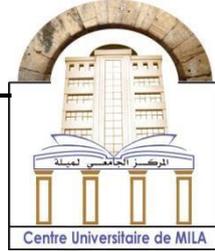


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



N° Réf :.....

Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF- Mila

Institut des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques et Agricoles

Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de

Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème :

**Evaluation de l'activité antibactérienne et l'activité antioxydante
de deux plantes médicinales.**

Présenté par :

- BENDAS Khouloud
- KADRI Yamina

Devant le jury :

BAKLI Sabrina	Maître de Conférences classe A (MCA)	Présidente
MANALLAH Ahlam	Maître Assistant classe A (MAA)	Examinatrice
AYAD Wissem	Maître de Conférences classe A (MCA)	Promotrice

Année Universitaire : 2023/2024

Remerciements

On remercie avant tout ALLAH, le tout puissant, de nous avoir guidés toutes les années d'étude et nous avoir donnés la volonté, la patience, le courage et la bonne santé pour terminer ce travail.

*Nous tenons à remercier chaleureusement les membres du jury : **Dr. BAKLI Sabrina**, qui nous fait l'honneur de sa présence en acceptant de présider le jury de cette soutenance, et **Dr. MANALLAH Ahlem**, d'avoir accepté de siéger parmi les membres de jury et d'avoir eu l'amabilité de partager ses connaissances.*

*Nos remerciements vont, à notre encadreur de mémoire, **Dr. AYAD Wissem**, d'avoir accepté de diriger ce travail, elle qui nous a guidés avec ses orientations, sa disponibilité, ses précieux conseils tout au long de ce travail de recherche, en nous laissant la liberté dont on avait besoins. On ne peut que lui être reconnaissant surtout pour ses qualités intellectuelles et humaines. Son ouverture d'esprit et sa vision de la recherche scientifique, ont été importants pour nous, que ses connaissances scientifiques ont largement contribué à l'évolution de cette étude. Nous lui exprimons notre profond respect et nos chaleureux remerciements.*

Nous remercions également l'équipe de laboratoire de l'institut des sciences de la nature et de la vie, au centre universitaire d'Abdelhafid Boussouf-Mila, sur leur patience, leur disponibilité et surtout leurs conseils qui nous ont aidés alimenter notre réflexion.

Nous exprimons nos sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé notre réflexion. Ainsi, l'ensemble des étudiants de la promotion Master 2 de l'année 2023/2024.

Enfin, toute notre sympathie et nos remerciements vont également à tous ceux et celles, qui de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce mémoire.

Dédicace

A l'aide de DIEU tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

♥ *A la chose la plus précieuse que j'ai, la lumière de mes yeux, au bonheur de ma vie ma mère BARIZA. Qui m'a soutenu durant toutes mes années d'étude, pour ses sacrifices et soutien qui m'ont donné la confiance et le courage.*

♥ *A toi mon cher père ABD ERAZAK qui m'a élevé, qui m'a appris tout de chose et qui a tout fait pour que je ne manque de rien. Dieu vous accorder longue vie pleine de santé et de bonheur.*

♥ *A mon frère MOUNIRE. Mon soutien dans la vie, et a sa femme IBTISAM, ma deuxième sœur merci pour votre soutien à mon égard, je vous aime.*

♥ *A mon frère MOUAD. Mon soutien dans la vie. Je vous souhaite tous bonheur et succès.*

♥ *A ma chère sœur DALAL et sa petite famille pour leur amour, et leur soutien inconditionnel. Merci d'avoir illuminé ma vie par ta présence je me sens béni de vous avoir dans ma vie; Je t'aime tellement.*

♥ *A ma grand-père ELBACHIR Allah yrahamu pour tout ce qu'il m'a donné.*

♥ *A ma grand-mère ZAHRA je te souhaite une longue vie et une bonne santé.*

♥ *A ma collègue KHOULOUD qui je souhaite tout le bonheur du monde.*

♥ *A mes amis GHADA, ZINEB, au nom de l'amitié qui nous réunit et au nom de nos souvenirs inoubliables.*

♥ *Je n'oublie pas toute ma famille et mes proches sans exception.*

Yamina

Dédicace

Loué soit Dieu qui m'a donné la motivation et la force pour réaliser cette travail Je dédie ce modeste travail à :

A ma chère mère, qui s'est toujours sacrifiée pour mon éducation, qui m'a entourée de son amour et de son affection, je la remercie et je n'oublierai jamais son soutien moral dans les moments les plus difficiles, que Dieu la protège.

A mes amies plus chères : Fairoz, Chahra, Rania, Maissa, Dikra et Donia

A toute ma famille surtout mon cousin Anas

A mon binôme Yamina

Merci pour tous les personnes qui m'aide dans ma Parcours d'étude, même si par un mot.

Khouloud

Résumé

Les plantes médicinales constituent une source inépuisable et diversifiée en métabolites secondaires, qui ont plusieurs applications : pharmaceutiques, médicales, agroalimentaires, agronomiques et biotechnologiques. Ces métabolites sont à l'origine de plusieurs activités biologiques telles que l'activité antibactérienne et antioxydante. C'est dans cette optique que nous nous sommes intéressés à deux plantes médicinales (*Rosmarinus officinalis L.* et *Olea europaea L.*) qui appartiennent respectivement aux familles de *Lamiaceae* et *Oléacées*.

L'objectif de notre travail est basé sur l'analyse qualitative des composés phytochimiques, ainsi que l'évaluation des activités antioxydante et antibactérienne de ces deux plantes. Les résultats obtenus ont montré l'existence de différentes familles de composés chimiques du métabolisme secondaire chez les deux espèces étudiées. L'activité antioxydante a été testée par la méthode de la mesure de la capacité de piégeage du radical libre DPPH, et effectuée avec l'extrait méthanoliques des deux plantes. Les résultats constatent que l'extrait méthanolique de *Rosmarinus officinalis L.* présente nettement une grande activité antioxydante avec un IC_{50} de 1,36mg/ml en comparaison avec *Olea europaea L.* qui a enregistré un IC_{50} de 3,4mg/ml.

L'activité antibactérienne a été testée sur quatre souches «*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas aeruginosa* » par la méthode de diffusion des disques sur milieu gélosé. Les résultats ont montré que l'extrait éthanolique d'*Rosmarinus officinalis L.* possède une activité antibactérienne importante vis à vis des souches de *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* avec des zones d'inhibition de (12,32mm) et (10,86mm) respectivement. Alors que l'extrait aqueux et méthanolique ont montré des effets négatifs. En outre, l'extrait aqueux d'*Olea europaea L.* montre un effet d'inhibition contre *Bacillus subtilis* et *Escherichia coli* avec des diamètres d'inhibition de (8,65mm) et (8,57mm) respectivement, et aucun effet d'inhibition vis à vis *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Mots clé : les plantes médicinales, *Rosmarinus officinalis L.*, *Olea europaea L.*, activité antibactérienne, activité antioxydante, étude phytochimique.

Abstract

Medicinal plants constitute an inexhaustible and diversified source of secondary metabolites, which have several applications: pharmaceutical, medical, food, agronomic and biotechnological. These metabolites are at the origin of several biological activities such as antibacterial and antioxidant activity. It is with this in mind that we were interested in two medicinal plants (*Rosmarinus officinalis* L. and *Olea europaea* L.) which belong respectively to the *Lamiaceae* and *Oleaceae* families.

The objective of our work is based on the qualitative analysis of phytochemical compounds, as well as the evaluation of the antioxidant and antibacterial activities of these two plants. The results obtained showed the existence of different families of chemical compounds of secondary metabolism in the two species studied. The antioxidant activity was tested by the method of measuring the scavenging capacity of the free radical DPPH, and carried out with the methanolic extracts of the two plants. The results show that the methanolic extract of *Rosmarinus officinalis* L. clearly presents high antioxidant activity with an IC₅₀ of 1.36 mg/ml in comparison with *Olea europaea* L. which recorded an IC₅₀ of 3.4 mg/ml.

The antibacterial activity was tested on four strains “*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa*” by the disk diffusion method on agar medium. The results showed that the ethanolic extract of *Rosmarinus officinalis* L. has significant antibacterial activity against strains of *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis* with inhibition zones of (12.32mm) and (10.86mm) respectively. While the aqueous and methanolic extract showed negative effects. In addition, the aqueous extract of *Olea europaea* L. shows an inhibition effect against *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* with inhibition diameters of (8.65mm) and (8.57mm) respectively, and no inhibition effect against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*.

Keywords: *Rosmarinus officinalis* L, *Olea europaea* L, antibacterial activity, antioxidant activity, phytochemical study.

المخلص

تشكل النباتات الطبية مصدرًا مهمًا ومتنوعًا للأيضات الثانوية، والتي لها العديد من التطبيقات: الصيدلانية والطبية والغذائية والزراعية والتكنولوجيا الحيوية. هذه المستقبلات هي أصل العديد من الأنشطة البيولوجية مثل النشاط المضاد للبكتيريا ومضادات الأكسدة. ومن هذا المنطلق، كنا مهتمين بنباتين طبيين (اكليل الجبل وورق الزيتون) اللذان ينتميان على التوالي إلى عائلتي (الشفويات والزيتيات) يعتمد هدف عملنا على التحليل النوعي للمركبات الكيميائية النباتية، بالإضافة إلى تقييم الأنشطة المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا لهذين النباتين. أظهرت النتائج المتحصل عليها وجود عائلات مختلفة من المركبات الكيميائية ذات الاستقلاب الثانوي في النوعين المدروسين. تم اختبار نشاط مضادات الأكسدة بطريقة قياس قدرة الجذور الحرة DPPH، وتم إجراؤها باستخدام المستخلصات الميثانولية للنباتين. أظهرت النتائج أن المستخلص الميثانولي لنبات *Rosmarinus officinalis L*. أظهر بوضوح نشاطًا مضادًا للأكسدة عاليًا مع IC_{50} قدره) 1.36 ملغم/مل (مقارنة مع *Olea europaea L* الذي سجل IC_{50} قدره) 3.4 ملغم/مل).

تم اختبار النشاط المضاد للبكتيريا على أربع سلالات "*Bacillus* ، *Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli*" و *Pseudomonas aeruginosa* و *subtilis* بطريقة الانتشار القرصي على وسط الأجار. أظهرت النتائج أن المستخلص الإيثانولي لنبات *Rosmarinus officinalis L* له نشاط مضاد معنوي ضد سلالات *Bacillus subtilis* و *Staphylococcus aureus* بمناطق تثبيط بلغت (12.32 ملم) و (10.86 ملم) على التوالي. بينما أظهر المستخلص المائي والميثانولي تأثيرات سلبية. بالإضافة إلى ذلك، أظهر المستخلص المائي لنبات *Olea europaea L* تأثير تثبيطي ضد *Bacillus subtilis* و *Escherichia coli* بقطر تثبيطي (8.65 ملم) و (8.57 ملم) على التوالي، ولا يوجد تأثير تثبيطي ضد *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa* الكلمات الدالة؛ اكليل الجبل *Rosmarinus officinalis L* ، ورق الزيتون *Olea europaea L* ، نشاط مضاد للجراثيم ، نشاط مضاد للأكسدة ، دراسة كيميائية نباتية.

Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Abstract

الملخص

Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction générale..... 1

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

I.	Les plantes médicinales	3
	I.1. Généralités.....	3
	I.2. Principe actif des plantes médicinales.....	3
II.	Métabolites des plantes médicinales.....	4
	II.1. Métabolismes primaires	4
	II.2. Métabolites secondaires	4
	II.2.1. Classification des métabolites secondaires.....	5
	II.2.1.1. Les composés phénoliques	5
	II.2.1.2. Composés terpéniques.	11
	II.2.1.3. Composés azotées (Alcaloïdes).....	11
III.	Les activités biologiques des plantes médicinales	12
	III.1. L'activité antioxydante	12
	III.1.1. Définition	12
	III.1.2. Mécanisme d'action	12
	III.1.3. Les différents types des antioxydants	13
	III.1.3.1. Les antioxydants enzymatiques.....	13
	III.1.3.2. Antioxydants non enzymatiques	13
	III.1.4. Le stress oxydatif	15
	III.1.5. Les radicaux libres	15

III.1.5.1. Définition	15
III.1.5.2. Origine des radicaux libres.....	16
III.1.5.3. Les différents types des radicaux libres	16
III.1.5.4. Principales cibles biologiques de stress oxydant.....	17
III.1.5.5. Rôle pathologique du stress oxydant.....	18
III.2. L'activité antimicrobienne.....	18
III.2.1. Les antibiotiques	19
III.2.2. Mode d'action des antibiotiques	19
III.2.3. Résistance bactérienne à l'antibiotique.....	19
III.2.3.1. Les bactéries	20
III.2.3.1.1. Description des bactéries étudiées	20
IV. Monographie des plantes	22
IV.1. <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	22
IV.1.1. Définition.....	22
IV.1.2. Description botanique	22
IV.1.3. Classification	23
IV.1.4. Culture	24
IV.1.5. Composition chimique de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	24
IV.1.6. Utilisations du romarin « <i>Rosmarinus officinalis</i> L»	24
IV.2. <i>Olea europaea</i> L.....	26
IV.2.1. Définition de l'olivier	26
IV.2.2. Classification	26
IV.2.3. Description botanique	27
IV.2.4. Culture	29
IV.2.5. Les domaines d'utilisation.....	30

Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

I. I. Matériel végétale	33
I.1. Préparation des deux plantes médicinales	31
I.1.1. Séchage et broyage	31
I.1.2. Extraction par macération.....	32

I.1.2.1. Préparation des extraits	32
I.1.2.2. Agitation	33
I.1.2.3. Filtration.....	33
I.1.2.4. Evaporation	33
I.1.3. Détermination de rendement.....	34
II. Analyse qualitative des composés phytochimiques (Screening phytochimique)	34
II.1. Identification des groupes chimiques à partir de l'extrait aqueux	34
II.2. Identification des groupes chimiques à partir de l'extrait chloroformique.....	35
II.3. Identification des groupes chimiques à partir de l'extrait éthanolique	35
II.4. Identification des groupes chimiques à partir de l'extrait méthanolique	36
III. Evaluation des activités biologiques	36
III.1. Evaluation de l'activité antioxydante (Inhibition du radicale stable DPPH).....	36
III.1.1. Méthode de Di-Phenyl-Picryl-Hydrazyl (DPPH)	36
III.1.2. Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique	38
III.2. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	40
III.2.1. Les souches bactériennes testées.....	40
III.2.2. Principe	40
III.2.3. Mode opératoire	40
III.2.3.1. Stérilisation du matériel.....	40
III.2.3.2. Préparation de l'eau physiologie	41
III.2.3.3. Préparation de GMH	42
III.2.3.4. Préparation des disques	43
III.2.3.5. Préparation des dilutions	43
III.2.3.6. Préparation de l'inoculum microbien	44
III.2.3.7. Ensemencement et dépôt des disques.....	45
III.2.3.8. Incubation.....	45
III.2.3.9. Lecture et expression des résultats	45

Chapitre 3 : Résultats et Discussion

I. Détermination de rendement d'extraction.....	50
II. Résultats de l'analyse qualitative (screening phytochimique).....	49

II.1. Résultats des tests phytochimiques	49
II.2. Discussion des résultats de tests phytochimiques	55
III. Résultats des activités biologiques	57
III.1. Evaluation de l'activité anti-oxydante	57
III.1.1. Le pourcentage d'inhibition	57
III.1.2. Effet extrait sur IC ₅₀	58
III.2. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	60
III.2.1. Résultats de l'activité antibactérienne de <i>Rosmarinus officinalis L</i>	60
III.2.2. Résultats de l'activité antibactérienne d' <i>Olea europaea L</i>	64
Conclusion générale	71
Références bibliographiques	74

Liste des tableaux

Tableau 1 : Structure de base et principales classes des flavonoïdes.....	7
Tableau 2 : Les différentes structures des acides phénoliques.....	8
Tableau 3 : Structure de base de coumarine et ses principaux types	10
Tableau 4 : Classification des terpénoïde	11
Tableau 5 : Références et origine des souches microbiennes utilisées.	40
Tableau 6 : Les différentes dilutions utilisées.....	43
Tableau 7 : Résultats de rendement des extraits d' <i>Rosmarinus officinalis L</i>	47
Tableau 8 : Résultats de rendement des extraits d' <i>Olea europaea L</i>	48
Tableau 9 : Résultats de screening phytochimique des deux plantes étudiées.	50
Tableau 10 : Description des résultats de tests phytochimiques.....	50
Tableau 11 : Zones d'inhibition des différents extraits de <i>Rosmarinus officinalis L</i>	60
Tableau 12 : Diamètres moyens de la zone d'inhibition des extraits de <i>Rosmarinus officinalis L</i>	61
Tableau 13 : Zones d'inhibition des différents extraits d' <i>Olea europaea L</i>	64
Tableau 14 : Diamètres moyens de la zone d'inhibition des extraits d' <i>Olea europaea L</i>	65

Liste des figures

Figure 1 : Structure chimique des polyphénols	6
Figure 2 : Différentes structures des tanins	9
Figure 3 : Structure général de la lignine	10
Figure 4 : Structure de base d'isoprène	11
Figure 5 : Structure de base des alcaloïdes	12
Figure 6 : Vitamine E (tocophérol).	14
Figure 7 : Vitamine C (acide ascorpique).	14
Figure 8 : Formation des radicaux libre	15
Figure 9 : peroxydation lipidique induite par le radical OH	17
Figure 10 : La résistance bactérienne aux antibiotiques	20
Figure 11 : <i>Rosmarinus officinalis L.</i>	22
Figure 12 : Aspect morphologique du <i>Rosmarinus officinalis L.</i>	23
Figure 13 : Utilisation alimentaire traditionnels (tisane)	25
Figure 14 : Utilisation cosmétique	25
Figure 15 : Utilisation alimentaire (épice)	26
Figure 16 : L'olivier	26
Figure 17 : Les principales parties d'un olivier.....	27
Figure 18 : Différentes formes de la feuille d'olivier.....	29
Figure 19 : Plante de <i>Rosmarinus officinalis L</i> et <i>olea europaea L</i>	31
Figure 20 : Poudre des plantes : <i>Rosmarinus officinalis L.</i> et <i>Olea europaea L</i>	32
Figure 21 : Préparation des extraits.....	32
Figure 22 : Agitateur	33
Figure 23 : Filtration des extraits	33
Figure 24 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.....	37
Figure 25 : Préparation de DPPH.....	37
Figure 26 : Dilutions de la solution mère des extraits.....	37
Figure 27 : Préparation des échantillons	38
Figure 28 : Dilution de la solution mère de l'acide ascorbique.....	39
Figure 29 : Stérilisation du matériel dans l'autoclave.....	41
Figure 30 : Préparation de l'eau physiologique.....	41
Figure 31 : Préparation de GMH.....	42
Figure 32 : Les disques préparés	43
Figure 33 : Préparation des dilutions	44

Figure 34 : Préparation de l'inoculum microbien	44
Figure 35 : Ensemencement et dépôts des disques	45
Figure 36 : Le rendement des extraits d' <i>Rosmarinus officinalis L</i>	47
Figure 37 : Le rendement des extraits d' <i>Olea europaea L</i>	49
Figure 38 : Résultats des échantillons d'activité anti-oxydante.....	57
Figure 39 : Pourcentages d'inhibition du radicale DPPH par les extraits de deux plantes (<i>Olea europaea</i> (O.E) et <i>Rosmarinus officinalis L</i> (R.O)).....	58
Figure 40 : Effet extrait méthanolique sur l'IC ₅₀	59

Liste d'abréviation

DMSO : Diméthyle sulfoxyde.

E. coli : *Escherichia coli*.

P. aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

B. subtilis : *Bacillus subtilis*

FeCl₃ : Chlorure ferrique.

g : Gramme.

H₂SO₄ : Acid sulfurique.

HCl : Acide chlorhydrique.

IC₅₀ : Concentration d'inhibition 50%.

M : Masse.

MeOH: Méthanol.

MH : Miller-Hinton.

mg/ml : Milligramme par millilitre

ml : Millilitre.

mm : Millimètre.

PI : Pourcentage de l'inhibition.

SM : Solution mère

KOH : Hydroxyde de potassium

NH₄OH : Hydroxyde d'ammonium

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium

Nm : Nanomètre

µl : Microlitre

λ : La longueur d'onde

DPPH : 2, 2 diphenyl-1-picrylhytrazyl.

GMH : Gélose Miller Hinton

Introduction générale

L'exploitation et l'utilisation des ressources végétales par l'homme remontent à l'antiquité et n'ont cessé de croître jusqu'à aujourd'hui. Ces ressources ont joué un rôle essentiel dans son alimentation et grâce à des expériences rudimentaires, il a pu les utiliser pour se soigner. De nos jours, les plantes occupent une place importante dans la recherche scientifique thérapeutique et sont régulièrement utilisées en médecine moderne et traditionnelle pour leurs innombrables propriétés curatives. Leur efficacité est due à leurs principes actifs variés et puissants (**Gitishree et al., 2022**).

C'est à cause de sa position géographique, sa diversité pédoclimatique et sa flore indigène que l'Algérie fait partie des pays riches en plantes médicinales et aromatiques, susceptibles d'être utilisées dans différents domaines tels que la médecine, parfumerie, cosmétique, pharmacie, agroalimentaire, etc. (**Kenoufi, 2018**).

Les métabolites secondaires, des substances bioactives présentes dans les plantes médicinales, sont à l'origine de nombreuses propriétés thérapeutiques, à titre indicatif, les polyphénols (**Shay et al., 2015**). Ces métabolites sont distribués dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois), vu leurs intérêts multiples, elles trouvent des débouchés dans le secteur médical, alimentaire, pharmaceutique et commercial (**Twaij et Hasan, 2022**).

Les plantes choisies dans notre travail sont : *Rosmarinus officinalis L.* et *Olea europaea L.* qui appartiennent respectivement aux familles *Lamiaceae* et *Oléaceae*. En médecine traditionnelle, elles ont une place importante leurs pour effets thérapeutique en raison de ses indications. Comme antioxydantes, antibactériennes et sont actuellement utilisées dans les secteurs de l'industrie pharmaceutique et cosmétique (**Macedo, 2020**).

Dans ce contexte, l'objectif de notre travail est de réaliser une étude phytochimique pour détecter les différents composés chimiques des feuilles de deux plantes ; Romarin (*Rosmarinus officinalis L.*) et d'olivier (*Olea europaea L.*) et d'évaluer le pouvoir antioxydant et antibactérienne de ses extraits afin de mieux comprendre l'origine des propriétés thérapeutiques que possèdent ces deux plantes.

Notre manuscrit est subdivisé en trois chapitres :

Le premier chapitre est une synthèse bibliographique qui présente des généralités sur les plantes médicinales, et quelques connaissances sur les deux plantes étudiées (*Rosmarinus officinalis L.* et *Olea europaea L.*); leurs caractéristiques botaniques, leurs compositions

chimiques, les métabolites secondaires, leurs activités biologiques (anti-oxydante et antibactérienne).

Le deuxième chapitre est consacré pour la présentation des méthodes utilisées, qui porte sur :

- La préparation des extraits phénoliques des plantes.
- La caractérisation par screening phytochimique des différents métabolites secondaires.
- L'évaluation de l'activité antioxydante par le test de DPPH.
- L'évaluation de l'activité antibactérienne.

Le troisième chapitre comprend la présentation, l'interprétation et la discussion des résultats obtenus.

Le mémoire est achevé par une conclusion.

Chapitre 1 :
Synthèse
bibliographique

I. Les plantes médicinales

I.1. Généralités

Les plantes médicinales utilisées par l'homme depuis l'antiquité. De nos jours leur utilisation a pris un essor considérable dans les industries de parfum, produits cosmétiques et pharmaceutiques. Les plantes sont la source principale de substances actives où au moins 35 000 espèces sont utilisées dans le monde. L'Algérie avec sa diversité de climats et de sols, sa situation géographique et ses reliefs présente une flore de 3 510 espèces dont 450 espèces sont répertoriées dans les hauts plateaux et le grand sud du pays (**Quezel et Medail, 1995**).

Les plantes médicinales sont toujours associées aux comportements et au savoir traditionnel culturels. Selon les statistiques de 2003 de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 80% de la population mondiale à recours aux médecines traditionnelles pour satisfaire des besoins en soins de santé primaire (**Bhar et Balouk, 2011**).

Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement lorsque les constituants des plantes sont utilisés directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matières premières pour la synthèse de médicaments ou comme modèles pour les composés pharmacologiquement actifs (**Gurib- Fakim, 2006**).

I.2. Principe actif des plantes médicinales

La plupart des espèces végétales qui pousse dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme ; elles sont donc médicinales utilisées aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie (**Iserin, 2018**).

Le principe actif, c'est une molécule présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'homme ou l'animal. Le principe actif est contenu dans une drogue végétale ou une préparation à base de drogue végétale. Une drogue végétale en l'état ou sous forme de préparation est considérée comme un principe actif dans sa totalité, que ses composants ayant un effet thérapeutique soient connus ou non (**Pelt, 1980**).

La recherche des principes actifs extraits des plantes est d'une importance capitale car elle a permis la mise au point de médicaments essentiels. Aujourd'hui les plantes sont de plus en plus utilisées par l'industrie pharmaceutique, il est impossible d'imaginer le monde sans la quinine qui est employée contre la malaria ou sans la diadoxine qui soigne le cœur, ou encore l'éphédrine que l'on retrouve dans de nombreuses prescriptions contre les rhumes (**Iserin et al., 2001**).

II. Métabolites des plantes médicinales

Les plantes contiennent des métabolites secondaires pouvant être considérées comme des substances indirectement essentiels à la vie des plantes. Contrairement, les métabolites primaires (glucides, protides, lipides, acides nucléiques), qui sont les principales dans le développement et la croissance de la plante, participent à l'adaptation de la plante avec l'environnement, ainsi à la tolérance contre les chocs (lumière UV, les insectes nocifs, variation de la température...) (**Sarnimancho et Cheyner, 2006**). Cette fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais représente une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (**Macheix et al., 2005**).

II.1. Métabolismes primaires

Les glucides, les acides gras et les acides aminés sont des classes très importantes de composés chimiques naturels qui jouent un rôle essentiel dans la vie des organismes, en particulier des plantes. Ces composés sont les éléments constitutifs de base qui forment les infrastructures des plantes, et ces classes de composés chimiques sont des composants clés des métabolismes primaires des plantes, ce qui signifie qu'ils sont impliqués dans les processus biologiques essentiels et nécessaires à la survie des plantes et à leur croissance.

Les plantes photosynthétiques convertissent le dioxyde de carbone (CO₂) en métabolites primaires qui sont nécessaires pour leur vitalité. Les métabolites primaires sont des molécules impliquées directement dans les grandes voies du métabolisme basal de la cellule c'est-à-dire indispensables à la survie de la cellule ou d'organisme. Ils sont divisés en trois groupes :

- Les glucides, source d'énergie, paroi cellulaire.
- Les lipides, source d'énergie, membrane cellulaire.
- Les acides aminés, source primaire de construction des protéines Et ils sont considérés comme base de l'alimentation humaine et animale (**Badiaga, 2012**).

II.2. Métabolites secondaires

La plante est le siège d'une activité métabolique aboutissant à la synthèse des métabolites primaires (les protéines, les glucides et les lipides) et des métabolites secondaires (**Hartmann, 2007**). Les métabolites secondaires diffèrent en fonction des espèces, bien que leurs rôles soient encore mal connus, il est cependant clair qu'ils interviennent dans les relations qu'entretient la plante avec les organismes vivants qui l'entourent. Ils sont probablement des éléments essentiels de la coévolution des plantes avec les organismes vivants, tels que les parasites, les agents pathogènes et les prédateurs. Ils n'exercent aucune fonction directe aux niveaux des activités

Fondamentales de l'organisme végétal (croissance, développement, reproduction...) mais peuvent jouer différents rôles pour la survie du végétal lui-même, rôle de défense ou de résistance (Merghem, 2009).

II.2.1. Classification des métabolites secondaires

On peut classer les métabolites secondaires en plusieurs grands groupes, dont les plus importants en termes de nombre de structures connues sont :

- Les composés phénoliques
- Les composés terpéniques
- Les composés azotés dont les alcaloïdes (Merghem, 2009).

Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine. Ils présentent une énorme valeur économique en particulier pour l'industrie pharmaceutique et la cosmétique (Aref et Heded, 2015).

II.2.1.1. Les composés phénoliques

- **Définition et généralités**

Les « polyphénols » ou « composés phénoliques » sont les antioxydants les plus présents dans la nature (Menat, 2006). Ils sont des molécules synthétisées par les végétaux, qui appartiennent à leur métabolite secondaire et participent à leur défense contre les agressions environnementales (Edeas, 2007). Ce sont les métabolites secondaires les plus largement représentés dans le règne végétal (Ba *et al.*, 2010) et sont généralement des pigments responsables des couleurs des fleurs et fruits (jaune, orange, rouge) (Edeas, 2007).

Les polyphénols naturels regroupent un vaste ensemble de substances chimiques (Chira *et al.*, 2008)

plus de 8 000 molécules, divisées en une dizaine de classes chimiques, qui présentent toutes un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) (Fig.01) (Hennebelle *et al.*, 2004).

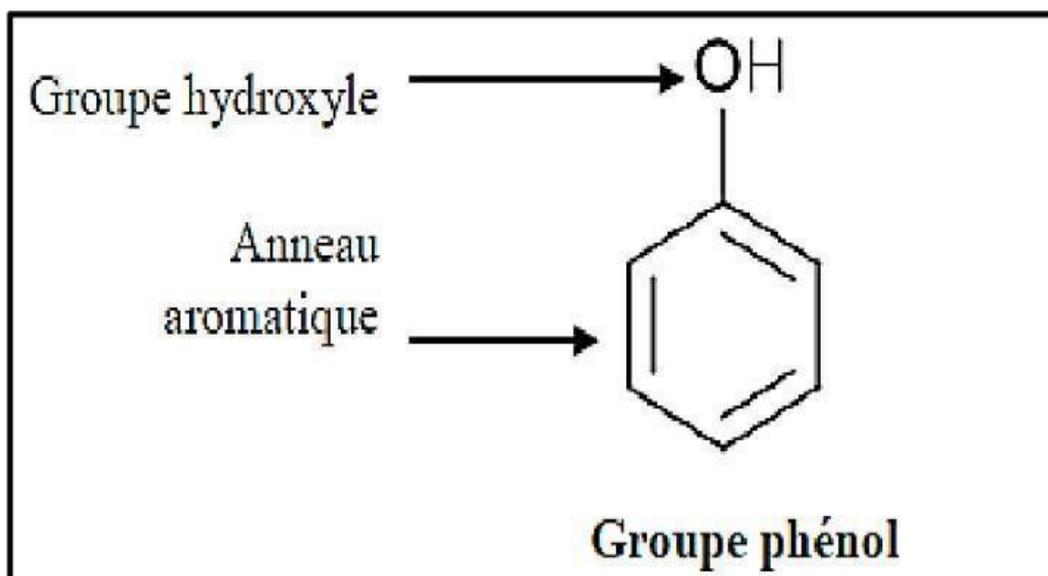


Figure 1 : Structure chimique des polyphénols (Sobiesiak, 2017).

- **Classifications des composés phénoliques**

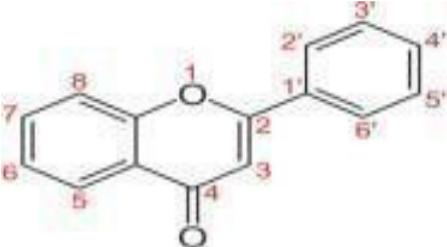
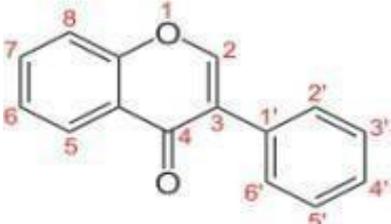
La structure des composés phénoliques va du simple noyau aromatique de faible poids moléculaire jusqu'aux tanins complexes de très haut poids moléculaire. Ils peuvent être classés par le nombre et l'arrangement des atomes de carbone les composant, en fonction de la nature de leur squelette carboné et en fonction de la longueur de la chaîne aliphatique liée au noyau benzénique. Les composés phénoliques sont capables de se conjuguer à des oses ou à des acides organiques. De ce fait, on peut les retrouver très souvent présents sous ces formes (Chira *et al.*, 2008). Les composés phénoliques peuvent être répartis en deux grands groupes : les flavonoïdes et les non flavonoïdes (Pincemail *et al.*, 2007).

A. Les flavonoïdes

Sont des pigments végétaux, simples ou glycosylés, responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Ainsi, le flavonoïde est incolore, sa formule chimique la plus courante est C₆-C₃-C₆, jouant un rôle dans la Co-pigmentation. Les flavonoïdes, dissous de manière hétérotrophe dans les plastes, sont des producteurs de pigments, présents dans l'épiderme et les cellules épidermiques, assurant la protection des tissus contre les rayonnements solaires nocifs (Krief, 2003).

Le tableau 01 résume les principales classes des flavonoïdes :

Tableau 1 : Structure de base et principales classes des flavonoïdes (Iserin *et al.*, 2001).

Classes	Structures chimique	R3'	R4'	R5'	Exemples
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavones		H	H	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH ₃	H	Diosmétine
Anthyanidines		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eridictyol
Isoflavones		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O- GLU	OH	Daidezine

B. Les non-flavonoïdes

➤ **Les acides phénoliques**

Un acide phénolique ou acide-phénol est un composé organique possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Les acides phénoliques sont divisés en deux classes :

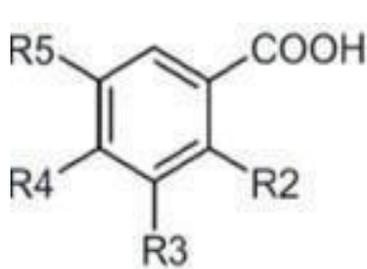
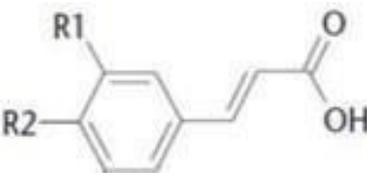
• **Les acides hydroxybenzoïques**

Les acides hydroxybenzoïques présentent une structure en C6-C1 (Tab. 02), composée d'un noyau benzénique sur lequel vient s'attacher une chaîne aliphatique à un carbone (Chira *et al.*, 2008).

• **Les acides hydroxycinnamiques**

Leur squelette de base est un noyau benzénique avec une chaîne aliphatique à 3 carbones (C6-C3), avec un ou plusieurs groupements hydroxyles (Tab. 02) (Chira *et al.*, 2008).

Tableau 2 : Les différentes structures des acides phénoliques (Laguerre *et al.*, 2007).

Classes	Structures chimiques	R2	R3	R4	Exemples
Acides Hydroxybenzoïques		OCH ₃	OH	H	Acide Vanillique
		H	H	H	Acide Salicylique
		H	H	OH	Acide gentisique
Acides Hydroxycinnamiques		R1	R2	R3	
		OH	OH	H	Acide Caféique
		OCH ₃	OH	H	Acide Férulique

➤ Les tanins

Les tanins sont définis comme des composés phénoliques hydrosolubles, de masse moléculaire comprise entre 500 et 3000, ayant la propriété de précipiter la gélatine et d'autres protéines et de se colorer par les sels ferriques (Krief, 2003).

Les tanins ont un effet anti-inflammatoire dans le cas des brûlures, ils possèdent des activités bactéricides, virucides, anti diarrhéique à l'intérieur (ralentit le péristaltisme intestinal) (Obame Engonga, 2009), activité antioxydante (Nsemi, 2010), action antiseptique et vasoconstricteur de petit vaisseaux (hémorroïdes, blessures superficielles). Le tanin catéchique est bactéricide et tonique veineux, sert contre les hémorroïdes, les varices et le trouble circulatoire (Obame Engonga, 2009).

On distingue :

- Les tanins pyrogalliques (hydrolysables)

Ils donnent après hydrolyse à chaud à l'aide de solutions acides, une fraction glucidique (glucose) et une fraction polyphénolique (Fig 02) (Doat, 1978).

- Les tanins condensés (non hydrolysables)

Sous l'action des acides dilués, au lieu de conduire à des produits plus simples, donne au contraire des composés encore plus condensés (Fig 02) (Doat, 1978).

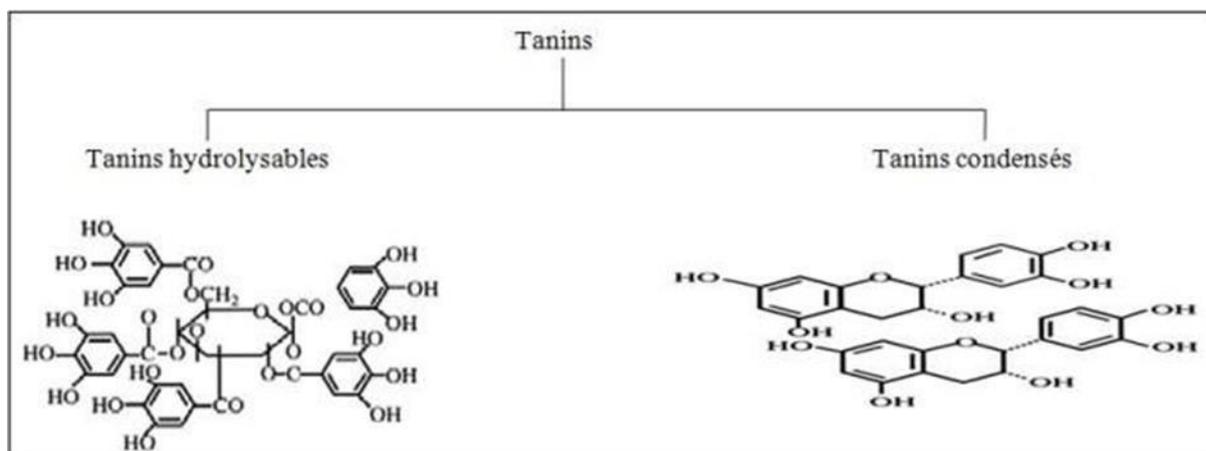


Figure 2 : Différentes structures des tanins (Cowan, 1999).

➤ Les lignines

La lignine est un polymère fortement ramifié, formés par trois alcools phénoliques simples (Fig 03). La lignine est localisée dans les parois cellulaires et plus spécialement dans les parois secondaires des éléments conducteurs, contribuant à la résistance mécanique et à la rigidité des tiges lignifiées (Hopkins, 2003).

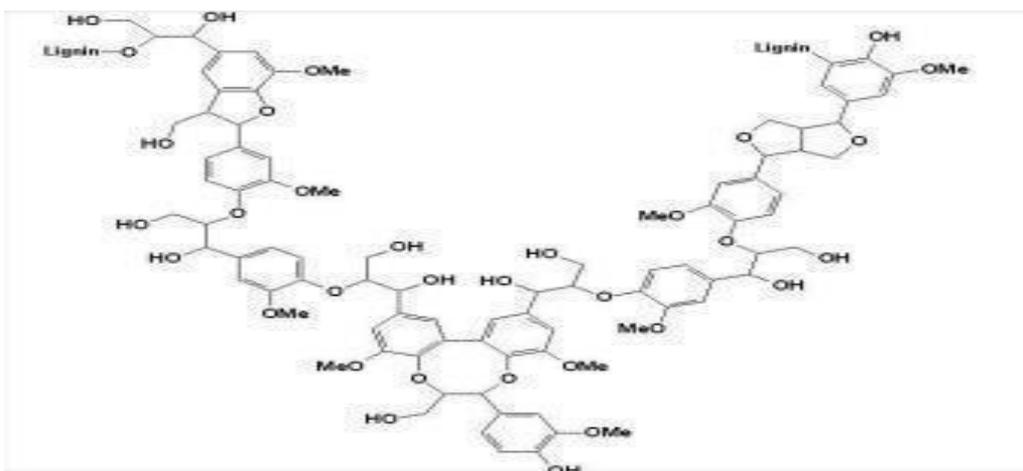


Figure 3 : Structure général de la lignine (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**).

➤ **Les coumarines**

Sont des substances naturelles fréquemment hydroxylées en position 7, et ces hydroxyles peuvent être méthyles ou engagés dans une liaison hétérosidique (**Tab.03**). L'esculoside 6, présent dans l'écorce du Marronnier d'Inde, est considéré comme vasculoprotecteur et veinotonique; c'est le principe actif de médicaments anti hémorroïdaires. Elles sont surtout présentes dans certaines familles : *Rutaceae* et *Apiaceae* (**Krief, 2003**).

Les coumarines présentent des nombreuses activités : anti-inflammatoires, anti parasitaires analgésiques, anti œdémateuses et protectrices vasculaires (**Nsemi, 2010**).

Tableau 3 : Structure de base de coumarine et ses principaux types (**Macheiex et al., 2005**).

Structure	R1	R2	R3	Acide phénolique
	H	OH	H	Umbelliférol
	OH	OH	H	Aescultol
	OCH ₃	OH	H	Scopolétole
	OCH ₃	OH	OH	Fraxétole
	H	OH	OH	Daphnétole

II.2.1.2. Composés terpéniques

Avec les polyphénols, les terpénoïdes sont classés aussi parmi les substances secondaires importantes du métabolisme chez les végétaux. Les terpènes peuvent être considérés comme étant des dérivés de l'isoprène (**Fig.04**). D'où le nom d'isoprénoïdes sous lequel, ils sont parfois désignés.

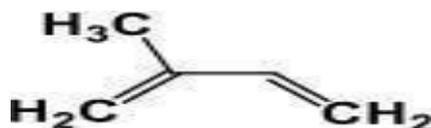


Figure 4 : Structure de base d'isoprène (Crozier *et al.*, 2008).

- **Classification des composés terpéniques**

Selon le nombre d'unités isopréniques qui les constituent, on distingue différentes classes résumées dans le (**Tab. 04**) :

Tableau 4 : Classification des terpénoïdes (Merghem, 2009).

Nombre de carbone	Nom
10	Les monoterpènes
15	Les sesquiterpènes
20	Les diterpènes
30	Les triterpènes
40	Les tetraterpènes
400	Les polyterpènes

Les composés terpénoïdes constituent un groupe de molécules très différentes tant d'un point de vue structurel que fonctionnel. Avec près de 15000 structures moléculaires connues, ils constituent probablement la classe la plus vaste et plus diversifiée de composés organiques végétaux (**Hopkins, 2003**).

II.2.1.3. Composés azotés (Alcaloïdes)

Ce sont des substances organiques azotées d'origine végétale qui peuvent être trouvés dans plusieurs familles des plantes, de caractère alcalin et de structure complexe (noyau

hétérocyclique) (**Fig.05**). La plupart des alcaloïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool et ont un goût amer et certains sont fortement toxiques (**Wichtl et al., 2003**).

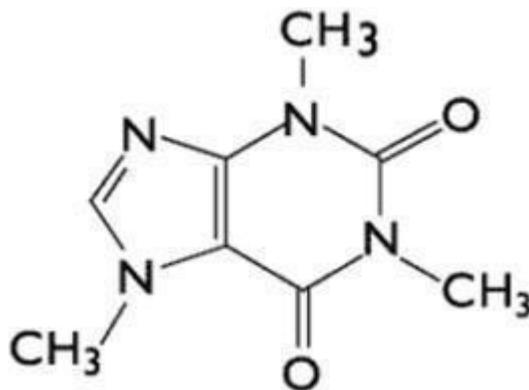


Figure 5 : structure de base des alcaloïdes (**Wichtl et al., 2003**).

III. Les activités biologiques des plantes médicinales

III.1. L'activité antioxydante

III.1.1. Définition

Un antioxydant est une molécule naturelle ou synthétique qui inhibent ou retardent l'oxydation d'autres molécules en intervenant à différents stades du processus d'oxydation. C'est une molécule suffisamment stable pour donner un électron à un radical libre déchaîné et le neutraliser, réduisant ainsi sa capacité d'endommager. Les antioxydants jouent un rôle dans la prévention des maladies chroniques telles que les maladies cardiaques, le cancer, le diabète, l'hypertension et la maladie d'Alzheimer (**Nimse et Pal, 2015**).

III.1.2. Mécanisme d'action

Le mécanisme d'action des antioxydants contre les effets néfastes des espèces réactives peuvent être comme suit :

- Inhibition de la formation des radicaux libres
- Neutralisation des radicaux libres
- Augmentation du système de défense du corps
- Réparation des dommages résultants de radicaux libres (**Liochev, 2013**).

III.1.3. Les différents types des antioxydants

III.1.3.1. Les antioxydants enzymatiques

Ce système comprend plusieurs éléments dont les plus connus sont : le super oxyde dismutase, la catalase et la glutathions peroxydase. A côté de ces enzymes principales, il se trouve : les peroxyredoxines. Ce sont des enzymes qui agissent en tant qu'antioxydants spécifiques également impliquées dans la dégradation enzymatique de H_2O_2 (**Capasso, 2013**).

- **Superoxyde dismutase (SOD)**

Superoxyde dismutase (SOD) est une protéine minérale qui a une activité enzymatique qui lui permet d'améliorer la dégradation de l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$. Il existe de nombreuses SOD, et elles diffèrent par le ou les minéraux (métaux) présents dans leur structure tels que Cu-SOD. (**Frédéric, 2011**).

- **Catalase**

La catalase (CAT) est une protéine tétramérique de quatre sous-unités similaires CAT est un commun enzyme antioxydante présente presque dans tous les tissus vivants qui utilisent l'oxygène. L'enzyme utilise du fer ou du manganèse comme cofacteur et catalyse la dégradation ou la réduction du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) à l'eau et à l'oxygène moléculaire (**Ighodaro et Akinloye, 2017**).

III.1.3.2. Antioxydants non enzymatiques

Plusieurs substances peuvent agir en tant qu'antioxydants. Elles incluent: la vitamine E, l'acide ascorbique, caroténoïdes, les flavonoïdes, les composés phénoliques. Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**).

a) Les antioxydants naturels

- **Les vitamines E et C**

La vitamine C, ou acide ascorbique (**Fig.07**), est en effet un antioxydant majeur ayant la capacité de piéger un large spectre d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) dans l'organisme. Elle est efficace contre les radicaux peroxydes, les radicaux hydroxyles, le radical superoxyde ainsi que contre le peroxyde d'azote. Bien que la vitamine C soit hydrosoluble, elle est très importante pour régénérer la vitamine E (**Fig.06**), un antioxydant liposoluble, ce qui permet de protéger les membranes cellulaires en déplaçant les ERO de la membrane vers le cytosol et en prévenant la peroxydation lipidique.

Les formes oxydées de la vitamine C, notamment le semi-déhydroascorbate et le déhydroascorbate, peuvent être désormais régénérées par le glutathion (GSH) ou d'autres thiols présents à l'intérieur des cellules. Enfin, il est important de noter que la vitamine C a également la capacité de réduire les métaux de transition, ce qui peut avoir des effets pro-oxydants en favorisant des réactions telles que la réaction de Fenton (Nafia *et al.*, 2005).

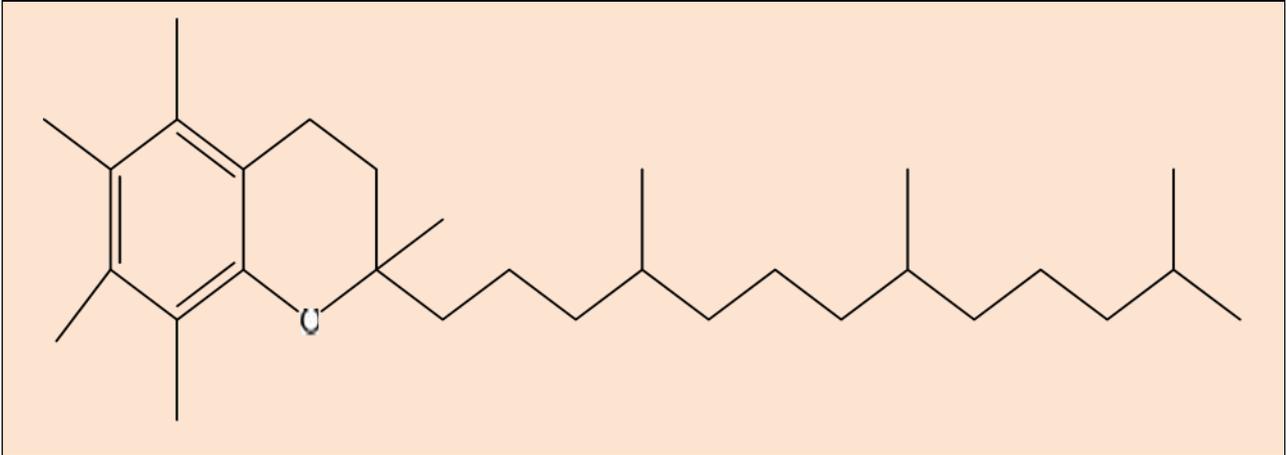


Figure 6 : Vitamine E (tocophérol).

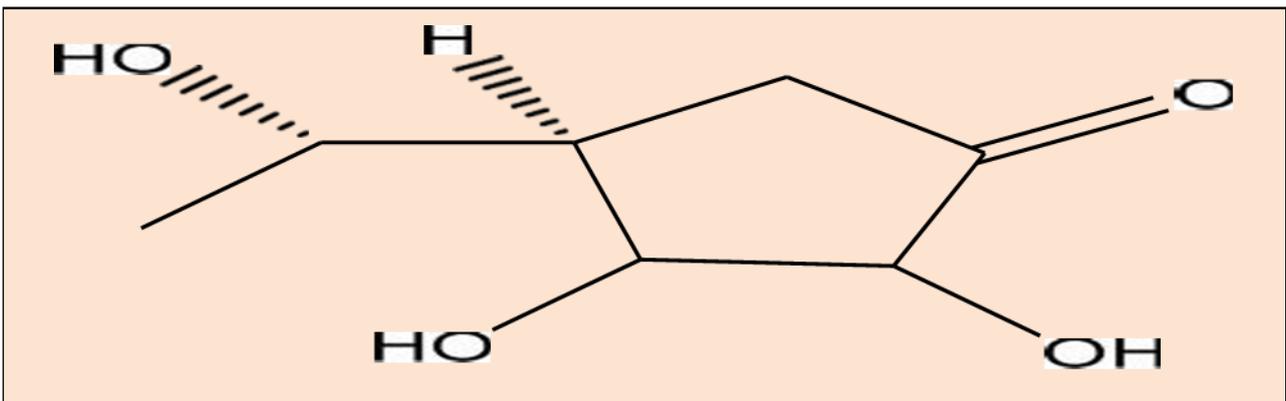


Figure 7 : Vitamine C (acide ascorbique).

- **Les caroténoïdes**

Sont des pigments fabriqués par les végétaux. Les plus importants sont le bêta-carotène et l'alpha-carotène. Ces celles qui donnent aux fruits et légumes des couleurs orange, rouge et jaune. Leur fonction essentielle est de protéger les plantes. La plupart des caroténoïdes ont une propriété antioxydante (Causse, 2005).

- **Polyphénols**

Les composés poly phénoliques sont omniprésents dans tous les organes de la matière végétale et font donc partie intégrante de l'alimentation humaine. L'intérêt des phénoliques

alimentaires a augmenté en raison de leurs capacités anti-oxydantes et antiradicalaires (Oroian et Escriche, 2015).

III.1.4. Le stress oxydatif

Le stress oxydatif ; c'est un déséquilibre entre la production des espèces radicalaires et les capacités de défense antioxydante de l'organisme. La production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) est utile mais peut être néfaste pour l'organisme lors d'une production excessive et en l'absence de mécanismes de défense. Donc c'est ce que l'on appelle le stress oxydatif, celui-ci peut faire la survenue de pathologies (cancers, maladies cardiovasculaires, maladies dégénératives), un vieillissement prématuré ainsi que la mort cellulaire programmée ou apoptose (Belaich et Boujraf, 2016).

III.1.5. Les radicaux libres

III.1.5.1. Définition

Un radical libre est en effet une espèce chimique caractérisée par la présence d'électrons célibataires, ce qui la rend très réactive. Cette réactivité est due à sa recherche constante d'électrons pour combler son orbital et atteindre une configuration électronique plus stable (Fig.08). Cela lui confère une grande réactivité donc une demi-vie très courte. En effet, ce radical libre aura toujours tendance à remplir son orbital en captant un électron pour devenir plus stable (Goudable et Favier, 1997).

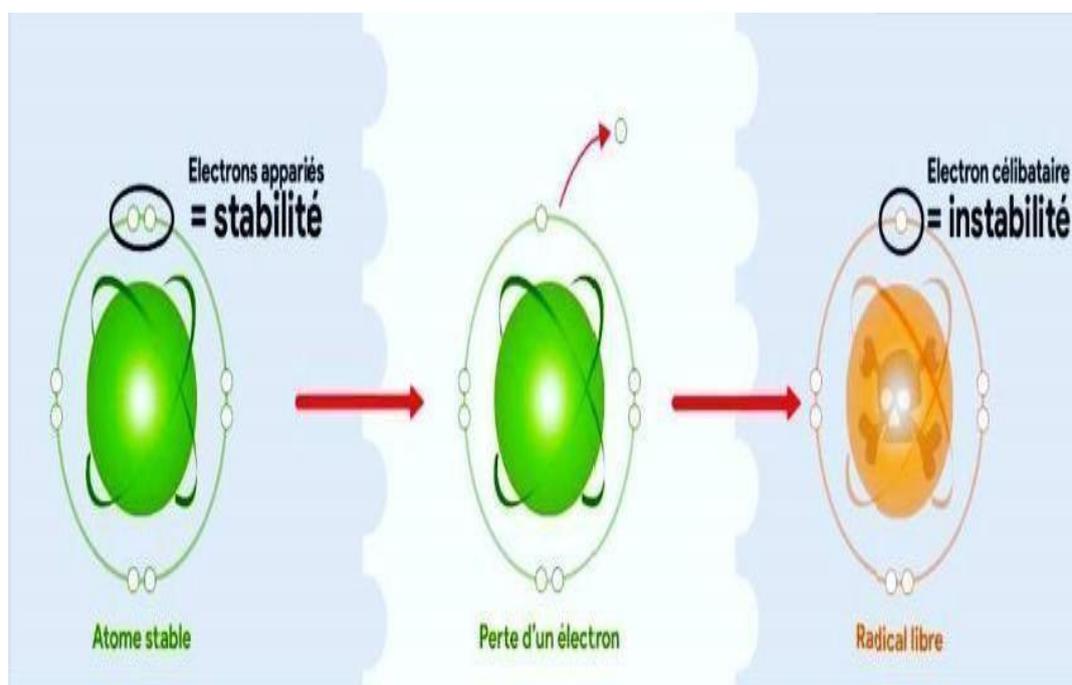


Figure 8 : Formation des radicaux libre (Ghouti et Halbigue, 2019).

III.1.5.2. Origine des radicaux libres

Effectivement, les radicaux libres sont produits dans divers processus biologiques et en raison de l'exposition à divers agents externes. Les processus aérobie comme la respiration cellulaire génèrent naturellement des radicaux libres. De plus, l'exposition à des infections microbiennes, l'activité physique intense, ainsi que l'influence de substances toxiques telles que la fumée de cigarette, l'alcool, les radiations UV, les pesticides et l'ozone peuvent également conduire à la formation de radicaux libres dans l'organisme. Ces radicaux libres en excès peuvent causer des dommages aux cellules et sont associés à diverses pathologies et maladies (**Poljsak et Šuput, 2013**).

III.1.5.3. Les différents types des radicaux libres

- a. **Les radicaux libres primaires** : ils dérivent directement de l'O₂ par une réaction de réduction.
- b. **Les radicaux libres secondaires** : ils sont formés par la réaction des radicaux libres primaires sur des composés biochimiques cellulaires.
- c. **Les espèces actives de l'oxygène** : ce sont des molécules ne possédant pas d'électron non apparié mais au fort pouvoir oxydant car elles peuvent donner naissance à des radicaux libres.
- d. **Les espèces réactives de l'Oxygène (ERO)** : Les radicaux dérivés de l'oxygène représentent la classe la plus importante d'espèces radicalaires générées dans les systèmes vivants. Ce sont des molécules très réactives qui sont constamment produites par des réactions enzymatiques dans les cellules. Il existe plusieurs ERO comme le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), le radical super oxyde (O₂⁻) et le radical hydroxyle (HO) (**Ivanov et al., 2013**).
- e. **Espèces Réactives d'azote (ERN)**

Les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (ERNA ou RONS en anglais) sont en effet une sous-classe spécifique de radicaux libres générés par la réaction entre l'oxygène et l'azote. Les ERNA incluent à la fois des espèces radicalaires et non radicalaires. Les espèces non radicalaires comprennent des composés tels que l'acide nitreux, le peroxyde nitrite et les alkylperoxyde nitrites, tandis que les espèces radicalaires incluent des molécules comme l'oxyde nitrique et le dioxyde d'azote. Ces espèces réactives peuvent jouer un rôle important dans les processus biologiques et être impliquées dans diverses réactions cellulaires. (**Penna et al., 2009**).

III.1.5.4. Principales cibles biologiques de stress oxydant

a) Les lipides

L'initiation de la peroxydation lipidique est en effet provoquée par l'attaque des acides gras par des espèces réactives de l'oxygène (ERONA ou RONS), notamment les radicaux hydroxyles ($\bullet\text{OH}$) ou peroxydes ($\text{ROO}\bullet$). Ces radicaux sont capables d'arracher un atome d'hydrogène d'un groupe méthylène (CH_2) présent dans les acides gras, laissant ainsi un électron non apparié sur l'atome de carbone (**Fig.09**). Cette réaction en chaîne de peroxydation lipidique est un exemple d'oxydation qui peut être très dommageable pour les cellules, car elle peut entraîner des dommages cellulaires importants, conduisant potentiellement à des maladies et des dysfonctionnements cellulaires (**Therond, 2006**).

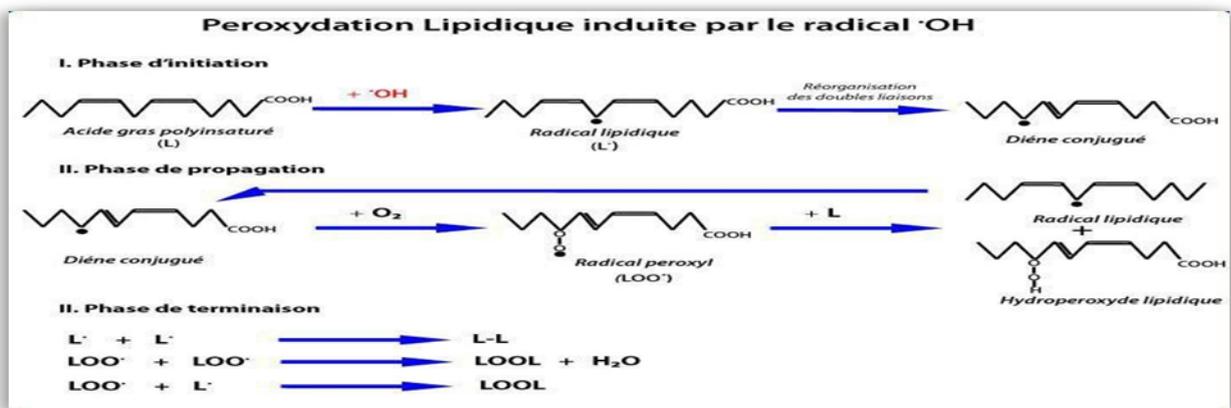


Figure 9 : peroxydation lipidique induite par le radical OH.

b) L'ADN

Les modifications structurales de l'ADN résultent essentiellement à des modifications des bases, la coupure des brins d'ADN et l'altération de nombreuses protéines qui sont en contact avec l'ADN. Ces modifications peuvent conduire à des mutations génétiques affectant les gènes suppresseurs des tumeurs (**Borrego et al., 2013**).

c) Les protéines

Les protéines les plus sensibles aux attaques radicalaires sont surtout celles qui comportent un groupement sulfhydryle ($-\text{SH}$). C'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires et protéines de transport qui vont ainsi être oxydées et inactivées. D'autres lésions irréversibles conduisent à la formation d'un intermédiaire radicalaire (**Noori, 2012**).

d) Les glucides

Effectivement, bien que la chimie de l'attaque radicalaire des polysaccharides soit moins étudiée que celle des autres macromolécules, les espèces réactives de l'oxygène (EOA) peuvent attaquer des mucopolysaccharides, notamment les protéoglycanes présents dans le cartilage. De plus, le glucose peut s'oxyder dans des conditions physiologiques en présence de traces métalliques, entraînant la libération de cétoaldéhydes, de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et de radicaux hydroxyles ($HO\bullet$), qui peuvent provoquer la coupure des protéines ou leur glycation par l'attachement du cétoaldéhyde, formant ainsi des produits de glycation avancée (AGE pour advanced glycation end products) (Favier, 2003).

Ce phénomène de glycosoxydation est particulièrement important chez les personnes atteintes de diabète, car il contribue à la fragilité de leurs parois vasculaires et de leur rétine. Les AGE peuvent affecter la structure et la fonction des protéines et être impliqués dans diverses complications liées au diabète et au vieillissement, en altérant les propriétés biochimiques des tissus et en favorisant le stress oxydatif (Favier, 2003).

III.1.5.5. Rôle pathologique du stress oxydant

Le stress oxydant engendre des perturbations biologiques, la baisse de la fluidité des membranes, les anomalies de récepteurs, la diminution de la sensibilité à l'insuline, la perturbation de l'immunité cellulaire, la fibrose, les dépôts de lipides, l'affaiblissement musculaire, la mort neuronale ou apparition de mutations (Favier, 2006).

Ainsi, le stress oxydatif peut entraîner de nombreuses anomalies pathologiques et avoir un large éventail de conséquences néfastes sur la santé. Parmi ces conséquences figurent les mutations génétiques, qui peuvent contribuer à la carcinogenèse, ainsi que des malformations chez les fœtus en développement. Le stress oxydatif peut également conduire à la formation de dépôts de protéines anormales, à la fibrose, à la production d'auto-anticorps, à l'accumulation de lipides oxydés et à l'immunosuppression (Favier, 2006).

III.2. L'activité antimicrobienne

Le terme "agent antimicrobien" désigne toute substance utilisée pour détruire les microorganismes ou empêcher leur croissance, y compris, agents antibactériens. Les agents antimicrobiens sont utilisés depuis des décennies pour traiter les maladies transmissibles et prévenir les infections. Le mode d'action de ces agents sur les bactéries, peuvent être : Bactériostatique, lorsque la substance inhibe la multiplication des bactéries ou bactéricides ; lorsque la substance détruit totalement les bactéries (Cce, 2001).

III.2.1. Les antibiotiques

Un antibiotique est une substance antibactérienne naturelle, semi-synthétique ou synthétique, capable à faible dose de tuer ou d'inhiber spécifiquement la croissance du germe par un mécanisme particulier jouant sur ses mécanismes vitaux (Okusa, 2012). Il existe plus de 22500 composés actifs biologiquement obtenus à partir des microorganismes, 45% proviennent des actinomycètes, 38% des champignons et 17% d'autres bactéries. Environ 5000 antibiotiques ont été identifiés à partir des cultures de bactéries et les champignons filamenteux (Gebreyohannes *et al.*, 2013).

III.2.2. Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques sont destinés à agir sur les germes microbiens à des concentrations compatibles avec la vie de l'hôte, mais suffisantes pour perturber le métabolisme des germes microbiens, voire les détruire. Donc pour cela, ces antibiotiques doivent se fixer sur certaines structures vitales de ces germes microbiens. Ces structures sont la paroi bactérienne, le système nucléaire, la membrane cytoplasmique et les ribosomes. L'action de la majorité des antibiotiques repose au moins sur l'un des mécanismes suivants:

- Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne.
- Altération de la perméabilité de la membrane plasmique.
- Inhibition de la synthèse protéique.
- Inhibition de la synthèse des acides nucléiques (Minor et Veron, 1989).

III.2.3. Résistance bactérienne à l'antibiotique

La résistance des bactéries aux antibiotiques peut être définie comme la résistance d'une souche qui se cultive en présence de concentration plus élevée en antibiotique comparativement à d'autres souches qui sont phylo-génétiquement liées. Certaines ciblent directement les antibiotiques tandis que d'autres sont dirigées contre les mécanismes cellulaires, impliqués dans le transport de ces substances, les plus répandus étant la diminution de la concentration intracellulaire en antibiotique par diminution de la perméabilité membranaire et/ou sur activation de l'efflux bactérien, l'inactivation des antibiotiques par dégradation ou modification enzymatique et l'altération de leurs cibles cellulaires (Fig.10) (Levy et Marshall, 2004).

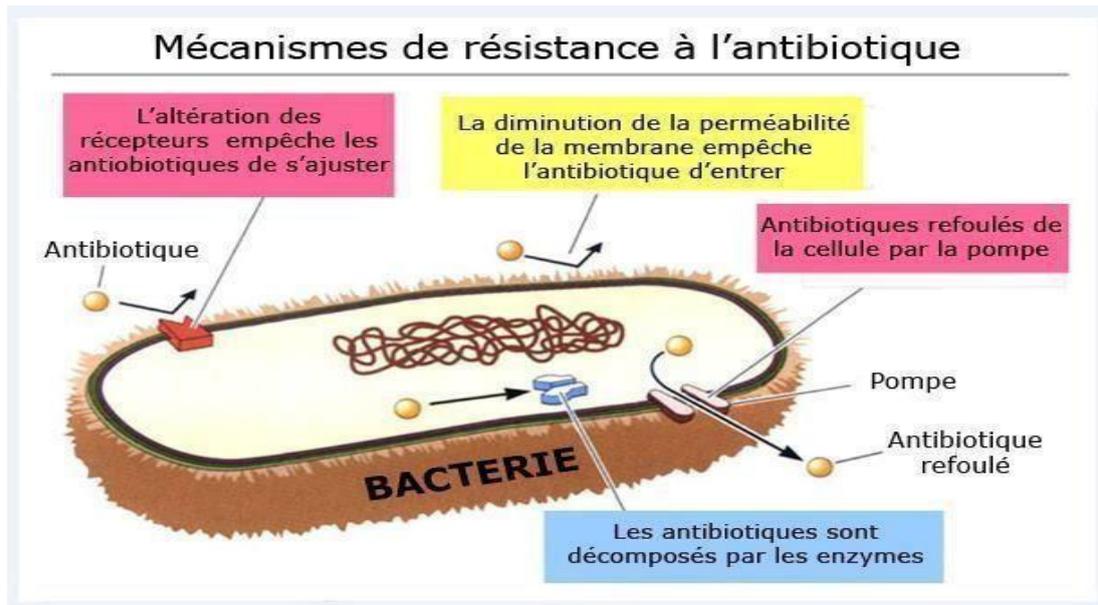


Figure 10 : La résistance bactérienne aux antibiotiques (Levy et Marshall, 2004).

III.2.3.1. Les bactéries

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires classés comme procaryotes car ils ne possèdent pas de membrane nucléaire. Cette caractéristique les distingue des autres organismes unicellulaires, qui sont classés parmi les eucaryotes (champignons, algues et protozoaires). Elles sont divisées en bactéries de niche (Bactéries) et en bactéries primitives (*Archaea*). Toutes les bactéries rencontrées dans la pathologie appartiennent à la Bactériologie. Ce dernier a généralement moins de 1 μm de diamètre. Ils peuvent être vus au microscope optique, frais ou après coloration. Leur forme peut être sphérique (Cocci), en forme de bâtonnet (Bacilles), courbée (*Vibrio*) ou en spirale (*Spirochètes*). Les détails de leur structure ne sont visibles qu'en microscopie électronique (Ricci *et al.*, 2005).

III.2.3.1.1. Description des bactéries étudiées

a) *Escherichia coli*

Escherichia coli est un bacille Gram négatifs, aéro-anaérobie facultative, non halophiles et non sporulées. Généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de (2 à 6 μm), alors que sa largeur est de (1,1 à 1,5 μm) (Nataro et Kaper, 1998). *Escherichia coli* (*E. coli*) est un membre du groupe des coliformes en raison de sa capacité à croître à des températures relativement élevées, environ 44,5°C. Cette bactérie est subdivisée en nombreuses souches, certaines étant pathogènes pour les humains et diverses espèces animales. Ces souches pathogènes peuvent déclencher diverses infections, notamment des infections spontanées des

voies digestives ou urinaires, ainsi que des méningites néonatales chez les nourrissons (**Boerlin et White, 2013**).

b) *Staphylococcus aureus*

Est une cocci de Gram positive. Elle mesure de (0,5 à 1 μm) de diamètre, non sporulé, immobile, aéro- anaérobie facultatif (**Hugas et al., 2002**).

Il est intéressant de noter que de nombreuses souches de *Staphylococcus aureus* produisent un pigment jaune doré, un trait distinctif de cette espèce bactérienne. *Staphylococcus aureus* peut se retrouver dans certains aliments où la pression osmotique est élevée ou la teneur en eau faible.

En plus d'être présente dans l'environnement, *Staphylococcus aureus* peut également être une cause de diverses infections chez les humains. Ces infections peuvent inclure la méningite, l'ostéomyélite (infection des os) et la diarrhée. Il est important de surveiller et de traiter les infections à *Staphylococcus aureus* de manière adéquate, car certaines souches de cette bactérie peuvent être résistantes aux antibiotiques, ce qui rend le traitement plus difficile (**Steven et al., 2004**).

c) *Pseudomonas aeruginosa*

Une espèce de bacilles à Gram négatif. Ces bactéries fines mesurent généralement entre (1,5 et 3 μm) de longueur et (0,5 à 0,8 μm) de largeur. Elles sont mobiles grâce à une ciliature de type polaire monotriche, ce qui donne à ces bactéries un aspect de "vol de moucheron".

Contrairement à certaines autres bactéries, *Pseudomonas aeruginosa* ne forme ni spores ni sphéropastes. Cette espèce est connue pour être responsable d'environ 10 % de l'ensemble des infections nosocomiales, ce qui la place en troisième position après *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. Cependant, elle occupe le premier rang pour les infections pulmonaires basses et le troisième rang pour les infections urinaires (**Richard et Kiredjian, 1995**).

d) *Bacillus subtilis*

Est un bacille de gram positif, sa longueur (2 à 4 μm) et sa largeur de (0,5 à 2 μm), mobile par des flagelles aérobies stricts. *Bacillus subtilis* est une bactérie à faible potentiel pathogène, elle peut donner lieu à de redoutables infections dans certains cas ou encore être à l'origine d'une intoxication alimentaire (**Bouhairi, 2017**).

IV. Monographie des plantes

IV.1. *Rosmarinus officinalis* L.

IV.1.1. Définition

Est un arbrisseau vivace qui appartient à la famille de *lamiacées*. Scientifiquement, on le connaît sous le nom de *Rosmarinus officinalis* L., mais il est plus communément appelé romarin des troubadours, herbe aux couronnes, ou encore rose marine, rose des marins ou rose de la mer. Il se caractérise par des fleurs qui prennent différents teints, compris entre le bleu pâle et le violet (**Fig. 11**) (**Boullard, 2010**). C'est une plante médicinale originaire du bassin méditerranéen, qui pousse à l'état sauvage, qui aime les terrains calcaires et s'accommode très bien à des contrées arides et rocailleuses (**Benzineb, 2019**).



Figure 11 : *Rosmarinus officinalis* L. (**Anonyme 01**).

IV.1.2. Description botanique

La *Rosmarinus officinalis* L. appartient à la famille botanique des Lamiacées au sein du genre *Rosmarinus*. C'est un arbrisseau toujours vert de (0,5 à 2 m), présente différents aspects morphologiques (**Fig.12**) (**Chafai et al., 2014**). Elle est composée de :

a) Tige

Arbuste ou sous arbrisseau, rameau de (0.5 à 2 m). Cette tige est tortueuse, anguleuse et fragile. L'écorce est linéaire à cyme axillaire plus ou moins simulant des épis (**Abdessultane, 2017**).

b) Les feuilles

Sont coriaces, persistantes, linéaires, entières, enroulées sur les bords, vertes et ponctuées dessus, blanches tomenteuses à la face inférieure (**Rameau et Durné, 2008**). Son écorce s'écaille sur les branches les plus âgées et son odeur est extrêmement odorante (**Makhlofi, 2014**).

c) Fleur

D'une couleur varie du bleu pâle au violet (on trouve plus rarement la variété à fleurs blanches, hermaphrodites, visibles de janvier en mai). Elles sont groupées à l'extrémité des rameaux à la base des feuilles (**Belkhodja, 2016**).

d) Le fruit

Est entouré par un calice persistant, sec est constitué de quatre akènes (tétrakène). Il attire les insectes (entomophiles) pour assurer la pollinisation (entomogame) (**Eloutasi, 2004**).

La reproduction peut se faire par voies sexuée (graine) et asexuée (bouture et éclat de touffes). Les modes de dissémination qui sont propres sont : la gravité, le vent, L'eau, les animaux (mammifères, oiseaux, insectes, etc...) et l'homme (**Chafai et al., 2014**).



Figure 12 : Aspect morphologique du *Rosmarinus officinalis* L. (**Ouibrahim, 2015**).

IV.1.3. Classification

Le genre *Rosmarinus* regroupe deux espèces de plantes au Maroc : *Rosmarinus officinalis* L. et *Rosmarinus tournefortii* de Noe. Au Maroc, le nom vernaculaire de *Rosmarinus officinalis* L. est « azir » alors qu'au Moyen-Orient, il est connu sous le nom « Iklil Al Jabal » (**Bhar et Balouk, 2011**). La classification est la suivante :

Embranchement: Spermaphytes.

Classe: Dicotylédones.

Ordre: Lamiales (Labiales)

Famille: Lamiaceae

Genre: *Rosmarinus*.

Espèce : *Rosmarinus officinalis*.

IV.1.4. Culture

Le romarin se cultive dans un endroit ensoleillé, dans un sol calcaire et bien drainé (**jean marie polese, 2006**). Bien que ce soit une plante aimant les climats chauds, il supporte les gelées si le sol ne conserve pas l'humidité. Idéalement, ce dernier doit avoir un pH compris entre (6,5 et 7) (**azhar ali farooqi et al., 2005**).

Une légère taille au printemps après sa floraison a essentiellement pour but de lui conserver une forme harmonieuse. Il ne doit pas être rabattu trop court ; une branche de bois mort sans bourgeons ni feuilles ne formera pas de nouveaux rameaux. Son feuillage persistant et sa tenue rend propice l'utilisation de certaines variétés touffues à une utilisation en topiaire.

Il se multiplie facilement au printemps ou à l'automne par bouturage ou marcottage : plus difficilement en été par semis car sa germination est lente (**jean marie polese, 2006**).

Le romarin est assez résistant aux nuisibles. Il craint toutefois le rhizoctone brun en cas d'humidité trop importante (**panda, 2006**).

IV.1.5. Composition chimique de *Rosmarinus officinalis* L

Contient de (1 à 2 %) d'huile essentielle. Celle - ci renferme du l'apinène (7 à 80 %), de la verbénone (1 à 37%), du camphre (1 à 38%), de l'eucalyptol (1 à 35 %), du bornéol (4 à 19%), de l'acétate de bornyle (jusqu'à 10 %) et du camphène (**Bellakhdar, 1997**). En plus de l'huile essentielle on trouve dans le Romarin : des flavonoïdes, des tannins, des diterpènes tricyclique, des triterpènes, et des acides phénols, dont l'acide rosmarinique (**Debuigne et Couplan, 2009**) et de la résine (**Beloued, 1998**).

IV.1.6. Utilisations du romarin «*Rosmarinus officinalis* L»

a) Usages traditionnels

Rosmarinus officinalis L est utilisé par voie topique au Mexique pour soulager la douleur rhumatismale (**Ventura-Martínez et al., 2011**) et pour améliorer la circulation du sang et soins de la peau (**Hamedo et Abdelmigid, 2009**).

Aussi, le romarin peut être utilisé pour les maux de tête et les rhumes guéris, ainsi il est utilisé comme diurétique efficace et stabilisateur de l'humeur (**Haloui et al., 2000**). Rosemary était censée de renforcer la mémoire dans la Grèce antique (**Foley, 1974**).



Figure 13 : Utilisation alimentaires traditionnelles (tisane) (Anonyme 02).

b) Utilisation cosmétique

Rosmarinus officinalis L. est couramment utilisé comme additif parfumé dans les savons et autres produits cosmétiques pour traiter la cellulite, les rides et normaliser la sécrétion excessive d'huile de la peau (Hamedo et Abdelmigid, 2009).



Figure 14 : Utilisation cosmétique (Anonyme 03).

c) Utilisations culinaires

Le romarin est une épice ancienne parce qu'il est originaire de la méditerranée, il est extrêmement commun dans les cuisines méditerranéennes. Les extraits produits à partir des feuilles de romarin peuvent également être utilisés dans la production alimentaire pour empêcher les matériaux de se détériorer en raison de leurs propriétés antioxydantes. Son efficacité dans la conservation des aliments peut être observée dans de nombreux types d'aliments, y compris le bœuf réfrigéré et les galettes de porc congelées (Lara *et al.*, 2011).



Figure 15 : Utilisation alimentaire (épice) (Anonyme 04).

IV.2. *Olea europaea* L.

IV.2.1. Définition de l'olivier

L'olivier est un arbre méditerranéen très âgés, se multiple très facilement par voie végétative ou à partir de boutures, soumis à l'alternance (production une année sur deux) (Fig.16). Il exige un climat doux, lumineux, craint l'humidité, mais supporte par contre des sécheresses. La zone de culture en latitude en général (25°-45°C). L'arbre est aussi célèbre pour sa rusticité, il supporte des sols pauvres, une relative aridité (Amouretti et Comet, 2000). Un arbre produit supérieur à 50 kg d'olives, il peut donner supérieur à 10 litres d'huile d'olive selon les variétés (Djadoun, 2011).



Figure 16 : L'olivier (Anonyme 05).

IV.2.2. Classification

Selon le système de classification de l'origine botanique, l'olivier appartient à la famille des Oléacées qui est constitué de 29 genres et environ 600 espèces. On distingue deux sous-espèces, l'olivier cultivé ou olivier commun (*Olea europaea sativa.*) et l'olivier sauvage Ou oléastre (*Olea europaea sylvestris.*) (Bayram et al., 2020). La classification botanique de l'olivier selon (Gharabi, 2018) est la suivante :

Embranchement : Spermaphytes

Classe : Dicotylédones

Ordre : Lamiales

Famille : Oléacées

Genre : *Olea*

Espèce : *Olea europaea*.

IV.2.3. Description botanique

Est un arbre méditerranéen par excellence, se distinguant des autres espèces fruitières par sa grande longévité et sa grande rusticité qui lui permet de se développer et de fructifier même dans des conditions environnementale extrêmes. Il s'agit d'un arbre à grand développement, à feuilles persistantes, pouvant dépasser (10 à 15 mètres) de hauteur et possédant un tronc de (1,5 à 2 mètres) de diamètre (**Loussert et Brousse, 1978**). Il est composé de deux parties essentielles : le système aérien et le système racinaire (**Fig.17**).

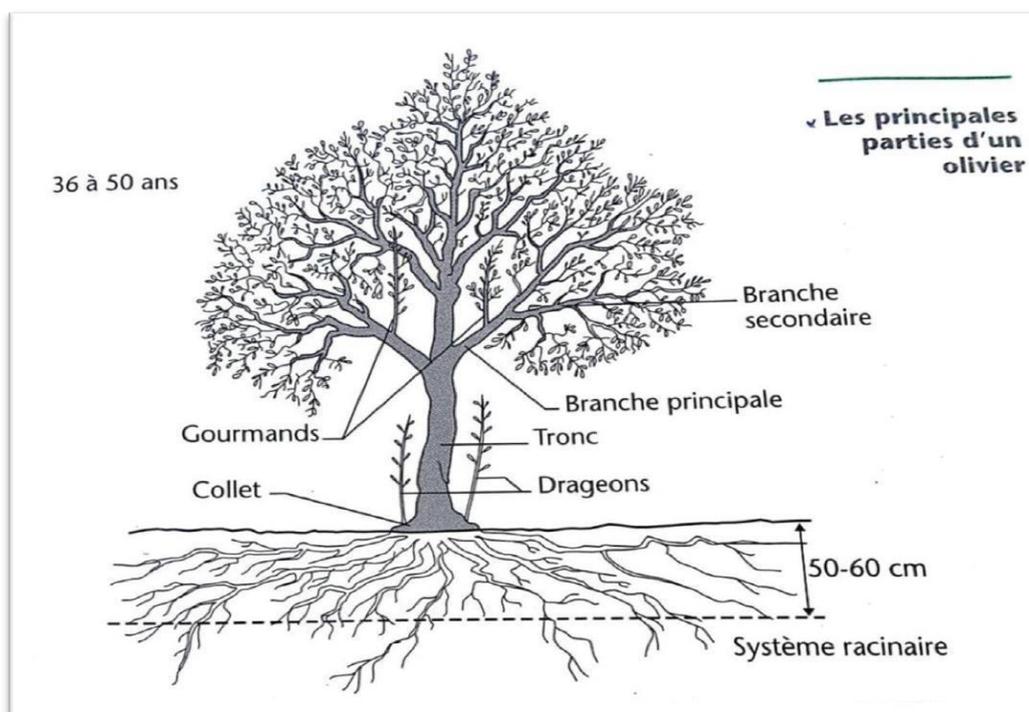


Figure 17 : Les principales parties d'un olivier (**Argenson, 1999**).

a) Système racinaire

L'olivier contient un système racinaire puissant et son développement dépend des caractéristiques physiques et chimiques du sol, des réserves d'eau et l'aération du sol et du type de reproduction (**Loussert et Brousse, 1978**). Selon les propriétés du sol, par exemple, on trouve:

Dans les sols sablonneux, le système racinaire est à tendance pivotant et son développement peut atteindre (6 à 7 m) en profondeur. Pour (**Loussert et Brousse, 1978**), dans les sols lourds à texture franche (peu ou non aérés et peu profonds), le système racinaire est à tendance fasciculé. Aussi, les racines se développent latéralement (superficiellement). Elles sont très ramifiées et portent un nombre élevé de radicelles et son développement en profondeur peut se situer entre (15 à 150 cm), avec une concentration importante située aux environ de 80 cm (**Argenson et al., 1999**). Dans les sols à profil non uniforme, l'olivier développe un système racinaire différencié : à la fois la forme fasciculée et pivotante, selon la compatibilité et l'aération des couches du sol (**Lavee, 1997**). Dans des cultures irriguées, le système racinaire est fasciculé. La plupart des racines se trouvent généralement dans une profondeur de (50 à 70 cm) (**Argenson et al., 1999**), peuvent aller jusqu'à 6 m de profondeur à la recherche de l'humidité, dans les régions où la pluviométrie moyenne est de 200 mm (**Lavee, 1997**).

b) Système aérien

La partie aérienne de l'arbre de l'olivier comprend les organes suivants : Les feuilles, le tronc, les charpentières, la frondaison, les rameaux fructifères (**Loussert et Brousse, 1978**).

• Les feuilles

Sont simples, entières, à pétiole court et à limbe lancéolé qui se termine par un mucron (**Fig.18**). Elles sont de petite taille (3 à 8 cm de long et de 1 à 2,5 cm de large), et aussi sont opposées et persistantes. Leur durée de vie est de l'ordre de 3 ans (**Benguendouz, 2019**). Elle contient des caractères nettement xérophytiques (épiderme supérieur fortement cuisiné et épiderme inférieur recouverts de poils) (**Gharabi, 2018**). La structure des feuilles rend l'olivier plus résistant au manque de pluie et à l'évaporation, offrant ainsi un potentiel de plantation réussie et économique dans les zones où les précipitations annuelles moyennes ne dépassent pas 200 à 400 mm (**Wiesman, 2009**).

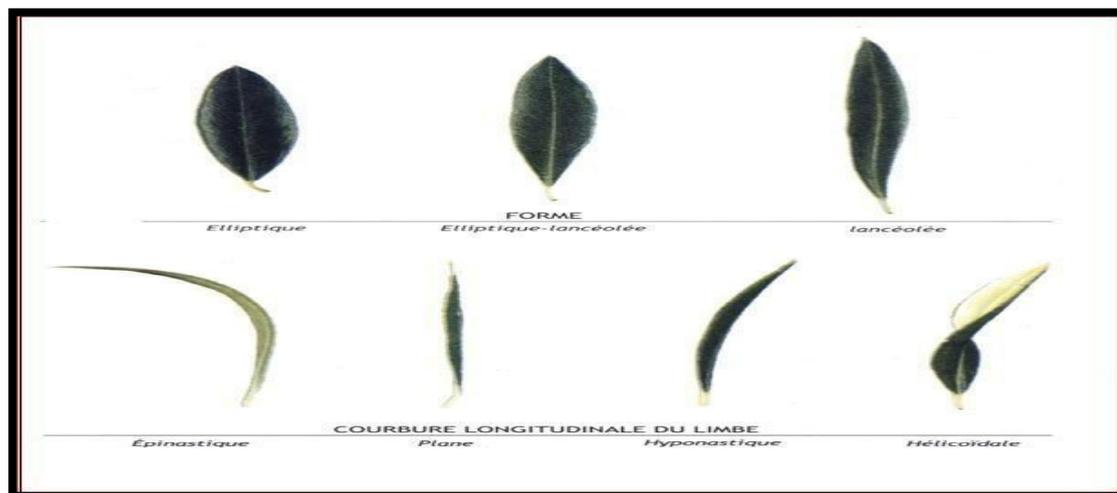


Figure 18 : Différentes formes de la feuille d'olivier (I.T.A.F, 2008).

- **Le tronc**

C'est le principal support de l'arbre (un soutien à l'arbre), qui va du collet au niveau du sol jusqu'au point d'insertion de la première branche. Il est d'aspect et de couleur diffère selon l'âge. Chez les jeunes arbres, le tronc est droit, circulaire, lisse et de couleur gris verdâtre jusqu'à la dixième année environ. Avec le vieillissement, l'olivier peu vivre plus de 1000 ans.

Son tronc tourmenté et devenant noueux, crevassé, fendu et élargi à la base et d'une couleur grise foncée, porte à sa base de nombreux rejets dans sa condition mi- sauvage (**Pagnol, 1975**).

La hauteur du tronc est plus ou moins développée et cela en fonction des cultivars, des zones de culture et les modes de conduites adoptés (**Loussert et Brousse, 1978**).

Selon (**Civantos, 1998**), la hauteur l'idéal pour un olivier semble être de (80 à 120 cm).

- **Les fruits**

D'après (**Loussert et Brousse, 1978**) et (**Argenson et al., 1999**), le fruit de l'olivier est une drupe de forme sphérique, ovoïde ou ellipsoïde, de diamètre compris entre (1et 3 cm), et il a différentes dimensions suivant les variétés.

IV.2.4. Culture

L'olivier pousse bien dans les régions subtropicales à une altitude de 2850 mètres au-dessus du niveau de la mer et préfère généralement les conditions climatiques semi-arides et chaudes. Les conditions optimales de température et de précipitations pour la culture des oliviers se situent respectivement entre (15 et 20° C) et (650 et 900 mm). Les olives ne peuvent pas tolérer les conditions humides en raison de leurs effets néfastes sur le développement des fruits.

Une variété de sols convient à la culture des olives. Cependant, un sol bien drainé, fertile, profond et limoneux avec un pH alcalin (6,5–7,5) est excellent pour la production d'olives (Delcima et Urbano, 2008).

IV.2.5. Les domaines d'utilisation

La plante d'*Olea europaea* est utilisée dans plusieurs domaines :

a) Domaine médicale

En effet, les feuilles d'olivier ont été utilisées depuis longtemps dans la médecine traditionnelle, notamment dans les îles méditerranéennes et les pays européens. Historiquement, ces feuilles ont été employées comme remède contre la fièvre. Au XIXe siècle, les Anglais les utilisaient pour traiter des maladies tropicales telles que la malaria, également connue sous le nom de fièvre paludéenne (Lee *et al.*, 2003).

b) Domaine alimentaire

Olea europaea L. est largement étudiée pour son utilisation alimentaire (les fruits et l'huile sont des composants importants de l'alimentation quotidienne d'une grande partie de la population mondiale) (Hansen *et al.*, 1996).

c) Domaine pharmaceutique

Les feuilles d'olivier peuvent être trouvées en grandes quantités comme résidu dans les industries de l'huile d'olive. Ils étaient utilisés en médecine par les anciens pour désinfecter les blessures cutanées (Breton *et al.*, 2006).

Ainsi, les feuilles d'olivier sont utilisées pour les maladies de l'estomac et des intestins, la diarrhée et pour traiter les infections des voies urinaires (El Hafian *et al.*, 2014). Aussi pour traiter l'hypertension artérielle (hypertension), pour induire la miction (diurèse), l'asthme bronchique.

Chapitre 2 :

Matériel et Méthodes

Notre travail a porté sur l'étude phytochimique, l'activité antioxydante, et l'activité antibactérienne de la partie aérienne (feuilles sans fleurs) de deux plantes : *Rosmarinus officinalis L.* et *Olea europaea L.*

Cette étude a été réalisée au niveau du laboratoire de Département des sciences biologiques et agricoles, Institut des sciences de la nature et de la vie (SNV) de Mila.

I. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé correspond à la partie aérienne composée des feuilles de deux espèces *Rosmarinus officinalis L.* et *Olea europaea L.* La récolte s'est effectuée au mois de février 2024, dans la région de Boufouh, wilaya de Mila.



Figure 19 : Plante de *Rosmarinus officinalis L.* et *olea europaea L.* (Photos personnelles).

I.1. Préparation des deux plantes médicinales

I.1.1. Séchage et broyage

Le processus de préparation des plantes pour leur extraction commence généralement par le séchage des feuilles dans un environnement sombre et sec. Cette étape est cruciale car elle permet d'éliminer l'excès d'humidité et de préserver la qualité des composés actifs présents dans la plante. Une fois que les feuilles sont complètement déshydratées, elles sont réduites en poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique ou d'un moulin (**Fig. 20**). La poudre obtenue est ensuite soigneusement conservée dans des flacons en verre, lesquels qui sont souvent choisis pour leur capacité à protéger le contenu des effets néfastes de la lumière. A condition qu'ils soient opaques



Figure 20 : Poudre des plantes : *Romarinus officinalis L.* et *Olea europaea L.* (Photos personnelles).

I.1.2. Extraction par macération

Dans cette étape, on a utilisé la macération comme une méthode d'extraction, celle-ci se base sur le prolongement de la matière végétale dans un solvant (éthanolique, méthanolique, chloroformique ou aqueux) à une température ambiante, ainsi que le temps requis par l'expérience. Cette étape vise à extraire le maximum des molécules chimiques existante dans la plante, pour cela, on utilise des solvants organiques qui accélèrent l'extraction et augmentent le rendement.

I.1.2.1. Préparation des extraits

Différents extraits sont préparés à partir de la poudre des plantes en utilisant différents solvants (Fig. 21):

- **Extrait méthanolique** : 15 g de la poudre végétale des feuilles de romarin ou d'olive est mélangé avec 120 ml de méthanol et 30 ml d'eau distillée (80 %).
- **Extrait éthanolique** : 15 g de poudre de chaque plante est mélangé avec 120 ml d'éthanol et 30 ml d'eau distillée (80 %).
- **Extrait aqueux** : 15 g de la poudre de chaque plante est mélangé avec 150 ml d'eau distillée.
- **Extrait Chloroformique** : 1g de la poudre végétale a été mélangée avec 10 ml de chloroforme. Le mélange a été chauffé prudemment au bain-marie pendant 3 min. Après filtration .



Figure 21 : Préparation des extraits (Photos personnelles).

I.1.2.2. Agitation

Les trois premiers mélanges obtenus sont soumis à une agitation, à l'aide d'un agitateur pendant 24h à une température ambiante et à l'abri de la lumière afin d'éviter les phénomènes d'oxydation (**Fig.22**).

L'agitation permet le maintien des particules en suspension et l'homogénéité des milieux.



Figure 22 : Agitateur (Photos personnelle).

I.1.2.3. Filtration

Après l'agitation, les trois solutions des deux plantes ont été filtrées trois fois à l'aide de papier Wattman N°1 (**Fig.23**).



Figure 23 : Filtration des extraits (Photos personnelles).

I.1.2.4. Evaporation

Les mélanges obtenus sont vidés dans des boîtes de Pétri en verre, puis elles ont été séchées à l'air libre ou dans l'étuve à 40°C jusqu'à ce que le solvant soit totalement évaporé. Les extraits secs produits sont conservés au réfrigérateur jusqu'à leur utilisation pour les différents tests.

I.1.3. Détermination de rendement

Le rendement de chaque extrait est défini comme étant le rapport entre la masse des extraits bruts à l'état sec et celle de la matière végétale utilisée. Il est déterminé selon la formule suivante:

$$\text{Rendement (\%)} = [(P1-P0)] / P \times 100$$

Avec :

P : Poids de l'extrait brut sec(g).

P0 : Poids de ballon vide (g).

P1 : Poids de ballon après évaporation totale de l'extrait (g) (**Mohammedi, 2006**).

II. Analyse qualitative des composés phytochimiques (Screening phytochimique)

Le screening phytochimique représente l'ensemble des techniques qualitatives qui permettent d'identifier les différents groupes de substances chimiques présentes dans les organes végétaux.

Au cours de notre travail, le criblage phytochimique qualitatif a été réalisé sur les échantillons, en utilisant plusieurs méthodes basées sur des réactions de coloration et de précipitation. Nous nous sommes intéressées à la recherche des composants suivants : les polyphénols, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les tanins, les anthocyanes, les coumarines, les saponosides, les stérols, les dérivés anthracéniques et les glycosides.

Ces tests de screening phytochimique ont été effectués sur les quatre extraits des deux plantes étudiées comme suit :

II.1. Identification des groupes chimiques à partir de l'extrait aqueux**a) Détection des tanins**

Dans un tube à essai, on traite 1ml de l'extrait avec 2 ml d'eau distillée et on ajoute 3 gouttes de FeCl₃ à 1% au milieu. L'apparition d'une couleur verte prouve la présence des tanins (**Kalla, 2012**).

b) Détection des saponosides

On a immergé 2g de l'extrait en poudre de nos plantes dans 80ml d'eau distillée pendant quelques minutes, puis on filtre et on agite. L'apparition de mousse persistante dans le milieu prouve la présence de saponines (**Kalla, 2012**).

II.2. Identification des groupes chimiques à partir de l'extrait chloroformique

a) Détection des anthraquinones libres

Dans un tube à essai, on introduit 1 ml de la solution extractive avec 1 ml d'Hydroxyde d'ammonium (NH_4OH) puis on agite. Une coloration plus ou moins rouge indique la présence d'anthraquinones libres (Diallo, 2000).

b) Détection des quinones

Dans un bécher, on ajoute 2g de la poudre avec 2 ml de HCl + 20 ml de chloroforme pendant 3 heures. Le filtrat a été agité avec 5 ml d'ammoniaque. Lorsque la phase aqueuse vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones (Dohou, 2015).

II.3. Identification des groupes chimiques à partir de l'extrait éthanolique

a) Détection des flavonoïdes

On met 5 ml de l'extrait d'éthanol dans un tube à essai, on ajoute quelques gouttes de HCl, puis quelques de copeaux de magnésium (Mg). L'apparition de couleur jaune claire indique la présence des flavonoïdes (Tadros, 1979).

b) Détection des anthocyanes

Le test consiste à ajouter à 5 ml d'extrait, 5 ml d'hydroxyde d'ammonium (NH_4OH) en milieu basique puis 5 ml d'acide sulfurique (H_2SO_4) en milieu acides. La présence d'anthocyanes indique une coloration rouge en milieu acide et bleue violacée en milieu basique (Mibindzou, 2004).

c) Détection des coumarines

Une quantité de 10g de la poudre végétale est mélangé avec 20ml d'éthanol pendant 2 à 3 heures. Après filtration, à 2,5ml du filtrat, 2,5 ml du KOH (10%) et 2,5ml d'HCl (10%) sont ajoutés. L'apparition d'un précipité brun révèle la présence des coumarines (Trease et Evans, 1987).

d) Détection des alcaloïdes

Le test est réalisé par des réactions de précipitation avec le réactif de Wagner. On met 1 ml de l'extrait dans un tube à essai, puis on ajoute quelques gouttes de réactif de Wagner. La présence d'un précipité rouge orangé ou brun rougeâtre indique un test positif (Vijay *et al.*, 2013).

e) Détection des stérols

Dans un bécher, on ajoute 2,5 ml de l'extrait à analyser ; 2,5 ml d'anhydride acétique, puis 2,5 ml de chloroforme. Ensuite, 0,5 ml d'acide sulfurique concentré (H₂SO₄) est versé au fond du bécher avec une pipette et le mélange est laissé reposer pendant 20 minutes. L'anneau brun rouge formé dans la zone de contact des deux liquides et la couleur violette de la couche surnageant indiquent la présence de stérols (**Trease et Evans, 1987**).

f) Détection des glycosides

On mélange 1 ml de l'extrait avec 2 ml d'eau distillée et 20 gouttes de liqueur de Fehling, on chauffe à 70°C dans un bain marie, Un test positif est obtenu par la présence d'un précipité rouge brique (**Cai et al., 2011**).

II.4. Identification des groupes chimiques à partir de l'extrait méthanolique

a) Détection des terpénoïdes

Dans un tube à essai, 2,5 ml d'extrait de méthanol dans 0,4 ml de chloroforme et 0,6 ml d'acide sulfurique concentré ont été ajoutés. La formation d'un anneau brun rougeâtre en interphase indique la présence de terpénoïdes (**Trease et Evans, 1987**).

III. Evaluation des activités biologiques

III.1. Evaluation de l'activité antioxydante (Inhibition du radical stable DPPH)

III.1.1. Méthode de Di-Phenyl-Picryl-Hydrazyl (DPPH)

➤ Principe

Le DPPH, ou 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle, est un réactif couramment utilisé en chimie pour évaluer le pouvoir antioxydant des composés. En solution, le DPPH se présente sous forme d'un radical libre violet stable qui affiche une absorbance caractéristique dans la plage de longueurs d'onde entre 512 nm et 517 nm.

Lorsqu'un composé à propriété anti-radicalaire est introduit, il va réduire le DPPH en diphényl picryl hydrazine (**Fig.24**). Ce processus conduit à une décoloration rapide du DPPH. En d'autres termes, la couleur violette caractéristique du DPPH tend à disparaître suite à cette réaction de réduction (**Brand-williams et al., 1995**).

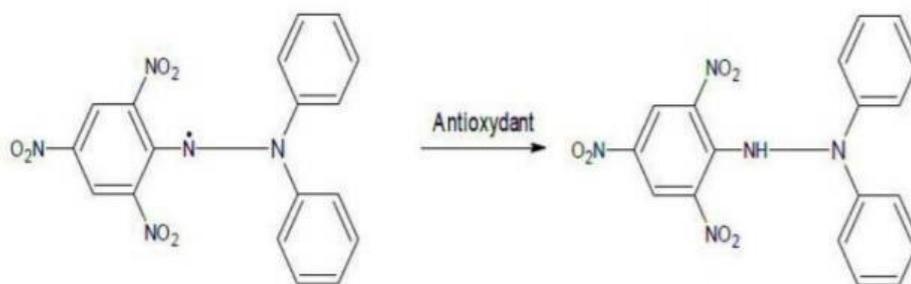


Figure 24 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH (Tang, 2002).

➤ Mode opératoire

On prépare la solution DPPH (C=0,025g /l) dans le méthanol (1,2mg dans 50ml de méthanol) (Fig.25).



Figure 25 : Préparation de DPPH (Photos personnelles).

On prépare la solution mère de chaque extrait d'*Rosmarinus officinalis L.* et *Olea europaea L.* (10mg de l'extrait dans 1ml de méthanol). Ensuite, différentes concentrations des échantillons à tester sont préparées à partir de la solution mère comme le montre la figure suivante :

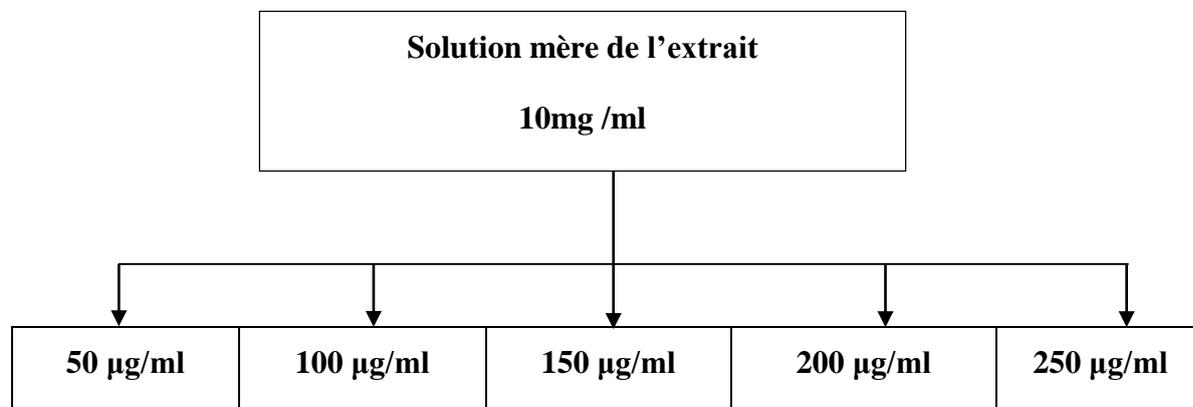


Figure 26 : Dilutions de la solution mère des extraits.

On prend 50 µl de l'extrait de chaque concentration, puis on ajoute 1950 µl de solution DPPH, et chaque échantillon avec son blanc spécifique (**Fig.27**). Dans le blanc, on remplace le DPPH par le méthanol (**Haddouchi et al., 2014**).

- **L'échantillon** : 50µl de l'extrait +1950µl de DPPH.
- **Le blanc** : 50µl de l'extrait +1950µl de Méthanol.
- **Contrôle** : 50 µl de Méthanol +1950µl de DPPH.



Figure 27 : Préparation des échantillons (**Photos personnelles**).

Ensuite, les mélanges ont été conservés pendant 1 heure dans le sombre à une température ambiante. L'absorbance des échantillons est mesurée à une longueur d'onde $\lambda=517$ nm avec un spectrophotomètre.

L'activité anti-radical est estimée selon l'équation suivante :

$$A.A.\% = \frac{Abs(\text{contrôle}) - Abs(\text{échantillon})}{Abs(\text{contrôle})} \times 100$$

A.A.% : L'activité anti-radical %.

Abs (contrôle) : L'absorbance contrôle.

Abs (échantillon) : L'absorbance de l'échantillon.

III.1.2. Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique

➤ Mode opératoire

On prépare la solution mère de l'acide ascorbique en pesant 2 mg de l'acide ascorbique, qui sera diluée dans 1ml du méthanol. Ensuite, différentes concentrations des échantillons à tester sont préparées à partir de la solution mère comme le montre la figure suivante :

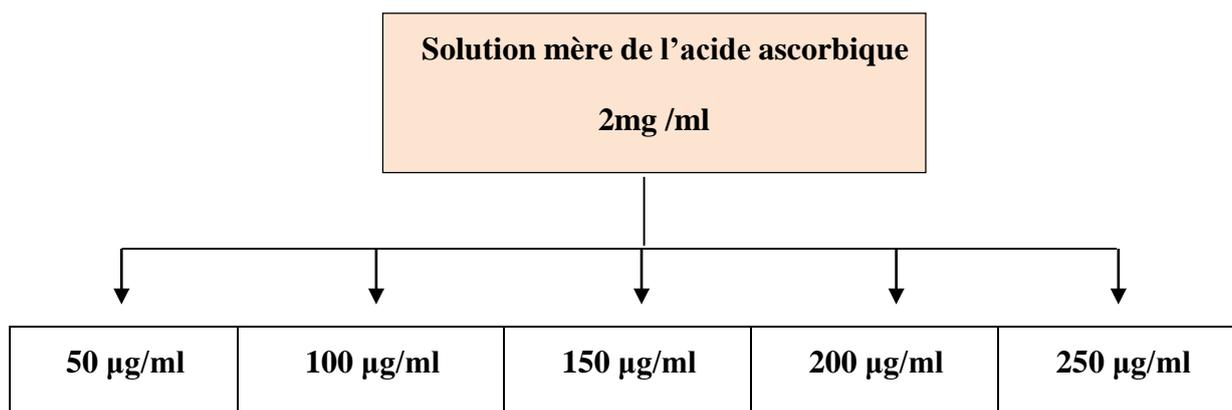


Figure 28 : Dilution de la solution mère de l'acide ascorbique.

Ensuite, on prend 50 µl de l'acide ascorbique de chaque dilution, puis on ajoute 1950µl de solution DPPH, et chaque échantillon avec son blanc spécifique. Dans le blanc, on remplace le DPPH par le méthanol (**Haddouchi et al., 2014**).

L'échantillon : 50µl de l'acide ascorbique +1950µl de DPPH.

Le blanc : 50µl de l'acide ascorbique+1950µl de Méthanol.

Les mélanges ont été conservés pendant 1heure dans le sombre à une température ambiante, et les absorbances ont été mesurées à $\lambda=517$ nm.

La valeur IC_{50} est la concentration d'extrait qui assure la réduction de 50% du DPPH. Elle est déterminée graphiquement par la régression linéaire, pour chaque extrait, à partir de la courbe du pourcentage de réduction en fonction de la concentration (**Samarth et al., 2008**).

NB :

- ✓ Tous les échantillons ont été analysés en trois fois, dont chaque échantillon à son blanc spécifique.
- ✓ Toutes les opérations ont été effectuées dans l'obscurité ou faible lumière.
- ✓ On a utilisé le vortex pour l'agitation des échantillons.

III.2. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'étude de cette activité consiste à tester les effets antibactériens des extraits et les caractériser. Pour ce faire, nous avons utilisé les méthodes de diffusion sur gélose et de dilution en milieu solide.

III.2.1. Les souches bactériennes testées

Les tests antibactériens ont été effectués sur une gamme de germes couramment responsables de diverses pathologies. Les microorganismes étudiés et leurs références sont rapportés dans le tableau suivant :

Tableau 5 : Références et origine des souches microbiennes utilisées.

Nom de la souche	Gram	Références
<i>Escherichia Coli</i>	Négatif	NCTC 10538
<i>Pseudomonas Aeruginasa</i>	Négatif	NCIMB 8626
<i>Bacillus subtilis</i>	Positif	ATCC 10876
<i>Staphylococcus Aureus</i>	Positif	ATCC 6538

III.2.2. Principe

La détection de l'activité antibactérienne repose sur la diffusion des agents antimicrobiens dans un milieu de culture solide ou semi-solide afin d'inhiber la croissance d'un microorganisme. L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits est réalisée à l'aide de la méthode de diffusion sur gélose. L'apparition et la taille du diamètre de la zone d'inhibition reflètent l'impact des extraits sur les souches bactériennes (Alzoreky et Nakahara, 2003).

III.2.3. Mode opératoire

Afin d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits des plantes étudiées, les étapes suivies sont :

III.2.3.1. Stérilisation du matériel

L'eau physiologie, les milieux de culture, les tubes à essai utilisés dans la préparation de la suspension bactérienne et les flacons, les embouts et les disques en papier Wattman sont enrobés dans papier aluminium et ont été stérilisés à l'autoclave à une pression de 15 lb (120°C) pendant 15 minutes.



Figure 29 : Stérilisation du matériel dans l'autoclave (Photo personnelle).

III.2.3.2. Préparation de l'eau physiologique

L'eau physiologique est préparée comme suit (Fig.30) :

- Suspender 4,5 grammes de NaCl dans 500 ml d'eau distillée.
- Agiter avec l'agitateur pour dissoudre complètement les grains de sel.
- Verser 9 ml de la solution obtenue dans les tubes à essai par la pipette graduée.
- Stériliser par l'autoclave.

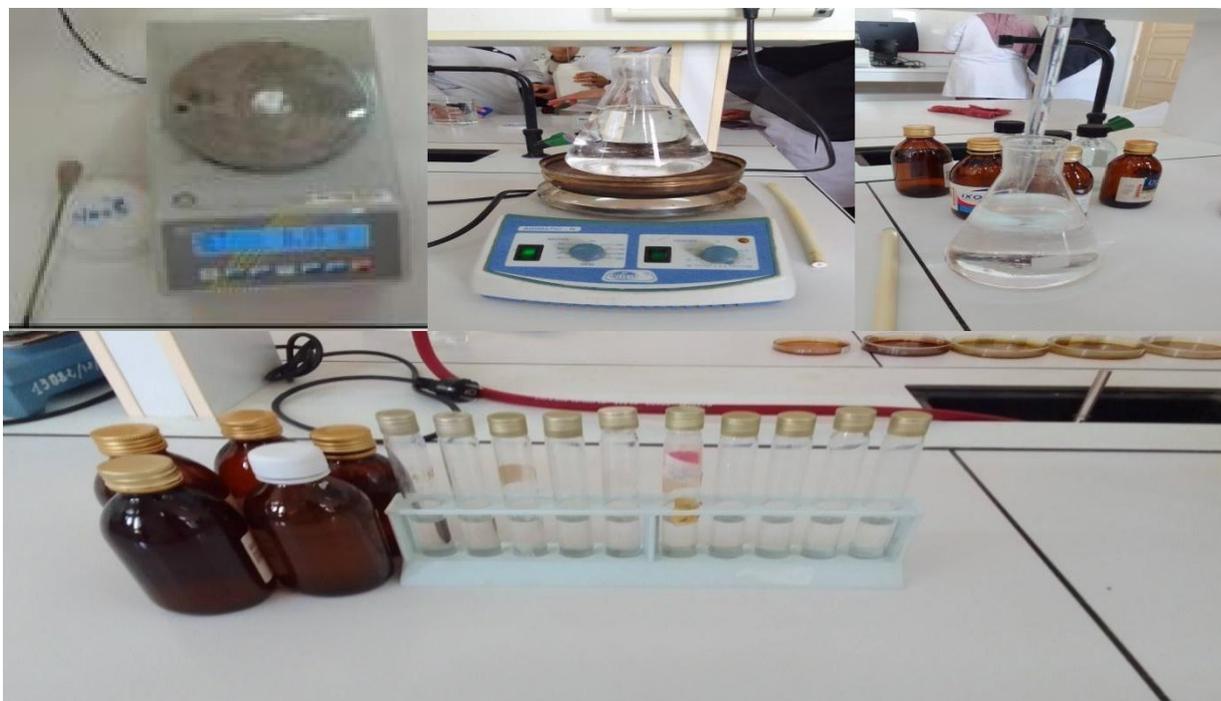


Figure 30 : préparation de l'eau physiologique (Photos personnelles).

III.2.3.3. Préparation de GMH

La gélose Mueller-Hinton est un milieu standardisé recommandé pour l'étude de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries peu exigeantes. La préparation du milieu se fait comme suit (**Fig.31**):

- Suspendre 38 grammes dans 1 litre d'eau distillée.
- Chauffer et agiter jusqu'à ébullition pour dissoudre complètement le milieu.
- Verser la solution obtenue dans des flacons.
- Stériliser par l'autoclave à une pression de 15 lb (120 °C) pendant 15 min.
- Après l'autoclavage, laisser refroidir à 45-50 °C.
- Avant l'utilisation, les flacons sont placés dans le bain marie jusqu'à ce qu'elles fondent.
- La gélose Mueller-Hinton (MH), coulée en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm (jusqu'à ce que l'agar soit solidifié).



Figure 31 : Préparation de GMH (Photos personnelles).

III.2.3.4. Préparation des disques

Des disques de 6 mm de diamètre sont découpés à partir de papier Wattman N°3, puis stérilisé à l'autoclave a une température de 120 ° C pendant 15 minutes. Ensuite, stockés à une température ambiante (Fig.32).



Figure 32 : Les disques préparés (Photos personnelles).

III.2.3.5. Préparation des dilutions

Pour obtenir des différentes concentrations de nos extraits, nous avons diluée les extraits purs dans le DMSO. Ce choix a été fait, parce que, le DMSO est le solvant préférable pour la majorité des auteurs, qui ont prouvé que le DMSO n'a aucun pouvoir antimicrobien puissant.

Les extraits aqueux, éthanoliques et méthanoliques de deux plantes : *Rosmarinus officinalis L.* et *Olea europea L.* ont été dissous dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO) pour préparer les différentes concentrations avec des dilutions successives au demi. Sachant que la concentration de la solution mère de chaque extrait est de 100mg/1ml (100mg d'extrait dans 1ml de DMSO). Les dilutions représentent dans le tableau suivant :

Tableau 6 : Les différentes dilutions utilisées.

Solution mère (SM)	Dilution 1 (D1)	Dilution 2 (D2)	Dilution 3 (D3)	Dilution 4 (D4)
-100 mg d'extrait	-500 µl de SM	-500 µl de D1	-500 µl de D2	-500 µl de D3
-1ml de DMSO	-500 µl de DMSO	-500 de µl DMSO	-500 de µl DMSO	-500 de µl DMSO



Figure 33 : Préparation des dilutions (Photos personnelles).

III.2.3.6. Préparation de l'inoculum microbien

La densité de l'inoculum microbien est un élément primordial, et elle doit être ajustée à l'aide d'un photomètre ou par comparaison avec un étalon d'opacité ou étalon de turbidité. L'étalon recommandé est celui de Mc Farland (Bashige *et al.*, 2018) car l'activité de tout agent antimicrobien est dépendante de la densité de la suspension cellulaire de la souche cible utilisée.

L'inoculum est préparé à partir d'une culture pure et jeune des quatre souches choisies, après repiquage à 37°C pendant 24h, sur milieu d'isolement (milieu Chapman pour *Staphylococcus aureus* et la gélose nutritive pour les autres espèces). Donc, quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques ont été prélevées puis mises en suspension dans 9 ml d'eau physiologique stérile à 0.9 % (Fig.34).

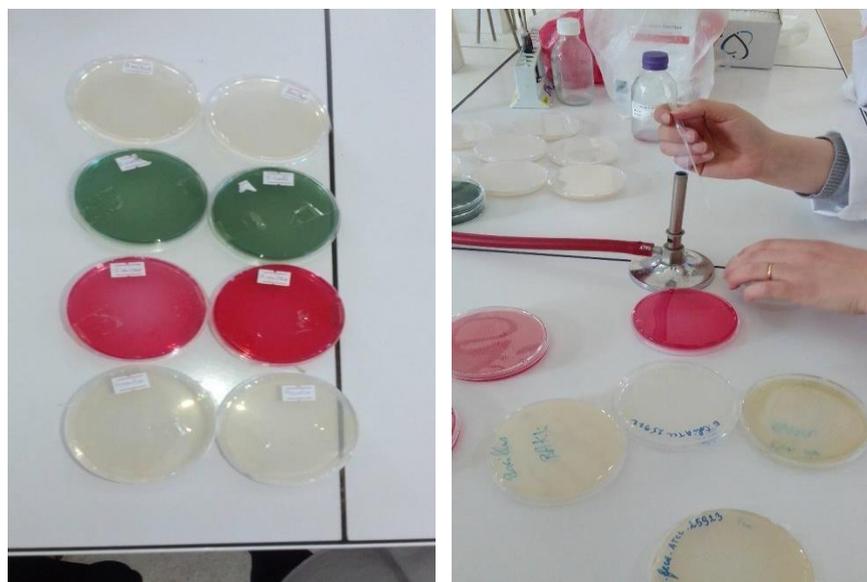


Figure 34 : Préparation de l'inoculum microbien (Photos personnelles).

III.2.3.7. Ensemencement et dépôt des disques

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage. Tout d'abord, l'écouvillon est trempé dans la suspension bactérienne, puis essoré en pressant fermement sur la paroi interne du tube. Puis, il est frotté sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas par des stries serrées, en tournant la boîte de 60° à chaque fois. L'ensemencement est fini en passant l'écouvillon une dernière fois sur toute la surface gélosée. L'écouvillon est rechargé à chaque fois qu'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri avec la même souche.

Ensuite, dans des conditions aseptiques et à l'aide d'une pince stérile, des disques de papier Wattman (6 disques/boîte), sont déposés à la surface de la gélose MH, précédemment inoculé avec les souches bactériennes choisies (**Fig. 35**). Puis les imbiber par 10µl de la solution mère et chaque dilution préalablement préparé (On dépose aussi un disque pour DMSO considéré comme témoin négatif).

Remarque : L'opération s'applique à la fois aux solutions mère et dilutions des deux plantes : *Rosmarinus officinalis L.* et *Olea europaea L.*



Figure 35 : Ensemencement et dépôts des disques (**Photos personnelles**).

III.2.3.8. Incubation

Les boîtes de pétri sont fermées et transférées au réfrigérateur pendant 15 à 30 min, puis elles sont placées dans l'étuve pour l'incubation à 37°C pendant 24 heures.

III.2.3.9. Lecture et expression des résultats

Après l'incubation, on a récupéré les boîtes et on a mesuré les diamètres des zones d'inhibition des différentes souches bactériennes de chaque extrait testé à l'aide d'une règle.

Selon (**Ponce *et al.*, 2003**) et (**Moreira *et al.*, 2005**), les niveaux de sensibilité d'une souche vis-à-vis d'un extrait sont déterminés selon le diamètre de la zone d'inhibition obtenu :

- Non sensible (-) : diamètre des zones d'inhibition < 8 mm.
- Sensible (+) : diamètre des zones d'inhibition = 9-14mm.

- Très sensible (++) : diamètre des zones d'inhibition = 15-19mm.
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre des zones d'inhibition >20mm.

Chapitre 3 :

Résultats et Discussion

I. Détermination de rendement d'extraction

Le rendement de l'extraction a été calculé par rapport à la matière végétale sèche du *Rosmarinus officinalis L.* et *Olea europaea L.* Il est exprimé en pourcentage selon la relation suivante :

$$R\% = [(P1 - P0)/P] \times 100$$

P : poids la matière végétale initial (g).

P0 : poids de ballon vide (g).

P1 : poids de ballon après évaporation totale de l'extrait (g).

Les résultats obtenus ont été représentés dans les tableaux et les figures suivantes (Tab.07 ; Fig.36 et Tab.08 ; Fig. 37) :

Tableau 7 : Résultats de rendement des extraits d'*Rosmarinus officinalis L.*

Extraits	Rendement
Méthanolique	$[(68.94 - 67.79)/15] \times 100 = 7.66 \%$
Aqueux	$[(60.47 - 59.41)/15] \times 100 = 7.06 \%$
Éthanolique	$[(75.21 - 74)/15] \times 100 = 8.06 \%$

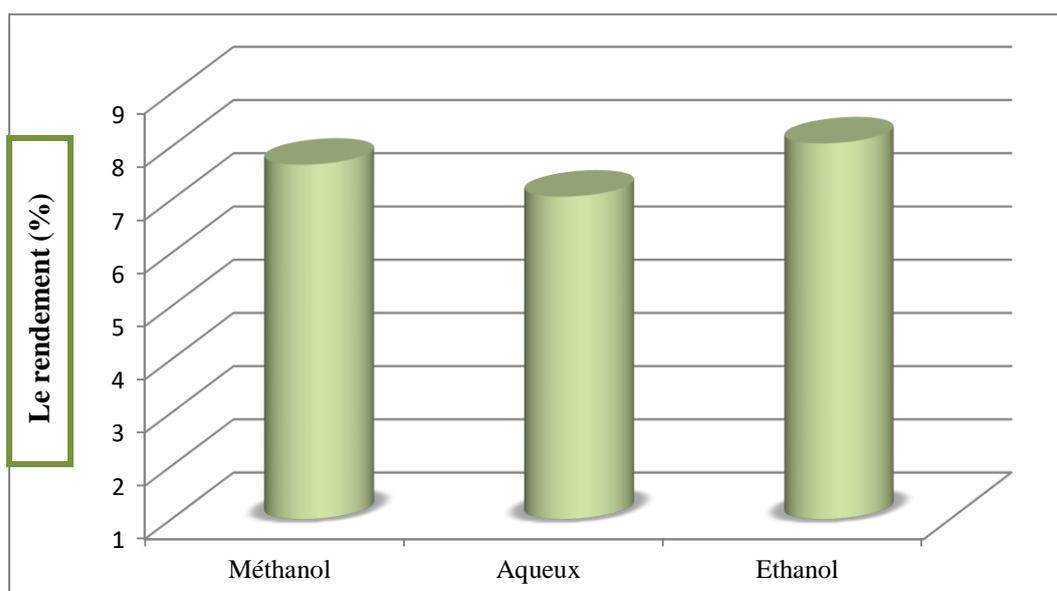


Figure 36 : Le rendement des extraits d'*Rosmarinus officinalis L.*

D'après les résultats du rendement des extraits d'*Rosmarinus officinalis L.* (**Tab.07, Fig.36**), on note que le meilleur rendement est enregistré pour la fraction éthanolique (8,06%). Cette valeur est élevée en comparant avec l'étude de (**Hilan et al., 2006**), qui ont enregistré un rendement de 1,52%. Ce dernier est inférieur à ce qui a été trouvé par (**Bendif Hamdi, 2017**), dont il a enregistré des rendements d'extraction dans le solvant éthanolique de (19,6%). Ainsi, l'extrait aqueux a donné un rendement important de (7,06%). Une étude réalisée par (**Tsai et al., 2007**) sur la même espèce *Rosmarinus officinalis L.*, montre que l'extrait aqueux a donné un rendement de (16,3%). Ces résultats sont supérieurs à nos résultats. Pour l'extrait méthanolique, un rendement de (7,66%) a été enregistré et ce dernier est inférieur aux résultats de (**Kahouli, 2010**) avec un rendement de (13,9%).

Les résultats obtenus dans la présente étude, diffèrent de ceux obtenus par ces auteurs. Ces différences pourraient être expliquées par plusieurs facteurs, à savoir l'origine géographique de la plante, la maturité des feuilles, le type de solvant utilisé pour l'extraction, et le rapport entre la masse de poudre et le volume du solvant, ainsi que la technique d'extraction utilisée (**Louli et al., 2004 ; Naczek et Shahidi, 2004**).

Tableau 8 : Résultats de rendement des extraits d'*Olea europaea L.*

Extraits	Rendement
Méthanolique	$[(196.14 - 193.64)/15] \times 100 = 16.66 \%$
Aqueux	$[(253.6 - 252.08)/15] \times 100 = 10.13 \%$
Éthanolique	$[(275.14 - 272.78)/15] \times 100 = 15.73 \%$

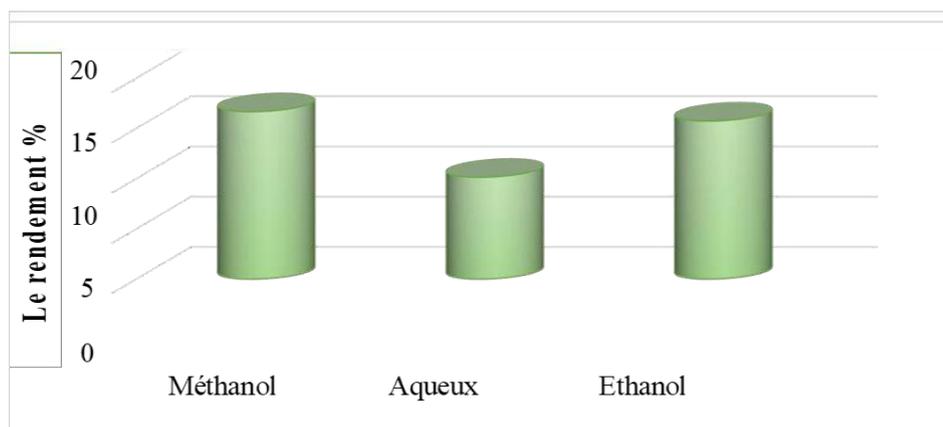


Figure 37 : Le rendement des extraits d'*Olea europaea L.*

Les résultats obtenus dans (**Tab.08 et Fig.37**), montrent que les rendements des extraits sont variables dans les différentes phases de l'espèce *Olea europaea L.* Le rendement le plus élevé a été observé avec l'extrait méthanolique (16.66%) suivi par l'extrait éthanolique (15.73%), et enfin le rendement le plus faible est celui de l'extrait aqueux avec un rendement de (10.13%).

Nos résultat correspond un peu les résultats de (**Athamena et al., 2010**), qui a prouvé que l'éthanol était le meilleur solvant pour extraire les composés phénoliques, suivi du méthanol et finalement par l'eau, en raison de leur polarité et de leur bonne solubilité pour ces composés.

Le calcul de rendement d'extraction repose sur plusieurs paramètres : le solvant, le pH, la température, le temps d'extraction et la composition de l'échantillon (**Santos et al., 2012**). Selon (**Touaibia et al., 2014**), la période et le lieu de récolte influent également sur le rendement d'extraction.

II. Résultats de l'analyse qualitative (screening phytochimique)

La phytochimie qualitative est basée sur des réactions colorées ou de précipitation par des réactifs chimiques spécifiques réalisée sur les trois extraits des plantes étudiées.

Dans notre étude, le criblage phytochimique a permis de caractériser quelques groupes chimiques existants dans les feuilles de *Rosmarinus officinalis L.* et *Olea europaea L.*

II.1. Résultats des tests phytochimiques

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés existantes dans la plante par les réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions, sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques. Les résultats de ce criblage phytochimique sont reportés dans le (**Tab.09**). Il révèle la présence ou

l'absence d'un groupe de métabolites secondaires. Ces résultats sont classés en fonction des différents critères d'observation (réaction négative, positive ou faiblement positive).

Tableau 9 : Résultats de screening phytochimique des deux plantes étudiées.

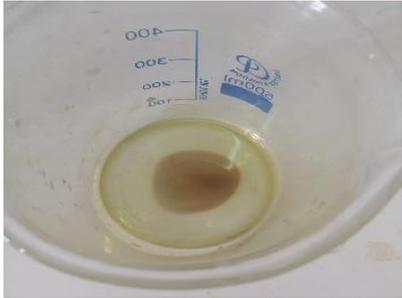
Tests phytochimiques	Résultat	
	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	<i>Olea europaea</i> L.
Test des flavonoïdes	+++	++
Test des alcaloïdes	-	±
Test des stérols	++	+++
Test des coumarines	-	-
Test des glycosides	-	+
Test des saponosides	+++	++
Test des tanins	++	++
Test d'Anthocyanes	-	-
Test des terpénoïdes	++	++
Test Anthraquinones Libres	+	-
Test des quinones	+++	-

+++ : Importante quantité ; + : petite quantité ; ± : Trace ; - : absence.

La description des résultats obtenus dans les tests phytochimiques sont illustrées dans le tableau suivant :

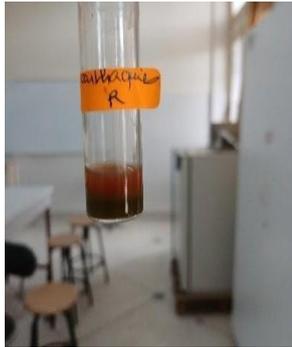
Tableau 10 : Description des résultats de tests phytochimiques.

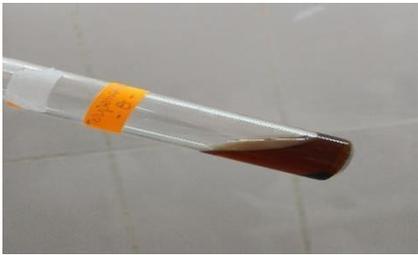
Tests phytochimiques	Description des résultats	Photo

Flavonoïdes	<i>Rosmarinus officinalis L.</i>	La présence de coloration jaune, qui confirme la présence des flavonoïdes dans l'espèce <i>Rosmarinus officinalis L.</i>	
	<i>Olea europaea L.</i>	La présence de la coloration jaune, qui confirme la présence des flavonoïdes dans l'espèce <i>Olea europaea L.</i>	
Stérols	<i>Rosmarinus officinalis L.</i>	La formation d'un anneau violet à la zone de contact des deux liquides et la coloration violette de la couche surnageant révèlent la présence de stérol.	
	<i>Olea europaea L.</i>	La formation d'un anneau violet à la zone de contact des deux liquides et la coloration violette de la couche surnageant révèlent la présence de stérol.	

Alcaloïdes	<i>Rosmarinus officinalis L</i>	L'absence d'un précipité brun qui confirme l'absence des alcaloïdes.	
	<i>Olea europaea L</i>	L'apparition d'une coloration brune rougeâtre indique la présence des alcaloïdes avec une petite quantité.	
Coumarines	<i>Rosmarinus officinalis L</i>	L'absence d'un précipité rouge brique indique l'absence des coumarines.	
	<i>Olea europaea L</i>	L'absence d'un précipité rouge brique indique l'absence des coumarines.	
Glycosides	<i>Rosmarinus officinalis L</i>	L'absence d'une précipitation rouge brique, indique que <i>Rosmarinus officinalis L.</i> ne contient pas des glycosides	

	<i>Olea europaea</i> <i>L</i>	La présence d'une précipitation rouge brique, indique qu' <i>Olea europaea L.</i> Contient des glycosides en petite quantité	
Saponosides	<i>Rosmarinus officinalis L</i>	Une mousse persistante est apparue après agitation, ce qui indique la présence des saponosides dans l'extrait, mais celle-ci est de hautes hauteurs.	
	<i>Olea europaea</i> <i>L</i>	Une mousse persistante est apparue après agitation, ce qui indique la présence des saponosides dans l'extrait, mais celle-ci est de faible hauteur.	
Tanins	<i>Rosmarinus officinalis L</i>	La présence de couleur verdâtre confirme la présence des tanins cathéchique	

	<i>Olea europaea</i> <i>L</i>	La présence de couleur verdâtre confirme la présence des tanins cathéchiques	
Anthraquinones Libres	<i>Rosmarinus officinalis</i> <i>L</i>	Une coloration rouge indique la présence des anthraquinones libres	
	<i>Olea europaea</i> <i>L</i>	Le test n'a donné aucune coloration, cela indique l'absence des anthraquinones	
Quinones	<i>Rosmarinus officinalis</i> <i>L</i>	L'apparition d'une coloration rouge indique la présence des quinones	

	<i>Olea europaea</i> <i>L</i>	L'absence de la coloration rouge indique l'absence des quinones.	
Anthocyanes	<i>Rosmarinus officinalis L</i>	Pas de coloration ce qui confirme l'absence des Anthocyanes	
	<i>Olea europaea</i> <i>L</i>	Pas de coloration ce qui confirme l'absence des Anthocyanes	
Terpénoides	<i>Rosmarinus officinalis L</i>	La formation d'un anneau brun rougeâtre en interphase indique la présence de terpénoides.	
	<i>Olea europaea</i> <i>L</i>	La formation d'un anneau brun rougeâtre en interphase indique la présence de terpénoides.	

II.2. Discussion des résultats de tests phytochimiques

- *Rosmarinus officinalis L.*

Les tests phytochimiques effectués sur les extraits de *Rosmarinus officinalis* L. ont révélé d'un côté la présence en quantité importante ; des flavonoïdes, stérols, tanins, terpénoïdes, saponosides, quinones et anthraquinones, et d'autre coté l'absence des alcaloïdes, camarines, anthocyanes et glycosides.

Concernant le test des saponosides, l'apparition d'une mousse persistante avec une hauteur plus de 1cm, après agitation, montre la présence des saponosides dans la plante étudiée. Ces résultats s'accorde avec ceux obtenus par (Fadili *et al.*, 2015). Ainsi, la présence des flavonoïdes a été révélée par l'apparition de couleur jaune et des tanins d'une coloration verdâtre, ce qui signifie la présence de ces composés. Pour les stérols, l'apparition de l'anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux phases indique leurs existences. Le tableau 10, laisse constater aussi que les extraits de la plante renferment des térapénoïdes, ces derniers sont confirmés par la formation de deux phases et une couleur marron à l'interphase. Ils contiennent également les quinones et les anthraquinones. Ces derniers sont confirmés par une coloration rouge indique la présence de ces composés. En revanche, une absence totale des alcaloïdes est observée. Nos résultats sont en accord avec les travaux de (Makhloufi, 2010) ; (Fadili *et al.*, 2015) et (Johar *et al.*, 2015).

- *Olea europaea* L.

D'après les résultats de (Tab. 09), nous remarquons que les flavonoïdes, les tanins, les stérols et les terpénoïdes présentent en quantité importante dans cette plante, mais les alcaloïdes et les saponosides en petite quantité. Par contre, on note l'absence totale des anthocyanes, coumarines, glycosides quinones et anthraquinones libres.

La présence des saponosides dans notre étude est correspond aux résultats de (Himour *et al.*, 2016), qui ont réalisé une étude sur les feuilles d'*Olea europaea* L. dans la région de Mila et ont confirmé la présence de ces composés dans les extraits de feuilles.

La présence des flavonoïdes correspond aux résultats de (Lakache *et al.*, 2019), qui montrent que l'extrait méthanolique d'*Olea europaea* est riche en flavonoïdes (7.19 ± 0.19 mg EQ/g d'extrait).

Les résultats ont également révélé la présence de tanins. Ce résultat est semblable à ceux obtenus par (Yanah *et al.*, 2020) dans une étude sur l'extrait aqueux des feuilles d'olivier. Le travail de (Lakache, 2015) qui a mis en évidence la présence d'alcaloïdes confirme aussi nos résultats.

D'autre part, l'absence d'anthocyanes dans notre extrait a été notée par (Himour, 2018). De plus, les résultats négatifs concernant les coumarines et les dérivés anthracéniques dans notre extrait corroborent les travaux de (Ahamed *et al.*, 2017) et (Adem *et al.*, 2020) respectivement.

III. Résultats des activités biologiques

III.1. Evaluation de l'activité anti-oxydante

L'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de deux plantes étudiées (*Rosmarinus officinalis* L. et *Olea europaea* L.), et de l'antioxydant standard (acide ascorbique), vis-à-vis du radical DPPH, a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre, en suivant la réduction de ce radical, qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH[•]) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à longueur d'onde de 517nm (Fig.38). Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti-radicalaires (Bougandoura et Bendimerad, 2012).

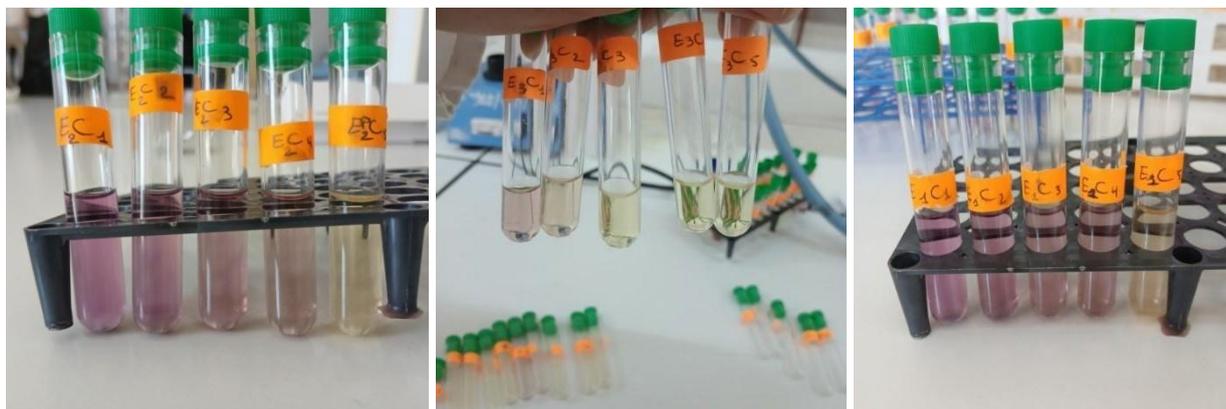


Figure 38 : Résultats des échantillons d'activité anti-oxydante.

III.1.1. Le pourcentage d'inhibition

D'après les résultats mentionnés sur la figure 39, on remarque que le pourcentage d'inhibition du radical libre de l'extrait *Rosmarinus officinalis* L. a une valeur élevée de (34,334%-89,59%), ce qui est bien supérieur aux valeurs obtenues pour la plante *Olea europaea* L. où les pourcentages d'inhibition des radicaux libres vont de (16,216%-67,767%).

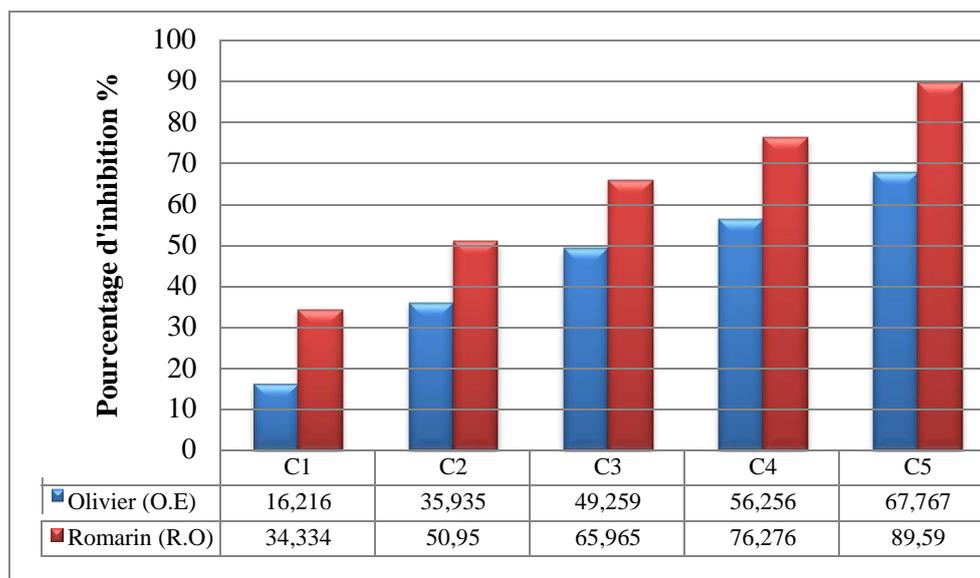


Figure 39 : Pourcentages d'inhibition du radicale DPPH par les extraits de deux plantes (*Olea europaea* (O.E) et *Rosmarinus officinalis* L. (R.O)).

• Discussion

Pour *Rosmarinus officinalis* L., (Almela et al., 2006) ont confirmé notre résultat pour l'extrait méthanolique. Selon leur étude, l'extrait méthanolique s'est avéré un antioxydant très puissant (96,18%). Selon (Turkmen et al., 2007), les polyphénols semblent être des donateurs efficaces d'hydrogène au radical DPPH, en raison de leur chimie structurale idéale.

Pour *Olea europaea* L., (Izza, 2020) rapporte que le taux d'inhibition des radicaux libres de l'extrait méthanolique d'*Olea europaea* L. atteint (93,96%), et cette valeur est très loin des résultats que nous avons obtenus.

III.1.2. Effet des extrait sur IC₅₀

L'IC₅₀ est inversement proportionnel à la capacité anti-oxydante d'un composé, parce qu'il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC₅₀ est petite, plus l'activité anti-oxydante d'un composé est grande. Cette activité est mesurée comparativement à l'acide ascorbique (antioxydant standard).

L'effet des extraits sur les résultats relatifs à l'IC₅₀ est représenté dans la figure suivante :

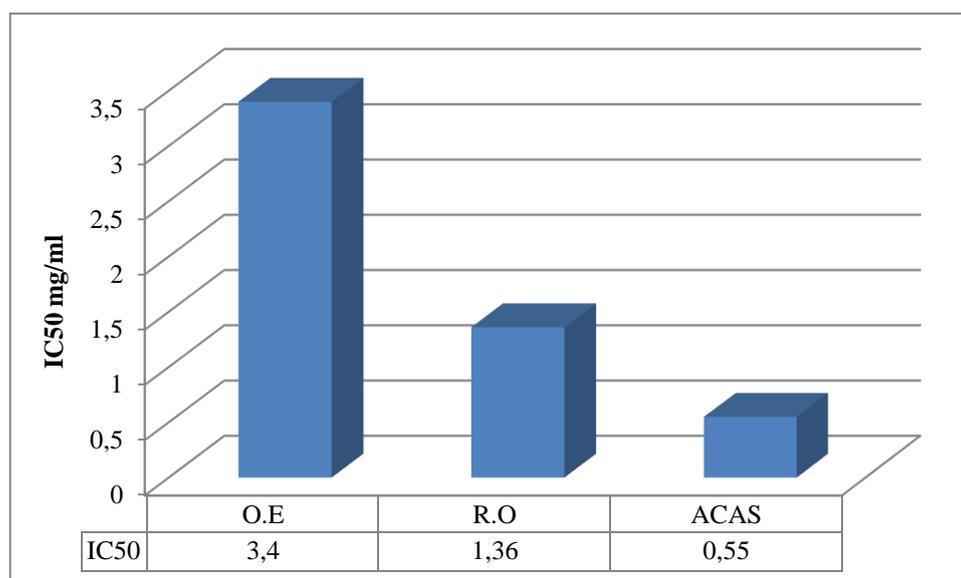


Figure 40 : Effet extrait méthanolique sur l'IC₅₀.

Si on compare le pouvoir antioxydant en fonction de l'IC₅₀, les résultats obtenus dans (**Fig. 40**), indiquent que l'extrait méthanolique de *Rosmarinus officinalis* L. présente nettement une grande activité anti-oxydante avec un IC₅₀ de 1,36mg/ml en comparaison avec *Olea europaea* L. qui a enregistré un IC₅₀ de 3,4mg/ml. Cette valeur de *Rosmarinus officinalis* L. est proche à celle de l'acide ascorbique (témoin positif) qui a donné une valeur de 0,55mg/ml. Ce résultat est probablement lié à la richesse de *Rosmarinus officinalis* L. en composés phénoliques. Selon (**Hayes et al., 2011**) l'activité anti-radicalaire dépend généralement du nombre et de la position des groupements hydroxyles par rapport aux groupements carboxyles fonctionnels. La structure des composés phénoliques est un facteur déterminant de leur piégeage des radicaux libres qui sont des pathogènes dans de nombreuses maladies. Certains de ces composés sont capable de chélater le fer, et donc de réduire son excès.

En effet (**Falleh et al., 2008**) ont montré que l'activité antioxydante ne dépend pas seulement de la concentration des polyphénols, mais également de la nature et la structure des antioxydants dans l'extrait. Généralement, les polyphénols ayant un nombre élevé des groupements hydroxyles présentent une activité anti-oxydante très importante.

En plus, les flavonoïdes sont reconnus pour leurs nombreuses activités biologiques, ces activités sont attribuées en partie aux propriétés antioxydantes de ces composés naturels. Les flavonoïdes sont susceptibles de réagir avec la plupart des espèces réactives oxygénées (**Fuhrman et al., 1995**).

Nos résultats de *Rosmarinus officinalis* L. son supérieur par rapport à ceux rapporté par (Fadili *et al.*, 2015), dont IC₅₀ est de 0,001 mg/mL pour l'extrait méthanolique.

Ainsi, on note que les activités anti-radicalaires de notre extrait méthanolique d'*Olea europaea* L. possèdent une valeur supérieure par rapport à celui trouvés par (Meddour et Soualem, 2021) qu'ils ont constaté que l'extrait méthanolique semble être le plus actif avec une valeur d'IC₅₀ égale à 0,56 mg/ml.

Une autre étude de l'activité antioxydante des feuilles de l'olivier en Tunisie a été réalisée par (Bensallah *et al.*, 2012), a permis d'estimer une IC₅₀ est de 7,90 µg/ml en utilisant l'extrait méthanolique. Ce résultat est supérieur à ce que nous avons obtenu.

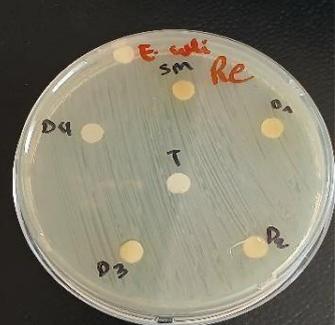
III.2. Evaluation de l'activité antibactérienne

Lors de cette étude, nous avons testé l'action des extraits aqueux, méthanolique et éthanolique de la partie aérienne (les feuilles) de *Rosmarinus officinalis* L. et *Olea europaea* L. sur différentes souches bactériennes : Gram positif et Gram négatif, par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide (Muller Hinton).

III.2.1. Résultats de l'activité antibactérienne de *Rosmarinus officinalis* L.

Les résultats sont présentés dans les tableaux (11 et 12) :

Tableau 11 : Zones d'inhibition des différents extraits de *Rosmarinus officinalis* L.

Les souches bactériennes testées	Les différents extraits		
	Méthanolique	Aqueux	Ethanolique
<i>Escherichia coli</i>			

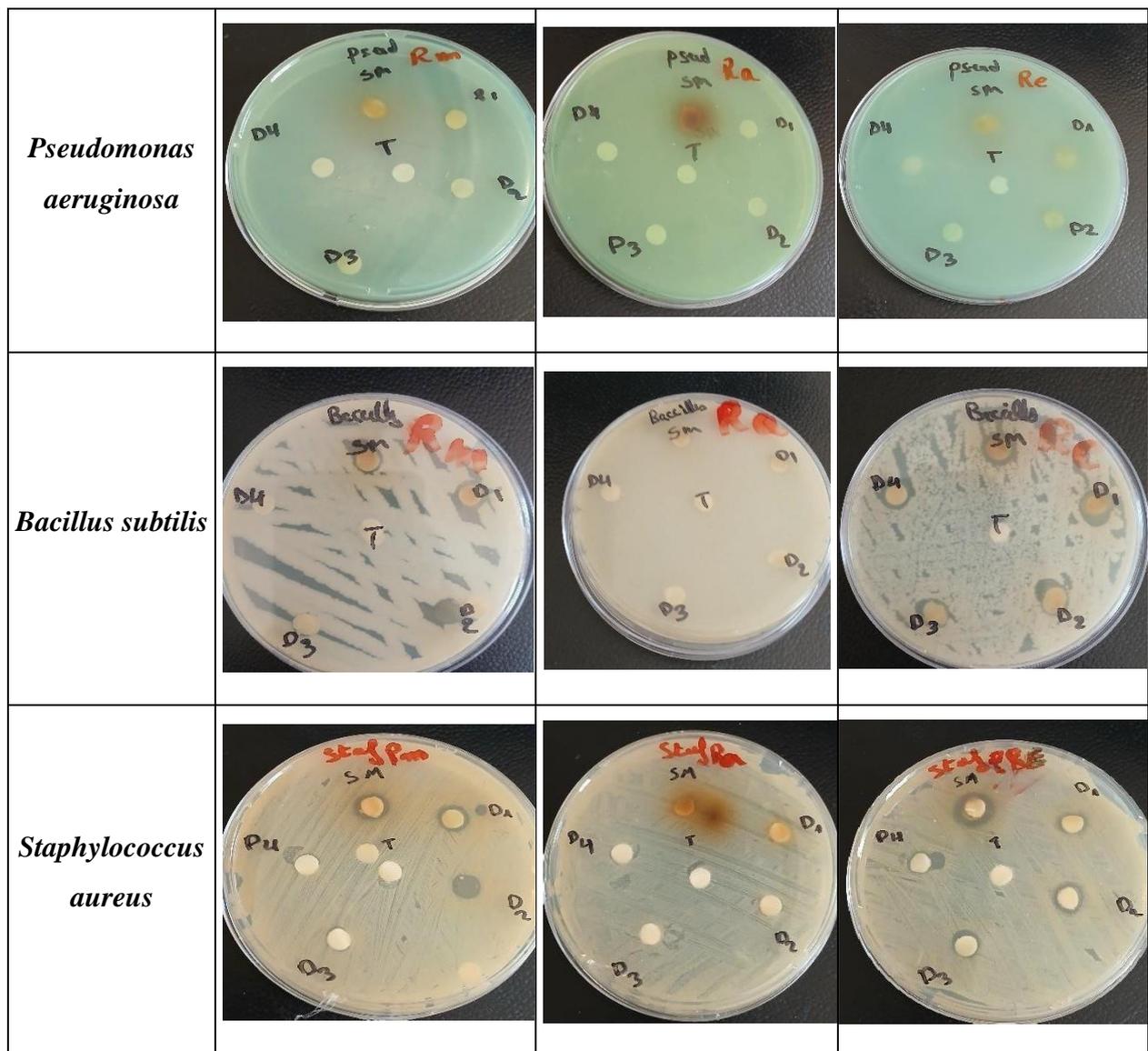


Tableau 12 : Diamètres moyens de la zone d'inhibition des extraits de *Rosmarinus officinalis L.*

Bactéries	Les dilutions	Diamètre de zone d'inhibition (mm) de chaque extrait		
		Méthanolique	Ethanolique	Aqueux
<i>Escherichia coli</i>	SM	7.74 (-)	-	-
	D1	7.34 (-)	-	-
	D2	7.12 (-)	-	-

	D3	6.56 (-)	-	-
	D4	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	SM	9.39 (+)	12.32 (+)	7.98 (-)
	D1	8.88 (+)	9.42 (+)	7.56 (-)
	D2	7.68 (-)	9.06 (+)	-
	D3	7.10 (-)	7.86 (-)	-
	D4	-	7.47 (-)	-
<i>Bacillus subtilis</i>	SM	-	10.86 (+)	-
	D1	-	10.65 (+)	-
	D2	-	11.31 (+)	-
	D3	-	10.12 (+)	-
	D4	-	9.05 (+)	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SM	-	-	-
	D1	-	-	-
	D2	-	-	-
	D3	-	-	-
	D4	-	-	-

D'après les résultats obtenus, il apparaît que l'effet antibactérien est absent sur les deux souches (*E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), mais présent sur les souches (*Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*).

La souche (*Bacillus subtilis*) a donné un résultat négatif pour les extraits méthanolique et aqueux. Contrairement l'extrait éthanolique, a donné un résultat positif avec un diamètre d'inhibition varie de (9,05 à 11,31mm). Donc, l'extrait éthanolique possède un pouvoir

Antibactérien relativement supérieur à celui de l'extrait méthanolique et aqueux, contre l'espèce *Bacillus subtilis* (Gram+).

La souche (*Staphylococcus aureus*) a donné un résultat positif pour les extraits méthanolique et éthanolique et un résultat négatif pour l'extrait aqueux. Donc, l'extrait méthanolique et éthanolique semble être actifs contre *Staphylococcus aureus* (Gram+) par rapport à l'extrait aqueux.

• Discussion

Nos résultats ressemblent aux ceux de (**Balouiri, 2011**), (**Seddik et al., 2006**) et (**Athemena et al., 2014**), qui indiquent que les extraits éthanoliques et aqueux se sont révélés inactifs sur toutes les souches à Gram⁻ (*E. coli*, *P. aeruginosa*), que ce soit la dose. La résistance de ces bactéries a été attribuée à leur membrane externe hydrophile qui peut bloquer la pénétration de composés hydrophobes dans la membrane cellulaire cible (**Ahmed et al., 2010**).

Par contre l'étude menée par (**Weckesser et al., 2007**) a indiqué que les extraits de romarin présentait principalement une activité contre les bactéries à Gram positive comme *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*.

Alors que l'effet de l'extrait éthanolique du romarin contre *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* est important. Ces souches représentent une sensibilité importante avec des diamètres de zones d'inhibition (12,32mm et 11,31mm) respectivement. Ces résultats s'accordent avec une étude menée par (**Balouiri, 2011**) sur l'effet antibactérien de l'extrait éthanolique de *R. officinalis*, qui a montré un effet remarquable de l'extrait vis à vis de *Staphylococcus aureus* avec une zone d'inhibition de (11 mm).

Par ailleurs, nos résultats se rapprochent également avec ceux trouvés par l'étude de **Makhloufi** en (**2017**), puisque l'extrait éthanolique de *R. officinalis* exerçait un effet antibactérien moyen vis-à-vis *S.aureus* avec des diamètres de zones d'inhibition comprise entre (11 et 18 mm).

Parallèlement, l'extrait méthanolique de cette plante donne aussi une inhibition sur la bactérie *Staphylococcus aureus*. Donc, on peut constater que l'extrait méthanolique est plus actif que celui de l'extrait aqueux. D'après ces résultats, on remarque que *R. officinalis* a des propriétés antimicrobiennes très appréciées et cela justifie son utilisation dans les traitements traditionnels comme un remède antimicrobien (**Makhloufi, 2004**).

Ces différences entre les résultats sont probablement dues à la nature de l'extrait préparé (différents types de phénols et présence d'autres molécules bioactif) (**Memnune et al., 2009**), et

la souche bactérienne étudiée (nature structurale ; structure de la paroi). Généralement, toutes les plantes de la famille *Lamiaceae* connues pour ses composés phénoliques, ont été prouvé actifs contre une variété de micro-organismes (Gortzi et al., 2007).

III.2.2. Résultats de l'activité antibactérienne d'*Olea europaea L.*

Les résultats sont présentés dans les tableaux (13 et 14) :

Tableau 13 : Zones d'inhibition des différents extraits d'*Olea europaea L.*

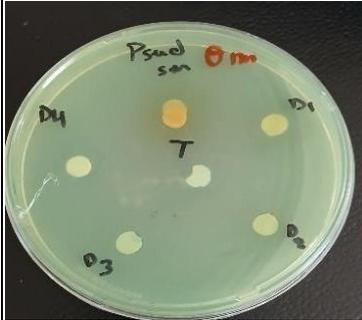
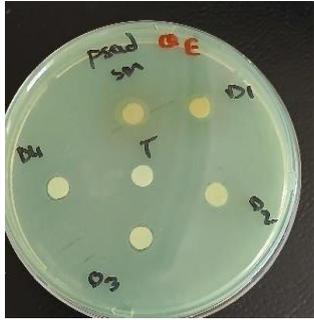
Les souches bactériennes testées	Les différents extraits		
	Méthanolique	Aqueux	Ethanolique
<i>Escherichia coli</i>			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			
<i>Bacillus subtilis</i>			



Tableau 14 : Diamètres moyens de la zone d'inhibition des extraits d'*Olea europaea L.*

Bactéries	Les dilutions	Diamètre de zone d'inhibition (mm) de chaque extrait		
		Méthanolique	Ethanolique	Aqueux
<i>Escherichia coli</i>	SM	-	-	8.57(+)
	D1	7.76 (-)	-	8.17 (+)
	D2	7.04 (-)	-	7.84 (-)
	D3	6.82 (-)	-	-
	D4	6.32 (-)	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	SM	7.88 (-)	-	7.63 (-)
	D1	7.86 (-)	-	7.33 (-)
	D2	6.49 (-)	-	6.87 (-)
	D3	-	-	-
	D4	-	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	SM	-	-	8.65(+)
	D1	-	-	-
	D2	-	-	-
	D3	-	-	-

	D4	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SM	-	-	-
	D1	-	-	-
	D2	-	-	-
	D3	-	-	-
	D4	-	-	-

Les extraits des feuilles d'*Olea europaea* manifestent une activité antibactérienne variable vis-à-vis des souches étudiés. D'après les résultats obtenus, il apparaît que l'effet antibactérien est absent sur les deux souches de (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*), mais présent sur les souches de (*E.coli* et *Bacillus subtilis*) avec de faible sensibilité. Pour la souche (*Bacillus subtilis*), la sensibilité est moins importante dans la solution mère (SM) et absente dans les autres dilutions.

La souche (*E. Coli*) a donné des résultats négatifs pour les extraits méthanolique et éthanolique. Un résultat positif a été enregistré pour l'extrait aqueux seulement, dans la solution mère (SM) avec un diamètre de 8,57mm et la première dilution (D1) avec 8,17mm de diamètre. Donc, l'extrait aqueux semble être actifs contre (*E. Coli*) par rapport à l'extrait méthanolique et éthanolique.

• Discussion

Pour *E. coli*, l'efficacité de l'extrait des feuilles est moyenne avec une zone d'inhibition estimée à 8,57 mm, ce qui proche du résultat enregistré par (Nahal *et al.*, 2012), mais inférieur à celui trouvé par (Keskin *et al.*, 2012).

Une autre étude a été réalisée par (Reffas *et al.*, 2016), dont les zones d'inhibition varies entre (6 – 8 mm), pour la bactérie *Escherichia coli*, sachant que l'extraction de ce produit est méthanolique. Ce résultat est légèrement similaire aux résultats que nous avons obtenus. De même, nos résultats est ressemblent au ceux de (Hussein *et al.*, 2014), qui a travaillé sur l'*Olea europaea* L.. Son travail a fait ressortir une absence de zones d'inhibitions avec *B. subtilis* en utilisant l'extrait éthanolique dilué dans le DMSO.

En revanche, nos résultats ne s'accordent pas à ceux obtenus par (Gökmen *et al.*, 2014), qui ont montré que les extraits des feuilles d'Oliver a une forte activité inhibitrice contre les souches *S.aurus* et *P. aeruginosa* avec des diamètres d'inhibition respectivement (18.7 et 18.00 mm). Des

autres résultats ont été présentés par **(Djenane et al., 2012)**, vis-à-vis les bactéries *S. aureus* et *P. aeruginosa* avec un diamètre de (16,33 et 15,29 mm), respectivement.

Cependant, selon **(Pereira et al., 2007)**, les feuilles d'olivier sont dotées d'une activité antibactérienne combinée exceptionnelle en raison de la présence de certains composés, à savoir: L'acide caféique, le verbascoside, l'oleuropéine, la rutine,. Ainsi, les polyphénols, tel que les tanins et les flavonoïdes, ont une activité antibactérienne importante. L'activité antimicrobienne des flavonoïdes est due à leur capacité de solubiliser les protéines et de former des complexes avec la paroi cellulaire pendant que les tannins peuvent être en rapport avec leur capacité de désactiver des adhésions microbiennes, enzymes et les protéines de la membrane cellulaire **(Machado et al., 2002 ; Ravikumar et al., 2005)**.

Conclusion générale

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. La majorité des médicaments actuels sont des copies concentrées de remèdes végétaux, notamment les composés phénoliques qui sont les composés les plus intéressants et les plus étudiés de nos jours.

Ce travail a été effectué dans le but de la valorisation de deux plantes médicinales, très abondantes dans la région de Mila «*Rosmarinus officinalis L.* et *Olea europea L.*».

Cette étude nous a permis d'aboutir à des résultats intéressants qu'on peut résumer comme suit :

Dans une première partie, le rendement des extraits bruts obtenus après macération dans différents solvants, révèle que les valeurs varient considérablement selon le choix de ce dernier. En effet, les meilleurs rendements sont enregistrés dans l'extrait éthanolique de *Rosmarinus officinalis L.* (8,06%) et l'extrait méthanolique d'*Olea europaea L.* (16,66%).

Le screening phytochimique des principales classes du métabolisme secondaire indique la présence et en abondance chez *Rosmarinus officinalis L.* et *Olea europea L.* des flavonoïdes, des saponosides, stérols, tanins et terpénoïdes et l'absence d'anthocyanes, des coumarines et glycosides. Les autres métabolites secondaires comme les quinones, les anthraquinones sont présents chez *Rosmarinus officinalis L.* et absents chez *Olea europea L.* sauf les alcaloïdes qui sont présents dans cette dernière.

Les résultats de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de deux plantes étudiées montrent un pouvoir antioxydant plus grand chez *Rosmarinus officinalis L.* avec une valeur d'IC₅₀ égale à (1,36mg/ml) par rapport à *Olea europea L.* avec une valeur de (3.4mg /ml).

L'évaluation de l'activité antibactérienne indique que l'extrait éthanolique de *R. officinalis* exerce une puissante activité antibactérienne contre les souches de *S. aureus* et *B. subtilis*. Cependant, il s'est avéré moins efficace contre les souches *E.coli* et *P. aeruginosa*. Par contre chez *O.europaea*, l'extrait aqueux exerce une activité antibactérienne faible à moyenne contre les souches d'*E.coli* et *B. subtilis*, et moins efficace contre les souches *S. aureus* et *P. aeruginosa*.

En perspectives, il serait intéressant d'étendre l'éventail des tests antimicrobiens sur d'autres agents microbiens afin de confirmer leur efficacité. Une analyse chimique est souhaitable pour obtenir une vue plus approfondie sur les compositions qualitatives étudiées afin de mettre la lumière sur l'effet thérapeutique de ces plantes médicinales. Comme il est indispensable de chercher de nouvelles substances antibactériennes et antioxydantes efficaces et à large spectre d'action.

L'ensemble de ces résultats obtenus ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement active. Partant de ces résultats, il est nécessaire d' :

- Approfondir l'étude phytochimique
- Elargir la gamme des souches microbiennes
- Etablir des tests antibactériens, antioxydants et autres plus détaillés et plus avancés.

Références bibliographiques

A

- **Abdessultane M. (2017).** Effet du romarin (*Rosmarinus officinalis*) sur la conservation traditionnelle des dattes dans la région d'Adrar. Mémoire master. Université Ahmed Draia Adrar, p15-16.
- **Aghandous R., Soulaymani - Bencheikh R. (2010).** Epidémiologie et stratégie nationale de lutte contre les intoxications au monoxyde de carbone, Actes du 3^{ème} congrès international de Toxicologie Fès, 23.
- **Almela L., Sanchez-Munoz B., Fernandez-Lopez J. A., Roca M.J., Rabe V. (2006).** Liquid chromatographic-mass spectrometric analysis of phenolics and free radical scavenging activity of rosemary extract from different raw material 1120(1-2):221-9.
- **Alzoreky N.S., Nakahara K. (2003).** Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. *International Journal of Food Microbiology*, 80: 223-230.
- **Amouretti M., Comet G. (2000).** Le livre de l'olivier, Ed, Edi, sud, 107p.
- **Aouidi F. (2012).** Antimicrobial Activity of Olive (*Olea europaea* L. Cv. Cobrançosa) Leaves. Molécules, Etude de la valorisation des feuilles d'Olivier *Olea Europaea* dans L'industrie Agro- Al. Thèse de doctorat. Université du Carthage. 213 pages.
- **Aref M., Heded M. (2015).** Contribution à l'étude phytochimique, les activités biologiques (Antioxydante et Antibactérienne) d'une plante médicinale *Cleome arabica* L (Région d'Oued Souf). P. 46-59
- **Argenson C., Regis S., Jourdain J., Vaysse P. (1999).** L'olivier. Centre technique interprofessionnel des fruits et légumes (CTIFL), Paris, France, p 204.
- **Athamena S., Chalghem1 I., Kassah-Laouar A., Khebri S., Laroui S. (2010).** Activité anti-oxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum cyminum* L. *Lebanese Science Journal* . Vol.11. 13p.
- **Azhar Ali Farooqi et al. (2005).** Cultivation of spice Crops. p 457.

B

- **Ba K., Tine E., Destain J., Cissé N., et Thonart P. (2010).** Étude comparative des composés phénoliques, du pouvoir antioxydant de différentes variétés de sorgho sénégalais et

des enzymes amylolytiques de leur malt. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 14(1), 131- 139.

- **Badiaga M. (2012).** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse de doctorat. Université de Bamako (Mali), Pp.75-184
- **Balouiri M. (2011).** Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne de trois extraits de Plantes Médicinales et Aromatiques cultivées dans le jardin de l'institut national des plantes médicinales et aromatiques -Taounate. Mémoire de Master en science et technique. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah. Pp : 4-68
- **Bashige C.V., Bakari A.S., Numbi wa I.E., Kalonda M.E., Okusa N.P., Kahumba B. J. et Lumbu Simbi JB. (2018).** Criblage Phytochimique et activité antimicrobienne de sept fleurs comestibles utilisées en médecine traditionnelle à Lubumbashi (RDC). *Journal of Applied Biosciences*, 124: 12455-12467.
- **Bayram M., Topuz S., Kaya C. (2020).** Antioxidant, Antimicrobial Activity of Olive Leaf Extract and Oleuropein, Their Possibilities Usage in Foods. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*. 8: 337-347.
- **Belkhodja H. (2016).** Effet des biomolécules extraites à partir de différentes plantes de la région de Mascara: Evaluation biochimique des marqueurs d'ostéoarticulation et de l'activité biologique (Thèse de doctorat, Université Mustapha Stambouli-Mascara). Pp 3-174
- **Beloued A. (1998).** Plantes médicinales d'Algérie. 2ème Edition. Office des publications universitaires (Ed). Alger, 274p.
- **Ben Salah M., Abdelmelek H., Abderraba M. (2012).** Study of phenolic composition and biological activities assessment of olive leaves from different varieties grown in Tunisia. *Med Chem* 2:107–11
- **Benguendouz A. (2019).** Caractérisation nutritionnelle, toxicologique et aptitudes technologiques de «Sardine pilchardus» pêchée dans la côte Algérienne. M. SelseletAttou Ghalem. Thèse de doctorat. Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem. 163 pages.
- **Benzineb Z. (2019).** Effets antimicrobiens des extraits de romarin (*Rosmarinus officinalis*) sur la qualité physico-chimique et microbiologique d'un lait fermenté yaourt. Mémoire master. Université Abdelhamid ibn badis. Mostaganem. Pp15-16.

- **Bhar et Balouk A. (2011).** Les Plantes Aromatiques et Médicinales: ces plantes odorantes qui soulagent la douleur!, collaboration avec le Centre de Recherche Forestier et l'Institut National des Plantes Médicinales et Aromatiques.Pp 42.
- **Bougandoura N., Bendimerad N. (2012).** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. Nature et technologie.Pp16.
- **Boullard (2010).** L'effet antibactérien de *nigellasativa*. Université badji mokhtar annaba
- **Boumadjen R., Kimouche S. (2018).** Etude phytochimique et evaluation de l'activité antioxydante de Romarin (*Rosmarinusofficinalis*), Mémoire présentée en vue de, l'obtention du diplôme de Master, Université des Frères Mentouri, Constantine 1,51p.
- **Boumediou A., Addoun S. (2017).** Etude ethnobotanique sur l'usage des plantes toxiques. En médecine traditionnelle, dans la vile de Tlemcen (Algérie). (Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen). 14p.
- **Brand-Williams W., Cuvelier M., Berset C. (1995).** Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity, *Lebensm.-Wiss. U Technol*, 28: 25-30.
- **Breton C., Médail F., Pinatel C., Bervillé A. (2006).** De l'olivier à l'oléastre: origine et domestication de l'*Olea europaea* L. dans le Bassin méditerranéen. *Cahiers Agricultures*. 15: 329-336 (321).

C

- **Cai L.Y., Shi F.X., Gao X. (2011).**Preliminary phytochemical analysis of *Acanthopanantrifoliatus* (L.) Merr. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(17), 4059–4064.
- **Chabrier J. (2010).** Plantes médicinales et formes d'utilisate en phytothérapie. Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université Henri Poincaré, Nancy 1, France. p184.
- **Chafaa S. (2013).** Contribution à l'étude de l'entomofaune de l'olivier, *Olea europaea* et de la dynamique des populations de la cochenille violette *Parlatoria oleae* Colvée., 1880 (Homoptera: Diaspididae) dans la région de Batna. Thèse de doctorat. Ecole Nationale Supérieure Agronomique – EL- Harrach. 168 pages.
- **Chafai elalaoui A., Boukil A., Bachar M., Driss I., Guermal A., Aafi A. (2014).** Manuel des bonnes pratiques de collecte du Romarin (*Rosmarinus officinalis*). Agdal-Rabat. P03.

- **Chira K., Suh J. H., Saucier C., Teissèdre P. L. (2008).** Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6(2), 75-82.
- **Civantos L. (1998).** L'olivier, l'huile d'olive et l'olive. Ed, Conseil oléicole international, Espagne, 130 p.
- **Cowan M. M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4),564-582.
- **Crozier A., Clifford M. N., Ashihara H. (Eds.). (2008).** Plant secondary metabolites: occurrence,structure and role in the human diet. John Wiley & Sons.Pp 4-37.

D

- **De Macedo L.M., dos Santos É.M., Militão L., Tundisi L.L., Ataíde J.A., Souto E.B., Mazzola P.G. (2020).** Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L., Syn *Salvia rosmarinus* Spenn.) and Its Topical Applications: A Review. *Plants* 2020, 9, 651.
- **Del Cima R., Urbano F. (2008).** Selection of suitable areas for olive growing in Pakistan.Chapter 9Olive (*Olea europaea* L.)—Morphology,Taxonomy, Composition and Health Benefits.
- **Diallo D. (2000).** Ethno pharmacological survey of medicinal plants in Mali and phytochemical study of four of them: *Glinus oppositifolius* (Azoceae), *Diospyros abyssinica* (Ebenaceae), *Entada africana* (Minosaceae), *Trichilia emetic* (Meliaceae). Thèse de doctorat de recherche, Faculté des sciences de l'université de Lausanne Suisse.
- **Djadoun S. (2011).** Influence de l'hexane acidifié sur l'extraction de l'huile d'olive assistée par micro-ondes (Doctoral dissertation, UMMTO).Pp87.
- **Djenane E., Yanguela J., Derriche F., Bouarab L., et Roncales P. (2012).**Extrait defeuilles d'olivier ; tests in vitro vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*,*SalmonellaEnteritidis*et*Pseudomonasaeruginosa* ; application sur la viande de dinde. *Phytothérapie.*, 10-18.
- **Doat J. (1978).** Les tanins dans les bois tropicaux. *BOIS & FORETS DES TROPIQUES*, 182(182), 37-54.
- **Dohou N. (2015).**Approche floristique, ethnobotanique, phytochimique et étude de l'activité biologique de *thymeleaelythroïdes* .thèse de doctorat.P59. Available on : dspace. Univ – tlemcem. Dz/bitstream/112/7722/1/ABDDOU.pdf.

- **Dongock D. N., Bonyo A. L., Mapongmestem P. M., et Bayegone E. (2018) .** Etude ethnobotanique et phytochimique des plantes médicinales utilisées dans le traitement des maladies cardiovasculaires à Moundou (Tchad). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 12(1), 203-216.

E

- **Edeas M. (2007).** Les polyphénols et les polyphénols de thé. *Phytothérapie*, 5(5), 264-270.
- **Eloutassi N. (2004).** « Elaboration de procédés Biotechnologiques pour la valorisation du romarin (*rosmarinus officinalis*) marocain » ; thèse de doctorat, université de Sidi Mohamed Ben Abdellah ; Fès ; 2004.

F

- **F et Botrel. A (2001).** Larousse des plantes médicinales identification, préparation, soins. Paris : Editions Larousse, Pp15.
- **Fadili K., Amalich S., N'dedianhoua S. K., Bouachrine M., Mahjoubi M., El Hilali F., et Zair T. (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*. *Int J Innov Sci Res ISSN*, 17, 2351-8014.
- **Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M., Abdelly, C. Phenolic. (2008).** composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities .*C. R. Biologies*. 331: 372-379.
- **Foley D. J. (1974).** Herbs for Use and for Delight: An Anthology from the Herbarist, a Publication of the Herb Society of America: Courier Corporation Pp 4-109.
- **Fuhrman B., Lavy A., Aviram M. (1995).** Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation. *The American journal of clinical nutrition*, 61(3), 549-554.

G

- **Gharabi D. (2018).** Effet du stress salin sur le comportement physiologique et morphobiochimique de jeunes plants de variétés d'olivier cultivé (*Olea-europea*) locales et

introduites non greffés et greffés sur oléastre. Thèse de doctorat. Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbes .166 pages.

- **Gitishree D., Jayanta K. P., Seok-Seong K., Han-Seung S. (2022).** Pharmaceutical Importance of Some Promising Plant Species with Special Reference to the Isolation and Extraction of Bioactive Compounds: A Review. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, Vol 23 (1): 15-29.
- **Gokme M., Kara R., Akkaya L., Torlak E., Ömen A. (2014).** Evaluation of antimicrobial activity in olive (*olea europea*) LEAF extract. *American Journal of Microbiology* 5 (2): 37-40.
- **Gortzi, O., Lalas, S., Chinou, I., Tsaknis, J. (2007).** Evaluation of the Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Origanum dictamnus* Extracts before and after Encapsulation in Liposomes. *Molecules*. 12: 932-945.
- **Gurib-Fakim A. (2006).** Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular aspects of Medicine*, 27(1), 1-93

H

- **H.panda. (2006),** Aromatic plant Cultivation, Processing And Uses. Pp10-142.
- **Haddouchi F., Chaouche T. M., Ksouri R., et al. (2014).** Phytochemical screening and in vitro antioxidant activities of aqueous-extracts of *Helichrysum stoechas* subsp. *rupestre* and *Phagnalon saxatile* subsp. *saxatile*. *Chin J Nat Med* 12(6), 415–22.
- **Haddouchi F., Lazouni H.A, Meziane A., Benmansour A. (2009).** Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut, Afrique SCIENCE, 05(2):246-259.
- **Hadjou L., Lamani O., Cheriet F. (2013).** Labellisation des huiles d'olive algériennes: contraintes et opportunités du processus? *New Medit.*12(2) : 35-46.
- **Haloui M., Louedec L., Michel J.B., Lyoussi B. (2000).** Experimental diuretic effects of *Rosmarinus officinalis* and *Centaurium erythraea*. *Journal of ethnopharmacology*, 71(3), 465-
- **Hamedo H. A., Abdelmigid H. M (2009).** Use of antimicrobial and genotoxicity potentiality for evaluation of essential oils as food preservatives. *The Open Biotechnology Journal*, 3(1)

- **Hamel T., Sadou S., Boukhdir S., Boulemtafes A. (2018).** Pratique traditionnelle d'utilisation des plantes médicinales dans la population de la péninsule de l'Edough (nord - est algérien). Pp75-79.
- **Hansen K., Adersen A., Christensen B.S., Brogger S., Rosendal, J.S., Nyman U., Wagner Smitt U. (1996).** Isolement d'un inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE) provenant d'*Olea europaea* et d'*Olea lancea*. *Phytomedicine*, 2: P. 319–324.
- **Hartmann T. (2007).** From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*, 68(22-24) ,2831-2846.
- **Hayes J.E., Allen P., Brunton N., O'Grady M.N., Kerry J.P. (2011).** Phenolic composition and in vitro antioxidant capacity of four commercial phytochemical products: Olive leaf extract (*Olea europaea* L.), lutein, sesamol and ellagic acid. *Food Chemistry* 126(3) 948-955.
- **Hennebelle T., Sahpaz S., Bailleul F. (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 2(1), 3-6.
- **Hilan C., Sfeir R., Jawish D., Aitour S. (2006).** Huiles essentielles de certaines plantes médicinales libanaises de la famille des Lamiaceae-Lebanese Science Journal Vol.7 ; N°2.
- **Himour S. (2018),** Comportements biologique, physiologique, biochimique et l'activité biologique de quatre variétés d'olivier (*Olea europaea* L.) dans l'Est Algérien.
- **Himour S., Abdlouhab Y., Belattar H., Bellebcir L. (2016).** Etude phytochimique de feuilles d'*Olea europaea* L. var Chemlel d'Algérie, ISSN 2490-4392, *Journal of Bioresources Valorization*, Vol. 1 (1), pp (34-38).
- **Hopkins W. G. (2003).** Physiologie végétale traduction de la 2ème édition américaine par SERGE RAMBOUR. Révision scientifique de Charle Marie Evrard. Edition DEBOEK Université, Bruxelles, 66-81.
- **Ilbert H., Hoxha V., Sahi L., Courivaud A., Chailan C (2016).** Le marché des plantes aromatique et médicinales : analyse des tendances du marché mondial et des stratégies économiques en Albanie et en Algérie. P 19, 115.

I

- **I.T.A.F (2008).** Catalogue algérien des variétés d'olivier-ITAF Sidi Aich-Bejai Pp19-148.

- **IOC (2018).** World production of olives and olive oil. Contribution to improvement of the traditional extraction of olive oil by pressure from whole and stoned olives by addition of a co adjuvant (talc). 28(4):316-33.
- **Iserin P. (2018).** Larousse Encyclopédie des plantes médicinales. Ed Larousse, pp10, consulté le). Stefano Grego 2022, Chapter The Olive Tree: A Symbol, in olive cultivation Edited by Taner Yonar.
- **Iserin P., Masson M., Restellini J., Ybert E., De Laage de Meux A., Moulard F., Zha. E., De la Roque R., De la Roque O., Vican P. (2001).** Larousse des plantes médicina les identifications, préparation, soins. Editions Larousse, Paris, Pp15.

J

- **Jean marie polese. (2006).** la culture du plant aromatique. Pp 10-21.
- **Johar S., Irfan S., Ahmed S. S., Jabeen R. (2015).** Phytochemical screening and antibacterial activity of Rosmarinus officinalis L. against Escherichia coli. Local isolates. International Journal of Basic and Applied Sciences, 4(4), 413.

K

- **Kahouli I. (2010).** Effet antioxydant d'extraits de plantes (Laurusnobilis L., Rosmarinus officinalis, Origanummajorana, OléaEuropea L.) dans l'huile de canola chauffée. Université Laval.Pp 16-52.
- **Kalla A. (2012).** Etude et valorisation des principes actifs de quelques plantes du sud algérien : Pituranthosscoparius, Rantheriumadpressum et Traganumnudatum. Thèse doctorat. Université Mentouri – Constantine.
- **Kenoufi M. (2018).** Caractérisation histologique, caryologique, phytochimique et activités biologiques de Senecio giganteus Desf. Et S. jacobaea L.Thèse de Doctorat en valorisation et protection de la biodiversité végétale Université Ferhat Abbas Sétif 1.190p.
- **Kpodji P., Lozes E., Dougnon V., Assogba P., Koudokpon H., Moussa L. B. (2019).** Utilisation des plantes du sud - Bénin dans le traitement des maladies inflammatoires enquête ethnopharmacologique auprès des herboristes. Rev. Ivoir . Sci . Technol , (3 4) , 127-143
- **krief S. (2003).** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (Pan troglodytes schweinfurthii)

en Ouganda .Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Thèse de Doctorat en Sciences du vivant. Museum national d'histoire naturelle paris, français. P346

L

- **Laguerre M., Lopez Giraldo L. J., Lecomte J., Pina M., & Villeneuve P. (2007).** Outils d'évaluation in vitro de la capacité antioxydante. OCL. Oléagineux Corps gras Lipides, 14(5), 278- 292.
- **Lakache Zineb. (2015).** Investigation d'activités biologiques de différents extraits de deux plantes médicinales Algériennes: *Olea europaea* et *Crataegus azarolus*.
- **Lara M., Gutierrez J., Timon M., Andrés A. (2011).** Evaluation of two natural extracts (*Rosmarinus officinalis* L. and *Melissa officinalis* L.) as antioxidants in cooked pork patties packed in MAP. Meat Science, 88(3), 481-488.
- **Larousse des plantes medicinales :** identification, préparation, soins. Ed Larousse. p10-12.
- **Lavee S. (1997).** Biology and physiology of the olive. Olive Encyclopaedia, International Olive Oil Council, Principe de Vergara, 154, 28002 Madrid, Spain.
- **Lee K. W., Kim Y. J., Lee H. J., Lee C. Y. (2003).** Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and redwine. *Journal of agricultural and foodchemistry*, 51(25) : P. 7292-7295.
- **Louli V., Ragoussis N., Magoulas K. (2004).** Recovery of phenolic antioxidants from wine industry by-products. *Bioresources Technology*, 92, 201 - 208.
- **Loussert R., Brousse G. (1978).** L'olivier: Techniques agricoles et productions méditerranéennes. G.P. Maisonneuve et Larose, Paris, 464 p.

M

- **Machado T.D., Leal I.C.R., Amaral A.C.F., Dos santos K.R.N., DAa siva M.G., Kuster R.M. (2002).** Antimicrobial ellagitannin of *Punicagranatum* fruits. 606-610.
- **Macheix J., Fleuriet A., Jay-Allemand C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économiques .Edition presses polytechniques et universitaires romanes, Lausanne 191 p.
- **Maillard R. (1975).** L'olivier. Comité technique de l'olivier, Institut national de vulgarisation pour les fruits, légumes et champignons, Paris, 75 p.

- **Makhloufi A, (2014).** « Etude des activités antimicrobienne et antioxydants de deux plantes médicinales poussant a l'état spontané dans la région de Bechar (*matricaria pubescens* (desf.) Et *Rosmarinus officinalis* l) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru » ; thèse de doctorat ; université d'Aboubaker belkaid.329-336 (321).
- **Makhloufi A. (2010).** Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru (Thèse de doctorat, Université Aboubaker Belkaid-Telemcen). Pp 1-166.
- **MARDF (2017).** Agricultural statistics of the Ministry of Agriculture and Rural Development and Fisheries, Serie B (Crop production). Algiers, Algeria: Pub. MARDF. [Google Scholar].
- **Marina S. (2017).** PhD.polyphenols: Occurrence, Roles and Benefits. 12 (11).Published online (www.naturalproduct.us).
- **Meddour E ., Soualem M . (2021).** Contribution à l'étude phytochimique et l'évaluation des propriétés antioxydante d'*Olea europaea* L.Master en Biochimie. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.Pp 1-53.
- **Memnune S., Hilal Y., Neva G., Bulent C., Zeynep E., Sezai E. (2009).** Total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of some medicinal plants Pak. J. Pharm. Sci., 22, 1:102-106
- **Menat É. (2006).** Les polyphénols de thé, du vin et du cacao. *Phytothérapie*, 4(1), 40-45.
- **Merghem R. (2009).**Eléments de biochimie végétale. Ed. Bahaeddine éditions.
- **Mi Hee Yu ., In Gyeong Chae ., Young Tae Jung ., Yeon Seop Jeong ., Hyuk Il Kim and In Seon Lee .(2011).** Antioxidative and Antimicrobial Activities of Methanol Extract from *Rosmarinus officinalis* L. and Their Fractions; *Journal of Life Science* Vol. 21. No.3. 375~384
- **Mibindzou M.A. (2004).** Screening phytochimique de deux espèces de plantes: *Crotalia retusa* L (*papilionaceae*) ET *Hallea ciliata* Aubrev & Pellegrer. (*Rubiaceae*) récoltées au Gabon, thèse de doctorat, Mali, 58 p.
- **Ministry of Agriculture and Rural Development of Algeria.** [(Accessed on 20 August 2021)]. Direction of Agriculture Services of Biskra Region.
Available online: <https://www.aps.dz/regions/83476-biskra-une-production-record-de-177-000-quintaux-d-olive-realisee>.

- **Mohammedi S. (2013).** Phytothérapie : la première médecine du mond. N° 18, pp 36-37.
- **Mohammedi Z. (2006).** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse de Magistère. Université Abou Bakr Belkaïd, Tlemcen. Pp 155.
- **Mouas Y ., Benrebiha F., Chaouia C. (2017).** Évaluation De L'activité Antibacterienne De L'huile Essentielle Et De L'extrait Méthanolique Du Romarin Rosmarinus Officinalis L, Revue Agrobiologia 7(1): 363-370

N

- **Nacz M., Shahidi F. (2004).** Extraction and analysis of phenolics in food. Journal of Chromatography A, 1054, 95 - 111.
- **Nogaret A.S. (2011).** La phytothérapie : se soigner par les plantes, Editions Eyrolles
- **Nsemi F. (2010).** Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydant et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de Doctorat en Biologie végétale, Université Paul Verlaine, France. 239p

O

- **Obame Engonga L. (2009).** Etude phytochimique, activités antimicrobiennes et antioxydantes de quelques plantes aromatiques et médicinales africaines. Thèse de Doctorat en Biochimie et microbiologie ; Centre de recherche en Sciences biologiques alimentaires et nutritionnelles, Université de Ouagadougou. 258p.
- **Oddou C. (2021).** Le vaccin contre le zona : rôle et conseil du pharmacien (En vue D'obtenir le diplôme d'état de docteur en pharmacie, Université d' Aix-Marseille, France).

P

- **Pagnol J., (1975).** L'olivier. Librairie Lavoisier, 3ème édition, France, Pp. 17-150.
- **Pastor G. (2006).** Précis de phytothérapie, édition Alpent. P. 3-4.
- **Pelt J-M. (1980).** Les drogues. Leur histoire, leurs effets, Ed. Doin Pp. 25-46.
- **Pincemail J., Degruene F., 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. *Nutrition clinique et métabolisme*, 21(2), 66-75

Q

- **Quezel P., Medail F. (1995).** La région circumméditerranéenne, centre mondial majeur de biodiversité végétale. Institut méditerranéen d'écologie et de la paléoécologie, France, 152-55

R

- **Ravikumar S., Nazar S., Nuralshiefa A., Abideen S. (2005).** Antibacterial activity of traditional therapeutic coastal medicinal plants against some pathogens. 83-386. Pub Med Abstract.
- **Reffas L et al. (2016).** Etude Phytochimique Et Activité Antibactérienne De Deux Espèces De Lavande Autochtones Au Maroc :«Lavandula stoechas L. et Lavandula dentata L.» . vol.12, No.30 ISSN: 1857 – 7881 (Print) e – ISSN 1857- 7431.
- **Ricci D et al. (2005).** Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil of *Teucrium marum* (Lamiaceae). *Journal of ethno pharmacology*.981, 195-200.

S

- **Salah M.B., Hafedh A., Manef A. (2017).** Anti-diabetic activity and oxidative stress improvement of Tunisian Gerboui olive leaves extract on alloxan induced diabetic rats. *J Mater*; 8:1359–64. Servili M, Baldioli M, Selvaggini R, Macchioni A, Montedoro G. 1999. Phenolic compounds of olive fruit: one- and two-dimensional nuclear magnetic resonance characterization of Nüzhenide and its distribution in the constitutive parts of fruit.
- **Samarth R.M., Panawar M., Soni A., Kumar M. (2008).** Evaluation of antioxidant and radical-scavenging activities of certain radio protective plant extract, *Food Chemistry*, 106,868-873.
- **Sarni-Manchado P., Cheynier V (2006).** Polyphenols in food products. *Polyphenols in food products*

- **Seddiek S. A., Ali M. M., Khater H. F et El-Shorbagy M. M. (2011).** Anthelmintic activity of the whitewormwood *Artemisia herba-alba* against *Heterakis gallinarum* infecting turkey poult. *Journal of Medicinal Plants Research* .5 (16): 3946-3957.
- **Shay J., Elbaz H. A., Lee I., Zielske S. P., Malek M. H., Hüttemann M. (2015).** Molecular Mechanisms and Therapeutic Effects of (-)-Epicatechin and Other Polyphenols in Cancer, Inflammation, Diabetes, and Neurodegeneration. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 1–13.
- **Singleton V.L., Rossi J.A. (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic photungstic acid reagents, *American Journal of Enology and Viticulture*, 16,144-158. [125]
- Dif MM, BenaliToumi F, Benyahia M, Mekhfi N (2015) Optimization of extraction in *Daphne gnidium* L. leaves. *Adv in Nat ApplSci* 3:5–7

T

- **Tadros S. H. (1979).** Pharmacognostical study of *entolobium cyclocarpum* griseb growing in egypt. Ph. D. thesis. Faculty of pharmacy. Cairouniversity. Florida state horticultural society. P 426.
- **Tang S.Z., Kerry J.P., Sheehan D., Buckley D.J. (2002).** "Antioxidative mechanisms of tea catechins in chicken meat systems". *Food Chem.*, 76 (1): 45-51
- **Trease E., Evans W.C. (1987).** *Pharmacognosy*. 13 th Edition, Baillière Tindall, London.
- **Tsai P. J., Tsai T. H., Ho S.C. (2007).** In vitro inhibitory effects of rosemary extracts on growth and glucosyltransferase activity of *Streptococcus sobrinus*, *Food Chemistry* 105: 311–316.
- **Turkmen N., Velioglu Y., S Sari F., Polat G. (2007).** Effect of Extraction Conditions on
- **Twajj B. M., Hasan N. (2022).** Bioactive Secondary Metabolites from Plant Sources: Types, Synthesis, and Their Therapeutic Uses. *Int. J. Plant Biol.* 13(1), 4-14

V

- **Ventura-Martínez R., Rivero-Osorno O., Gómez C., González-Trujano M. E. (2011).** Spasmolytic activity of *Rosmarinus officinalis* L. involves calcium channels in the guinea pig ileum. *Journal of ethnopharmacology*, 137(3), 1528-1532.

- **Vijay P., Nivedita B., Bellundagi A. (2013).** Ethanobotany and Qualitative Phytochemical Analysis of Some Indian Medicinal Plants. *International Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*. Four: 59-63.

W

- **Wang W., Li N., Luo M., Zu Y., Efferth T. (2012).** Antibacterial activity and anticancer activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to that of its main components. *Molecules* 17(3), 2704–2713. Crossref, Medline, CAS, Google Scholar
- **Wechesser S., Engel K., Simon H.B., Wittmer A., Pelz K., Schempp C.M. (2007).** Screening of plant extracts for antimicrobial activity against bacteria and yeasts with dermatological relevance. *J. Phytomed.* 14: 508-516.
- **Wichtl M., Anton R., Bernard M., Czygan F.C (2003).** *Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinale, science et thérapeutique*, Tec & Doc ; Ed. Médicales internationales.
- **Wiesman Z. (2009).** *Desert olive oil cultivation: advanced biotechnologies*: Academic Press . 395 pages.

Y

- **Yanah Y. M, Elinge C. M, Nwaogu J., Sani I., Samuel R., Abdullahi H. P., Jabaka R.D.(2020).** Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of Aqueous Leaves Extract of Olive Leaves (*Olea europaea*), *Journal of Innovative Research in Life Sciences*, page 24.
- **Yazdani D., Zainal Abidin M.A., Tan Y.H., Kamaruzaman S., Jaganath I.B. (2012).** Screening of phytochemical from ethnomedicinal plants in Malaysia for use against toxigenic *Aspergillus flavus*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6 (42): 5464-5468.
- **Yesil Celiktas O., Hames Kocabas E.E., Bedir E., Vardar Sukan F., Ozek T., Baser K.H.C. (2007):** Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chemistry*. 100 (2) : 553-559.

Sites Web

Anonyme 01 : <https://www.pepinieres-travers.fr/plantes-aromatiques/99995552-romarin-officinalis.html>

Anonyme 02 : <https://etpourquoipascoline.fr/lifestyle/bienfaits-tisane-romarin-frais/>

Anonyme 03 : <https://allbeaute.com/produit/mielle-organics-huile-croissance-capillaire-romarin-menthe-poivree-rosemary-mint-59ml/>

Anonyme 04 :

<https://www.sehatok.com/%D8%A7%D9%84%D8%AD%D9%8A%D8%A7%D8%A9-%D8%A7%D9%84%D8%B5%D8%AD%D9%8A%D8%A9/%D8%A7%D9%84%D9%81%D9%88%D8%A7%D8%A6%D8%AF-%D8%A7%D9%84%D8%B5%D8%AD%D9%8A%D8%A9-%D9%84%D8%B9%D8%B4%D8%A8%D8%A9-%D8%A5%D9%83%D9%84%D9%8A%D9%84-%D8%A7%D9%84%D8%AC%D8%A8%D9%84>

Anonyme 05 : <https://www.jardiner-malin.fr/fiche/olivier.html%20consulter%20le%2022/09/2020>