont aussi de puissants inhibiteurs des métalloenzymes lipoxigénase, myéloperoxydase et NADPH oxydase. (**Dangles et Dufour, 2008**).

### V-2-Chélation des ions métalliques

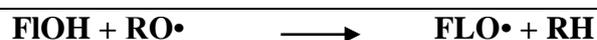
Les poly phénols contribuent à l'inhibition de la formation des radicaux libres par la chélation de métaux de transition tels que le fer ( $\text{Fe}^{2+}$ ) et le cuivre ( $\text{Cu}^+$ ), qui sont essentiels pour de nombreuses fonctions physiologiques. Ils entrent notamment dans la composition des hémoprotéines et de cofacteurs d'enzymes du système de défense antioxydants ( $\text{Fe}^{2+}$  pour la catalase et  $\text{Cu}^+$  pour le superoxyde dismutase). Cependant, ils peuvent aussi être responsables de la production du radical  $\text{OH}\cdot$  par la réduction de  $\text{H}_2\text{O}_2$  lors de la réaction de Fenton (**Heim et al., 2002**).



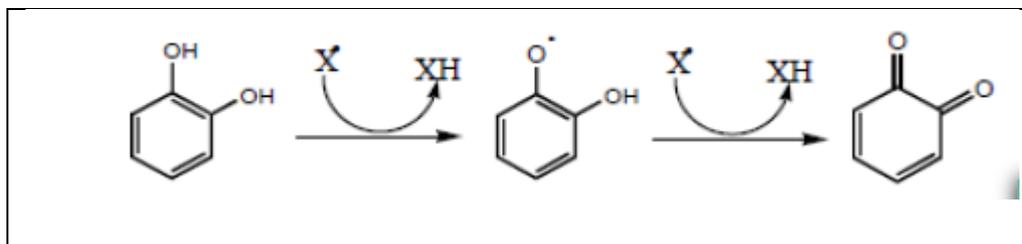
En outre, l'autoxydation des ions  $\text{Fe}^{2+}$  et  $\text{Cu}^+$  est une source de  $\text{O}_2^{\cdot-}$  et de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Ainsi, complexer les ions du fer et du cuivre sous une forme qui bloque leur activité redox est un mécanisme d'action antioxydante. (**Pietta, 2000**).

### V-3-Piégeage des radicaux libres

A cause de leur faible potentiel redox, les polyphénols ( $\text{Ar-OH}$ ), sont capables de réduire rapidement les radicaux libres oxydants comme le superoxyde, les peroxydes ( $\text{ROO}\cdot$ ), les alkoxydes ( $\text{RO}\cdot$ ) et l'hydroxyle par transfert d'hydrogène.



Où  $\text{Ar-O}\cdot$ : radical flavoxyles qui, s'il s'agit d'un noyau catéchol, peut réagir avec un autre radical pour former une *o*-quinone plus stable. (Jovanovic et al., 1994).



**Figure 8:** Piégeage des ERO ( $X\cdot$ ) par un noyau catéchol.(Jovanovic et al., 1994).

En outre, le radical flavoxyles peut interagir avec l'oxygène pour donner une quinone et un anion superoxyde. Cette réaction est responsable d'un effet pro-oxydant indésirable des flavonoïdes. Ainsi, la capacité antioxydante des polyphénols dépend non seulement du potentiel redox du couple  $\text{Ar-O}\cdot/\text{Ar-OH}$  mais aussi de la réactivité du radical  $\text{Ar-O}\cdot$ . (Goupy et al., 2003).

Les composés phénoliques possèdent une structure chimique idéale pour le piégeage des radicaux libres, parce qu'ils possèdent:

- Des groupes phénoliques hydroxyles qui sont susceptibles de donner un atome d'hydrogène ou un électron au radical libre.
- Un système aromatique stabilisé par la résonance. (Dai et Mumper, 2010).

# la partie pratique

The text 'la partie pratique' is rendered in a bold, yellow, sans-serif font. The letters are slanted to the right, giving the text a three-dimensional appearance. A dark shadow is cast beneath the text, further enhancing this 3D effect. The entire graphic is centered on a white background.

## I-Matériel

### I-1-Matériel végétal

Les parties étudiées (feuilles, fleurs, tiges) sont débarrassées des déchets tels que la poussière, les autres organes (portions mortes ou altérées,...etc.). Les échantillons sont séchés à l'étuve à 40°C jusqu'à stabilisation du poids. Puis sont broyés séparément à l'aide d'un mixeur électrique et tamisé avec un tamie de diamètre de 250µm

**Tableau I:** Caractéristiques des différentes parties de *Rosmarinus officinalis*.

Echantillon	Origine	Date de récolte	Classification. (Quezel et Santa, 1963).	Caractéristiques
Feuilles	Kherrata	Février 2017	<b>Règne :</b> Plantae.	Ces feuilles persistantes sans pétiole, coriaces beaucoup plus longues que larges, aux bords légèrement enroulés, vert sombre luisant sur le dessus, blanchâtres en dessous. La couleur des fleurs varie du bleu pâle au violet .Le calice velu à dents bordées de blanc, elles portent deux étamines ayant une petite dent vers leur base. Ces tiges sont ligneuses et ramifiées.
Fleurs	Et		<b>Embranchement:</b> Spermaphyte <b>S/Emb :</b> Angiospermes	
Tiges	Sidi aiche		<b>Classe :</b> Dicotylédones. <b>S/Classe :</b> Gamopétales. <b>Ordre :</b> Lamiales. <b>Famille :</b> Lamiaceae. <b>Genre :</b> <i>Rosmarinus</i> . <b>Espèce:</b> <i>Rosmarinus officinalis</i> .	

## II-Méthodes

### II-1- Taux d'humidité

La détermination du taux l'humidité est réalisée selon la méthode décrite par **Doymaz et al. (2004)**. Une prise d'essai d'échantillon (1g) est séchée dans une étuve à  $105^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$  jusqu'à un poids constant. Le taux d'humidité des échantillons est calculé selon la formule suivante :

$$H(\%) = \frac{P_{\text{avant}} - P_{\text{après}}}{P_{\text{avant}}} \times 100$$

Où:

**H (%)** : Taux d'humidité en pourcentage.

**P<sub>avant</sub>** : Poids de l'échantillon avant séchage.

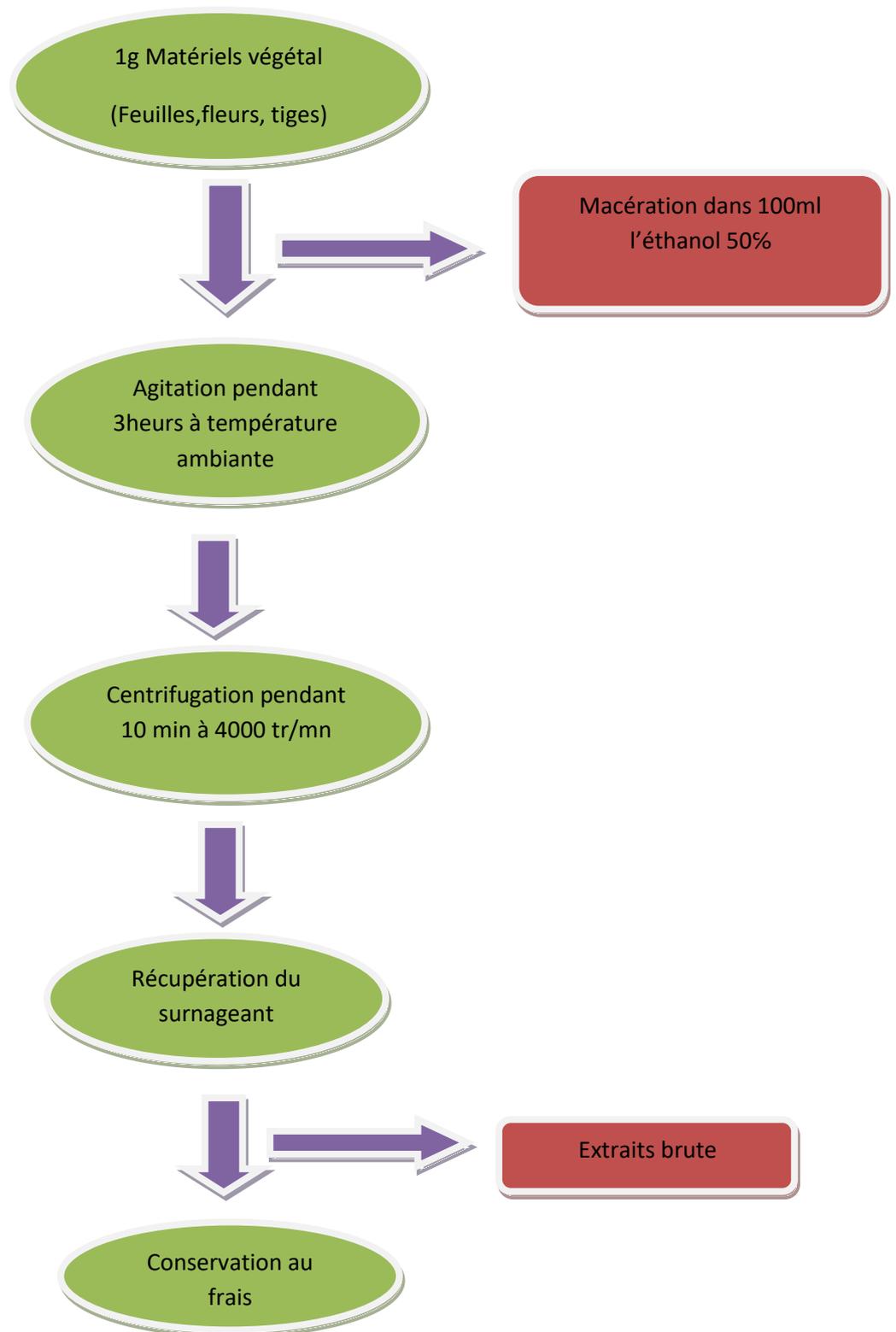
**P<sub>après</sub>** : Poids de l'échantillon après séchage.

**La teneur en matière sèche est calculée selon la relation suivante :**

$$\text{Matière sèche MS}\% = 100 - H\%$$

### II-2- Extraction des composés phénoliques

Le matériel végétal broyé (1g) est soumis à une extraction par macération par la méthode de **Velioglu et al. (1998)** . (Modifier)



**Figure 9** : Extraction des composés phénoliques (Velioglu et *al.*, 1998).

## II-3- Dosage des antioxydants des extraits phénoliques

### II-3-1- Polyphénols totaux

- **Principe**

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ), oxyde les composés phénoliques; les oxydes métalliques produits sont de couleur bleue, dont l'absorbance est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon (**Ribereau-Gayonet *al.*, 1982**).

- **Mode opératoire**

La teneur en composés phénoliques est estimée selon la méthode de **Maisuthisakul *et al.* (2007)**. Un volume de 1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu (1/10) est ajouté à 0,2 ml d'extrait. Après 3 minutes, 0,8 ml de la solution de carbonate de sodium (7,5%) sont ajoutés. Après 30 min d'incubation, l'absorbance est mesurée à 765nm. Les teneurs en polyphénols totaux ont été déterminées à partir d'une courbe d'étalonnage ; elles sont exprimées en mg d'acide gallique/100 g de matière sèche (MS).

### II-3-2- Flavonoïdes

- **Principe**

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

- **Mode opératoire**

La teneur en flavonoïdes a été déterminée selon la méthode décrite par **Ordenez *et al.*, (2006)** ; 0.5 ml d'extrait a été mélangé avec 0.5ml de chlorure d'aluminium( $AlCl_3$  2%). Après dix minutes d'incubation , l'absorbance a été mesurée à 430nm. Les teneurs en flavonoïde ont été déterminées à partir d'une courbe d'étalonnage ; elles sont exprimées en mg de quercétine/100 g de matière sèche (MS).

### II-3-3- Flavonols

- **Principe**

La méthode du trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) décrite par **Kosalec et al. (2004)** est utilisée pour quantifier les flavonols dans les différents extraits de *Rosmarinus officinalis*.

- **Mode opératoire**

La teneur en flavonols a été déterminée selon la méthode décrite par **Adedapo, (2008)**: 2ml d'extrait, plus 2ml de chlorure d'aluminium (2%) et 3ml d'acétate de sodium (50g/l) ont été mélangés, après 40min d'incubation, l'absorbance a été mesurée à 440nm. Les teneurs en flavonol ont été déterminées à partir d'une courbe d'étalonnage (Annexe); elles sont exprimées en mg de quercétine /100 g de matière sèche (MS).

### II-3-4-Tanins condensés

- **Principe**

Le dosage des tanins condensés est basé sur la condensation des composés polyphénoliques (flavanes-3-ols) avec la vanilline en milieu acide (**Price et al., 1978**).

- **Mode opératoire**

La méthode d'estimation de la teneur en tanins condensés est proposée par **Mélo et al., (2006)**: Le réactif de la vanilline a été préparé par solubilisation de 4g de la vanilline dans 100ml de méthanol. 2ml de ce réactif sont mélangés avec 1 ml d'extrait. Après agitation on ajoute 1.5 ml Hcl concentré, le tout est agité après, et incubée à une température ambiante pendant 20min, l'absorbance est mesurée à 500nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent catéchine par 100 g de matière sèche à partir de la courbe d'étalonnage (**Annexe 3**).

### III-Activité antioxydants

#### III-1- Pouvoir réducteur ( FRAP)

- **Principe**

La détermination du pouvoir réducteur de potassium est basée sur la réduction du fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) du complexe ferricyanure- $\text{Fe}^{3+}$  en fer ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ), en présence d'antioxydants réducteurs. La forme réduite donne une couleur bleu verdâtre qui est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait (**Gülçinet *al.*, 2003**).

- **Mode opératoire**

Le pouvoir réducteur est estimé par la méthode de **Gulçin *et al.* (2002)** : 2.5 ml d'extrait est additionné à 2.5 ml de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 2.5 ml de ferricyanure de potassium (1%). Après incubation à 50°C pendant 20 min, 2.5 ml d'acide trichloracétique (10%) sont ajoutés au mélange, 1ml d'eau distillée et 0,5 ml de chlorure ferrique (0,1%). Après 10min l'absorbance est mesurée à 700nm. Les résultats sont exprimés en mg d'acide gallique par 100 g de matière sèche à partir d'une droite d'étalonnage (**Annexe 3**).

#### III-2- Activité réductrice au molybdate d'ammonium

- **Principe**

Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo(VI) présent sous la forme d'ions molybdate  $\text{MoO}_4^{2-}$  en molybdène Mo(V)  $\text{MoO}_2^+$ , en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/ Mo(V) dans un milieu acide (**Armatu *et al.*, 2010**).

- **Mode opératoire**

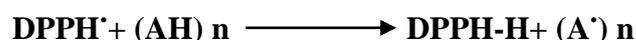
L'activité réductrice du molybdate des extraits est évaluée par la méthode de **Slusarczyk, (2009)** : 0,1 ml de chaque extrait sont ajoutés à 1 ml d'une solution préparée en mélangeant 600mM d'acide sulfurique, 28 mM de phosphate de sodium et 4 mM de molybdate d'ammonium. Les tubes sont incubés à 90°C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695nm. L'activité réductrice du molybdate est exprimée en mg d'acide ascorbique par 100 g de matière sèche (MS) à partir d'une courbe d'étalonnage (**Annexe 3**).

### III-3- Effet scavenger (DPPH)

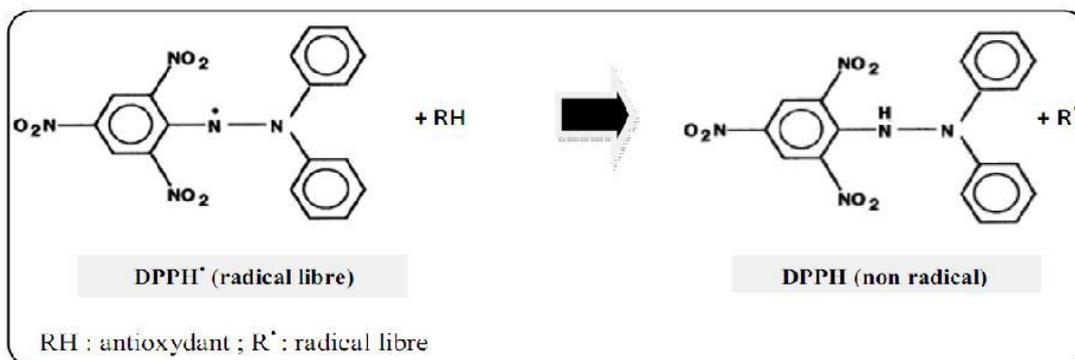
- **Principe**

Le DPPH est un radical libre stable violet en solution, il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm, cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl hydrazine par un composé à propriété antiradicalaire, entraînant ainsi une décoloration. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Sanchez-Moreno, 2002).

On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation:



Où: (AH) représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en diphényle picryl hydrazine (jaune) (Yang, 2010).



**Figure 10** : Réaction du DPPH avec un antioxydant (Brand-williams et al., 1995).

- **Mode opératoire**

L'effet «scavenger» (DPPH) est déterminé selon la méthode de Grant et al. (2009). 1ml d'extrait ont été ajoutés à 1ml de solution de DPPH, après une heure et 30 min d'incubation, l'absorbance est mesurée à 517 nm.

Le pouvoir antiradicalaire est exprimé en pourcentage :

$$\text{Pouvoir antiradicalaire ( \% )} = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}) / \text{Abs contrôle}] \times$$

100

### III-4- Effet scavenger (ABTS)

- **Principe**

Un des radicaux organique le plus généralement utilisé pour l'évaluation de l'efficacité antioxydante des composés purs et les mélanges complexes, est le cation radical dérivé de l'acide (2,2'-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique ) **Froehliche et al., ( 2009) .**

- **Mode opératoire**

Le piégeage du radical cationique ABTS<sup>•+</sup> a été déterminé par la méthode de **Froehliche et al., ( 2009)**. Une solution d'ABTS<sup>•+</sup> à 7 mM et 2.45mM persulfate de potassium est préparée dans 25ml d'eau distillée, cette solution est incubée à l'obscurité pendant 16 heures à température de 4°C avant d'être utilisé. cette intervalle de temps permet la formation du radicale ABTS<sup>•+</sup>.

La solution ainsi obtenue est bleu verte et stable. La solution concentrée d'ABTS a été diluée avec de l'éthanol 95% pour avoir une solution d'absorbance final de 0.70±0.002 à 734nm.

Un volume de 100µl d'extrait est additionné à un volume de 1000µl d'ABTS<sup>•+</sup>. La décoloration par rapport à un blanc ou 100 µl de solvant d'extraction( méthanol 50%) a été ajouté à 100 µl de la solution d'ABTS<sup>•+</sup> .

L' absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 734nm après 2.5 min d'incubation a l'obscurité.

$$L'ABTS^{•+}(\%) = [(Abs\ contrôle - Abs\ échantillon)/Abs\ contrôle] \times 100$$

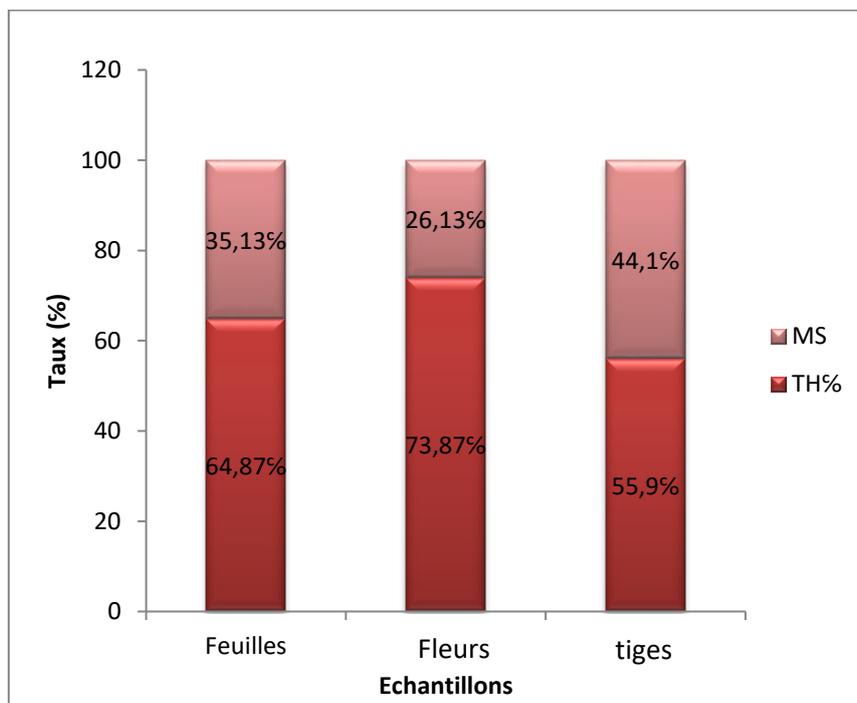
**IV- Analyses statistiques**

Les paramètres de la statistique descriptive (moyennes et écartypes) ont été calculés à l'aide du programme Microsoft Excel 2007. Toutes les données obtenues sont la moyenne de 3 essais. Le logiciel « JMP 7 » est utilisé : pour comparer entre les différentes parties (feuilles, fleurs, tiges), par la méthode ANOVA, test de Student pour comparer entre deux régions et aussi utilisé pour établir les différentes corrélations (composés phénoliques, activités antioxydantes).

# Résultats et discussions

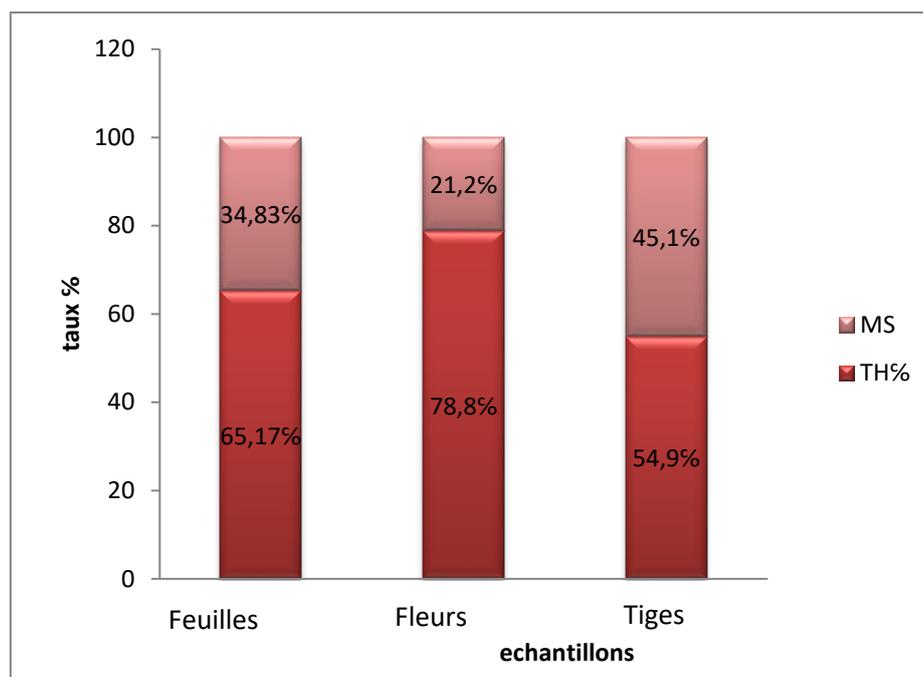
### I-Taux d'humidité

Nos résultats sont représentés sur la figure 11, où ils montrent que les feuilles, fleurs, tiges de *Rosmarinus officinalis* dans la région de kherrata ont des taux d'humidité 73.87%, 64.87% et 55.9% qui correspondent respectivement à 26.13% , 35.13%, 44.1% de matière sèche(MS).



**Figure11** : Taux d'humidité et de matière sèche des échantillons étudiés.

Nos résultats qui sont représentés sur la figure 12, montrent que les feuilles, fleurs, tiges de la région de Sidi aiche a un taux d'humidité de 78.8% , 65.17% et 54.9 % qui correspondent respectivement à 21.2% , 34.83% et 34.83% de matière sèche (MS).



**Figure 12:** Taux d'humidité et de matière sèche dans la région de sidi aiche.

Les cellules végétales possèdent de l'eau qui est une source de dégradation de polyphénols par oxydation (**Ribereau-gayon, 1968**). C'est à dire que l'eau contenu dans les cellules favorise l'oxydation des polyphénols en présence de l'oxygène et de la lumière.

Pour éviter cette dégradation on procède à un séchage pour éliminer l'eau, tout en préservant la composition chimique des cellules. Le séchage entraîne aussi l'inhibition des enzymes existantes dans le matériel végétal frais, l'enzyme qui est responsable de la modification (dégradation) des composés phénoliques est la polyphénol oxydase (**Tomas-Babera et Espin, 2001**).

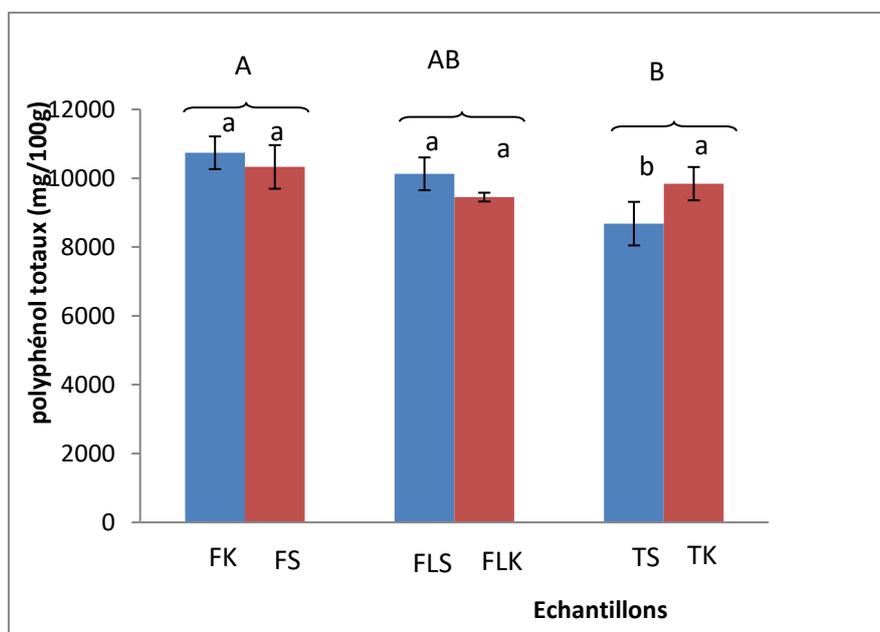
**Albu et al. (2004)**, ont obtenu une teneur en eau de 40% dans les feuilles fraîches du romarin, cette teneur diffère de façon remarquable avec nos résultats.

La différence des teneurs de nos échantillons en eau comparées à celles de travaux antérieurs, peuvent être dues à certains facteurs écologiques, l'âge de la plante, la période du cycle végétatif, ou même à des facteurs génétiques.

## II- Dosage des antioxydants

### II-1- Polyphénols totaux

Les teneurs en polyphénols totaux de feuilles, fleurs et tiges séchées à l'étuve sont représenté sur la figure 13



**Figure 13 :** Teneurs en polyphénols totaux des échantillons étudiés.

*Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents (a>b)*

*A et B : effet des différentes partie de la plante ; a et b : effet de région*

D'après la figure 13 on constate que le taux des polyphénols totaux varient de 8680,04(TS) à 10739,18(FK) mg EAG/ 100g de la matière sèche.

Nos résultats présentent une différence significative ( $P < 0.05$ ) selon la partie utilisée [feuilles ( 10533.26 mg/100g) et tiges (9260.82 mg/100g)] à l'exception des fleurs (9788.81 mg/100g).

Les résultats montrent l'absence d'une différence significative ( $P < 0.05$ ) selon la région (Kherrata et Sidi aiche) pour les fleurs et feuilles, alors que les tiges présentent une différence significative ( $P < 0.05$ ) entre elles . La teuneur la plus élevée est obtenue avec les tiges de kherrata que celles de sidi. cette différence peut être expliquée soit par l'effet climatique ou l'âge de la plante.

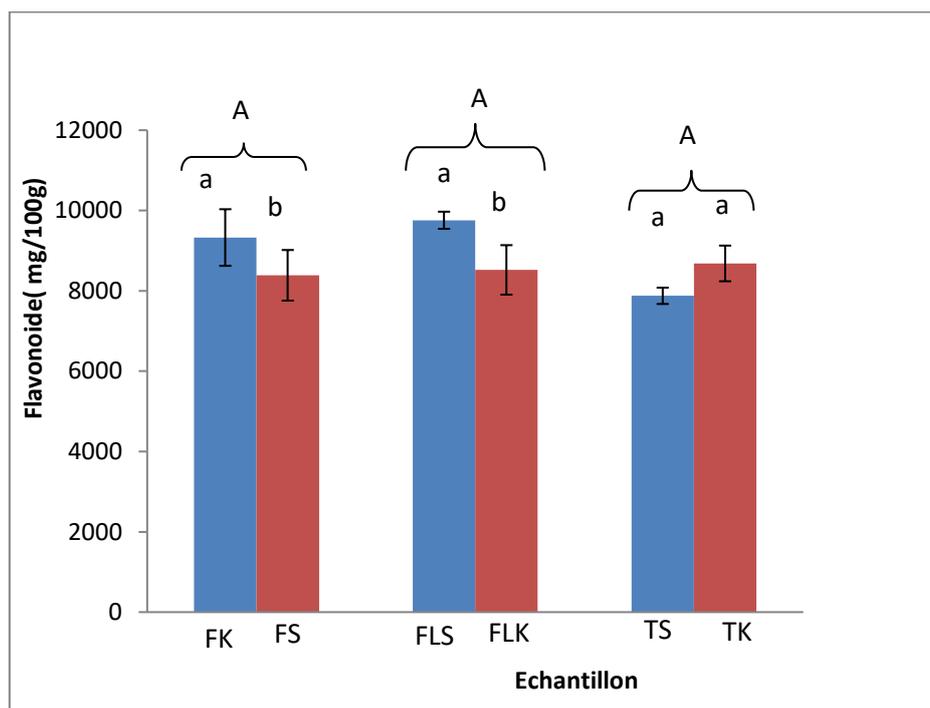
Les teneurs de nos échantillons sont très élevés à celle de **Mehrizi et al. (2012)** , dont ils ont estimé une teneur de 17.09mgGAE/g pour l'extrait de feuilles du romarin. Cette différence peut être expliquée par le choix du solvant utilisé (méthanol 80% ).

D'après l'étude de **Muchuweti et al. (2007)**, la teneur en polyphénols de l'extrait des feuilles de romarin est de 10.83 mgGAE/g (extrait sec). Cette teneur est plus faible que nos teneurs et cette différence est due au choix du solvant et la méthode d'extraction ( utilisation des solvant de polarité différente)

D'après une autre étude de **Genena et al. (2008)**, la teneur en polyphénols de l'extrait de feuilles de *Rosmarinus officinalis* est de 14.2 gTAE/g, ceci concorde avec nos résultats.

## II-2- Flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes totaux de feuilles, fleurs, tiges sont représentés sur la figure 12



**Figure 14 :** Teneurs en flavonoïdes des échantillons étudiés.

D'après la figure 14 on constate que les teneurs des flavonoïdes varient de 7876,3 (TS) à 9758,06 (FLS) mg EAG/ 100g de la matière sèche.

Toutes les parties étudiées [feuilles (8857.53), fleurs (9139.78) et tiges (8279.57)] ont aucune différence significative ( $P < 0.05$ ) entre elles.

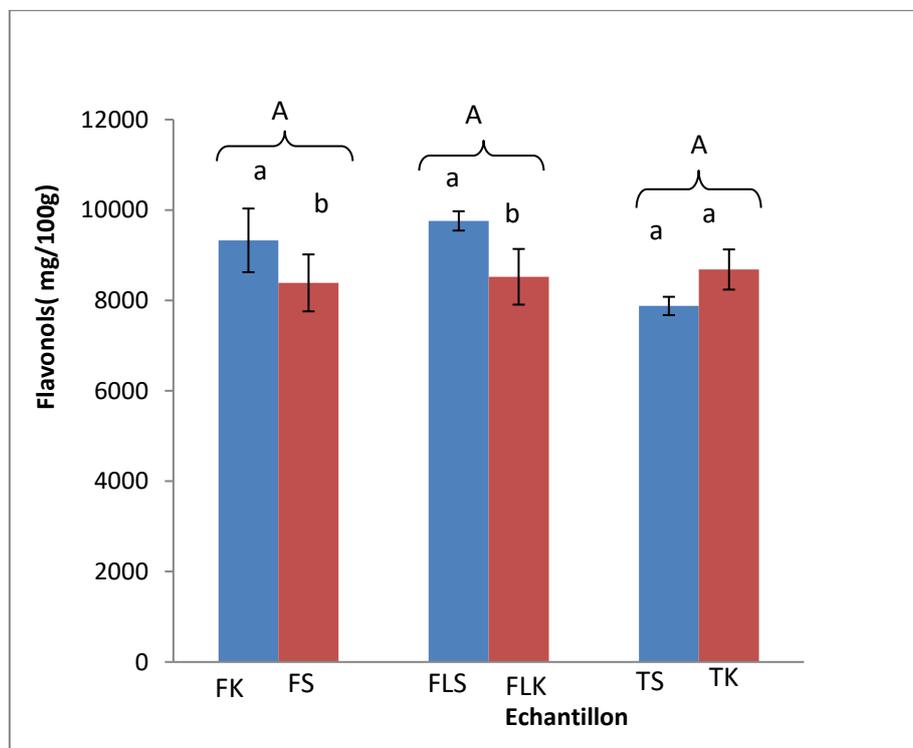
Les résultats montrent la présence d'une différence significative ( $P < 0.05$ ) selon la partie utilisée (feuilles et fleurs) de kherrata et de sidi aiche, à l'exception des tiges qui ne présentent pas une différence significative. Cette différence peut être expliquée par certains facteurs écologiques ou bien l'âge de la plante.

Les teneurs de notre étude sont très élevées par rapport à celle de **Muchuweti et al. (2007)** ; qui ont obtenue que la teneur en flavonoïdes de l'extrait des feuilles est de 8.83mg/g. Cette différence est due au choix de méthode d'extraction.

D'après une autre étude faite sur *Juniperus oxycedrus* par **Chaouche et al. (2013)**, la teneur en flavonoïdes des feuilles est de 61.52 mg/g, donc elle est presque similaire à nos teneurs malgré la différence de la classification botanique et la répartition géographique de la plante.

### II-3-Flavonols

Les teneurs en flavonols sont représentés sur la figure 13



**Figure15** : Teneurs en flavonols des échantillons étudiés.

La teneur en flavonols varient de 7680,99 mg/100g(TS) à 9505,59 mg/100g (FLS) mg EAG/ 100g de la matière sèche.

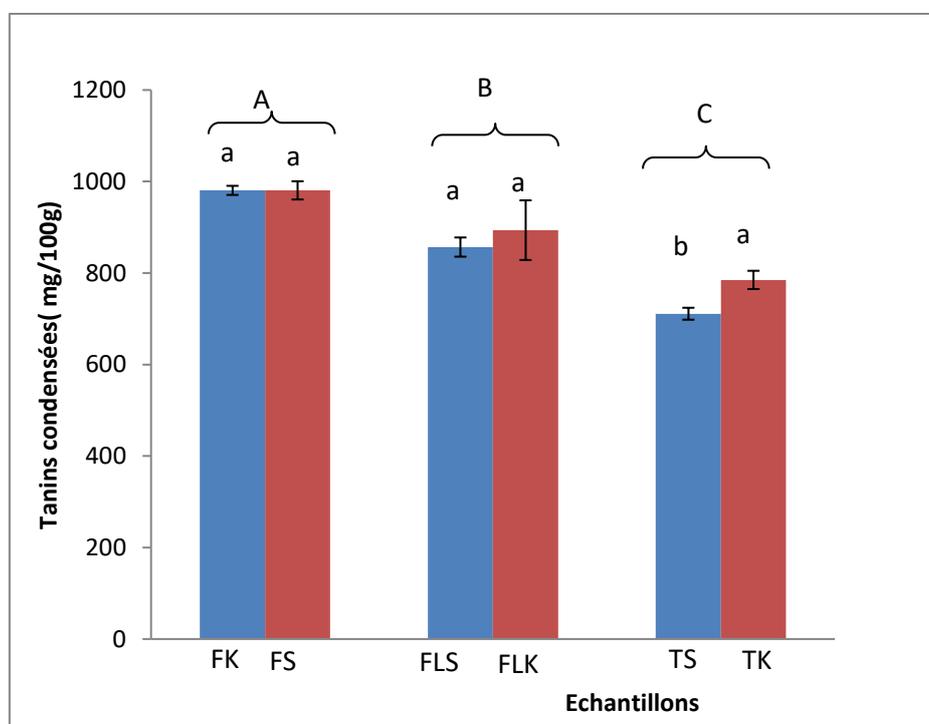
Toute les parties étudiées (feuilles (8666.86 mg/100g), fleurs (8990.58 mg/100g), tiges (8092.99 mg/100g) ont aucune différence significative ( $P < 0.05$ ).

Les résultats montrent, la présence d'une différence significative ( $P < 0.05$ ) selon la région de récolte ( kherrata et sidi aiche) pour les feuilles et fleurs, à l'exception des tiges.

A nos connaissance y'a pas encore une étude sur la détermination de la teneur en flavonols.

#### II-4-Tanins condensés

Les teneurs en tanins condensés sont représentés sur la figure 16



**Figure 16** : Teneurs en tanins condensées de échantillons analysés.

D'après la figure 16 on constate que le taux des tanins condensées varient de 711,02 (TS) à 980,65 (FK et FS) mg de catéchine / 100g de la matière sèche

Toute les parties de *Rosmarinus officinalis* présentent une différence significative ( $P < 0.05$ ). LA teneur la plus élevée est obtenue avec les fleurs ( 875.19 mg/100g ) et la plus faible

avec les tiges (747.98 mg/100g). La teneur en tanins condensés des fleurs sont supérieurs à celle des tiges et feuilles, ainsi que ce dernier sont supérieurs aux tiges.

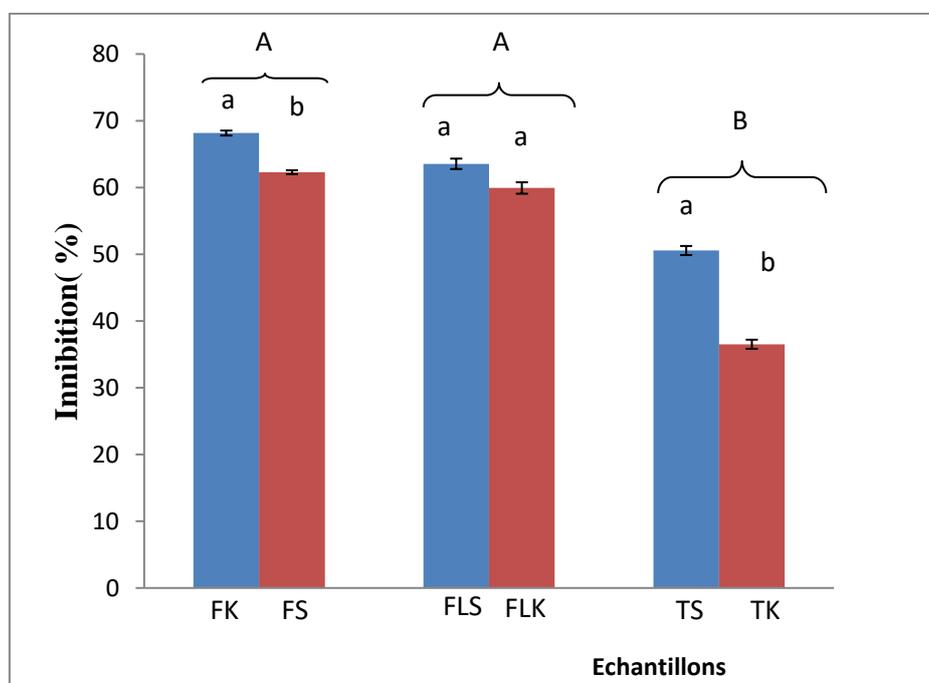
Les teneurs en tanins condensés de nos échantillons ne présentent pas une différence significative ( $P < 0.05$ ) selon la région, par contre les teneurs obtenues avec les tiges de kherrata (784.95 mg/100g) sont supérieurs à celle de sidi aiche (711.02 mg/100g). Cette différence peut être expliquée par la composition du sol, l'âge de la plante et même à des facteurs génétiques.

Les teneurs de nos échantillons sont très faibles par rapport aux teneurs de **Chaouche et al. (2014)** qui ont fait une étude sur les racines et d'aiguilles de *Juniperus oxycedrus*. Dont ils ont estimé une teneur de 31.3 mg/g. Cette différence est due au choix de matrice et la répartition géographique de la plante, ainsi que leur classification botanique.

### III-Activité antioxydant

#### III-1-Effet scavenger (DPPH)

Les résultats de l'activité anti radicalaire au DPPH sont illustrés sur la figure 15



**Figure 15:** Activité antiradicalaire au DPPH des échantillons étudiés

L'activité antiradicalaire de nos différents échantillons varie de 36,58%(TK) à 68,16% (FK).

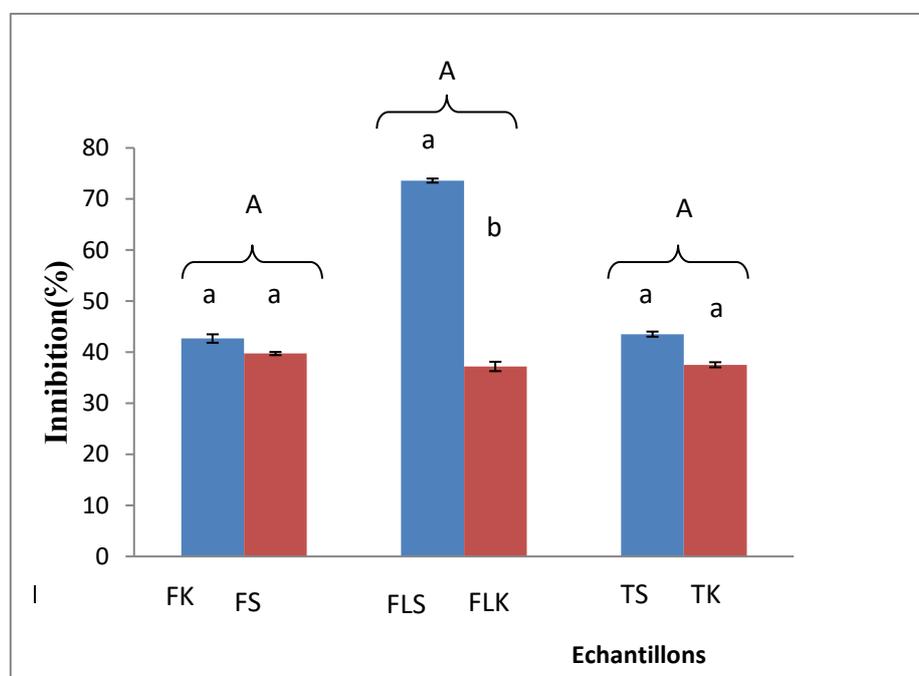
D'après la figure 15 on constate que les parties de la plante [feuilles (65.23%), fleurs (61.74%)] ne présentent pas de différence significative ( $P < 0.05$ ), à l'exception des tiges (43.54%) .donc on peut déduire que les feuilles et fleurs ont un effet scavenger (DPPH) meilleur que celui des tiges.

Les résultats montrent une différence significative ( $P < 0.05$ ) pour les feuilles de kherrata et Sidi aiche et une différence hautement significative ( $P < 0.05$ ) pour les tiges des deux régions .Par contre les fleurs ne présentent aucune différence significative ( $P < 0.05$ ).

Nos activités anti-radicalaires sont inférieure à celle de **Kasparaviciene et al. (2013)** qui ont fait une étude sur les feuilles et fleurs du Romarin, dont ils ont estimé une activité antiradicalaire qui varient de 72% à 85%. Cette différence est due au concentration de solvant.

### III-2-Effet scavenger (ABTS)

Les résultats de l'activité anti radicalaire à l' ABTS sont illustrés sur la figure 16



**Figure 16:** Activité antiradicalaire à l'ABTS des échantillons étudiés.

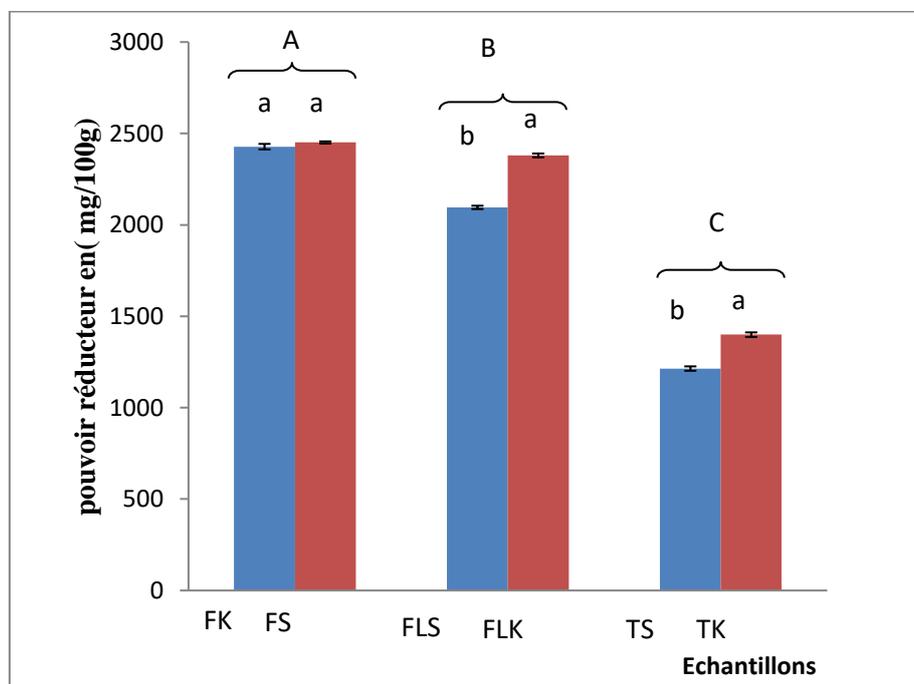
L'activité antioxydantes de différents échantillons varie de 37,21(FLK) à 73,6%(FLS). Les échantillons étudiées ne présentent aucune différence significative ( $P < 0.05$ ) selon la partie utilisée (fleurs (55.4%), feuilles (41.02%), tiges (40.53%)).

La figure 16 montre l'absence d'une différence significative ( $P < 0.05$ ) selon la région de la récolte ( Kherrata et Sidi aiche) pour les feuilles et tiges, par contre les fleurs de sidi aiche présentent une différence hautement significative ( $P < 0.05$ ) avec les fleurs de Kherrata et ceci est due à la répartition géographique et à l'âge de la plante.

Nos activités anti-radicalaires sont plus faible que celles de **Chan et al. (2005)** qui ont fait une étude sur les feuilles et fleurs d'*Origanum vulgare*, où ils ont estimé que l'activité anti-radicalaire (DPPH) varie respectivement de 65% à 95% . Cette différence est due au choix de matrice et la méthode d'extraction.

### III-3-Pouvoir réducteur (FRAP)

Les résultats de pouvoir réducteur des extraits de nos échantillons sont illustrés sur la figure 17



**Figure 17:** Pouvoir réducteur des extraits de *Rosmarinus officinalis*.

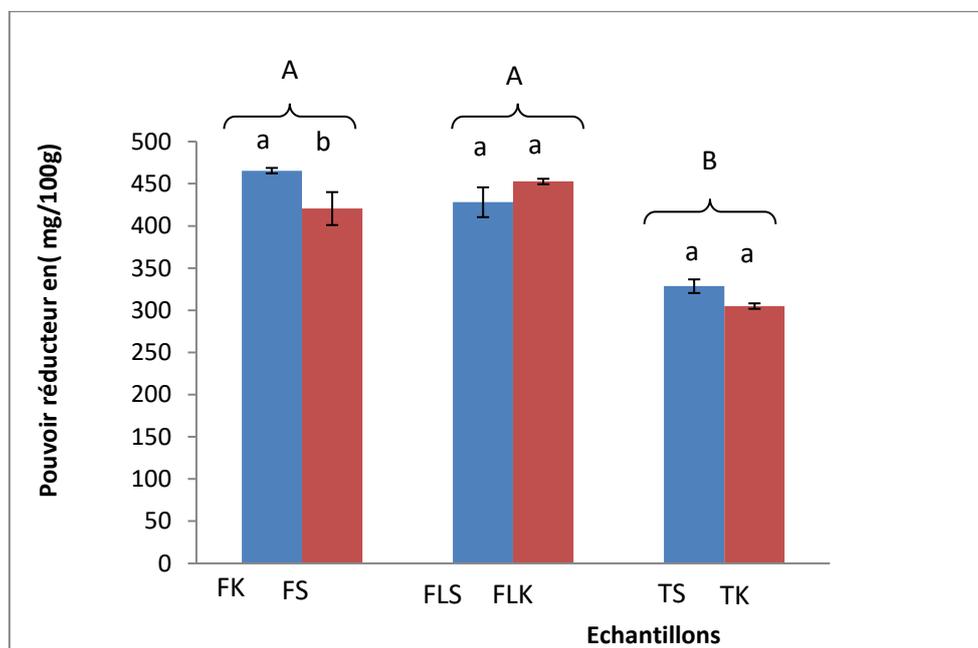
Le pouvoir réducteur (FRAP) varie de 1213,84(TS) à 2450,63(FS) mg/100g de la matière sèche.

D'après la figure 17 on constate que toutes les parties de la plante [( feuilles (2439.16 mg/100g), fleurs (2237.68 mg/100g), tiges (1306.6 mg/100g)] présentent une différence significative ( $P < 0.05$ ). Les feuilles ont un pouvoir réducteur supérieur aux fleurs et tiges .

Toutes les parties montrent une différence significative ( $P < 0.05$ ) selon la région de la récolte (kherrata et sidi aiche), à l'exception des feuilles des deux régions (kherrata et sidi aiche) qui ne présentent pas une différence significative ( $P < 0.05$ ). Les fleurs et tiges de kherrata ont un pouvoir réducteur supérieur à celui de sidi aiche et cette différence peut être expliquée à la répartition géographique.

#### III-4- Pouvoir réducteur du molybdate d'ammonium

Les résultats de l'activité réductrice du molybdate d'ammonium des extraits de nos échantillons sont illustrés sur la **figure 18**



**Figure 18:** Pouvoir réducteur au molybdate d'ammonium des échantillons analysés.

L'activité réductrice de molybdate d'ammonium de nos échantillons (feuilles, fleurs, tiges) varient de 304,98 (TK) à 465,49 (FK) mg/100g de MS.

D'après la figure 18 on constate que les parties de *Rosmarinus officinalis* [( feuilles (443.02 mg/100g), fleurs (440.34 mg/100g)] ne présentent pas de différence significative ( $P < 0.05$ ), à l'exception des tiges.

Les résultats montrent l'absence d'une différence significative ( $P < 0.05$ ) pour les fleurs et les tiges de Kherrata et Sidi aiche, par contre les feuilles de kherrata présentent une différence significative ( $P < 0.05$ ) avec les feuilles de sidi aiche et ceci est due à la répartition géographique, l'âge de la plante ou la composition du sol.

Nos pouvoirs réducteurs sont très faibles à ceux de **Armatu et al. (2010)** qui ont fait une étude sur les feuilles de *Rosmarinus officinalis* et l'*Origanum vulgare*, dont ils ont estimé que le pouvoir réducteur au molybdate d'ammonium est de 89mg/g et 85mg/g respectivement. Cette différence est due au choix de la méthode d'extraction.

## VII- Corrélation entre l'activité antioxydante et les composés phénoliques

La teneur en phénols totaux des extraits de *Rosmarinus officinalis* de notre étude présente une corrélation avec les flavonoïdes et les flavonols et tanins condensés ( $r = 0.63$  à  $P < 0.0048$  \*  $r = 0.58$  à  $P < 0.0113$  \*,  $r = 0.73$  à  $P < 0.0005$ \* respectivement). En outre les flavonoïdes présentent une très bonne corrélation avec les flavonols ( $r = 0.90$ ) à une probabilité de 0.0001\*.

le pouvoir réducteur (FRAP) Présente une très bonne corrélation positive avec les tanins condensés ( $r = 0.92$ ) à une probabilité  $< 0.0001$  \*.

Le pouvoir réducteur au molybdate d'ammonium à une bonne corrélation positive avec les tanins condensés, avec l'activité anti-radicalaire de DPPH et avec le pouvoir réducteur (FRAP) ( $r = 0.78$ ,  $r = 0.91$  et  $r = 0.92$  respectivement ), à une probabilité de 0.0001\*.

L'activité anti-radicalaire au DPPH présente une corrélation positive avec les tanins condensés et le pouvoir réducteur (FRAP) ( $r = 0.71$  à  $P < 0.0010$ \*,  $r = 0.82$  à  $P < 0.0001$ \* respectivement ).

L'activité anti-radicalaire à ABTS présente une corrélation positive avec les flavonoïdes et les flavonols ( $r=0.58$  à  $P < 0.0112^*$ ,  $r=0.55$  à  $P < 0.0173^*$  respectivement).

**conclusion**

## Conclusion

Notre investigation est portée sur le dosage des antioxydant présent dans notre plante et l'évaluation de leurs activités antioxydantes .

L'évaluation du contenu en polyphénols totaux de notre plante révèle la présence des teneurs plus élevée pou les fleurs et feuilles des deux régions, dont ils ont la même teneur de 10161,03mg/100g. Par contre les tiges de kherrata (9841,61mg/100g) sont plus riche en polyphénols que les tiges de sidi aiche (8680,04mg/100g). Les dosages des flavonoides et flavonols ont montré que les teneurs des feuilles de kherrata sont supérieures à celle de sidi aiche, par contre les fleurs de sidi aiche présentent la teneur la plus élevée (9631,82) que celle de kherrata et présentnt la même teneur à celles des tiges (8186,28mg/100g) . Les résultats de dosage des tanins condensés montrent que les teneurs des tiges de kherrata est supérieures (784,95mg/100g) à celles de sidi aiche .

L'activité antioxydante de nos extraits montre que l'activité antiradicalaire (DPPH) est élevée dans l'extrait de feuilles de kherrata (68,16%) et fleurs de sidi aiche (63,55%), par contre les tiges présentent la même activité. Pour effet scavenger à l'ABTS, les fleurs de sidi aiche présentent l'activité la plus élevée (73,6%) que celle de kherrata.

La réduction de fer ferrique en fer fereux est meilleur pour les tiges et fleurs de kherrata qui est de 3779,17 mg/100g et même pouvoir pour les feuilles de 2439,16 mg/100g par contre le test de molybdate d'ammonium montre que les feuilles de kherrata qui présentent l'activité la plus élevée (465,49mg/100g) et même activité pour les tiges et fleurs (1514,19 mg/100g).

Cette etude peut etre complété par quelque perspective

- La détermination de nouvelles substances bioactives naturelles qui peuvent être des remède à différentes maladies et d'être un alternatif des médicaments synthétiques.
- Le développement des médicaments antiradicalaires à base de plantes, doués d'une activité antioxydante.

- L'orientation des recherches scientifiques vers la réalisation d'études approfondies de l'activité antioxydante des composés polyphénoliques en général

# Références bibliographique

## Références bibliographiques

- ❖ **Adedapo Adeolu A , Jimoh Florence O , Afolayan Anthony J , Masika Patrick J.(2008).**Antioxidant activities and phenolic contents of the methanol extracts of the stems of *Acokanthera oppositifolia* and *Adenia gummifera*.*Complementary and alternative medicine*, (8):54.
- ❖ **Al-Awwadi N.A, Araiz C ,Bornet A ,Delbose S,Cristol J.P,Link N ,Azay J, Teissedre P.L, Cros G .( 2005).** Extracts enriched in different polyphénolic families normalize increased cardiac NADPH oxidase expression while having differential effects on insulin resistance, hypertension and cardiac hypertrophy in high fructose-fed rats. *Journal Agriculture Food Chemistry*,( 1):151-157.
- ❖ **Albu S, Joyce E, Paniwnyk L, Lorimer J.P, Mason T.J. (2004)** Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. *Ultrasonics Sonochemistry*, (11): 261-265.
- ❖ **Antolovich M, Prenzler P.D, Patsalides E, McDonald S, Robards K. (2002).** Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, (127): 183-198
- ❖ **Aouissa I.W.R. (2002).** Etude des activités biologiques et de la toxicité aigue de l'extrait aqueux des feuilles de *Mangifera indica L.* (Anacardiaceae). Thèse de doctorat. Université de Bamako (Mali).
- ❖ **Armatu, S. Colceru-Mihul, C. Bubueanu, E. Draghici, L. Pirvu . (2010).** Evaluation of antioxidant and free scavenging potential of some Lamiaceae species growing in Romania. *Romanian Biotechnological Letters*, ( 15 ):3.
- ❖ **Bekkara Atik, Bousmaha F, Taleb bendiab L, Boti S.A, Casanova J. (2007).** Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L* poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Bio & San.*( 7): 6-11.
- ❖ **Belakhdar, J (1997) .**La pharmacopée marocaine traditionnelle. *Idis PRESS* (Ed). Paris, 764p.
- ❖ **Bellakhdar Jamal .( 2006).** Précis de phytothérapie moderne ; plantes médicinales au Maghreb et soin de base / Ed le Fennec. P : 294-295.

- ❖ **Birt D.F, Hendrich S, Weiqun W. (2001).** Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavonoids. *Pharmacol Therap*, ( **90**):157-177.
- ❖ **Boullard, Boudjemaa N. E et Ben Guegua H. (2010).** Tthese de doctorat, L'effet antibactérien de Nigella Sativa. Université Kasdi Merbah Ouargla.
- ❖ **Bravo L. (1988).** Polyphénols:Chemistry, dietary sources,metabolism, and nutritional signi cancer. *Nutr Rev*, ( **56** ) : 317-333.
- ❖ **Bruneton J. (1999).**Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. *mdicales internationales Ed :Tec & Doc*, Cachan, p. 647-673.
- ❖ **Bruneton J. (2008).** Acides phénols. In: Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. *Ed: Tec & Doc. Lavoisier, Paris.* pp 198-260.
- ❖ **Chaouche T.M , F. Haddouchi F. , Ksouri R, F. Medini F, Atik-Bekara F. (2013) .** In vitro evaluation of antioxidant activity of the hydro-methanolic extracts of Juniperus oxycedrus subsp. *Oxycedrus Phytothérapie ( 11):*244-249.
- ❖ **Cheung S et Tai J. (2007).** Anti-proliferative and antioxidant propeties of Rosmary Rosmarinus officinalis. *Oncology reports.* 17 ( **6** ) : 1525-1531.
- ❖ **Chun Sung-Sook, Vattem Dhiraj A, Lin Yuan-Tong, Shetty Kalidas. (2005).** Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*)with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori* .*Process Biochem*, ( **40**): 809–816.
- ❖ **Cook N.C et Samman S. (1996).** Review: Flavonoids-chemistry, métabolism cardioprotective effet, and dietary sources. *J Nutr Biochem*, ( **7**): 66-76.
- ❖ **Dai J et Mumper R. J. (2010).** Plant Phenolics : Extraction, Analysis and Their Antioxydant and Anticancer Propeties. *Molecules* **15(10):** 7313-7352.
- ❖ **Dangles O. (2012).** Antioxidant activity of plant phenols: chem mecha and bio signife. *Cur Org Chem.* ( **16** ) : 692-714.
- ❖ **Dangles O., Dufour C. (2008).** Recent advances in Polyphenol Research. Chapter 3: 67-87.
- ❖ **Diallo A. (2005).** Etude de la phytochimie et des activités Biologiques de *Syzygium guineense* willd (Myrtaceae). Thèse de doctorat. Université de Bamako (Mali).
- ❖ **Doymaz I, Gorel O, Akgun N.A. (2004).** Drying characteristics of the solid by product of olive oil extraction. *Biosys Engine* , ( **88**): 213-219 .

- ❖ **Erlund I. (2004).** Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability and epidemiology. *Nutr Res*, (24) :851-874.
- ❖ **Favier A. (2003).** Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'Actualité chimique*, 108-117.
- ❖ **Favier A. (2006).** Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann. Pharm. Fr*, (64) : 390-396.
- ❖ **Froehlicher T , Hennebelle T , Martin-Nizard F , Cleenewerck P , Hilbert J.L ,Troin F, Grec S. (2009).** Phenolic profiles and antioxidative effects of hawthorn cell suspensions, fresh fruits, and medicinal dried parts. *Food Chem*,(115) :897-903.
- ❖ **Genena A.K,Haihou H,Artur Smania J, Simone M de Souza. (2008).**Rosemary(*Rosmarinus officinalis*)- a Study of the composition ,antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained with supercritical carbon dioxide. *Tec de alim* , 28(2): 463-469.
- ❖ **Goupy, Dufour C, Loonis M, Dangles O. (2003).** A quantitative kinetic analysis of hydrogen transfer reactions from dietary polyphenols to the DPPH radical. *of Agri and Food Chem.* 51(3): 615-622.
- ❖ **Grant G. Harris, Robert G. Brannan.(2009).** A preliminary evaluation of antioxidant compounds, reducing potential, and radical scavenging of pawpaw (*Asimina tribloba*) fruit pulpfrom different stages of ripeness. *Food Science and Technology*,(42) : 275–279.
- ❖ **Gülçin I, Oktay M, Kireççi E, Küfrevioğlu Ö.I. (2003).** Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise(*Pimpinellaanisum L*) seed extracts. *Food chemistry*, (83):371-382.
- ❖ **Halliwell B. (2007).** Dietary polyphenols: Good, bad, or indifferent for your health .*Cardiovascular Research*, (73) : 341-347
- ❖ **Havsteen B.H. (2002).** The biochemistry and medical significance of the flavonoids.*Phar Ther*, (96) :67-202.
- ❖ **Havsteen B.H. (2002).** The biochemistry and medical significance of flavonoids. *Phar and Ther.* (96): 67-202.

- ❖ **Heim K.E, Tagliaferro A.R, Bobilya D.J. (2002).** Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J of Nut Bioch.* (13): 572-584.
- ❖ **Hennebelle T, Sahpaz S, Bailleul F. (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, (1) :3-6 .
- ❖ **Hossam S. EL. Beltagi, Mona H. Badawi. (2013).** Comparison of Antioxdant and Antimicrobial propertie for Ginkgobiloba and Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) form Egypt. *Not Bot Horti Agrobo*, **41(1)**: 126-136.
- ❖ **Huang M. T, Ho C. T, Wang Z. Y, Ferraro T, Lou Y. R, Stanber K, MaW, Hoffman L, Besseau S, Geoffroy P, Rizenthaler C, Meyer D, Lepierre C, Offord E. A, Macé K, Ruffieux C, Malnoë A. ET Pfeifer A. M. (1995).**Rosmary components inhibit benzo [a] pyrene-induced genotoxicity in human bronchical cells. *Carcinogenesis*. **16** (9): 2057-2062.
- ❖ **Ibañez E, Kubátová A, Señoráns F , Cavero S, Reglero G. et Hawthorne S. B. ( 2003).** Subcritical water extraction of antioxidant compounds from rosmariny Plants. *Journal of Agricultural and Food Chem*, **51** (2): 375-382.
- ❖ **Jacques B, and André R. (2004).** Biochimie métabolique Ed ellipses .Paris. pp: 217-219- 220-223-225.
- ❖ **Jovanovic S.V., Steenken S., Tosic M., Marjanovic B., Simic M.G. (1994).** Flavonoids as antioxidants. *Journal of the American Chemistry Society*. (116): 4846-4851.
- ❖ **Judith M.D. (2005).** Etude phytochimique et pharmacologique de *Cassia nigricans vahl* (Caesalpinaceae) utilisé dans le traitement des dermatoses au Tchad. Thèse de doctorat. Université de Bamako (Mali).
- ❖ **Kasparavičienė G, Ramanauskienė K, Savickas A, Velžienė S, Kalvėnienė Z, Kazlauskienė D, Ragažinskienė O, Ivanauskas K, Ivanauskas K.(2013).** Evaluation of total phenolic content and antioxidant activity of different *Rosmarinus officinalis* L. *Ethanollic extracts Biologija*. (59). N( 1). P. 39–44.

- ❖ **Kohen R. and Nyska A. (2002).** Invited Review Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification.. *Toxicol. Path*, (30) : 620-650.
  
- ❖ **Leopoldini, M, N. Russo et M. Toscano (2011).** "The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants." *Food Chemistry* 125(2): 288-306.
  
- ❖ **Macheix JJ, Fleuriet A et Jay-Allemand C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes. Lausanne, 4-5P.
  
- ❖ **Mangena T, Muyima NY. (1999).** Comparative evaluation of the antimicrobial activities of essential oils of *Artemisia afra*, *Pteronia incana* and *Rosmarinus officinalis* on selected bacteria and yeast strains. *Lett Appl Microbiol*, 28(4):291-296.
  
- ❖ **Marfak A. (2003).** Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : formation de depsides. Thèse de doctorat. Université de Limoges.
  
- ❖ **Mehrizi M. Hejazi , Shariatmadari.H, Khoshgoftarmanesh.A.H, and F. Dehghani. (2012)** .Copper Effects on Growth, Lipid Peroxidation, and Total Phenolic Content of Rosemary Leaves under Salinity Stress *J. Agr. Sci. Tech*, (14): 205-212.
  
- ❖ **Mélo E.A , Vera Lúcia , Maria Inês.(2006).** Polyphenol, Ascorbic Acid and Total Carotenoid Contents in Common Fruits and Vegetables. *Braz. J. Food Technol*, (9): n.2, p. 89-94.

- ❖ **Mohammed T ,Chaouchea.c, Haddouchia F, Atik-Bekaraa F, Ksourib R, Azzic R, Boucheritc Z,Tefianid C, Larbate R. (2014) .** Antioxidant, haemolytic activities and HPLC–DAD–ESI–MSncharacterization of phenolic compounds from root bark of Juniperusoxycedrus subsp. *Industrial Crops and Products* ,(xxx) : xxx–xxx.
- ❖ **Muchuweti M., Kativu E., Mupure C. H., Chidewe C., Ndhlala A. R. et Benhura M. A.N.(2007).** Phenolic composition and antioxidant propeties of some species. *Amer j of food tech.*, **2** (5) : 414-420.
- ❖ **Okamura N, Haraguchi H, Hashimoto K. ET Y a g h i A. (1994).** Flavonoids in Rosmarinus officinalis leaves. *Phytochemistry*, **37** (5): 1463-1466.
- ❖ **Ordonez A.A.L, Gomez J.D, Vattuone M.A, Isla M.I.(2006).** Antioxidant activities of Sechium edule (Jacq.) Swartz extracts. *Food Chemistr* , **(97)** :452-458.
- ❖ **Paris A, Strukelj B, Renko M, Turk V, Pukl M, Umek A. et Korant B. D. (1993).** Inhibition effects of carnosic acid on HIV-I protease in cell free assays. *Journal of natural products*. **56** (8): 1426-1430.
- ❖ **Pietta P.G. (2000).** Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Production*, **(63)**: 1035-1042.
- ❖ **Pincemail J, Degrune J, Voussure S, Malherbe C, Paquot N, Defraigne J.O. (2007).** Effet d'une alimentation riche en fruits et légumes sur les taux plasmatiques en antioxydants et des marqueurs des dommages oxydatifs. *Nutr Cliniq et Méta.* **(21)**: 66-75.
- ❖ **Pitchaon M, Maitree S, Rungnaphar P.(2007).** Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. *Food Chem*, **(100)** : 1409–1418.
- ❖ **Price M.L, Vanscoyoc S, Butler G.(1978).** Article evaluation of vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. I- Agric. *Food Chem*, **(26)**:1210-1218.
- ❖ **Quezel P, Santa S. (1963).** Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. *Tome II, CNRS, Paris*, p 600.

- ❖ **Ribéreau-Gayon J, Peynaud E, Sudraud P. & Ribéreau-Gayon P. (1982).** Composés phénoliques. In « Traité d'œnologie, sciences et techniques du vin ». Edition: DUNOD. Paris. P 173-201.
  
- ❖ **Ribéreau-Gayon P. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Dunod. Paris. P 254.
  
- ❖ **Ribereau-Gayon, (1982) PP:** Incidences œnologiques de la pourriture du raisin1. EPPO Bulletin, **12(2)** : 201-214.
  
- ❖ **S' lusarczyk S , Hajnos M, Skalicka-Woz'niak K , Matkowski A . (2009).** Antioxidant activity of polyphenols from *Lycopus lucidus* Turcz. *Food Chemistry*, **(113)**:134–138.
  
- ❖ **Sánchez-Moreno, C. (2002).** Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Revista de Agaro y Tec de Alim* **8(3)**: 121-137.
  
- ❖ **Sarni-Manchado P; Cheynier V .(2006).** Les polyphénols en agroalimentaire .Ed *Tec et Doc Lavoisier* .p :02-11.
  
- ❖ **Schroeter H.C, Boyd J. P, Spencer E, Williams R. J, Cadenas E et Rice-Evans C. (2002).** "MAPK signaling in neurodegeneration: Influences of flavonoids and of nitric oxide." *Neurobiology of Aging* **23(5)**: 861-880.
  
- ❖ **Sefi M, Fetoui , Makni M, and Najiba Zeghal N. (2010).** Mitigating effects of antioxidant properties of *Artemisia campestris* leaf extract on hyperlipidemia, advanced glycation end products and oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. *J. Food. Chem.Toxicol.* **(48)**: 1986–1993.

- ❖ **Skerget M, kotnik p, Hadolin M, Hras A.R, Simonic M, Knez Z .(2005).**Phénols, proanthocyanidins, Avones and Avonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chem*, **(89)**:191-198.
- ❖ **Teixeira da Silva J. A.(2004).** Mining the essential oils of the *Anthemideae*. *Afr. J. Biotechnol*, **( 3)**: 706-720.
- ❖ **Tomas-Babera F.A, Espin J.C. (2001).** Phenolic compounds and related enzyme as determinants of quality in fruits and vegetables. *J of the scien of food and agre***(81)**: 853-876.
- ❖ **Velioglu Y. A., Mazza G., Gao L., et Oomah. B. D. (1998).** Antioxidant activity and total phénolic in selected fruits, vegetables, and grain products. *of Ag and food chem*, **(46)**: 4113-4117.
- ❖ **Watson R.R. (2009).** Complementary and Alternative Therapies in the Aging population An Evidence-Based Approach. Edition : Elsevier (USA) P :597.
- ❖ **Yang R Y, Lin S. et Kuo G. (2008).** Content and distribution of flavonoids among 91 edibles plant species. *Asia of pacific j of clin nut.* **17** (S1): 275-279.
- ❖ **Yang J, Gadi R, Paulino R, thomson T. (2010).** Total phenolics, ascorbic acid, and antioxidant capacity of noni (*Morinda citrifolia* L.) juice and powder as affected by illumination during storage. *Food chem* ,**122**(3): 627-632.
- ❖ **Yao L. H, Jiang Y.M, Shi J, Tomas-Barberan F. A, Datta N, Singanusong R, Chen S.S. (2004).**Flavonoids in food and their health effects. *Plant Foods Hum Nutr*, **(59)**:113-122.



# Annexes

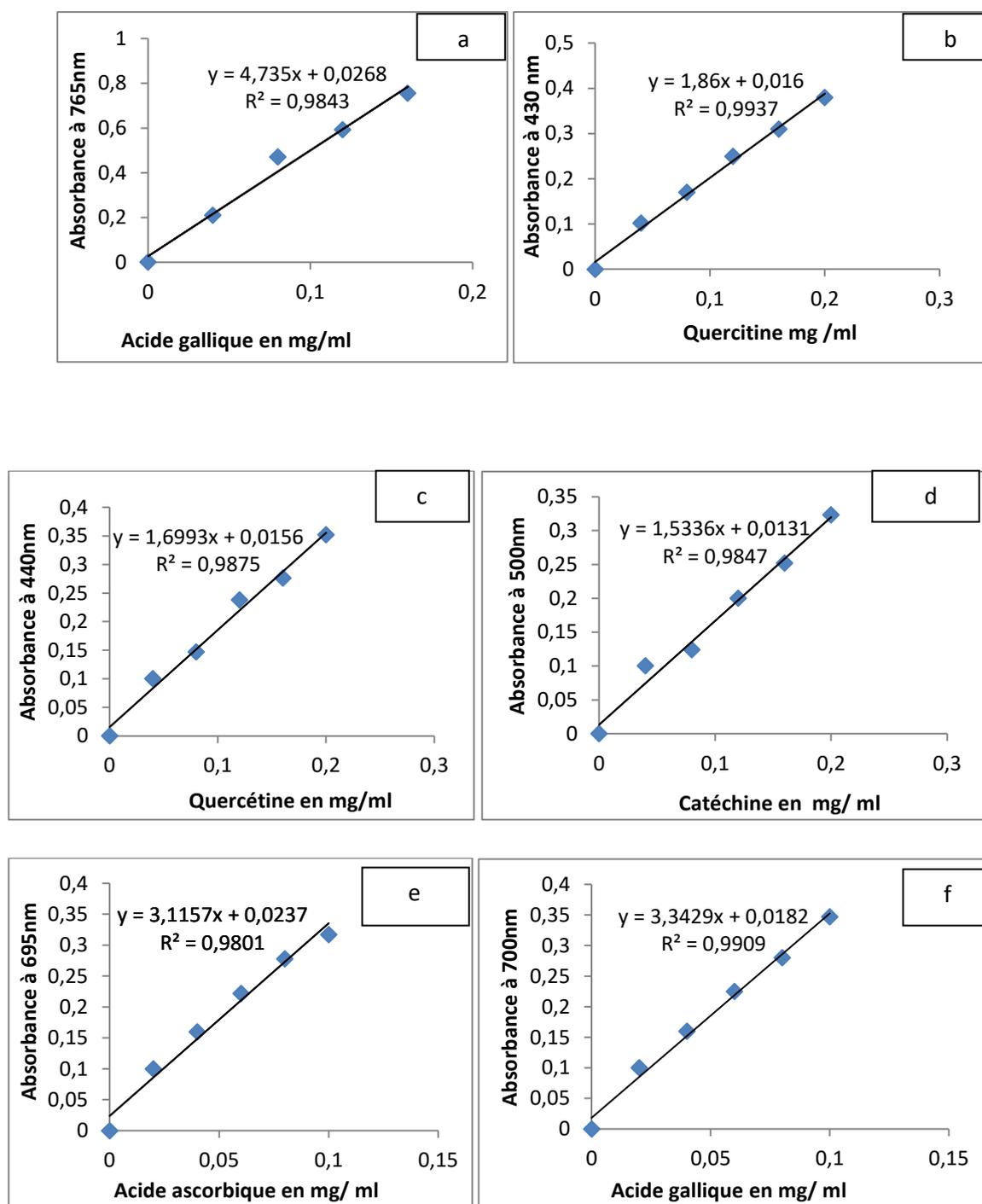
**Annexe 1** : Les principes classes des composés phénolique ( **Macheix, 2006** ) .

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine (exemples)
$C_6$	Phénols simples	Catéchol	Nombreuses espèces
$C_6-C_1$	Acides hydroxybenzoïques	p-Hydroxybenzoïque	Epices, fraise
$C_6-C_3$	Acides hydroxycinnamiques  Coumarines	Acide caféique, Acide férulique  Scopolétine	Pomme de terre, pomme  Citrus
$C_6-C_4$	Naphtoquinones	Juglone	Noix
$C_6-C_2-C_6$	Stilbènes	Resvératrol	Vigne
$C_6-C_3-C_6$	Flavonoïdes <ul style="list-style-type: none"> <li>• Flavonols</li> <li>• Anthocyanes</li> <li>• Flavanols</li> <li>• Flavanones</li> </ul> Isoflavonoïdes	Kaempférol, quercétine Cyanidine, pélagonidine Catéchine, épicatechine Naringénine  Daidzéine	Fruits, légumes, fleurs Fleurs, fruits rouges Pomme, raisin Citrus  Soja, pois
$(C_6-C_2)_2$	Lignanes	Pinorésinol	Pin
$(C_6-C_3)_n$	Lignines		Bois, noyau des fruits
$(C_{15})$	Tannins		Raisin rouge, kaki

**Annexe 2** : Activités biologiques de quelques composés phénoliques selon Bruneton , (1999)

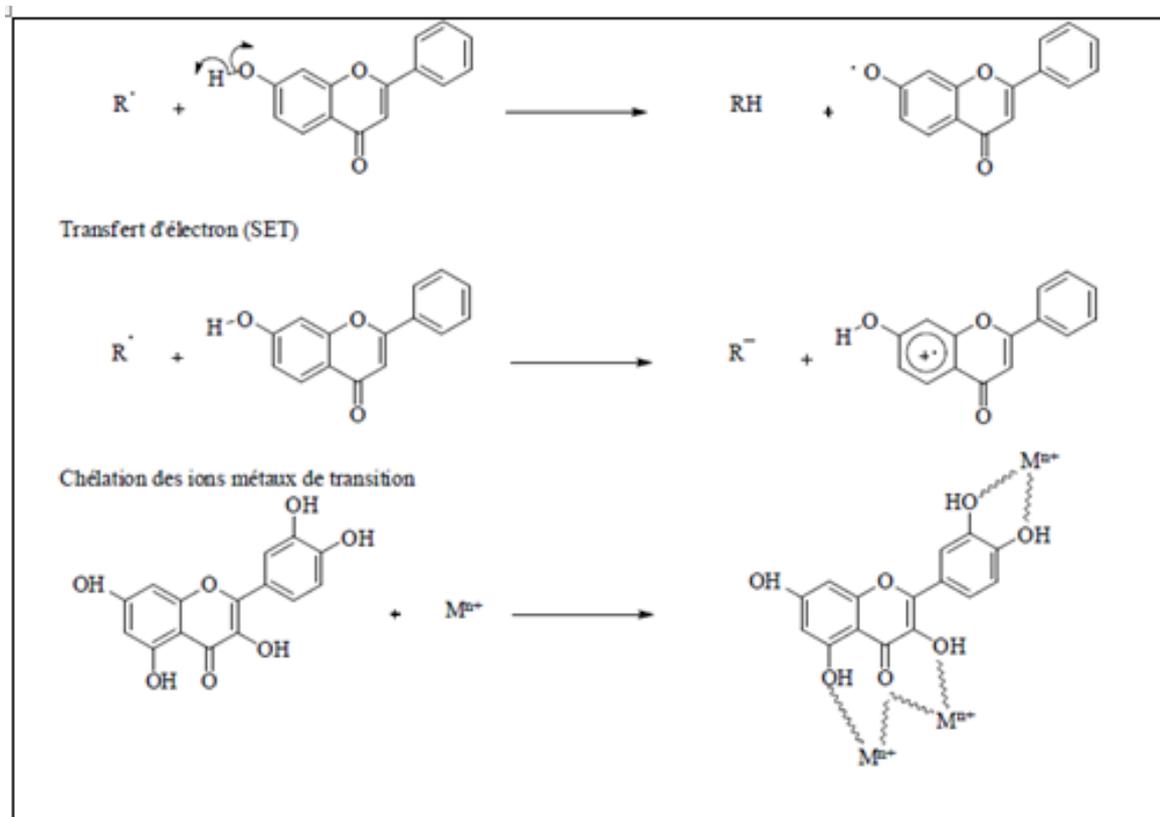
<b>Composés phénoliques</b>	<b>Fonction biologique</b>
<b>Acides phénols</b>	Antifongique, antioxydante Antibactérienne
<b>Tanins</b>	Effet stabilisant sur le collagène, antioxydant, antidiarrhéique, antiseptique, effet vasoconstricteur
<b>Flavonoïdes</b>	Antitumorale, anticarcérogène, anti- inflammatoire, antioxydante, antiallergique, antiulcéreuse, antivirale, antimicrobienne, hypotenseur, diurétique .
<b>Coumarines</b>	Anticoagulante, antioxydante, protectrice vasculaire et antioedémateuse.
<b>Anthocyanes</b>	Protectrices capillaro- veineux, antioxydant
<b>proanthocyanidines</b>	Effet stabilisants sur le collagène, antioxydants, antitumoraux, antifongiques, anti - inflammatoires
<b>Lignanes</b>	Anti- inflammatoires , analgésiques
<b>Tanins galliques et catéchiques</b>	Antioxydantes

## Annexe 3



**Figure 1** : Courbes d'étalonnage des polyphénols totaux (a), des flavonoïdes (b), des flavonols (c), des tannins condensés (d), du molybdate d'ammaunium(e), et du pouvoir réducteur( f)

**Annexe 5 : Mécanismes d'action antioxydants des flavonoïdes. (Leopoldini et al., 2011).**



# GLOSSAIRE

- ❖ **Antispasmodiques** : sont des médicaments qui aident à traiter les spasmes musculaires. Il s'agit de calmer ou de neutraliser des contractions involontaires des muscles.
- ❖ **Diurétique** est une substance qui augmente la production d'urine. Ce terme désigne le plus souvent une classe de médicaments qui fait partie des plus prescrites
- ❖ **Antibactériennes** : sont des médicaments fabriqués à partir de cultures de micro-organismes ou sont entièrement synthétisés. Ils ont la propriété d'inhiber les bactéries ou d'empêcher leur prolifération.
- ❖ **Antimutagéniques** : Substances d'origine végétale, animale ou synthétique capables d'inhiber ou de réduire les effets mutagènes et/ou carcinogènes spontanés ou induits
- ❖ **Chémio-préventives** : appelée aussi **chimioprophylaxie**, est une technique de prophylaxie consistant à administrer à une personne, des médicaments, vitamines, minéraux ou autres produits pour diminuer son risque de développer une maladie donnée, souvent un cancer.
- ❖ **Anti-inflammatoires** : substance utilisée pour lutter contre l'inflammation, processus de défense de l'organisme face à une agression, caractérisée par les signes de chaleur, douleur, rougeur et tuméfaction. on distingue classiquement les anti-inflammatoires stéroïdiens (type cortisone) et les anti-inflammatoires non stéroïdiens.
- ❖ **Antimétastasiques** : inhibiteurs des protéases (lyse par des collagénases)
- ❖ **Tumeurs** : sont des excroissances dues à une prolifération anormale de cellules. On distingue deux types de tumeurs, les tumeurs bénignes et les tumeurs malignes.
- ❖ **Vasodilatateur** : est une substance qui accroît le diamètre des vaisseaux sanguins (veines, artères). Le sang ayant plus de place, il circule mieux et la pression artérielle diminue
- ❖ **Ischémie** : L'ischémie désigne la souffrance d'un organe ou d'un tissu consécutive à l'interruption de tout ou partie de la circulation artérielle à destination de cette zone anatomique

- ❖ **Cholagogue** : facilite l'évacuation des voies biliaires, action bénéfique pour le foie et le tube digestif.
- ❖ **Asthénie** : dépression de l'état général.
- ❖ **Diterpène**: composé formé de vingt atomes de carbone.
- ❖ **Diurétique** : qui augmente le volume urinaire et l'élimination des chlorures, du sodium, du potassium, de l'urée et de l'acide urique dans les urines.
- ❖ **Emménagogue** : qui provoque, facilite ou augmente les règles.
- ❖ **Spasmolytique** : qui empêche les contractions musculaires involontaires.

## Résumé

Le romarin (*Rosmarinus officinalis*) est une plante qui appartient à la famille des labiées utilisées depuis l'antiquité en médecine traditionnelle. Dans ce contexte, le présent travail porte sur une étude phytochimique, et l'évaluation de leurs activités antioxydante. L'analyse effectuée sur les différentes parties de la plante (feuilles, fleurs, tiges) récoltées dans deux régions : kherrata et sidi aiche révèlent une teneur moyenne en eau de 65.2 ; 76.33 ; 55.4%, respectivement.

La teneur en polyphénols totaux la plus élevée a été détectée dans les feuilles et fleurs des deux régions et dans les tiges de kherrata de 10161,03 ; 9841,61mg/100g respectivement. Pour les flavonoïdes et les flavonols les teneurs les plus élevées sont celles des fleurs de sidi aiche et feuilles de kherrata (9240,2 ; 9631,82mg/100g ) et même teneur pour les tiges de deux régions (8186,28mg/100g). Le dosage des tanins condensés a révélé que les fleurs et feuilles des deux régions présentent la teneur la plus élevée (927,92mg/100g) et que la teneur des tanins condensés des tiges de kherrata (784,45mg/100g) est supérieure à celle de sidi aiche. L'évaluation de l'activité anti-radicalaire (DPPH) déduit que les fleurs de kherrata présentent une activité plus élevée (68,16%) par rapport à celle de sidi aiche, ainsi que les feuilles de sidi aiche (63,55%) sont plus élevées que celles de kherrata et montre aussi une faible activité pour les tiges des deux régions (43,54%) . Pour l'activité anti-radicalaire (ABTS) montre que les fleurs de sidi aiche sont plus élevées (73,6%) que celles de kherrata et même activité pour les feuilles et tiges de deux régions de 40,86% . L'activité réductrice du molybdate a montré une forte activité pour les fleurs et les tiges des deux régions de 1514,19mg/100g et que l'activité des feuilles de kherrata (465,49mg/100g) sont supérieures à celles de sidi aiche. Par contre l'activité réductrice (frappe) révèle une meilleure activité par rapport aux tiges et fleurs des deux régions de 3779,17mg/100g et même activité pour les feuilles de kherrata et sidi aiche (2439,16mg/100g).

**Mots clés :** *Rosmarinu officinalis*, polyphénols, antioxydante, DPPH, ABTS.

## Summary

Rosmary (*Rosmarinus officinalis*) is a plant belonging to the Labiate family used since ancient times in traditional medicine. In this context, the present work deals with a phytochemical study, and the evaluation of their antioxidant activities. The analysis carried out on the different parts of the plant (leaves, flowers, stems) harvested in two regions: kherrata and sidi aiche reveal an average water content of 65.2; 76.33; 55.4%, respectively.

The highest total polyphenol content was detected in the leaves and flowers of both regions and in the kherrata stems of 10161.03; 9841.61mg / 100g respectively. For flavonoids and flavonols, the highest levels are those of sidi aiche and kherrata (9240.2, 9631.82mg / 100g) and the same content for the stems of two regions (8186.28mg / 100g). The proportion of condensed tannins showed that the flowers and leaves of the two regions had the highest content (927.92mg / 100g) and that the content of the condensed tannins of kherrata stems (784.45mg / 100g) is higher than that of sidi aiche. The evaluation of the anti-free radical activity (DPPH) inferred that the kherrata flowers showed a higher activity (68.16%) compared to that of sidi aiche, and sidi aiche leaves (63.55%) are higher than those of kherrata and also show low activity for the stems of both regions (43.54%). For the anti-free radical activity (ABTS), sidi aiche flowers are higher (73.6%) than kherrata and even activity for leaves and stems of two regions of 40.86%. The molybdate reductive activity showed a high activity for the flowers and stems of the two regions of 1514.19mg / 100g and that the activity of the kherrata leaves (465.49mg / 100g) is greater than those of sidi aiche. On the other hand, the reductive activity (frappe) shows a better activity compared to the stems and flowers of the two regions of 3779.17mg / 100g and the same activity for the leaves of kherrata and sidi aiche (2439.16mg / 100g).

**Key words:** *Rosmarinu officinalis*, polyphenols, antioxidant, DPPH, ABTS.