

N° d'ordre

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

UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI DE TIZI-OUZOU
FACULTEDES SCIENCES
DEPARTEMENT DE CHIMIE



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
En vue de l'obtention du diplôme de Master en Chimie
Spécialité : Chimie pharmaceutique

THEME

**Etude comparative analytique et thérapeutique des
polyphénols du Romarin de deux régions (Tizi-
Ouzou et Biskra)**

Réalisé par :

- Mr ZIDANE Abderraouf
- M^{elle} KHENDRICHE Amel

Soutenus devant le jury le 14/07/2022 composé de :

Mr RAHAL Foudil	MCB	UMMTO	Président
Mr BENCHOUAK Mounir	MAA	UMMTO	Promoteur
Mr BAIT Larbi	MAA	UMMTO	Examineur

2021/2022

Remerciements

Au terme de ce présent travail nous tenons à remercier

Tout d'abord notre créateur ALLAH, grand et miséricordieux, le tout-puissant pour le courage qu'il nous a donné pour mener ce travail à terme.

*Nous adressons également nos sincères et vifs remerciements ainsi nos profondes reconnaissances à notre promoteur **Mr. BENCHOUAK Mounir** qui nous a honorés en acceptant de diriger ce travail, pour ces encouragements, ces conseils et surtout sa confiance.*

Merci d'avoir cru en nous, à nos capacités, merci de nous avoir guidés avec patience et d'avoir consacré autant de temps et d'énergie pour la réalisation et la réussite de ce mémoire.

*Nous adressons également nos sincères remerciements à **Mr. RAHAL Foudil** d'avoir accepté la présidence du jury de notre travail qu'il trouve ici toutes nos expressions respectueuses.*

*Nous sommes très reconnaissants envers **Mr. BAIT Larbi** d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Nous tenons également à exprimer notre profonde gratitude à **Mr. RAHAL Foudil** et **Mr. LAIB Hatem** pour leurs aides précieuses et leurs conseils.*

*Nos remerciements s'adressent aux membres du laboratoire chimie pharmaceutique et ceux du laboratoire chimie organique en particulier **Madame KACI Celia** et **Madame BOUHRAOUA Souad**.*

*Un grand merci à **Mr. NOUANI Mehdi**, **Mr. MADANI Mohamed Said** et **Mr. RAHANI Juba**, et à tout le personnel du laboratoire de microbiologie du CHU.*

Nous tenons à remercier aussi tous ceux qui ont travaillé à nos côtés et qui ont contribué à créer une ambiance agréable au laboratoire.

Enfin nos sincères remerciements à tous qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce modeste travail.

Dédicace

Je dédie ce mémoire :

A mes chers et précieux parents pour leur amour inconditionnel, leur soutien et leurs sacrifices.

*A mes très chers frères et sœurs : **Lilia, Baki, Hako et Nardjes** qui m'ont encouragé et soutenu tout le long de ce travail.*

*A mes adorables neveux : **Dhaker, Dhia** et le petit **Rissel***

*A mon encadreur Monsieur **BENCHOULAK** pour son dévouement, sa gentillesse, sa bienveillance et sa présence*

*A mes amis : **Célia, Salim, Maissa, Amani, Akram, Ahmed, Youcef, Anis, Massiva, Kenza et Louma***

A ma binôme Amel pour sa bienveillance et sa sympathie.

*J'adresse ma plus profonde gratitude à mon très chère ami **Mohand Malki** et à tous les membres de sa famille pour leur bienveillance et hospitalité.*

*A **Cheba Yamina** et **Miri Sbaihi**.*

Raouf

Dédicace

Je dédie ce projet à :

Mes chers parents, la prunelle de mes yeux ma raison de vivre, qui n'ont jamais cessé de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs.

*Mes deux sœurs **Lila** et **Yasmine** ainsi que son mari **Mouloud** pour leurs soutiens moral et leurs conseils précieux tout au long de mon parcours universitaire.*

Mes grands-parents à qui je souhaite une longue vie et une bonne santé.

*Mes adorables tantes **Dadi**, **Fouzai**, **Mima**, **Djoudjou**, **Rozi**.*

*Et oncles en particulier mon oncle **Belkacem** et sa femme **Ghania** ainsi que leurs fils **Karim**.*

*Mes meilleures amies **Dhia**, **Lilly**, **Keltoum** et **Zohra**.*

*A mon meilleur **Mahdi** pour son encouragement et son indéfectible soutien durant ces dernières années de mon parcours universitaire*

*A tous mes cousins/cousines spécialement ma très chère **Lylia** pour son aide et support dans les moments difficiles.*

*Mon binôme **Raouf** pour sa bienveillance et sa sympathie.*

AMEL

Liste des abréviations

A. Ascorbique : acide ascorbique.

Abs : absorbance.

Cft : concentration des flavonoïdes totaux.

C.H.U : centre hospitalier universitaire.

Cppt : concentration des polyphénols totaux.

Da : Dalton

DPPH: 1, 1-diphényl-2-picrylhydrazyl.

FRAP: ferric reducing antioxidant power.

E. coli: *Escherichia coli*

IC50 : concentration inhibitrice à 50%.

M : mole.

mg AGE/ g E : milligramme d'acide gallique équivalent par gramme d'extrait.

Mg QE/ g E : milligrammes de quercétine équivalent par gramme d'extrait.

MH : Muller-Hilton.

nm : nanomètre.

Pseudo: *Pseudomonas aeruginosa*

RNS : reactive nitrogen species.

R. officinalis : *Rosmarinus officinalis*

ROS : reactive oxygen species.

Sec: seconde.

Staph : *Staphylococcus aureus*

Strept : *streptococcus pneumoniae*

tr/min : tour par minute.

UMMTO : Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou

UV : ultraviolet.

Liste des figures

Figure 01 : Le Romarin	3
Figure 02 : Caractéristique de sols favorables pour le Romarin	5
Figure 03 : Caractéristique climatiques favorables pour le Romarin.....	6
Figure 04 : Composition et propriétés thérapeutiques du Romarin	7
Figure 05 : L'utilisation du Romarin en médecine traditionnelle en Algérie	8
Figure 06 : La macération	11
Figure 07 : Les classes d'acides phénoliques	12
Figure 08 : Structure de base des flavonoïdes.....	12
Figure 09 : Les classes des tanins	13
Figure 10 : <i>Rosmarinus officinalis</i> des deux régions	16
Figure 11 : Carte géographique de la région d'Aïn Zaatout	17
Figure 12 : Carte géographique de la région de Boghni	18
Figure 13 : Séchage du <i>Rosmarinus officinalis</i>	18
Figure 14 : Feuilles et tiges des deux régions de <i>R. officinalis</i> broyés	19
Figure 15 : Macération, filtration et récupération des filtrats de <i>R. Officinalis</i>	20
Figure 16 : procédé de décantation	21
Figure 17 : spectrophotomètre SHIMADZU UV-1900 i	27
Figure 18 : réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.....	29
Figure 19 : Les extraits des feuilles et tiges des deux régions	33
Figure 20 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	35
Figure 21 : Teneur en composé phénolique des extraits et de l'acide gallique.....	36
Figure 22 : Courbe d'étalonnage de la <i>quercétine</i>	37

Figure 23 : Teneur en Flavonoïdes des extraits et de la <i>quercétine</i>	38
Figure 24 : Spectre UV-Visible des extraits	39
Figure 25 : pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH° en fonction des différentes concentrations des extraits et de l'acide ascorbique	41
Figure 26 : Pouvoir réducteur des extraits et de l'acide ascorbique.....	42
Figure 27 : Les tests de l'activité antioxydante.....	43
Figure 28 : Aromatogrammes des activités antibactériennes des extraits.....	46

Liste des tableaux

Tableau 01 : La composition chimique des feuilles de la plante de <i>Rosmarinus officinalis</i>	7
Tableau 02 : Les bactéries utilisées	30
Tableau 03 : Rendement d'extraction des feuilles des deux régions	32
Tableau 04 : Rendement d'extraction des tiges des deux régions	32
Tableau 05 : Les tests phytochimiques des feuilles des deux régions	33
Tableau 06 : Les tests phytochimiques des tiges des deux régions	34
Tableau 07 : Pourcentage d'inhibition des extraits et de l'acide ascorbique.....	40
Tableau 08 : Valeur d'IC 50 des extraits et de l'acide ascorbique	43
Tableau 09 : Effet antibactérien des extraits des feuilles sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	41
Tableau 10 : Effet antibactérien des extraits des tiges sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	43
Tableau 11 : Effet antibactérien des extraits des feuilles sur <i>Escherichia coli</i>	43
Tableau 12 : Effet antibactérien des extraits des tiges sur <i>Escherichia coli</i>	44
Tableau 13 : Effet antibactérien des extraits des feuilles sur <i>staphylococcus aureus</i>	44
Tableau 14 : Effet antibactérien des extraits des tiges sur <i>staphylococcus aureus</i>	44
Tableau 15 : Effet antibactérien des extraits des feuilles sur <i>streptococcus pneumoniae</i>	45
Tableau 16 : Effet antibactérien des extraits des tiges sur <i>streptococcus pneumoniae</i>	45

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale	1
-----------------------------	---

Chapitre I : Etude bibliographique

I <i>Rosmarinus officinalis</i>	2
I-1 Généralités	2
I-2 Plantes médicinales.....	2
I-3 Phytothérapie	2
I-4 Généralité sur la famille des Lamiacées	2
I-5 Le Romarin	2
I-5-1 Description botanique	3
I-5-1-1 <i>Rosmarinus officinal</i>	3
I-5-1-2 <i>Rosmarinus tournefortii</i>	4
I-5-2 Taxonomie	4
I-5-3 Répartition géographique	4
I-5-4 Environnement de culture	5
I-5-5 Noms vernaculaires du <i>Rosmarinus officinal</i>	6
I-5-6 Composition chimique du <i>Rosmarinus officinal</i>	6
I-5-7 Utilisation du <i>Rosmarinus officinal</i>	8
1 En agroalimentaire	9
2 Usage médicinal	9
3 En cosmétique	9
II Extraction et métabolites secondaires.....	10
II-1 Extraction végétale	10

1 La décoction	10
2 L'infusion	10
3 La digestion	10
4 La macération	10
II-2 Métabolites secondaires des plantes médicinales	11
II-2-1 Composés phénoliques	11
II-2-2 Acides phénoliques	11
II-2-3 Flavonoïdes	12
II-2-4 Tanins	13
II-2-4-1 Tanins condensés	13
II-2-4-2 Tanins hydrolysables	13
II-2-5 Saponines	13
II-2-6 Alcaloïdes	14
II-2-7 Terpènes	14
II-3 Activité antioxydante	14
II-3-1 Radical libre	14
II-3-2 Stress oxydatif	14
II-3-3 Antioxydant	15
II-4 Activités biologiques.....	15
4-1 Activité antibactérienne	15

Chapitre II : Matériels et méthodes

I- Matériel.....	16
I-1 Matériel végétal	16
I-2 Présentation des régions de récolte.....	17
1- Ain Zaatout (Biskra)	17
2- Boghni (Tizi-Ouzou).....	17

II- Méthodes	18
II-1 Séchage.....	18
II-2 Broyage	18
II-3 Procédé d'extraction	19
II-4 Rendement d'extraction	22
II-5 Tests d'identification phytochimiques	22
II-5-1 Préparation des réactifs	22
1- Réactif de Mayer.....	22
2- Réactif de Libermann Burchardt	22
3- Le réactif d'amidon.....	23
II-5-2 Test pour les saponosides.....	23
II-5-3 Test pour les polyphénols	23
II-5-4 Test pour les Flavonoïdes	23
II-5-5 Test pour les tanins	23
II-5-6 Test pour les coumarines	24
II-5-7 Test pour les alcaloïdes	24
II-5-8 Test pour les stéroïdes et stérols	24
II-5-9 Test pour l'amidon.....	24
II-6 Dosage des métabolites secondaires	24
II-6-1 Dosage des phénols totaux.....	25
II-6-2 Dosage des flavonoïdes totaux.....	25
II-7 Identification des constituants des extraits par des méthodes spectroscopiques.....	26
II-7-1 Spectrophotométrie Ultraviolet-Visible (UV-Visible)	26
II-8 Mesure de l'activité antioxydante	27
II-8-1 Test de la réduction du fer (FRAP).....	27
II-8-2 Test de DPPH.....	28
II-9 Activité antibactérienne	29

1- Souches testées.....	30
2- Ré-isolément des souches bactériennes	30
3- Préparation de l'inoculum.....	30
4- L'ensemencement	30
5- Préparation de l'aromatogramme.....	31
6- Incubation et lecture.....	31

Chapitre III Résultats et discussion

1- Rendement d'extraction	32
2- Les tests phytochimiques	33
3- Dosage des polyphénols.....	34
4- Dosage des flavonoïdes	36
5- Identification des constituants des extraits par des méthodes analytiques	39
5-1 Spectrophotométrie Ultraviolet-Visible.....	39
6- Mesure de l'activité antioxydante	40
6-1 Effet du radical libre DPPH	40
6-2 Test de la réduction du fer (FRAP)	44
7- L'activité Antibactérienne	45
7-1 Effet antibactérien des extraits sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	45
7-2 Effets antibactériens des extraits sur <i>Escherichia coli</i>	46
7-3 Effets antibactériens des extraits sur <i>staphylococcus aureus</i>	46
7-4 Effet antibactérien des extraits sur <i>streptococcus pneumoniae</i>	47
Conclusion générale	49

Références bibliographiques



Introduction

Introduction:

Depuis la nuit des temps, les plantes ont fait partie de la vie quotidienne de l'homme dans toutes les civilisations et sur tous les continents pour se parfumer, cuisiner et surtout pour se soigner.

Les plantes médicinales sont riches en métabolites secondaires, notamment les composés polyphénoliques, qui sont à l'origine de nombreuses activités biologiques et thérapeutiques. C'est pour cela qu'elles sont considérées comme une source première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments.

L'Algérie possède une flore parmi les plus diversifiées et les plus riches du bassin méditerranéen. Environ 4000 espèces réparties sur près de 150 familles. Le romarin est un arbrisseau de la famille des lamiacées (Labiées) qui sont très répandues en Algérie. [1,2]

Le choix du Romarin (*Rosmarinus officinalis*), est motivé par sa large propagation et de sa grande utilisation en médecine traditionnelle en Algérie en raison de ses diverses propriétés thérapeutiques.

Dans ce contexte, l'objectif de cette étude comparative est l'identification et la quantification des composés phénoliques présents dans les extraits des feuilles et tiges de *Rosmarinus officinalis* des deux régions et d'évaluer leurs activités antioxydante et antibactérienne.

Le premier chapitre de ce mémoire est consacré à l'étude bibliographique qui comporte deux parties. La première partie présente la plante étudiée, la deuxième partie aborde les généralités et les définitions relatives à notre objet d'étude.

Le deuxième chapitre comprend le matériel et les méthodes ; La méthode d'extraction, la quantification des métabolites secondaires, l'évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne.

Le troisième chapitre est consacré aux résultats obtenus suivis des discussions. Et enfin une conclusion avec des perspectives.



Chapitre I

Etude bibliographique

I- *Rosmarinus officinalis*

I-1 Généralités

Depuis la plus haute antiquité, les hommes se sont soignés avec les plantes qu'ils avaient à leur disposition. Aujourd'hui encore, les deux tiers de la pharmacopée ont recours à leurs propriétés curatives. Les remèdes naturels, en particulier les plantes médicinales, sont la principale ou la seule promesse des remèdes oraux traditionnels. Elles peuvent même être utilisées comme matière première dans la médecine moderne. [13]

I-2 Plantes médicinales

Les plantes médicinales regroupent l'ensemble des plantes dont un ou plusieurs de leurs organes sont utilisés pour leurs effets thérapeutiques. Il peut s'agir de la tige, des feuilles, de l'écorce ou encore des racines qui sont employées à des fins curatives. [12]

I-3 Phytothérapie

La phytothérapie désigne l'usage que l'on peut faire des plantes sous différentes formes (infusions, décoctions, macérations,..) dans un but thérapeutique, préventif ou curatif, mais également esthétique. [7]

I-4 Généralités sur la famille des Lamiacées

C'est une famille très homogène qui, comprend environ 7000 espèces. Dont l'aire de répartition est vaste avec une prépondérance dans les régions méditerranéennes et spécialement en Algérie, dont elle comprend plus de 3300 espèces et environ 200 genres. [1.2]

Thym, Lavande, Romarin sont des Lamiacées caractéristiques de la flore des garrigues. Les Lamiacées sont rares dans les montagnes et les régions arctiques. Elles sont utilisées en pharmacie et parfumerie ; dans l'alimentation en tant qu'aromates.

I-5 Le Romarin

Le romarin est un arbrisseau très aromatique de la famille des Labiées qui peut fleurir toute l'année. Il est aussi connu sous les noms de Rose marine, ou Encensier, cultivé depuis l'antiquité comme plante médicinale et condimentaire.[10]



Figure 01 : Le Romarin de Boghni au mois de Mars (photo originale)

I-5-1 Description botanique

Le romarin peut atteindre jusqu'à 2 mètre de hauteur, il est facilement reconnaissable en toute saison ; Il possède des feuilles persistantes, sessiles, étroites à bords retournés. Elles sont vertes chagrinées sur la face supérieure et tomenteuses blanchâtres sur le dessous. La floraison commence dès le mois de février, (ou janvier parfois) et se poursuit jusqu'au avril – mai. [10]

La couleur des fleurs varie du bleu pâle au violet ; Il existe plusieurs espèces de romarin dans le monde : *R. officinallis*, *R. tournefortii*, *R. laxiflorus* et *R. lavandulaceus*. [5]

R. officinallis est la seule espèce qui croît naturellement dans les pays du bassin méditerranéen.

I-5-1-1 *Rosmarinus officinalis*

Cette espèce se distingue par une inflorescence et calice à pilosité pruinuse très courte constituée par des poils étroitement appliqués. Inflorescences en épis très courts, à bractées squamiformes de 1-2 mm, rapidement caduques. [23]

I-5-1-2 *Rosmarinus tournefortii*

Cette espèce se distingue par une inflorescence et calice à pilosité double, l'une courte et visibles à l'œil nu, l'autre constituée par de longs poils dressés glanduleux au sommet. Inflorescences plus longues que chez *R. officinalis*, à bractées amples cordiformes, longues de 3-4 mm. De plus, *R. Tournefortii* possède des feuilles plus petites (5 à 15 mm de long et moins de 2 mm de large) avec des pédoncules floraux à poils denses. Cette espèce est également connue pour avoir une croissance lente avec des hauteurs généralement de 25cm et qui n'excèdent jamais 1m donnant ainsi à la plante un aspect prostré. [23]

I-5-2 Taxonomie

La classification botanique complète du genre *Rosmarinus* n'a été achevée qu'au début du 20^e siècle en raison de l'extrême variabilité des espèces. Le romarin appartient à la deuxième série de la famille des Labiées ou Lamiacées qui en compte six. [17]

La systématique du romarin est la suivante :

Règne : Plantae (végétal)

Phylum : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae (Labiatae)

Genre : *Rosmarinus*

I-5-3 Répartition géographique

Le romarin est spontané dans toute la région méditerranéenne (Maroc, Algérie, Tunisie, Libye, France, Espagne, Portugal, Grèce, Turquie et Italie). Cependant, étant donné qu'il est cultivé depuis l'antiquité, on le retrouve dans de nombreux pays d'Europe et d'Asie notamment l'Inde, les Philippines, les Antilles, l'Australie, les Etats-Unis. [21]

Le romarin possède une aire géographique très vaste, il pousse sur tous types de terrains avec une préférence pour les sols calcaires, argileux, argileux-limoneux, situé dans les endroits ensoleillés, chauds, secs et abrités du vent.

R. officinalis est répandu sur la plupart des maquis, garrigues et rivages marins alors que le *R. tournefortii* est plus apte à se développer sur les rocailles jusqu'à 1500 m d'altitude. [23]

I-5-4 Environnement de culture

Le Romarin peut pousser dans diverses conditions. Cependant, certains types de sol (**Figure 2**) lui sont plus favorables ainsi que certaines conditions climatiques (**Figure 3**).

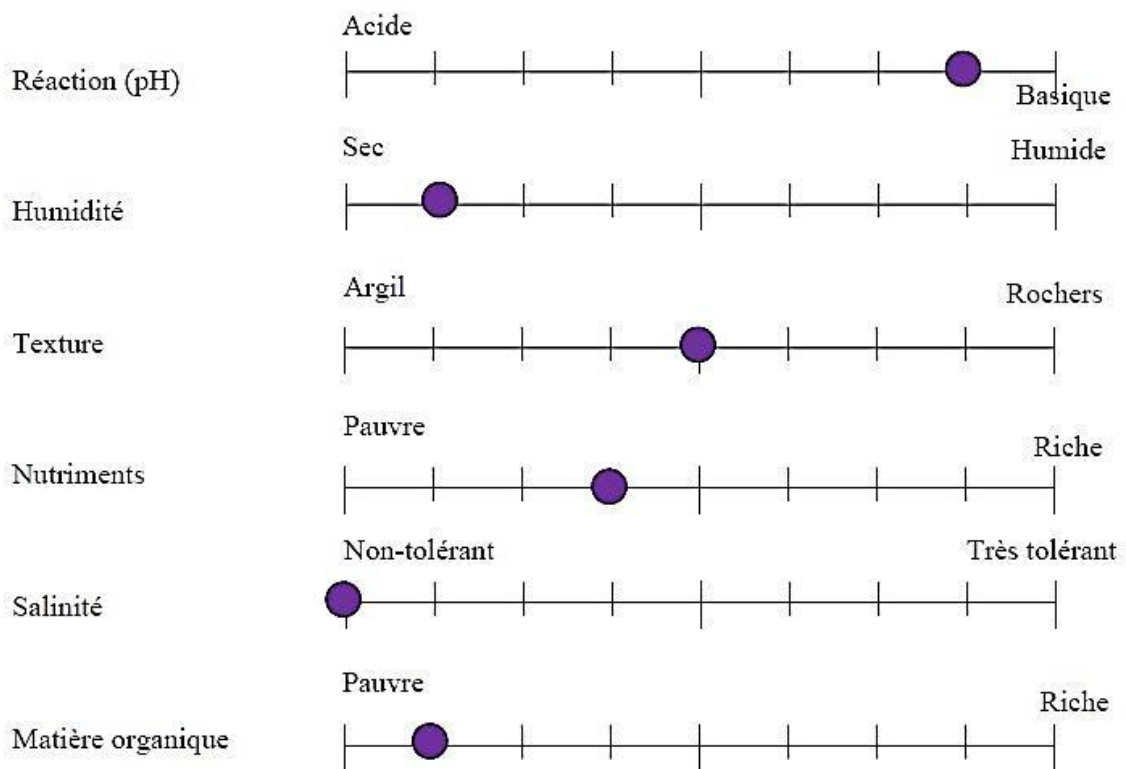


Figure 02 : Caractéristique de sols favorables pour le Romarin [10]

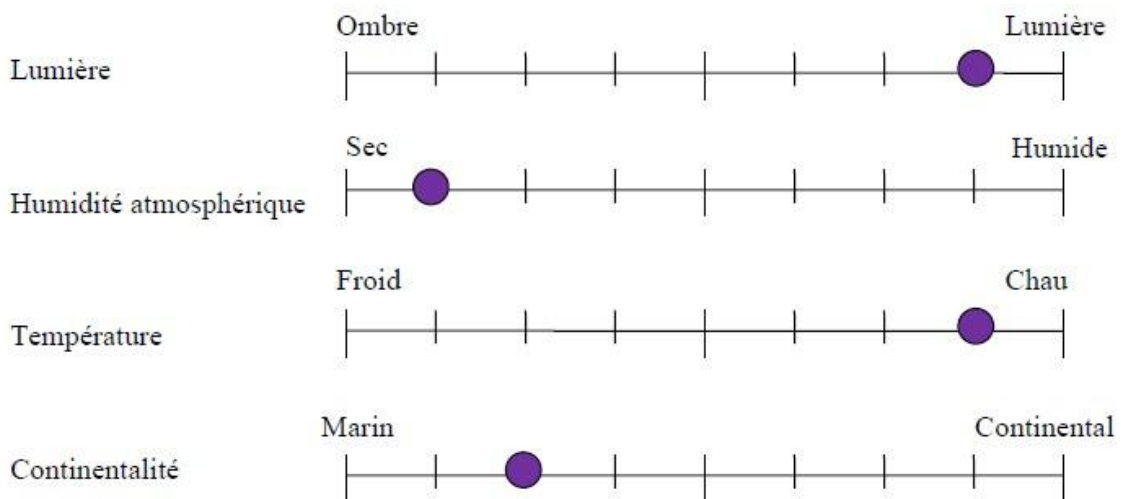


Figure 03: Caractéristiques climatiques favorables pour le Romarin [10]

Le Romarin peut croître même sur des terrains non adaptés à une exploitation agricole, il a donc peu d'exigences vis-à-vis du sol. Il a une préférence pour des sols argileux ou sablonneux, étant situés dans des endroits secs, chauds.

I-5-5 Noms vernaculaires du *Rosmarinus officinal* :

En français : Romarin

En Anglais : Rosemary

En Espagnol: Romero

En Arabe: Iklil El-Jabal اكليل الجبل

En Darija Algérien : Klil

En berbère : Kabyle : Mzir / Amezir

Chaoui : Azir

I-5-6 Composition chimique du *Rosmarinus officinal* :

La composition chimique de la plante dans son ensemble dépend du lieu de croissance ainsi que la période de la récolte.

La **figure 4** présente la composition du romarin en plus des propriétés thérapeutiques correspondantes de ses composants.

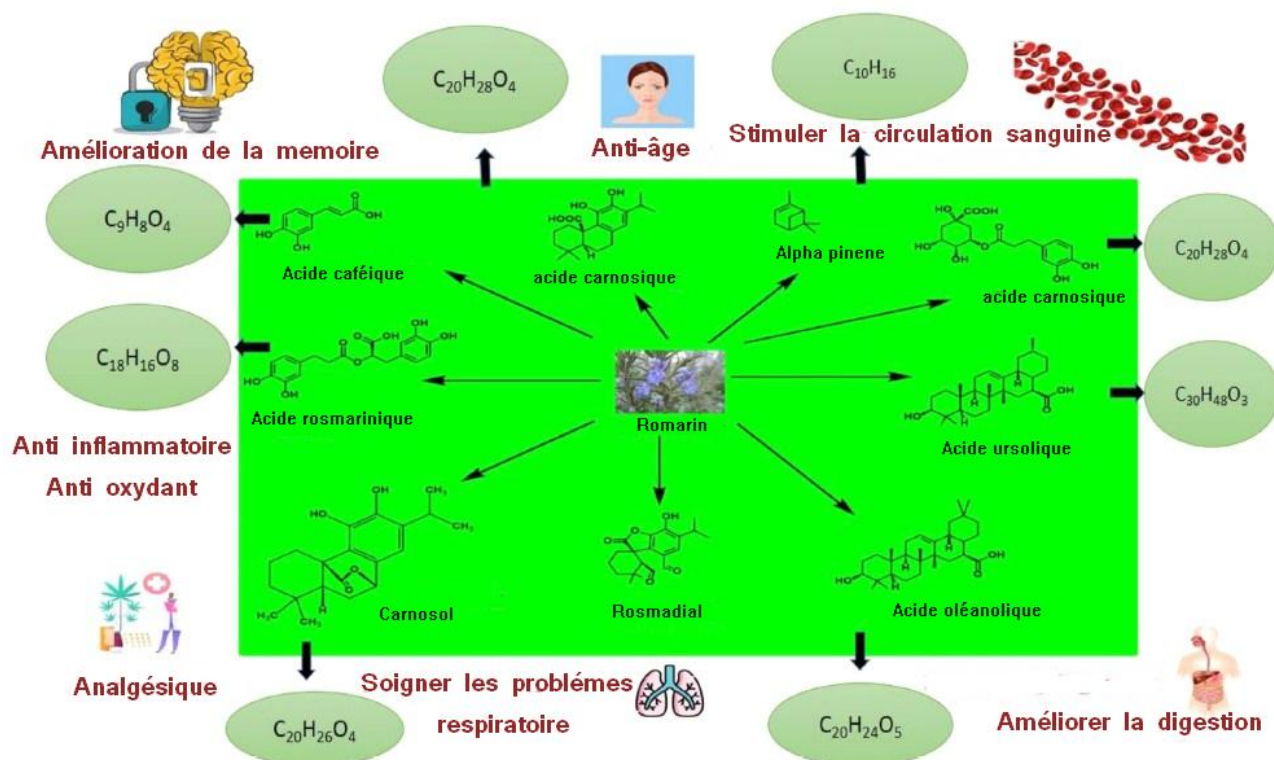


Figure 04 : Composition et propriétés thérapeutiques du Romarin [21]

Les différents composés et leurs pourcentages sont représentés dans le tableau 1.

Tableau 01 : La composition chimique des feuilles de la plante de *Rosmarinus officinalis*[4]

Composés	Molécules
Acides phénols	<ul style="list-style-type: none"> - acide rosmarinique 1,7-2,83% en moyenne -acide caféique (aucune valeur précisée) associé avec l'acide chlorogénique
Diterpènes phénoliques tricycliques	<ul style="list-style-type: none"> - acide carnos(ol)ique ≈ 0,35% - carnosol = picrosalvine (Valeur variable, jusqu'à 4,6% ou majoritaire) -rosmanol - rosmadiol

Triterpènes	-acide ursolique : 2-4% en moyenne et 5% de dérivés de l'acide ursolique - acide oléanolique ≈ 10% - α- et β-amyrines
Flavonesméthylées	- lutéoline -genkwanine

I-5-7 Utilisation

Le romarin est souvent cultivé pour son huile aromatique et considérée utile pour contrôler l'érosion du sol. [36]

Dans la médecine traditionnelle, ses parties aériennes sont utilisées par voie orale pour soulager la colique rénale, les dysménorrhées et comme antispasmodique.

En Algérie, le romarin est traditionnellement utilisé comme antispasmodique, antirhumatismale, stimulant et antiseptique (**tableau 02**).

Wilaya	Partie utilisée	Utilisation en médecine traditionnelle	Mode d'emploi
Biskra	Toute la partie aérienne	Rhumatisme-Douleurs stomacales – Défaillance de foie	Tisane
Khenchela	Feuilles	Maladies du cœur – Estomac – jaunisse	Infusion
Bouira	Feuilles	Douleurs stomacales	Infusion
Ain – Temouchent	Toute la partie aérienne	Asthénie – Cellulite – Frigidité – Migraine – Œdème – Surmenage – Dépression nerveuse – Entorse – Foie – Impuissance	Infusion Inhalation Massage Embrocation
Nâama	Rameaux et fleurs	Antispasmodique et antiseptique	Infusion et bain

Tableau 02 : L'utilisation du Romarin en médecine traditionnelle en Algérie [23]

1- En Agroalimentaire

Le romarin est une bonne source naturelle de composés antioxydants. Il est largement utilisé dans l'industrie alimentaire pour prévenir une éventuelle dégradation oxydative et microbienne des aliments.

2- Usage médicinal

Le romarin entre dans la composition de plusieurs spécialités destinées à être utilisées en inhalation afin de dégager les voies respiratoires en cas de rhume ou sinusite.

Il possède d'autres intérêts médicaux, pour les traitements digestif (lenteurs de digestion, ballonnements, éructations ou encore les flatulences) par voie orale. [26]

En usage local, le romarin est aussi utilisé pour l'hygiène buccale.

3- En cosmétique

Le romarin a des propriétés dermo-purifiantes qui lui permette l'utilisation dans la préparation de déodorants, il entre dans la composition de plusieurs crèmes à cause de ses propriétés anti-âge.

II- Extraction et métabolites secondaire

II-1 Extraction végétale

L'extraction végétale est un procédé visant à extraire certains constituants présents dans les plantes. C'est une opération de séparation solide/liquide : un corps solide (le végétal) est mis en contact d'un fluide (le solvant).

Les composés d'intérêts végétaux sont alors solubilisés et contenus dans le solvant. Le solvant sera ensuite éliminé afin d'isoler l'extrait végétal. [8]

Parmi les techniques d'extractions classiques, on retrouve :

1- La décoction :

Dissolution dans l'eau en ébullition. Elle s'applique généralement aux parties les plus dures des plantes

2- L'infusion :

Le solvant bouillant est versé sur le solide puis mis à refroidir.

3- La digestion :

La phase de contact est maintenue à une température intermédiaire aux deux premiers cas.

4- La macération :

La plante est laissée à tremper à température ambiante, en vase clos, dans un endroit sombre et frais. Dans la plupart des cas, le solvant utilisé est un mélange d'eau et d'alcool pour prévenir la fermentation et/ou la détérioration.

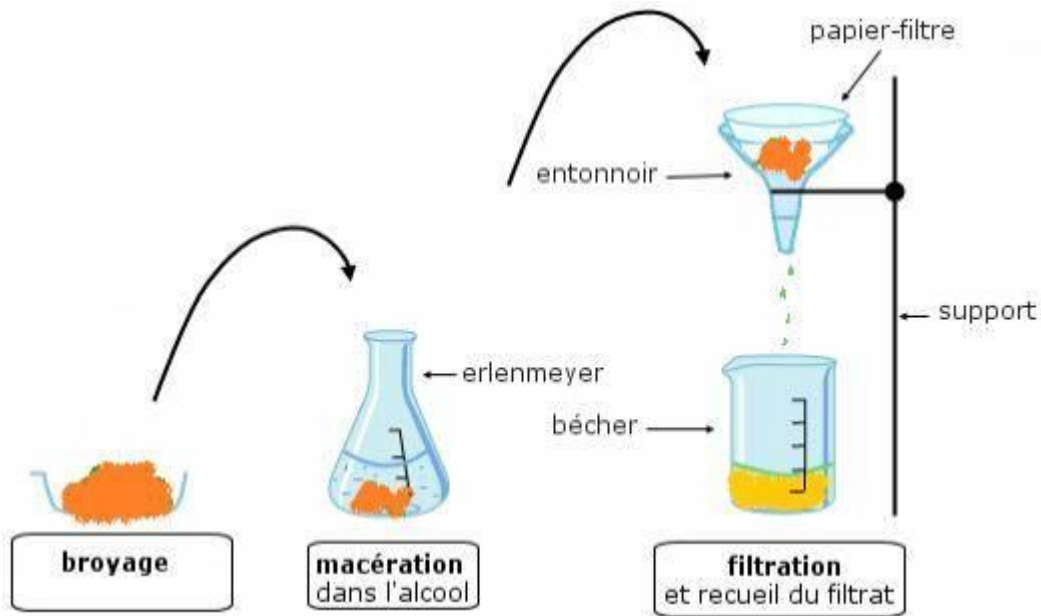


Figure 06 : La macération

II-2 Métabolites secondaires des plantes médicinales

II-2-1 Composés phénoliques

L'appellation « polyphénols » ou « composés phénoliques » regroupe un vaste ensemble de plus de 8000 molécules. Ce sont des métabolites dits secondaires, car elles n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance ou la reproduction. Ils sont présents dans tous les organes de la plante.

D'un point de vue structural, les polyphénols se caractérisent par la présence d'un noyau aromatique contenant un ou plusieurs substituants hydroxyles, incluant différents groupes fonctionnels dérivés (esters, glycosides, etc.). [28]

Il existe de nombreuses classes de polyphénols : quinones, coumarines, acides phénoliques, flavonoïdes, tannins,...

II-2-2 Phénols et acides phénoliques

Les acides phénoliques sont tous des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique.

Deux classes d'acides phénoliques peuvent être distinguées ; Les dérivés de l'acide benzoïque (composés en C6-C1) tel que l'acide gallique élément constitutif des tanins

hydrolysables ou les dérivés de l'acide cinnamique (composés en C6-C3) comme l'acide caféique qui sont souvent estérifiés. [30]

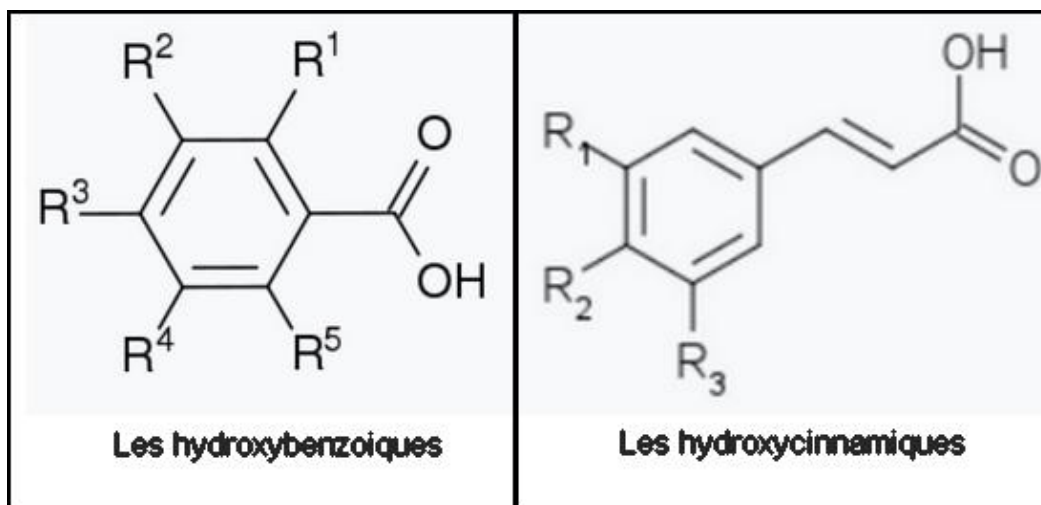


Figure 07 : Les classes d'acides phénoliques [30]

II-2-3 Flavonoïdes

Ce sont des molécules largement distribuées dans le règne végétal. Ils sont responsables de la couleur variée des fleurs et des fruits et parfois des feuilles, et représentent une source importante d'antioxydants et d'anti inflammatoires.

Les flavonoïdes possèdent un squelette de base à 15 atomes, de conformation de la structure centrale différente. On distingue alors : les flavones, les flavonols, les flavonones, Flavan-3-ols, isoflavones. [14]

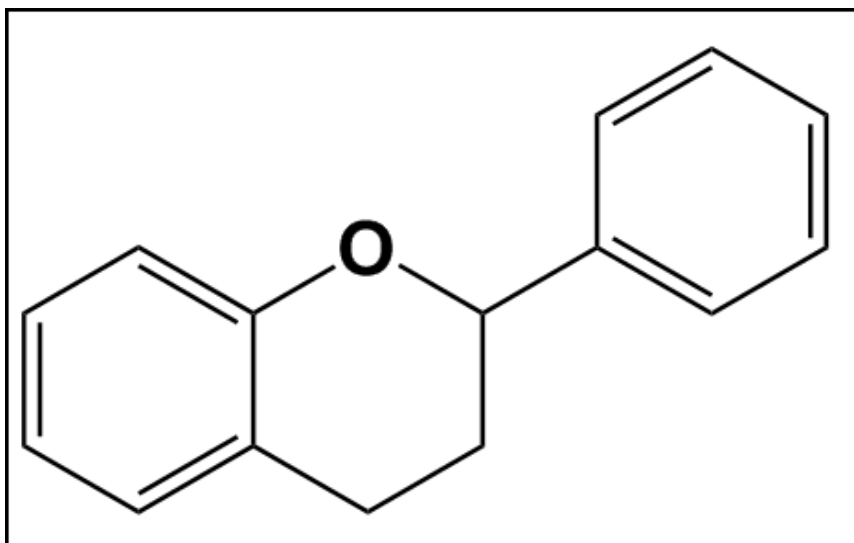


Figure 08 : Structure de base des flavonoïdes [14]

II-2-4 Les tannins

Les tannins sont des composés polyphénoliques que l'on trouve dans de nombreux végétaux tels que les écorces d'arbre et les fruits (raisin, dattes, café, cacao...). Ils sont solubles dans l'eau, avec des poids moléculaires très élevés (500-3000 Da). [32]

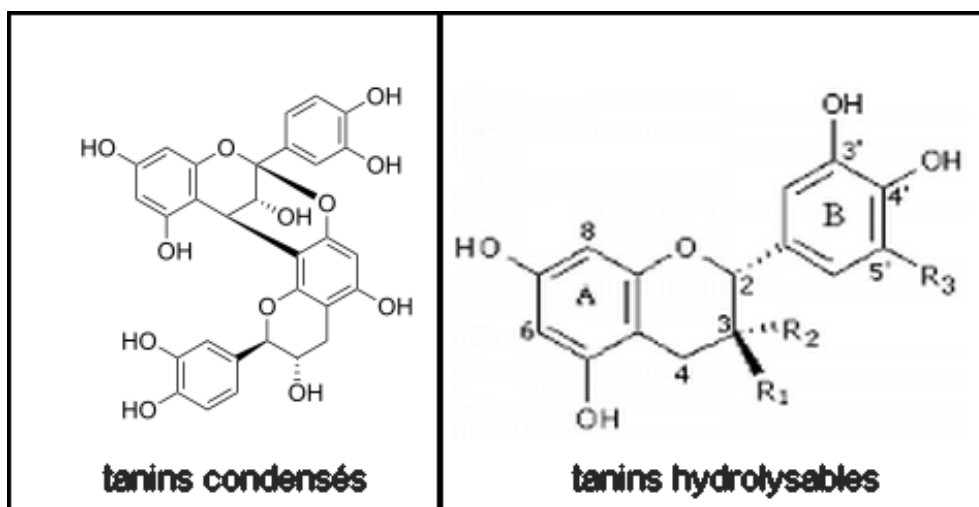
Les tanins sont divisés en deux groupes :

II-2-4-1 Tanins condensés (catéchiques)

Ce sont des polyphénols de masses molaires élevées. Ils sont constitués des unités de flavane-3-4-diols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone de type C4-C8, ou de type C4-C6. [32]

II-2-4-2 Tanins hydrolysables (galliques)

Ces tanins sont des dimères d'acide gallique concentré sur des dérivés glycolyse, ils comprennent l'acide gallique et ses dimères hexahydroxybiphényle. Comme son nom l'indique, ces tanins subissent facilement une hydrolyse acide et alcaline. [32]



II-2-5 Saponines

Les saponines sont rencontrées chez de nombreux végétaux qui doivent leur nom au fait qu'elles moussent en solution aqueuse. Elles sont constituées d'un groupe aglycone de nature triterpéniques ou stéroïdique et d'une ou plusieurs chaînes glycosidiques [31]

II-2-6 Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés organiques le plus souvent d'origine végétale. Ils sont basiques, azotés, généralement hétérocycliques, peu solubles dans l'eau et très solubles dans les solvants organiques. Ils sont fortement toxiques et ils donnent des poisons, mais à faibles doses ils donnent des propriétés pharmacologiques marquées.

II-2-7 Les terpènes

Les terpènes sont classés dans la catégorie des métabolites secondaires. Leur classification est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène (à 5 atomes de carbone). On distingue : les monoterpènes en C 10, les sesquiterpènes en C15, les diterpènes en C 20, les triterpènes en C30 et tétraterpènes en C 40.

Ils constituent le principe odoriférant des végétaux. Leur odeur est due à la libération des molécules très volatiles [13]

II-3 Activité antioxydante

L'activité antioxydante d'une substance correspond à sa capacité de prévenir le processus d'oxydation causé par les oxydants. La plupart des antioxydants ont des groupes hydroxyles phénoliques dans leurs structures, et leurs propriétés antioxydantes sont en partie attribuées à la capacité de ces composés naturels à piéger et à naturaliser les radicaux libres.

II-3-1 Radical libre

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se ré-apparier, déstabilisant ainsi d'autres molécules. [22]

II-3-2 Le stress oxydatif

Le stress oxydatif ou oxydant est défini comme un déséquilibre de la balance entre les systèmes de défenses antioxydants et les oxydants. Il peut se produire en raison de la surproduction d'oxydants ou la diminution de la défense antioxydante. [33]

L'accumulation d'antioxydants dans l'organisme cause l'apparition de dégâts cellulaires et tissulaires souvent irréversibles dont les cibles biologiques les plus vulnérables sont les protéines et les lipides.

II-3-3 Antioxydant

Un antioxydant est défini comme étant toute substance présente en faible concentration par rapport à un substrat oxydable et qui est capable de ralentir ou inhiber l'oxydation de ce substrat.

L'antioxydant peut agir par de nombreux mécanismes différents, qui peuvent être l'élimination direct de l'oxygène, le piégeage des espèces oxygénées ou azotées réactives (ROS et RNS) et l'inhibition de la formation de ces ROS et RNS. [33]

II-4 Activités biologiques

Les plantes médicinales contiennent de nombreuses fonctions chimiques qui ont diverses activités biologiques. Comme les activités antioxydante, analgésique, antivirale, antibactérienne, et antifongique.

II-4-1 Activité antibactérienne

Les bactéries et les virus sont les principales causes de maladies qui existent dans l'environnement. Par conséquent, les agents antibactériens ont été développés pour l'objectif de tuer les populations microbiennes ou d'inhiber leur croissance.

L'activité antibactérienne ou antibiotique fait donc référence à la capacité d'une substance à agir sur les micro-organismes nocifs principalement dans le corps humain. [33]



Chapitre **II**

Matériels et méthodes

Chapitre II : Matériels et méthodes

Ce travail a été réalisé au laboratoire de Chimie Pharmaceutique au département de chimie de l'université de Tizi-Ouzou.

I- Matériel

I-1 Matériel végétal

Les parties aériennes de la plante *Rosmarinus officinalis* des deux régions (Biskra et Tizi-Ouzou) ont été récoltées au mois de Mars 2022.

L'identification botanique a été faite par M^{me} BEN SMAÏL enseignante au sein du département de biologie de la faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques de l'UMMTO.

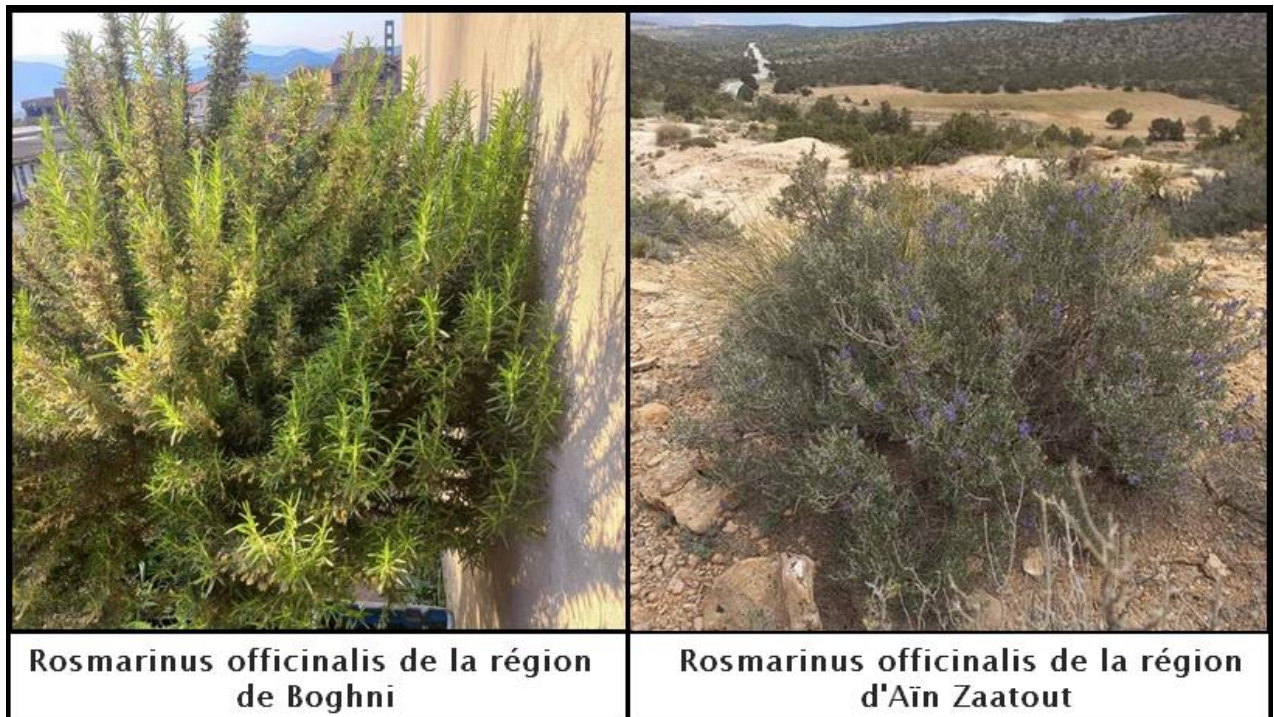


Figure 10 : *Rosmarinus officinalis* des deux régions (photos originales)

I-2 Présentation des régions de récolte

1- Aïn Zaatout (Biskra)

Aïn Zaatout est une commune de la wilaya de Biskra, située à latitude 35,14°Nord et longitude 5,83°Est au sud du massif montagneux des Aurès de l'Atlas Saharien algérien, à une altitude de 830 mètres au-dessus du niveau de la mer et caractérisé par un sol calcairisé.

Aïn Zaatout est situé à 50 Km au Nord de la wilaya de Biskra, aux limites territoriales Biskra-Batna.



Figure 11 : Carte géographique de la région d'Aïn Zaatout

2- Boghni (Tizi-Ouzou)

Boghni est une commune de la wilaya de Tizi-Ouzou située à environ 38 km au sud-ouest de Tizi-Ouzou, à une altitude de 250 mètres au-dessus du niveau de la mer à 15 km à l'ouest d'Ouadhia et à 13 km à l'est de Draâ El Mizan, aux limites territoriales Tizi-Ouzou-Bouira. A Boghni. Elle est caractérisée par un sol argileux.

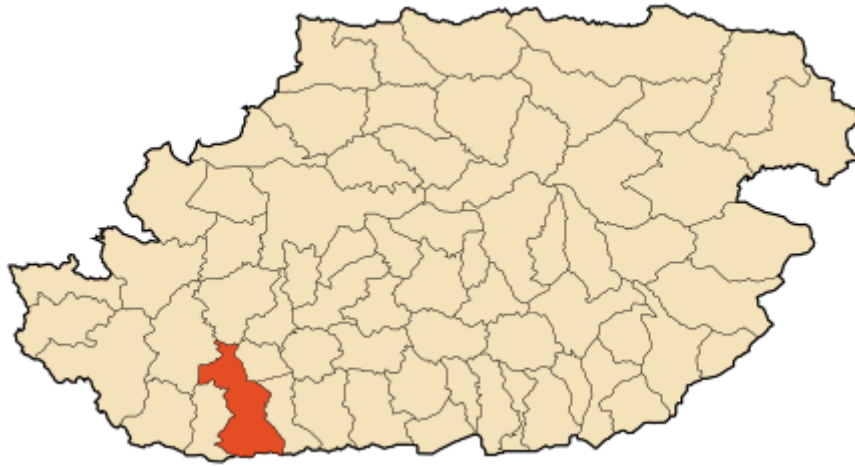


Figure 12 : Carte géographique de la région de Boghni

II- Méthodes

II-1 Séchage

Le séchage de la plante a été réalisé dans un endroit sec, à l'air libre et à l'abri de la lumière pendant deux semaines.



Figure 13 : Séchage du *Rosmarinus officinalis* (photo originale)

II-2 Broyage

Les feuilles et les tiges sèches ont été coupées et concassées manuellement. Elles ont été broyées ensuite à l'aide d'un moulin à café électrique pour diminuer leurs tailles et augmenter la surface de contact avec le solvant.



Figure 14 : Feuilles et tiges des deux régions de *R. Officinalis* broyés (photo originale)

II-3 Procédé d'extraction

L'extraction par macération dans le méthanol aqueux a été effectuée selon le protocole décrit par *Hamia et al.* (2014)[34] avec des petites modifications.

Le protocole de la macération est le suivant :

- 100g de chaque organe végétal broyé (feuilles, tiges) de chaque région sont placés dans quatre erlenmeyers contenant chacun 1000 ml d'eau-méthanol (30/70) puis laissés macérer pendant 24h à température ambiante. [34]
- Filtration des macéras à l'aide d'un papier WATTMAN et récupération des filtrats dans des erlenmeyers. Cette opération a été effectuée trois fois.



Figure 15 : Macération, filtration et récupération des filtrats de *R. officinalis* (photos originales)

Chapitre II : Matériels et méthodes

- Ajout de 200ml d'hexane aux filtrats récupérés puis élimination de la phase hexanique qui contient des corps gras par décantation et récupération de la phase eau/méthanol. L'opération a été effectuée trois fois.
- Elimination du méthanol par évaporation sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif réglé à une température de 60°C.
- Ajout du dichlorométhane (150ml) aux extraits aqueux pour éliminer les pigments (chlorophylle, etc.), et séparation des deux phases (aqueuses et dichlorométhaniques) des extraits par décantation et récupération des phases aqueuses. Cette opération a été effectuée trois fois.



Figure 16 : Procédé de décantation (photo originale)

- Elimination de l'eau par évaporation à l'aide d'un évaporateur rotatif réglé à une température de 75°C sous pression réduite et récupération des extraits (extraits polyphénoliques allant faire l'objet de notre étude) dans des boîtes de pétri en verre.

II-4 Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est le rapport entre la masse de la matière végétale sèche et la masse de l'extrait brut obtenue.

Le rendement d'extraction est calculé par la formule suivante ;

$$R(\%) = \frac{ME}{MS} \times 100$$

Avec:

R: le rendement en %.

ME : la masse de l'extrait brut en g.

MS : la masse sèche de l'échantillon végétal en g.

II-5 Tests d'identification phytochimiques

II-5-1 Préparation des réactifs

1- Réactif de Mayer

Chlorure de mercure 1.36g.

Iodure de potassium 5g.

Eau distillée QSP 100ml.

Dissoudre 1.36g de HgCl₂ dans 60ml d'eau distillée.

Dissoudre 5g de KI dans l'eau distillée QSP 100 ml.

Mélanger les deux solutions puis ajuster le volume jusqu'à 100ml d'eau. [35]

2- Réactif de Libermann Burchardt

1,8 ml anhydride acétique concentré (C₄H₆O₃).

0.2 ml d'acide sulfurique concentré (H₂SO₄) [35] .

3- Le réactif d'amidon

Dissoudre 1.2g d'iode (I_2) dans 50ml d'eau distillée contenant 2.5g d'iode de potassium(KI) ensuite chauffer le mélange pendant 5minutes.

Ajuster le volume jusqu'à 500ml avec de l'eau distillée.

II-5-2 Test pour les saponosides

Traiter l'extrait sec avec de l'eau bouillante, laisser refroidir puis agiter fortement pendant 15sec jusqu'à formation d'une mousse. Laisser reposer pendant 10min. [9]

Pas de mousse = test négatif

1cm de mousse = faiblement positif

Mousse de 1 à 2cm = très positif

Mousse plus de 2cm = extrêmement positif

II-5-3 Test pour les polyphénols

La réaction au chlorure ferrique ($FeCl_3$) a permis de caractériser les polyphénols.

Ajouter une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2%, à 2ml de chaque extrait hydro-méthanolique.

L'apparition d'une coloration bleu-noirâtre ou verte plus ou moins foncée indique la présence des polyphénols. [30]

II-5-4 Test pour les flavonoïdes

Quelques gouttes d'HCl concentré sont mises en contact avec 5ml de l'extrait méthanolique. Ensuite, 3 copeaux de magnésium sont ajoutés.

La présence des flavonoïdes est déterminée par la formation d'une couleur rouge pour les flavonols, orange pour les flavones et violet pour les flavonones. [25]

II-5-5 Test pour les tanins

2ml de chaque extrait aqueux a été ajouté à 0.5ml de $FeCl_3$ à 1%.

La présence de tanins est dévoilée par l'apparition d'une coloration verdâtres ou brune (tanins catéchiques) ou bleu noir (tanins galliques). [25]

II-5-6 Test pour les coumarines

Verser 3ml de NaOH à 10% dans l'extrait aqueux.

La présence des coumarines est détectée par l'apparition d'une couleur jaune. [24]

II-5-7 Test pour les alcaloïdes

10mg d'extrait est dissout dans 1.5 ml de HCL à 2% ensuite 1 à 2 gouttes du réactif de Mayer sont ajoutées à la solution obtenue.

La présence d'alcaloïdes est indiquée par la formation d'un précipité blanc jaunâtre. [24]

II-5-8 Test pour les stéroïdes et stérols

10mg d'extrait brut est dissout dans 0.5 ml d'anhydride acétique et 0.5ml de chloroforme, puis traiter le filtrat avec le réactif de Libermann Burchardt.

Les stéroïdes donnent avec cette réaction une coloration violacée fugace virant au vert. D'autre part, cette réaction donne avec les hétérosides stéroïdiens et tri-terpéniques respectivement des colorations bleue et verte violette. [24]

II-5-9 Test pour l'amidon

5ml de l'extrait est traité avec le réactif d'amidon.

La présence d'une coloration bleue violacée indique la présence d'amidon. [30]

II-6 Dosage des métabolites secondaires

Les dosages nous permettent de quantifier les métabolites secondaires présents dans nos extraits. Ces métabolites sont à l'origine de nombreuses propriétés thérapeutiques telles que l'activité antioxydante et l'activité antibactérienne.

II-6-1 Dosage des phénols totaux

Principe

Le principe de dosage des phénols totaux repose sur les capacités réductrices des complexes ioniques polymériques formés à partir des acides phosphomolybdiques et phospho-tungstique (réactif de Folin-Ciocalteu) par les composés phénoliques. Il en résulte la formation d'un complexe bleu qui accompagne l'oxydation des composés phénoliques et qui est stabilisé par l'addition de carbonate de sodium (NaCO_3) ; Le dosage des phénols totaux est effectué par la comparaison de l'absorbance observée à celle obtenue par un étalon d'acide gallique de concentration connue (1mg/ml). [22]

Mode opératoire

Un volume de 0.5 ml de chaque extrait de *Rosmarinus officinalis* est introduit dans des tubes à essais, contenant 0.5 ml du réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois. Après un repos de 3min, 0,8 ml de carbonate de sodium Na_2CO_3 à 7.5% est additionné. Les tubes sont agités et conservés durant une heure à une température ambiante et à l'abri de la lumière.

L'absorbance est mesurée à 760 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif. [22]

II-6-2 Dosage des flavonoïdes Totaux

Principe

La teneur en flavonoïdes des extraits a été déterminée en utilisant la méthode colorimétrique avec l'acétate de sodium, La couleur jaune de la solution apparaît lors de la formation d'un complexe flavonoïde- AcONa .

L'acétate de sodium est une base faible, ionise les hydroxyles phénoliques les plus acides des flavonoïdes. [24]

Mode opératoire

0.5ml de chaque extrait hydro-méthanolique a été mélangé séparément avec 1,5ml de méthanol, 0,1ml d'acétate de sodium et 2,8ml d'eau distillée et laissé incubé à température ambiante pendant 30min. L'absorbance du mélange réactionnel a été mesurée à 415nm.

La courbe d'étalonnage a été préparée dans les mêmes conditions que celles des extraits en utilisant la quercétine (qui est un flavonoïde de référence) à des concentrations allant de 0.06 à 1mg/ml. Les teneurs en flavonoïdes totaux sont exprimées en termes de masse en quercétine équivalent sur une masse de l'extrait polyphénolique brut. [24, 25]

II-7 Identification des constituants des extraits par des méthodes spectroscopiques

II-7-1 Spectrophotométrie Ultraviolet-Visible (UV-Visible)

La spectrophotométrie d'absorption moléculaire étudie les variations de transmission de radiations électromagnétiques résultant d'une absorption photonique par des molécules absorbantes. Elle fait appel à la loi de Beer-Lambert qui établit la relation entre l'absorbance, la concentration et la longueur de la solution de la cuve.

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \epsilon \cdot L \cdot C$$

Avec :

A : absorbance

I₀ : intensité du faisceau incident

I : intensité du faisceau transmis

ε : coefficient d'extinction molaire (l.mol⁻¹.cm⁻¹)

C : concentration (mol.l⁻¹)

L : épaisseur de la cellule (cm)

L'identification des constituants des extraits a été réalisé avec un spectrophotomètre de type SHIMADZU UV-1900 i.

Un spectre est enregistré à partir d'une solution hydro-éthanolique (50/50) des extraits (feuilles, tiges) des deux régions, à concentration de 0.02mg/ml, disposée en cuve de quartz d'un centimètre d'épaisseur, en effectuant un balayage de 200nm à 900nm.



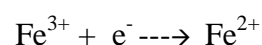
Figure 17 : Spectrophotomètre SHIMADZU UV-1900 i (photo originale)

II-8- Mesure de l'activité antioxydante

II-8-1 Test de la réduction du fer (FRAP)

L'activité réductrice d'un extrait est évaluée par la réaction d'oxydoréduction entre l'extrait et les ions métalliques de transition, notamment le fer.

Le ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ fournit des ions Fe^{3+} qui seront réduits en Fe^{2+} par les antioxydants présents dans l'extrait végétal.



Le pouvoir réducteur est déterminé en se référant à une courbe d'étalonnage préparée en utilisant l'acide ascorbique dans les mêmes conditions à celles des extraits. [16]

Mode opératoire

2.5ml de chaque dilution (extraits et acide ascorbique) est mélangé avec 2,5ml d'une solution tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 2,5ml d'une solution de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ à 1%.

L'ensemble est incubé au bain-marie à 50°C pendant 20min ensuite, 2.5ml d'acide trichloracétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction et les tubes sont centrifugés à 5000 tr/min pendant 10min.

Un aliquot (5ml) de surnageant est combinée avec 5ml d'eau distillée et 1ml d'une solution aqueuse de $FeCl_3$ à 0,1%

La détermination de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par du méthanol/eau.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard, l'acide ascorbique, dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons.

Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés. [16]

II-8-2 Test de DPPH

Principe

Le composé chimique 2,2- diphényl -1-picrylhydrazyle (DPPH) possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. Du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères et restent dans leur forme monomère relativement stable à température ordinaire. La délocalisation provoque aussi la couleur bleue violette bien caractéristique de la solution de DPPH. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration bleue violette due à une recombinaison des radicaux DPPH, mesurable par spectrophotométrie à 515-518 nm. En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH (2.2 diphényl- 1- picrylhydrazyle) de couleur bleue violette se réduit en 2,2 diphényl -1- picryl hydrazine de couleur jaune. [20]

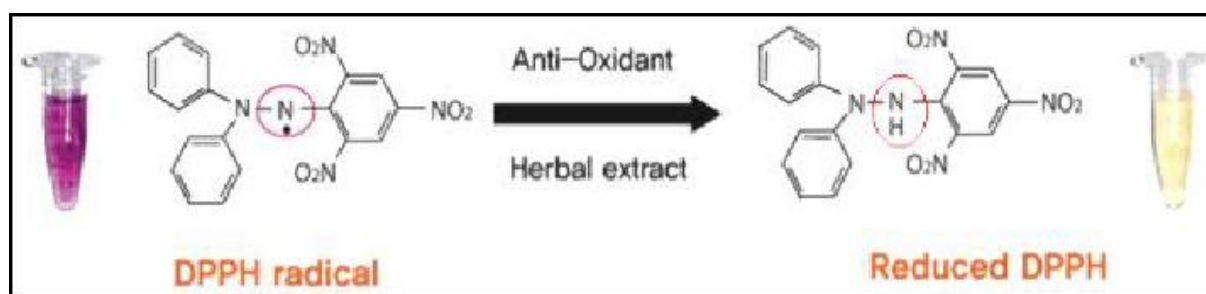


Figure 18 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH [35]

Mode opératoire

0.3 ml de chaque solution éthanolique à différentes concentrations (1,0.75, 0.5, 0.25, 0.125 et 0.06 mg/ml) sont ajoutés à 4,2 ml de la solution éthanolique de DPPH (0,027g/l).

Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 0.3 ml de l'éthanol avec 4.2 ml de la solution éthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc à 515nm après 30 min d'incubation à l'obscurité à température ambiante.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard, l'acide ascorbique, dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration.

Le test est répété trois fois. Les résultats ont été exprimés en pourcentage de réduction de DPPH (PI%).

$$PI\% = [(Abs\ contrôle - Abs\ test)/Abs\ contrôle] \times 100$$

Les valeurs des concentrations pour inhiber ou réduire 50% de la concentration initiale du DPPH (IC50) ont été déterminées graphiquement. [20]

II-9- Activité antibactérienne

L'étude de l'activité antibactérienne a été faite au laboratoire de microbiologie de C.H.U Nadir Mohammed de Tizi-Ouzou.

Mode opératoire

La technique choisie est l'antibiogramme par diffusion de disques, utilisée pour étudier l'interaction entre les extraits polyphénoliques des deux organes (feuilles, tiges) de

Chapitre II : Matériels et méthodes

Rosmarinus officinalis des deux régions avec les espèces bactériennes en inhibant la croissance de celles-ci. [19]

1- Souches testées

Les souches bactériennes sur lesquelles l'activité antibactérienne a été évaluée sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau 03 : Les bactéries utilisées

<i>Bactérie</i>	Gram
<i>Escherichia coli</i>	Gram -
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gram -
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram +
streptococcus pneumoniae	Gram +

2- Ré-isolément des souches bactériennes

Les bactéries sontensemencées sur des boites de pétri contenant une gélose MH et incubées pendant 24heures dans une étuve à 37°C, afin d'obtenir une culture jeune de bactéries et des colonies isolées.

3-Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture pure de 24h sur milieu d'isolement approprié, les souches bactériennes choisies ont été raclées à l'aide d'un écouvillon et déchargées dans un tube contenant de l'eau physiologique stérile pour obtenir une suspension bactérienne homogène.

4- L`ensemencement

L'ensemencement se fait selon les étapes suivantes :

Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum ; L'essorer en le pressant fermement (et on le tournant contre la paroi interne du tube afin de décharger au maximum).

Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée; Répéter l'opération 3fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. [35]

5- Préparation de l'aromatogramme

À l'aide d'une pince stérilisée au bec bunsen on prélève les disques stériles de 6mm de diamètre qu'on dépose sur la surface gélosée MH.

6-Incubation et lecture

Les boîtes de pétris sont ensuite fermées et incubées à 37°C pendant 24 heures. La lecture est faite par la mesure de diamètre de la zone d'inhibition de la prolifération bactérienne à l'aide d'une règle. Les diamètres sont ensuite comparés à des diagrammes de référence.

Non sensibles (-) Diamètre<8mm

Sensible(+) 9mm<diamètre<14mm

Très sensible (++) 14mm<diamètre<19mm

Extrêmement sensible (+++) Diamètre>20mm



Chapitre **III**

Résultats et discussions

Les résultats obtenus de notre travail réalisé sont représentés dans ce chapitre.

1-Rendement d'extraction

Feuilles

Tableau 04 : Rendement d'extraction des feuilles des deux régions

Région	Tizi-Ouzou	Biskra
Quantité de l'organe (g)	100	100
Volume du solvant Méthanol/eau (70/30) (ml)	1000	1000
Aspect	Visqueux très collant	Visqueux collant
Couleur	Verte foncée (figure 19)	Verte empire (figure 19)
Rendement	11.42%	16.3%

Tiges

Tableau 05 : Rendement d'extraction des tiges des deux régions

Région	Tizi-Ouzou	Biskra
Quantité de l'organe (g)	100	100
Volume du solvant Méthanol/eau (70/30) (ml)	1000	1000
Aspect	Visqueux très collant	Visqueux collant
Couleur	Brune (figure 19)	Marron brou de noix (figure 19)
Rendement	3.87%	7.06%

Les résultats montrent que les feuilles de *R. officinalis* de Biskrare présente le rendement le plus élevé (16.4%), suivi des feuilles de *R. officinalis* de Tizi-Ouzou avec un rendement de 11.42%.

Les tiges de Biskra ont un rendement de 7.06% qui est supérieur à celui des tiges de Tizi-Ouzou, qui ont le rendement le plus faible (3.87%).

Le rendement d'extraction dépend de plusieurs facteurs tel que le temps d'extraction, la température, le solvant utilisé et notamment la localisation géographique et la période de récolte de la plante.

La figure suivante montre les extraits des feuilles, tiges des deux régions :

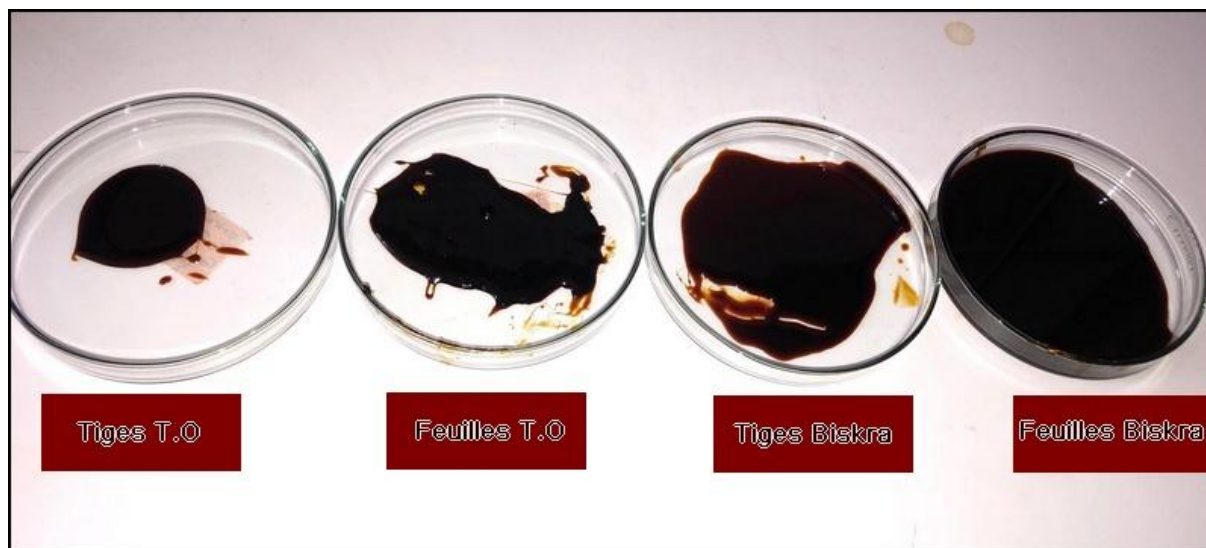


Figure 19 : Les extraits des feuilles et tiges des deux régions (photo originale)

2- Les tests phytochimiques

Les résultats des tests phytochimique effectués sur les deux organes (feuilles, tiges) du *Rosmarinus officinal* des extraits de deux régions sont représentés dans le tableau suivant :

Les feuilles

Tableau 06 : Les tests phytochimiques des feuilles des deux régions.

Test		Tizi-Ouzou	Biskra
Saponines		+	++
Polyphénols		++	++
Flavonoïdes	Flavones	++	++
	Flavonones	-	-
Tanins	Tanins Catéchiqes	++	++
	Tanins galliques	-	-
Coumarines		+	+

Terpénoides	+	+
Alcaloïdes	-	+
Les stérols	-	-
L'amidon	-	-

Les tiges

Tableau 07 : Les tests phytochimiques des tiges des deux régions.

Test		Tizi-Ouzou	Biskra
Saponines		-	-
Polyphénols		++	++
Flavonoïdes	flavones	+	+
	flavonones	-	-
Tanins	Tanins Catéchiqes	+	+
	Tanins galliques	-	-
Coumarines		+	+
Terpénoides		+	+
Alcaloïdes		-	+
Les stérols		-	-
L'amidon		-	-

(-) : test négatif (+) : test positif (++) : test fortement positif

Les résultats des tests phytochimiques montrent l'absence de l'amidon et les stérols dans les deux organes végétaux des deux régions.

Ces résultats ont permis de mettre en évidence la présence des flavonoïdes, tanins, coumarines et les terpenoides dans les feuilles et les tiges de *Rosmarinus officinalis* des deux régions.

On observe la présence des alcaloïdes dans les feuilles et tiges de Biskra, et leurs absences dans les feuilles et tiges de Tizi-Ouzou.

La présence des saponosides dans les feuilles et leurs absences dans les tiges des deux régions.

3- Dosage des polyphénols

La teneur en polyphénols totaux des quatre extraits a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu.

L'équation de la courbe d'étalonnage obtenue préparée par l'acide gallique est la suivante :

$$y = 0.566x + 0.314 \quad \Longrightarrow \quad C_{ppt} = x = (y - 0.314) / 0.566 \text{ mg/ml}$$

Avec un coefficient de détermination : $R^2 = 0.966$

Y : Absorbance mesurée par le spectrophotomètre.

X : concentration de la solution hydro-méthanolique de l'acide gallique (mg/ml) préparée dans un mélange eau-méthanol (50/50).

C_{ppt} : concentration des polyphénols totaux recherchés dans la solution analysée des extraits des feuilles, tiges.

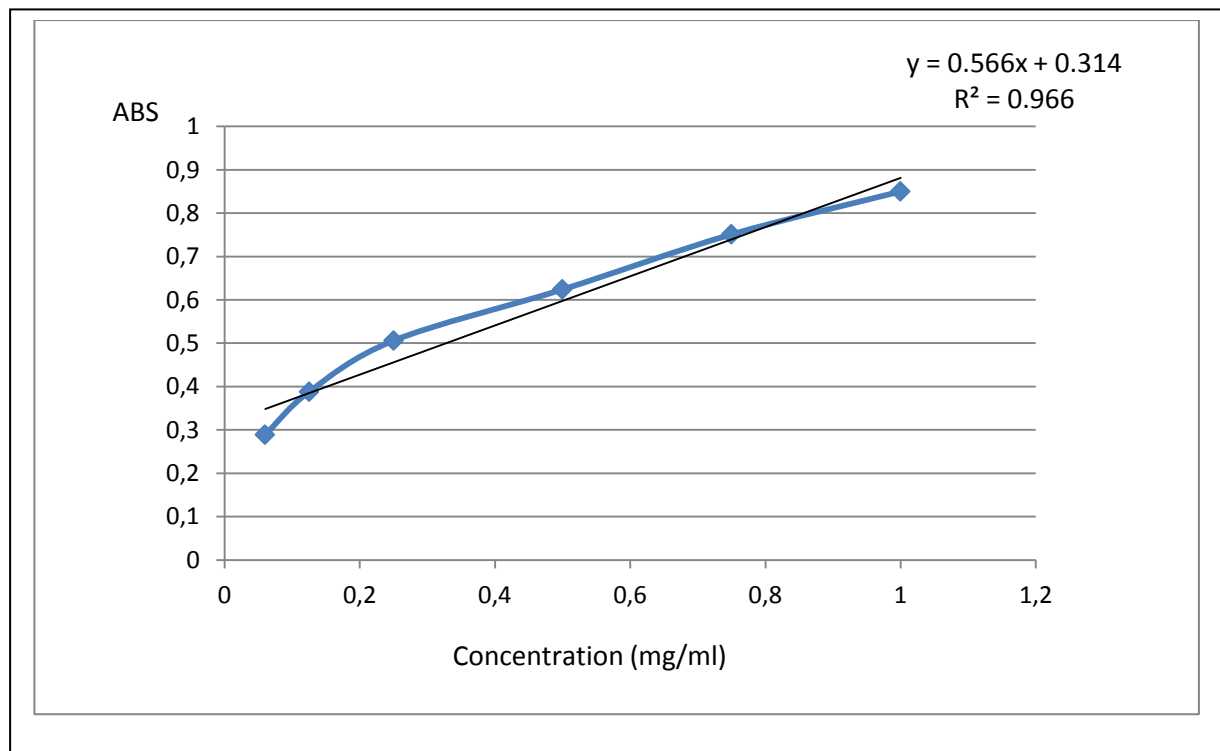


Figure 20 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

La teneur en composés polyphénoliques des extraits des feuilles, tiges des deux régions est représentée dans la figure ci-dessous :

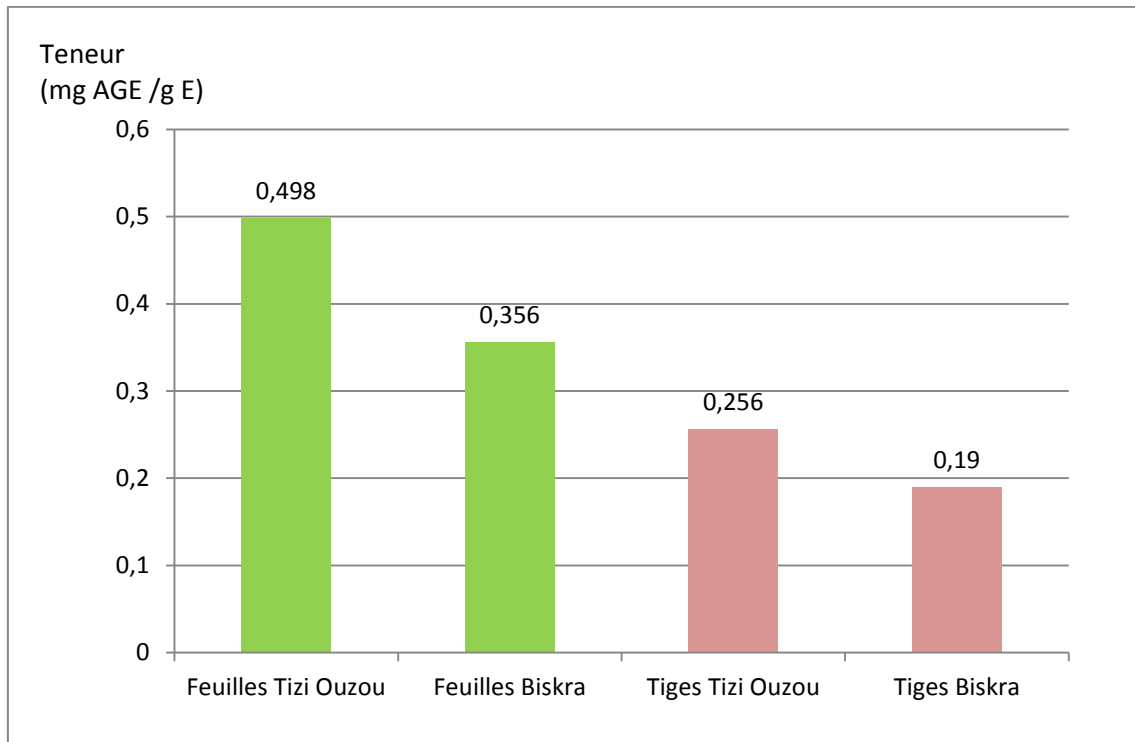


Figure 21 : Teneur en composé phénolique des extraits

La quantité de polyphénols est exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg AGE/ g E).

La figure montre que les feuilles sont les plus riches en polyphénols.

La teneur la plus élevée en composés phénoliques revient aux feuilles de Tizi-Ouzou avec une valeur de 0.498 mg AGE/g E.

La teneur la plus faible est notée pour les tiges de Biskra avec une valeur de 0.19mg AGE/ g E.

La distribution des métabolites secondaires peut changer pendant la croissance de la plante. Ceci peut être lié aux conditions climatiques (la température élevée, exposition solaire, sécheresse, salinité), qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols. [23]

4- Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes des trois extraits est déterminée par la méthode colorimétrique à l'acétate de sodium.

L'équation de la courbe d'étalonnage de la quercétine est :

$y = 2.054x + 0.092 \implies C_{ft} = x = (y - 0.092) / 2.054 \text{ mg/ml}$ avec un coefficient de détermination $R^2 = 0.995$

Y : absorbance mesurée par le spectrophotomètre

X : concentration de la solution de la quercétine (mg/ml)

C_{ft} : concentration des flavonoïdes totaux recherchés dans la solution analysée des extraits des feuilles et tiges des deux régions.

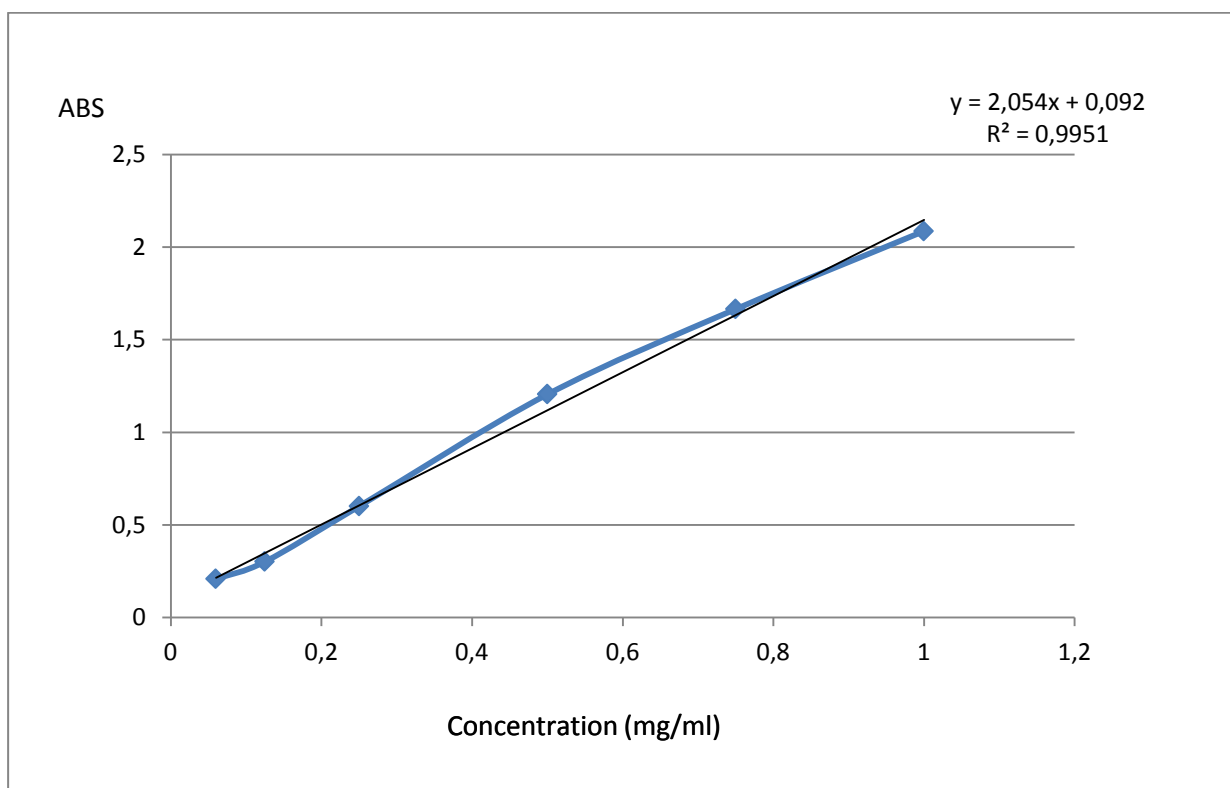


Figure 22 : Courbe d'étalonnage de la quercétine

La teneur en flavonoïdes des extraits, est représentée dans la figure suivante :

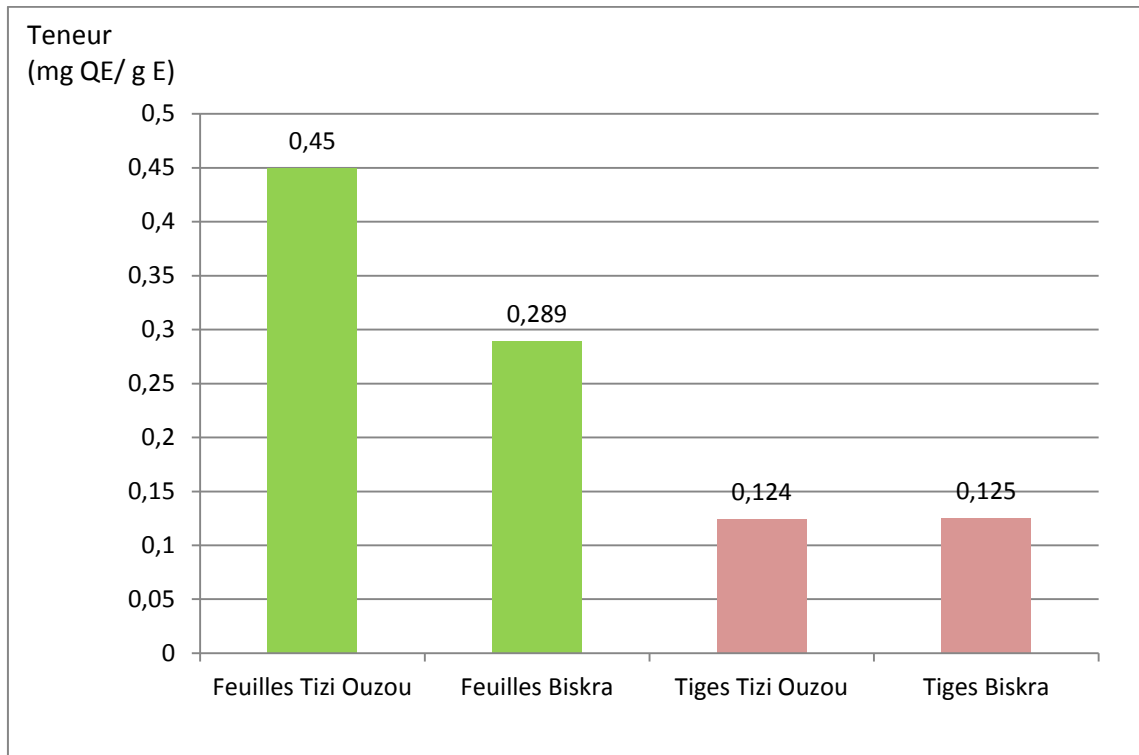


Figure 23 : Teneur en Flavonoïdes des extraits

La quantité des flavonoïdes est exprimée en milligramme équivalent de la quercétine par gramme d'extrait (mg QE/ g E).

La figure montre que les extraits des feuilles sont les plus riches en flavonoïdes.

L'extrait des feuilles de Tizi-Ouzou contient la plus haute teneur en flavonoïdes avec une valeur de 0.450 mg QE/ g E, suit par l'extrait des feuilles de Biskra avec une teneur de 0.289mg QE / g E.

La plus faible teneur a été enregistrée pour l'extrait des tiges de Tizi-Ouzou avec une valeur de 0.124 mg QE / g E.

Il faut noter que les facteurs géographiques et climatiques influent sur la teneur en flavonoïdes.

5- Identification des constituants des extraits par des méthodes analytiques

5-1 Spectrophotométrie Ultraviolet-Visible

Les spectres d'absorption UV-Visible des extraits polyphénoliques de *Rosmarinus officinalis* sont obtenus en effectuant un balayage de 200nm à 900nm. Les spectres obtenus sont représentés dans la figure suivante :

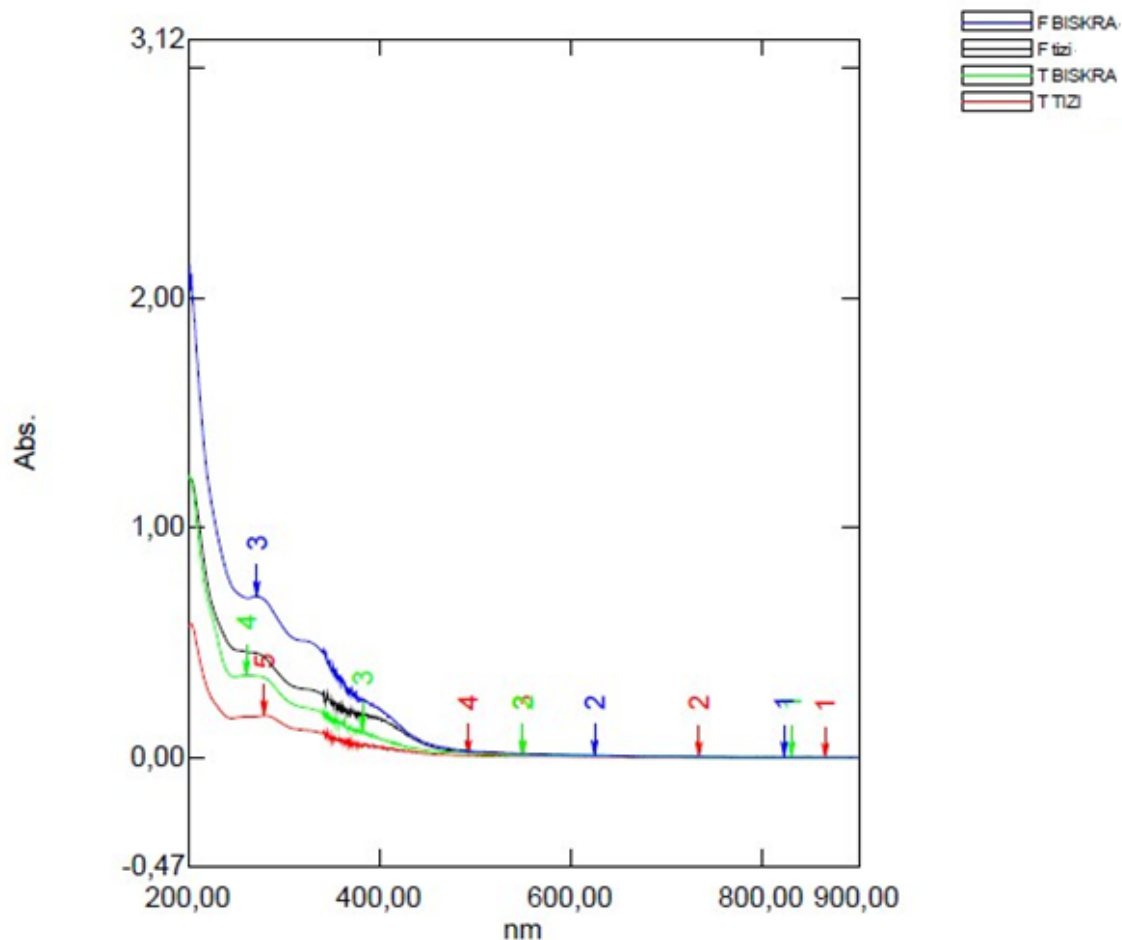


Figure 24 : Spectre UV-Visible des extraits

La figure montre que les quatre extraits absorbent dans le domaine de l'ultraviolet.

Les composé phénolique donc protègent la plante des rayonnements ultraviolets, c'est pour cela les extraits polyphénoliques peuvent être utilisés dans les préparations de produits de soin pour la protection contre les rayons UV.

6- Mesure de l'activité antioxydante

6-1 Effet du radical libre DPPH

L'activité antioxydante des extraits et de l'acide ascorbique vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée avec un spectrophotomètre UV Visible en suivant le changement de couleur du DPPH de couleur bleue violette à DPPH-H (jaune).

Les concentrations C1, C2, C3, C4, C5 et C6 mentionnées dans le tableau 7 sont respectivement égales à (1, 0.75, 0.5, 0.25, 0.125 et 0.06) mg/ml.

Tableau 08 : Pourcentage d'inhibition des extraits et de l'acide ascorbique.

Région	Tizi-Ouzou		Biskra		
Organe	Feuilles	Tiges	Feuilles	Tiges	Acide Ascorbique
%d'inhibition					
C1	75.00%	71.18%	68.75%	75.31%	82.18%
C2	55.62%	52.18%	50.62%	56.56%	81.56%
C3	37.50%	40.62%	36.56%	43.75%	68.55%
C4	30.31%	31.25%	31.25%	38.75%	59.37%
C5	26.87%	16.87%	18.75%	27.18%	41.87%
C6	17.87%	03.12%	06.25%	14.06%	39.06%

Les pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH° en fonction des différentes concentrations des extraits et de l'acide ascorbique sont représentés dans la figure suivante :

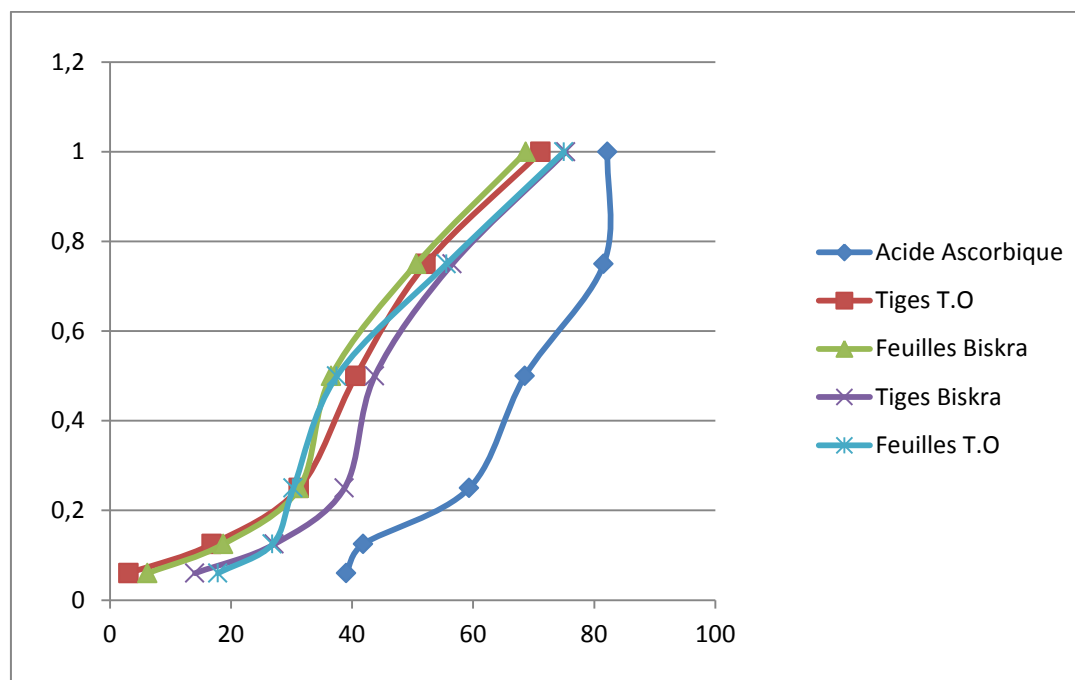


Figure 25 : pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH° en fonction des différentes concentrations des extraits et de l'acide ascorbique

L'IC₅₀ est inversement proportionnelle à la capacité antioxydante d'un composé. Plus la valeur de IC₅₀ est petite plus l'activité antioxydante du composé est grande.

Les valeurs d'IC₅₀ des extraits polyphénoliques des feuilles, tiges des deux régions et de l'acide ascorbique sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau 09 : Valeurs d'IC₅₀ des extraits et de l'acide ascorbique.

	IC ₅₀ (mg/ml)
Acide Ascorbique	0.196
Feuilles Tizi-Ouzou	0.617
Tiges Tizi-Ouzou	0.667
Feuilles Biskra	0.669
Tiges Biskra	0.578

L'acide ascorbique qui est utilisé comme référence d'antioxydant présente l'effet inhibiteur le plus puissant sur le radical DPPH avec une IC50 de 0.196mg/ml.

On remarque que les valeurs de l'IC50 de nos extraits sont très proches, l'extrait des tiges de Biskra vient en première position avec un IC50 égale à 0.578 mg/ml suivi par l'extrait des feuilles de Tizi-Ouzou avec une valeur de 0.617 mg/ml, suivi par l'extrait des tiges de Tizi-Ouzou et l'extrait des feuilles de Biskra qui ont des valeurs très proches (0.667 mg/ml et 0.669 mg/ml) respectivement.

6-2 Test de la réduction du fer (FRAP)

Les pouvoirs réducteurs des extraits des deux régions et de l'acide ascorbique sont présentés dans la figure 30.

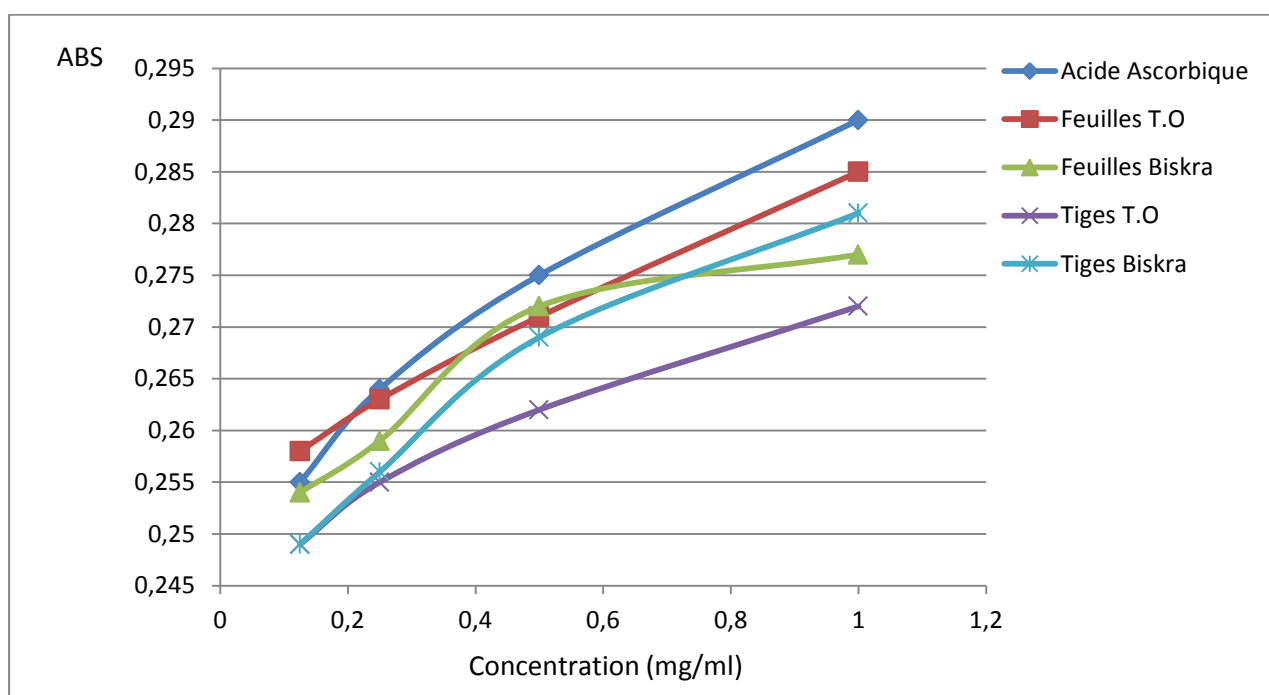


Figure 26 : Pouvoir réducteur des extraits et de l'acide ascorbique

L'augmentation de l'absorbance indique une augmentation du pouvoir réducteur. L'acide ascorbique présente la capacité réductrice du fer la plus importante.

Les valeurs d'absorbance des extraits des deux régions sont inférieures mais assez proches de celles de l'acide ascorbique ce qui se traduit par une capacité réductrice importante.

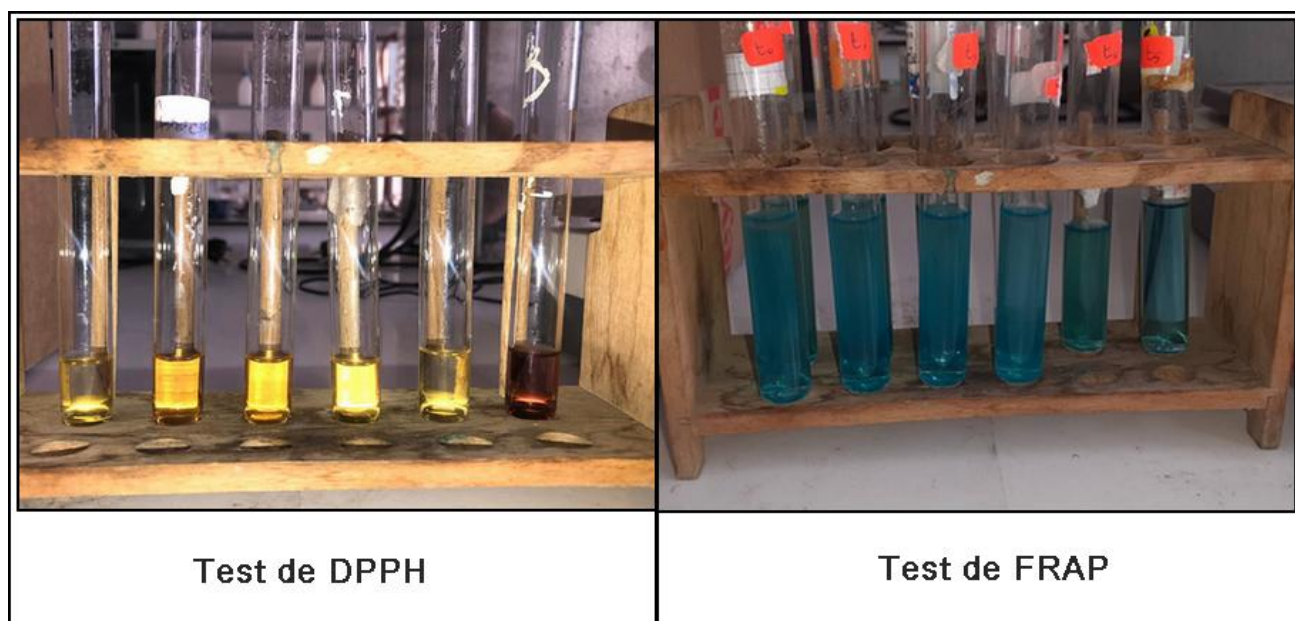


Figure 27 : Les tests de l'activité antioxydante (photo originale)

7- L'activité Antibactérienne

7-1 Effet antibactérien des extraits sur *Pseudomonas aeruginosa*

1- Les feuilles

Tableau 10 : Effet antibactérien des extraits des feuilles sur *Pseudomonas aeruginosa*

Région	Diamètre (mm)	Conclusion
Tizi-Ouzou	21	Extrêmement sensible
Biskra	26	Extrêmement sensible

2- Les tiges

Tableau 11 : Effet antibactérien des extraits des tiges sur *Pseudomonas aeruginosa*

Région	Diamètre (mm)	Conclusion
Tizi-Ouzou	14	Très sensible
Biskra	18	Très sensible

7-2 Effets antibactériens des extraits sur *Escherichia coli*

1- Les feuilles

Tableau 12 : Effet antibactérien des extraits des feuilles sur *Escherichia coli*

Région	Diamètre (mm)	Conclusion
Tizi-Ouzou	18	Très sensible
Biskra	22	Extrêmement sensible

2- Les tiges

Tableau 13 : Effet antibactérien des extraits des tiges sur *Escherichia coli*

Région	Diamètre (mm)	Conclusion
Tizi-Ouzou	18	Très sensible
Biskra	19	Très sensible

7-3 Effets antibactériens des extraits sur *staphylococcus aureus*

1- Les feuilles

Tableau 14 : Effet antibactérien des extraits des feuilles sur *staphylococcus aureus*

Région	Diamètre (mm)	Conclusion
Tizi-Ouzou	18	Très sensible
Biskra	18	Très sensible

2- Les tiges

Tableau 15 : Effet antibactérien des extraits des tiges sur *staphylococcus aureus*

Région	Diamètre (mm)	Conclusion
Tizi-Ouzou	14	Très sensible
Biskra	20	Extrêmement sensible

7-4 Effet antibactérien des extraits sur *streptococcus pneumoniae*

1- Les feuilles

Tableau 16 : Effet antibactérien des extraits des feuilles sur *streptococcus pneumoniae*

Région	Diamètre (mm)	Conclusion
Tizi-Ouzou	10	Sensible
Biskra	17	Très sensible

2- Les tiges

Tableau 17 : Effet antibactérien des extraits des tiges sur *streptococcus pneumoniae*

Région	Diamètre (mm)	Conclusion
Tizi-Ouzou	13	Sensible
Biskra	15	Très sensible

L'activité antibactérienne de nos extraits est estimée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les extraits vis-à-vis de quatre bactéries pathogènes d'origine hospitalière.

On observe que le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'un extrait à un autre. La variation de l'activité antibactérienne des extraits explique les variations de leurs compositions chimiques.

L'extrait des feuilles de Biskra présente l'activité inhibitrice la plus importante par rapport aux autres extraits, il est extrêmement sensible envers les bactéries *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* et très sensibles envers les deux autres bactéries.

Ces résultats nous montrent que les extraits des feuilles et tiges des deux régions ont un pouvoir antibactérien très important contre les bactéries *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *staphylococcus aureus* et *streptococcus pneumoniae*.

Les résultats des tests antibactériens des extraits sont représentés sur la figure suivante :



Figure 28 : Aromatogrammes des activités antibactériennes des extraits (photo originale)



Conclusion

Conclusion :

L'objectif de cette étude comparative est la caractérisation et l'évaluation des extraits polyphénoliques de *Rosmarinus officinalis* de deux régions, Tizi-Ouzou et Biskra, obtenus à partir d'une macération hydro-méthanolique.

Les rendements des extraits du romarin de la région d'Ain Zaatout (Biskra) sont supérieurs à ceux des extraits de la région de Boghni (Tizi-Ouzou).

Les tests phytochimiques ont pu mettre en évidence la présence des composés phénoliques, des flavonoïdes, des saponosides, des tanins et des terpénoïdes dans les feuilles et les tiges des deux régions. Ils ont pu montrer aussi la présence des alcaloïdes dans les extraits du romarin de la région d'Ain Zaatout, et leurs absences dans les extraits de la région de Boghni.

L'évaluation de l'activité antioxydante a été réalisée par deux méthodes, à savoir, le test au DPPH et le test du pouvoir de réduction du fer (FRAP). Les tests ont montré que les extraits du romarin des deux régions ont une activité antioxydante très importante.

Les extraits des deux régions ont montré leur efficacité contre quatre souches bactériennes pathogènes, *Escherichia coli* (Gram -), *Staphylococcus aureus* (Gram +), *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-), *Streptococcus pneumoniae* (Gram +).

L'analyse par UV-Visible a mis en évidence la présence de divers composés phénoliques qui absorbent dans l'ultraviolet dans nos extraits. Cependant l'évaluation de la composition chimique des différents extraits par HPLC aurait pu nous fournir des données supplémentaires sur la nature des composés présents dans nos extraits.

Il serait intéressant de compléter ce travail par d'autres études comparatives sur le Romarin de différentes régions de l'Algérie.



Références bibliographiques

- [1] Cretti, L. (1981). Les plantes aromatiques médicinales. Ed. Atlas. pp: 68-15.
- [2] Beloued, A. (1998). Plantes médicinales d'Algérie. 2^{ème} Edition. Office des publications universitaires (Ed). Alger, 274p.
- [3] Okamura N., Haraguchi H., Hashimoto K. (1994). Flavonoids in *Rosmarinus officinalis* leaves. *Phytochemistry*, 37 (5): 1463-1466.
- [4] Atikbekkara, F., Bousmaha, L., Taleb bendiab, S.A., Boti, J.B., Casanova J. (2007). Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Biologie & Santé*. 7: 6-11.
- [5] Nabil Bousbia. (2011). Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. Thèse de doctorat. Ecole Nationale Supérieure Agronomique.
- [6] C. Keller-Didier, (2004). Les plantes médicinales. pp. 57-64.
- [7] La phytothérapie: comment se soigner avec les plantes?
<https://www.passeportsante.net/portail/phytotherapie> (accessed June, 3rd, 2022).
- [8] Extraction végétale - Berkem - Extraction végétale.
<https://www.berkem.com/fr/expertise/extraction-vegetale?fbclid=IwAR1-IrrOYk0Rq1tAcZrgkqffNZcKrU5BW1OxTT5hHxy6Z0z0wchqzj9sYuw> (accessed June, 3rd, 2022).
- [9] Kahlouhe Riachi, (2014). Evaluation chimique et activité antibactérienne de quelques plantes médicinales d'Algérie. Thèse de doctorat. Université de Constantine.
- [10] Leplat Marion, (2017). Le Romarin, *Rosmarinus officinalis* L., une Lamiacée médicinale de la garrigue provençale. Thèse de doctorat. Université de Marseille.
- [11] J. BRUNETON, (2009). Phytochimie, Plantes médicinales. 4th ed. *Tec & Doc Lavoisier*.
- [12] L. Bremness, (2011). Encyclopédie des plantes médicinales. 2nd Ed. Larousse. 2-03-560252-1.
- [13] L. Bremness, (2001). Plantes aromatiques et médicinales. Ed. *Larousse*.

- [14] Mounir Benchoulak, (2008). Etude de l'effet des flavonoïdes de la *Foeniculum vulgare* Mill dans la prévention de la cardiotoxicité de la doxorubicine. Mémoire de Magister. Université de Jijel.
- [15] Assia Berrani et al, (2019) "Criblage Phytochimique De Deux Plantes Médicinales: *Vitex Agnus Castus* Et *Anabasis Aretioïdes*", vol.7, ISSN 2111-4706.
- [16] Abdellatif Megnounif, (2011). Etude de la valeur nutritive et de l'activité antioxydante d'*Urtica Dioica* (l'Ortie). Mémoire de Magister. Université de Tlemcen.
- [17] Claude Tassin, (2012). Paysages végétaux du domaine méditerranéen. IRD Éditions.
- [18] A. Benguendouz et al, Effet de l'extrait de Romarin (*Rosmarinus officinalis*) sur la lipoperoxydation de la viande d'agneau en Algérie. Rev. Microbiol. Ind. San et Environn. Vol 8, N°2, p : 163-171.
- [19] S. Athamena et al, (2015). Phenolic composition, antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis*. *Sciences and technolige*. pp.16-26.
- [20] K. Fadiliet al, (2015). Teneurs en polyphénols et évaluation de l'activité antioxydante des extraits de deux espèces du Haut Atlas du Maroc: *Rosmarinus Officinalis* et *Thymus Satureioides*. International Journal of Innovation and Scientific Research.
- [21] Ejaz Aziz et al, (2021). Rosemary species: a review of phytochemicals, bioactivities and industrial applications. South African Journal of Botany.
- [22] V. Singleton et al, (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. Orlando. Academic Press: 152-178.
- [23] Tydia Outaleb, (2015). Extraits de romarin d'Algérie (*Rosmarinus officinalis* L. Et *Rosmarinus tournefortii* De Noe): Analyse chimique et activités antioxydantes et antimicrobiennes. Thèse de Doctorat en sciences agronomiques. Ecole Nationale Supérieure d'agronomie - El Harrach-Alger.
- [24] Laid Ziane, (2016). Etude phytochimique et évaluation biologique des extraits organiques des différentes parties de *Limoniastrum Feei*. Thèse de doctorat. Université de Tlemcen.

- [25] Habiba Laraoui, (2007). Etude phytochimique de l'extrait chloroformique de *Bupleurum Atlanticum*. Mémoire de magistère. Université de Batna.
- [26] L. Bezageret Coll, Les plantes dans la thérapeutique modern. 6^{ème} édition, Ed. Mloire. 4200
- [27] A. Djeridane et al, Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic compounds and their antioxidant activity. *Food Chemistry*, vol. 97: 654-660
- [28] M. Ould el hadj et al, (2003). Place Des Plantes Spontanées Dans La Médecine Traditionnelle De La Région De Ouargla (Sahara Septentrional Est). *Cour Du Savoir*, vol. 3, pp. 47-51.
- [29] E. Raven et al, (2007). *Biologie végétale. 2nd E. de Boeck supérieur à Bruxelles. 978-2-8041-5020-4.*
- [30] F. N. Muanda, (2010). Identification de polyphénols, Evaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de doctorat. Université de Metz.
- [31] I. Podolak, A. Galanty, and D. Sobolewska, (2010). Review: Saponins as cytotoxic agents. *Phytochem. Rev.*, vol. 9, no. 3, pp. 425–474,
- [32] V. Caprarulo, C. Giromini, and L. Rossi, (2021), Review: Chestnut and quebracho tannins in pig nutrition: the effects on performance and intestinal health. *Animal*, vol.15, no. 1.
- [33] V. F. Belkhiri, (2009). Activité antimicrobienne et antioxydante des extraits de *Tamus communis* L. et *Carthamus caeruleus* L. Mémoire de Magister. Université de Ferhat Abbas Sétif.
- [34] C. Hamia et al, (2014). Influence des solvants sur le contenu en composés phénoliques antioxydants des extraits de *Rhanterium adpressum*.
- [35] Ania Hamla. Lamia Mimoun, (2021). Analyse et étude des activités antioxydantes et microbiennes des extraits polyphénoliques de *Bupleurum fruticosum*. Mémoire de Master. Université de Tizi-Ouzou.
- [36] Celia Koukaou. Maïssa Kacete, (2021). Caractérisation et étude de l'activité antibactérienne et antioxydante de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*. Mémoire de Master. Université de Tizi-Ouzou.

Résumé :

Le but de cette étude comparative est l'extraction des polyphénols à partir des feuilles et tiges de *Rosmarinus officinalis* de deux régions Tizi-Ouzou et Biskra et l'évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne de ces extraits.

Les extraits des feuilles et tiges ont été obtenus à partir d'une macération hydro-méthanolique à température ambiante. Les résultats des tests phytochimiques effectués sur les extraits, ont permis d'identifier les différents composés présents dans les plantes. Les dosages ont permis la détermination de la teneur en polyphénols (0.498 et 0.356 mg AGE/g E pour les feuilles de Tizi-Ouzou et Biskra, 0.256 et 0.19 mg AGE/g E pour les tiges de Tizi-Ouzou et Biskra respectivement) et la teneur en flavonoïdes (0.450 et 0.289mg QE / g pour les feuilles de Tizi-Ouzou et Biskra, 0.125 et 0.124 mg QE /g E pour les tiges de Tizi-Ouzou et Biskra respectivement).

L'analyse par spectrophotométrie UV-Visible indique la présence de différents composés phénolique qui absorbent principalement dans le domaine de l'ultraviolet.

Deux méthodes ont été utilisées pour évaluer l'activité antioxydante : la technique de réduction de fer (FRAP) et la réduction du radical libre DPPH. Les tests ont montré que les extraits du romarin des deux régions ont une activité antioxydante très importante.

Les quatre extraits ont montré une grande sensibilité antibactérienne envers les quatre souches bactériennes : *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ainsi que *streptococcus pneumoniae*.

Mots clés : *Rosmarinus officinalis*, polyphénols, Activité antioxydante, Activité antibactérienne.

Abstract :

The aim of this comparative study is the extraction of polyphenols from leaves and stems of *Rosmarinus officinalis* from two regions, Tizi-Ouzou and Biskra, and the evaluation of the antioxidant and antibacterial activity of these extracts.

The extracts of leaves and stems were obtained by hydro-methanolic maceration at room temperature. The results of the phytochemical screening carried out on the extracts, allowed the identification of the various compounds present in the plants. The assays allowed the determination of the content of polyphenols (0.498 and 0.356 mg GAE/g E for Tizi-Ouzou and Biskra leaves, 0.256 and 0.19 mg GAE/g E for Tizi-Ouzou and Biskra stems respectively) and flavonoid content (0.450 and 0.289 mg QE/g E for leaves from Tizi-Ouzou and Biskra, 0.125 and 0.124 mg QE/g E for stems from Tizi-Ouzou and Biskra respectively)..

The analysis by UV-Visible spectrophotometry indicates the presence of different phenolic compounds which absorb mainly in the ultraviolet range.

Two methods were used to evaluate the antioxidant activity: the iron reduction technique (FRAP) and the DPPH free radical reduction. Tests have shown that rosemary extracts from both regions have a very high antioxidant activity

The four extracts showed a high antibacterial sensitivity towards the four bacterial strains: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* as well as *Streptococcus pneumoniae*.

Keywords : *Rosmarinus officinalis*, polyphenols, antioxidant activity, antibacterial activity.