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° Ref :……**

**Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF-Mila**

**Institut des Sciences et de la Technologie**
**Département des Sciences de la Nature et de la Vie**

**Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de**

# Master

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**
**Filière : Sciences Biologiques**
**Spécialité : Biotechnologie Végétale**
**Thème :**

# Etude botanique et phytochimique de la plante médicinale *Rosmarinus officinalis* L.

**Préparé par:**

- BOUCHELOUKH Nassima
- KADJA Takia

**Devant le jury composé de :**

| | | |
|---|---|---|
| **Président :** | **Mr. BOUBENDIR Abdelhafid.** | **M.C.A** |
| **Examinatrice :** | **Mm. ZAIDI Sara** | **M.A.A** |
| **Promoteur :** | **Mr. YAHIA Abdelouahab** | **Pr** |

**Année Universitaire: 2018/2019**

# REMERCIEMENT

*Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout Puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la Patience d'accomplir ce travail.*

*Au terme de ce travail nous exprimons nos profonde gratitude a notre professeur et encadreur Mr Yahia Abdelouahab*

*Nous remercions vivement également les jurys :Ms. Boubendir Abdelhafid et Mm. Zaidi Sara*

*A toute personne ayant participée de prés ou de loin à notre formation et à tous ceux qui nous ont apportées leurs soutiens et encouragements durant la réalisation de ce travail.*

# DÉDICACE

*Du profond de mon cœur, je dédiée ce travail a tous ceux qui me sont chers,*

*particulièrement;*

*A ma chère mère*

*A mon cher père*

*Qui non jamais cessé de formuler des prières à mon égard de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs*

*A mes frères : Sofiane, Aimed, Aref et Hamed*

*A mes sœurs : Karima et Soumia*

*A ma grande sœur Wafa et son mari Mohamed*

*A la femme de mon frère : Chahinez*

*pour ses soutiens moral et leur conseils précieux tout long de mes étude*

*A ma grand mère et mon grand père*

*qui m avis toujours soutenu et encourage*

*A mes cousines :Roufayda, Aya et Hadjer*

*pour leurs aides et supports dans les moments difficiles*

*A ma chère binôme Nassima*

*pour sa entente et sa sympathie*

*A toute ma famille*

*A tous mes amies et mes collègue*

*A tous ceux que j aime et ceux qui m'aiment.*

# Dédicace

Du profond de mon cœur, je dédie cet événement marquant de ma vie

À la mémoire de mon père disparu trop tôt, j'espère que du monde qui est sien maintenant

À ma chère mère

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être

A mes chers frères

Qui m'a soutenu et encouragé durant ces années d'étude : Khaled et Wakil

A ma grande sœur Djamila, merci pour ton soutien plus que précieux.

A mes sœurs : Hanan

Hind et son mari Kacem

Farida et son mari Ahmed

Hiba et son mari Amar

A la femme de mon frère Naima

A mon fiancé Amir et sa famille

A ma chère binôme takia pour sa entente et sa sympathie

A tous mes amies et mes collèges : Houria, Yamina, Chayma, yasmin, manel, wiam, marwa et saliha.

# *Table des matières*

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Résumé

ملخص

Abstract

Introduction

## *Partie 1 : Synthèse bibliographique*

### *Chapitre I : Etude botanique*

Introduction ..... 3

I. Les plantes médicinales: ..... 3

I.1. Définition ..... 3

I.2. importance ..... 3

II. Famille des lamiacées: ..... 3

III. Espèce *Rosmarinus officinalis* L.: ..... 4

III.1. Le romarin au fils de l'histoire ..... 4

III.2. Définition ..... 4

III.3. Caractéristiques ..... 4

III.4. Position systématique ..... 5

III.5. Description botanique du romarin: ..... 5

III.5.1. Appareil végétatif ..... 6

III.6. Variétés de la plante étudiée: ..... 8

III.7. Répartition géographique ..... 9

III.8. Principes actifs ..... 10

III.9. Propriétés médicinales du romarin ..... 10

III.10. Autre utilisation : ..... 11

III.11. Culture de l'espèce: ..... 11

## *Chapitre II : Métabolisme secondaire chez les plantes*

Introduction ..... 13
I. Métabolisme des végétaux supérieurs: ..... 13
I.1. Métabolisme primaire ..... 13
I.2. Métabolismes secondaires ..... 13
II. Substances naturelle viennent du métabolisme secondaire ..... 13
II.1. Rappel sur quelque métabolite secondaire: ..... 14
II.1.1. Alcaloïdes ..... 14
II.1.2. Glucosides ..... 14
II.1.3. Les terpènes et stéroïdes: ..... 15
II.1.4. Huiles essentielles ..... 17
II.1.5. Les composés phénoliques: ..... 17

## *Chapitre II : Activité biologique*

Introduction : ..... 25
I. Activité antibactérienne: ..... 25
I.1. Caractères biologiques: ..... 25
I.2. Mode d'action des antibiotiques: ..... 27
I.3. Résistance bactérienne aux antibiotiques ..... 28
I.4. Activités antimicrobiennes des polyphénols ..... 28
II. Activité anticoagulante: ..... 29
II.1. Coagulation ..... 29
II.2. Facteur de la coagulation ..... 29
II.3. Voies de coagulation ..... 30
II.3.1. Voie endogène ..... 30
II.3.2. Voie exogène ..... 30
II.4. Anticoagulants: ..... 30

II.4.1. Héparines ..... 31
II.4.2. Anti-vitamines K ..... 31
II.4.3. Nouveaux anticoagulants ..... 31

# *Partie 2: Etude expérimentale*

## *Chapitre I : Matériels et méthodes*

I. Matériel et méthode: ..... 33
I.1. Matériel végétal: ..... 33
I.1.1. Collecte des échantillons ..... 33
I.1.2. Séchage ..... 33
I.1.3. Broyage ..... 33
I.2. Matériel de laboratoire ..... 34
II. Screening phytochimique ..... 34
II.1. Principe ..... 34
II.2. Tests de screening phytochimique ..... 34
II.2.1. Test des saponosides ..... 34
II.2.2. Test des tanins : ..... 35
II.2.3. Test des alcaloïdes : ..... 36
II.2.4. Teste des glucosides ..... 37
II.2.5. Test des stéroïdes et triterpène ..... 37
II.2.6. Test des flavonoïdes ..... 37
II.2.7. Test des cardinolides ..... 38
II.2.8. Test des polyphénols ..... 39
II.2.9. Test des huiles essentielles ..... 39
III. Extraction des composés phénoliques ..... 39
III.1. Principe ..... 39
III.2. Mode opération ..... 39
III.3. Calcul le rendement ..... 40

IV. Activités biologiques: ..... 41
IV.1. Activité antibactérienne: ..... 41
IV.1.1. Principe ..... 41
IV.2.2. Matériel bactériologique et milieux: ..... 41
IV.1.2. Tests d'activité antibactérienne ..... 44
V. Activité anticoagulante vis-à-vis la voie exogène (TQ) ..... 48
V.1. Principe ..... 48
V.2. Préparation du pool plasmatique : ..... 48
V.3. Mode opératoire : ..... 50

## *Chapitre II : Résultats et discussions*

I. Criblage phytochimique: ..... 51
I.1. Analyse des résultats: ..... 51
I.1.1. Test des saponosides ..... 51
I.1.2. Test des cardinolides ..... 52
I.1.3. Test des flavonoïdes ..... 52
I.1.4. Test des acides phénoliques ..... 53
I.1.5. Test des alcaloïdes ..... 53
I.1.6. Test des glucosides ..... 54
I.1.7. Test des triterpènes et stéroïdes ..... 55
I.1.8. Test des tanins ..... 55
I.1.9. Test des huiles essentielles ..... 56
I.2. Discussion: ..... 56
II. Teneur en polyphénols: ..... 57
II.1. Analyse des résultats: ..... 57
II.2. Discussion: ..... 58
III. Activité biologique: ..... 59
III.1. Activité antibacterienne: ..... 59

III.1.1. Analyse des résultats: 59
III.1.2. Discussion: 61
III.1.3. Discussion: 63
III.2. Activité anticoagulante: 64
III.2.1. Analyse des résultats: 64
III.2.2. Discussion 65
Conclusion
Références bibliographique
Annexes

# *Liste des figures*


| Figure | Titre | Page |
|---|---|---|
| **1** | *Rosmarinus officinalis* L. | **5** |
| **2** | Aspects morphologiques du *Rusmarinus officinalis* L. | **6** |
| **3** | Racine de *Rusmarinus officinalis* L | **6** |
| **4** | Tige principale et rameau Feuillé à fleurs du romarin | **7** |
| **5** | Feuille de *Rosmarinus officinalis* L | **7** |
| **6** | Distribution géographiques de *Rosmarinus officinalis* L | **10** |
| **7** | Structure de la molécule d'isoprène | **16** |
| **8** | structure de noyau stéroïde | **18** |
| **9** | Effets biologiques des polyphénols | **19** |
| **10** | Acide benzoïque | **19** |
| **11** | acide cinamique | **20** |
| **12** | Squelette de base des flavonoïdes | **21** |
| **13** | Structures des différentes classes de flavonoïdes | **22** |
| **14** | tanins condensés  et tanins hydrolysables | **23** |
| **15** | Structure d'une molécule de coumarine | **24** |
| **16** | Structure des saponines | **26** |
| **17** | Aspect morphologique *d'Escherichia. Coli* | **26** |
| **18** | Aspect morphologique de *Pseudomonas aeruginosa* | **26** |
| **19** | Aspect morphologique de *Staphylococcus aureus* | **27** |
| **20** | Mode d'action des antibiotiques | **27** |
| **21** | La résistance bactérienne aux antibiotiques | **28** |
| **22** | Localisation du site de prélèvement | **33** |
| **23** | broyage du *rusmarinus officinalis* L. | **34** |
| **24** | teste des saponosides | **35** |
| **25** | Test des tanins | **36** |

| | | |
|---|---|---|
| **26** | Test des alcaloïdes | **36** |
| **27** | Teste des glucosides | **37** |
| **28** | Test des cardinolides | **38** |
| **29** | Test des huiles essentielles par l'appareille de distillation | **39** |
| **30** | Protocol d'extraction des compose phénolique | **40** |
| **31** | préparation de milieu Gélose Muller-Hinton | **42** |
| **32** | preparation de Bouillon nutritif (BN) | **42** |
| **33** | préparation des extraits | **43** |
| **34** | préparation des dilutions des extraits | **44** |
| **35** | Réactivation des bactéries | **44** |
| **36** | Etape de repiquage des bactéries dans les boite de pétrie | **45** |
| **37** | Etape d'ensemencement des bactéries sur milieu gélosé | **46** |
| **38** | Disposition des disques | **46** |
| **39** | trempage d'extrait | **47** |
| **40** | Préparation d'un pool de plasma | **49** |
| **41** | Etapes de la voie exogène | **50** |
| **42** | test des saponpsides | **52** |
| **43** | test des cardinolides | **52** |
| **44** | test des flavonoïdes | **53** |
| **45** | test des polyphénols | **53** |
| **46** | test des alcaloïdes | **54** |
| **47** | test des glucosides | **54** |
| **48** | test des triterpene | **55** |
| **49** | teste des tanins | **55** |
| **50** | test des huiles essentielles | **56** |
| **51** | rendement d'extraits aqueux et éthanolique de *rosmarinus officinalis* L. | **58** |
| **52** | zones d'hinibition d'extrait ethanolique de *rosmarinus officinalis* L. sur les bacterie *E.coli*, *P.aeruginosa* et *S.aureus* | **60** |

| | | |
|---|---|---|
| **53** | Moyenne de diamétre de Zones d'inhibitions en niveau des extraits ethanoliques des feuilles de *rosmarinus officinalis* L. | **60** |
| **54** | Zones d'hinibition d'extrait aqueux de *rosmarinus officinalis* L. sur les bacterie *E.coli*, *P.aeruginosa* et *S.aureus.* | **62** |
| **55** | Moyenne de diamétre de Zones d'inhibitions en niveau des extraits aqueux des feuilles de *rosmarinus officinalis* L. | **63** |
| **56** | Temps de Quick de diffèrent concentrations d'éxtrait aqueux de *rosmarinus officinalis* L. | **64** |

# *Liste des Tableaux*


| Tableau | Titre | Page |
|---|---|---|
| **I** | Position systématique de *Rosmarinus officinalis* L. | **5** |
| **II** | quelque variété de *Rusmarinus officinalis L.* | **8** |
| **III** | Facteurs de la coagulation plasmatique | **29** |
| **IV** | Screening phytochimique de *rusmarinus officinalis* L. | **51** |
| **V** | moyennes des diamétre de zone d'inhibition d'extrait éthanolique de *rosmarinnus officinalis* L. sur des souches testés | **59** |
| **VI** | moyennes des diamétre de zone d'inhibition d'extrait aqueux de *rosmarinnus officinalis* L. sur des souches testés | **62** |
| **VII** | Variabilité de temps de Quick en fonction de concentration des extraits aqueux de *rosmarinus officinalis* L. | **64** |

# *Liste des abréviations*

**HEs:** Huiles Essentielles.

**TCK:** temps de céphaline kaolin.

**TQ:** temps de Quick.

**THF:**tétrahydrofolate.

**DHP:**dihydroptéroate.

**MS:** métabolisme secondaire.

**DHF:**dihydrofolate.

**E.Coli:***EscherichiaColi*.

**OMS:**organisation mondiale de la Santé.

**µl:** Microlitre.

**PPP:**Plasma pauvre en plaquettes.

**F3P:**facteur 3 plaquettaire.

**C°:**Degré sels suce.

**Rpm** : rotations par minute.

**V:** volume.

**g:** Gramme.

**h**: Heure.

**Km**: Kilo mètre.

***R* %:** Rendement en %.

**H2SO4:** Acide sulfurique.

**HCl:**Acide chlorhydrique.

**KOH:**Hydroxyde de potassium.

**$FeCl_3$:**Chlorure ferrique.

**Résume**:

Le romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) est une espèce très abondante en Algérie, c'est une plante médicinale appartenant à la famille des lamiacées, utilisée en médecine pour ses divers effets thérapeutiques.

Notre travail porte sur l'étude phytochimique, dosage des polyphénols et l'évaluation des activités antibactérienne et anticoagulantes des extraits de la plante étudiée.

Les différents tests de screening phytochimique utilisées dans notre expérimentation ont permis la détection de plusieurs molécules bioactives: Saponines, flavonoïdes, Acides phénoliques, Cardinolides, tanins, glucosides, triterpènes et stéroïdes, Huiles essentielles. par contre on note l'absence des alcaloïdes.

L'ensemble des résultats obtenus au cours de cette étude montre que le romarin possède des activités biologiques très importantes on cite: Activité antibactérienne, Activité anticoagulante.

Activité antibactérienne: la sensibilité des souches bactériennes testées varie selon les dilutions et la nature bactérienne. Le résultat a montré une forte activité chez la souche *Escherichia coli*.

L'activité anticoagulant des extraits de *Rosmarinus officinalis* L. a été effectuée vis-à-vis la voie exogène de la coagulation sanguine. L'ordre du Temps de Quick est varie selon la Concentration de l'extraits: (C=10µL) le TQ est de l'ordre de 48s. (C=30µL) le TQ est de l'ordre de 155s.

**Mots clés**: *Rosmarinus officinalis*, huiles essentielles, Algérie, activité antibactérienne, activité, activité anticoagulante, TQ.

**Abstract:**

Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) is a very abundant species in Algeria, it is a medicinal plant belonging to the lamiaceae family, used in medicine for its various therapeutic effects.

Our work focuses on the phytochemical study, determination of polyphenols and the evaluation of the antibacterial and anticoagulant activities of the extracts of the studied plant. The different phytochemical screening tests used in our experiment have allowed the detection of several bioactive molecules: Saponins, flavonoids, Phenolic acids, Cardinolides, tannins, glucosides, triterpenes and steroids, essential oils. On the other hand we note the absence of alkaloids.

All the results obtained during this study show that rosemary has very important biological activities: Antibacterial activity, Anticoagulant activity.

Antibacterial activity: the sensitivity of the bacterial strains tested varies according to the dilutions and the bacterial nature. The result showed a strong activity in Escherichia coli strain.

The anticoagulant activity of *Rosmarinus officinalis* L. Extracts was performed with respect to the exogenous blood coagulation pathway. The order of the Time of Quick is varies according to the Concentration of the extracts: (C = 10µL) the TQ is of the order of 48s. (C = 30µL) the TQ is of the order of 155s.

**Key words**: *Rosmarinus officinalis*, essential oils, Algeria, antibacterial activity, activity, anticoagulant activity, TQ.

**الملخص**

يعتبرا كليل الجبل من أكثر الأنواع انتشارا في الجزائر، وهو نبات ينتمي إلى عائلة الشفويات كثيرة الاستعمال نظرا لفاعليته الطبية.

يرتكز عملنا على المعاينة الكيمائية لنبات الإكليل، التحليل الكمي لعديدات الفينول، تقييم كل من النشاط المضاد للبكتيريا والنشاط المضاد لتخثر الدم لمستخلص النبات محل الدراسة.

سمحت اختبارات المعاينة الكيميائية بالكشف عن العديد من الجزيئات النشطة بيولوجيا: الصابونيات، الفلافونويدات، ثربينات ثلاثية وستيرويدات، احماض فينولية، كاردينوليدات، تنينات، جليكوسيدات، بالإضافة إلى الزيوت الطيارة وعلى العكس من ذلك فقد تم تسجيل غياب القلويدات .

أكدت النتائج المتحصل عليها من خلال هده الدراسة أن نبات الإكليل يتميز بأنشطة بيولوجية مهمة: نشاط مضاد للبكتيريا، نشاط مضاد لتخثر الدم.

نشاط مضاد للبكتيريا: تغير حساسية البكتيريا المختبرة بتغير تركيز المستخلص وطبيعة البكتيريا، حيث تم تسجيل أعلى نشاط مضاد للبكتيريا عند السلالة *E. Coli* .

لنشاط مضاد لتخثر الدم: تم تقييم مستخلص النبات باستخدام اختبار وقت البروثرومبين على المسار الخارجي لتخثر الدم.

قيمة TQ تتغير على حسب تراكيز المستخلص عند التركيز 10 ميكرو لترTQ يأخذ القيمة 48 ثا.

عند التركيز30 ميكرو لتر TQ يأخذ القيمة 155ثا.

**الكلمات المفتاحية** اكليل الجبل الجزائر، عائلة الشفويات، عديدات الفينول، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد لتخثر الدم TQ.

# Introduction

**Introduction**

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies **(Zeghad, 2009)**. Elles sont un patrimoine sacré et précieux et constituent une réponse de choix pour fournir à l'organisme, de façon naturelle, les substances nécessaires pour maintenir son équilibre vital. Actuellement, selon les estimations de l'OMS, plus de 80 % de la population mondiale, surtout dans les pays sous-développés, ont recours aux traitements traditionnels pour satisfaire leurs besoins en matière de santé et de soins primaires **(Ali et *al*., 2013)**.

Les plantes médicinales sont essentiellement utilisées sous deux formes :

- complexe contenant un large spectre de constituants (infusion, des huiles essentielles et des extraits des teintures).
- pure, chimiquement définie comme principe actif **(Touafek, 2010)**.

En phytothérapie, l'effet de nombreuses plantes médicinales est attribué en tout ou partie aux composés phénoliques dans ces plantes. Ces substances possèdent un large éventail d'activités biologiques *in vitro* qui les rendent bénéfiques aux santés humaines telles que l'effet anti thrombotique, antiagrégant plaquettaire, anti-inflammatoire **(Boskou, 2009).**

L'Algérie par sa position biogéographique offre une très grande diversité écologique et floristique, qui constitue un véritable réservoir phytogénétique, avec environ 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, le Romarin fait partie des espèces végétales qui se présentent à l'état sauvage dans les zones littorales pas trop loin de la mer, les lieux sec et arides (Aurès) même au Sahara **(Beniston, 1982)**.

*Rosmarinus officinalis* L. fait partie des plantes médicinales qui sont en usage de puis l'Antiquité et qui, au travers des siècles, a su garder une place dans l'inventaire des remèdes des tradiparticiens de tout le bassin méditerranéen **(Claire, 1994).** A l'heure actuelle, le Romarin est l'une des plantes médicinales les plus intéressantes dans la protection et la conservation de la santé appréciée pour ses propriétés aromatiques, antioxydants, antimicrobiennes, antispasmodiques, emménagogues et anti-tumorales, largement utilisée dans les produits pharmaceutiques et en médicine traditionnelle **(Atik et *al.*,2007)**.

L'objectif de notre travail est la valorisation de notre plante à partir de criblage phytochimique de *Rosmarinus officinalis* L. l'extraction des composé phénoliques et l'évaluation des activités antibacterienne et l'anticoagulante des extraits phénolique du plante étudier.

Pour réaliser notre objectif, nous avons adopté le plan suivant :

-La première partie consiste en une revue bibliographique, qui est constitué de trois chapitres:

- Etude botanique sur la plante *Rosmarinus officinalis* L.
- Métabolites secondaires.
- Activité biologique.

-La deuxième partie c'est la partie expérimentale, Cette dernière est subdivisée en deux chapitres :

- Matériel et méthodes.
- Résultats et discussion.

En fin, le travail s'achève par une conclusion générale qui résume nos résultats.

# Chapitre I :

# Etude botanique de *Rosmarinus officinalis* L.

**Introduction**

Depuis très longtemps, les plantes médicinales jouent un rôle déterminant dans la conservation de la santé des hommes et la survie de l'humanité. Le romarin est une plante domestique commune cultivée dans de nombreuses régions du monde. Il est largement répandu en Algérie **(Boutekedjiret et *al*.,2003).** Il est essentiellement utilisé en médecine traditionnels, cosmétique et phytopharmacie**(Boutabia.L et *al*., 2016).**

**I. Les plantes médicinales:**

**I.1. Définition**

Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses **(Farnsworth et *al*., 1986).**Elles sont utilisées depuis l'antiquité, pour soulager et guérir des maladies. En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voire des milliers de composés naturels bioactifs appelés: les métabolites secondaires**(Sefi et *al*., 2010).** Environ 35 000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains**(Elqaj et *al*., 2007).**

**I.2. importance**

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 des agents thérapeutiques, mais aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments ou modèles pour les composés pharmaco logiquement actifs**(Decaux,2002).**

**II. Famille des lamiacées:**

Lamiacéeest une famille importante appartenant aux angiospermesdicotylédones. Ce sont des arbustes, sous arbrisseaux ou plantes herbacées comprennent dans lemonde 258 genres et 6970 espèces **(Hennebelle, 2006).**Elles contient une très large gamme de composés comme lesterpénoïdes, les polyphénols, les flavonoïdes, les huiles essentielles et plusprécisément les courtes chaines des terpénoïdes qui sont responsables de l'odeur et la saveurcaractéristique des Lamiacées **(Naghibi *et al*., 2005).**L'aire de répartition de cettefamille est vaste avec une prépondérance dans les régions méditerranéenne, rares dans les montagnes et les régions arctiques**(Botineau, 2010).** D'autre part les trois plantes, Thym, Lavande, Romarin sont des

Lamiacées caractéristiques de la flore des garrigues. Elles sont utilisées en herboristerie, en pharmacie et parfumerie ; dans l'alimentation en tant qu'aromates. **(Dupont F, 2007).**

## III. Espèce *Rosmarinus officinalis* L.:

### III.1.Le romarin au fils de l'histoire

Le romarin a laissé de nombreuses traces dans notre histoire. Commençons par les Egyptiens qui pensaient que déposer des rameaux de romarin dans les sépultures des pharaons aidait à fortifier leur âme avant de passer dans l'autre monde**(Schneider, 2002).**De longue date, le romarin est employé pour améliorer et stimuler la mémoire.

Les étudiants grecs portaient des branches et des couronnes de romarin au moment des examens, alors que les étudiants romains massaient leurs tempes et leurs fronts avec de l'huile de romarin juste avant les épreuves **(Kennedy et Schole,2006).** Encore aujourd'hui, en Grèce, les étudiants en font brûler dans leurs chambres en cette même période **(Barnes et *al*., 2007)**.On disait aussi qu'il chassait les mauvais esprits. Les fleurs de Romarin (par la suite d'autres plantes ont été rajoutées) servirent à faire le premier alcoolat utilisé tout d'abord en tant que médicament puis par la suite comme parfum**(Chastrette,2014)**.

### III.2. Définition

Le romarin ou Romarin officinal(*Rosmarinus officinalis*L.), est un arbrisseau aromatique vivace qui appartientà la famille des Lamiacées (ou labiées), poussant à l'état sauvage sur le pourtour méditerranéen, en particulier dans les garrigues arides et rocailleuses, sur terrains calcaires**(Jean, 2008)**. Le nom « romarin » viendrait du latin « *ros marinus* » (rosée de mer) **(Auguste,1862).**ou bien du grec « *rhops myrinos* » (buisson aromatique)**(Helmut, 1996).**

### III.3. Caractéristiques

Le Romarin est un arbrisseau toujours vert à tiges droites, très rameux, dont les branches longues et minces portent de nombreuses feuilles sessiles et opposées de2, 5 cm de longueur environ, à face supérieure dure et verte, tandis que la face inférieure est laineuse, blanchâtre et glanduleuse. Les bords sont enroulés et la nervure centrale fait une forte saillie sur la face inférieure. Le Romarin porte des verticilles de fleurs mauves. Le bord supérieur de la corolle a deux lobes et le bord inférieur trois; seule la paire d'étamines antérieure se développe **(Meigs,1960).** (fig. 1)

**Figure1:***Rosmarinus officinalis* L.**(paprikaetchocolat.wordpress.com)**

### III.4.Position systématique

**Tableau I :** Position systématique de *Rosmarinus officinalis*L. **(Quezel et Santa, 1963)**

| **Règne** | **Plantes** |
|---|---|
| Embranchement | Spermaphytes |
| **Sous Embranchement** | Angiospermes |
| **Classe** | Dicotylédones |
| **Sous Classe** | Gamopétales |
| **Ordre** | Lamiales (Labiales) |
| **Famille** | Lamiacées |
| **Genre** | *Rosmarinus* |
| **Espèce** | *Rosmarinus officinalis* |

### III.5. Description botanique du romarin:

Le romarin est un arbrisseau de rocaille à l'état sauvage, le romarin, de la famille des lamiacées, peut atteindre 2 m. de hauteur, en culture. On le reconnait, aisément, toute l'année, érigé au milieu des buissons méditerranéens : ses feuilles persistantes sont enroulées sur leurs

bords. Elles sont beaucoup plus longues que larges, d'une couleur vert sombre, luisant sur leur face supérieure et à la teinte blanchâtre sur le dessous. Ses fleurs, le plus souvent d'une teinte bleu violacé (les blanches sont plus rares) s'agrègent en grappes courtes, de février à mai. Leur calice a un aspect duveteux, la corolle est bilabiée et dotée de quatre étamines, dont deux dépassent la lèvre supérieure. Le fruit du romarin, de forme globuleuse, est un tétrakène brun**(Bekkara et *al*., 2007).** (Fig 2).

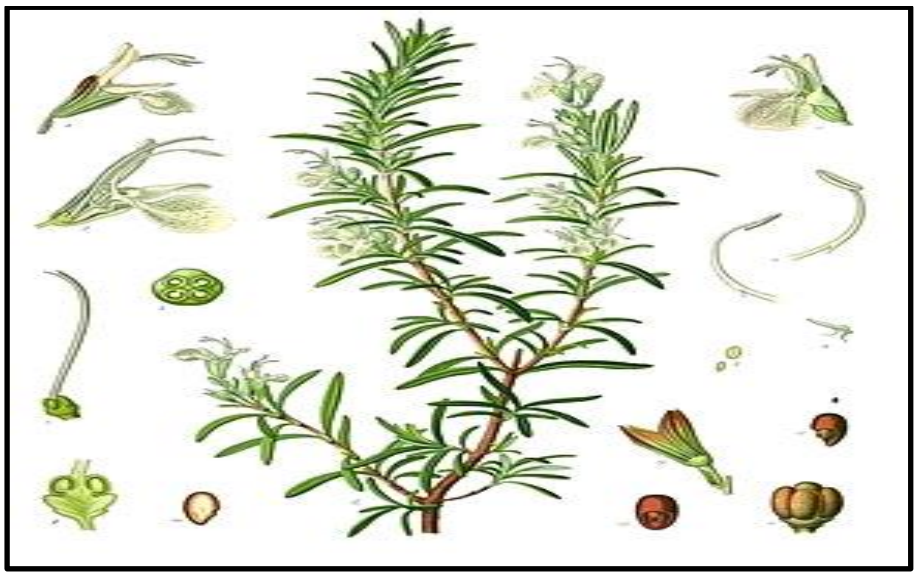


**Figure2:** Aspects morphologiques du *Rusmarinus officinalis*L.**(Sanon, 1992).**

### III.5.1. Appareil végétatif

**a- Racine:** la racine du *Rusmarinus officinalis.* Lest profond et pivotante. (Fig3).

**Figure3:**Racinede*Rusmarinus officinalis* L. **(paprikaetchocolat.wordpress.com)**

**b- Tige:** arbuste ou sous arbrisseau, rameau de 0.5 à 2 mètre cette tige est tortueuse, anguleuseet fragile. L'écorce est linéaire à cyme plus ou moins simulant des épis**(SANON,1992).**(Fig 4).

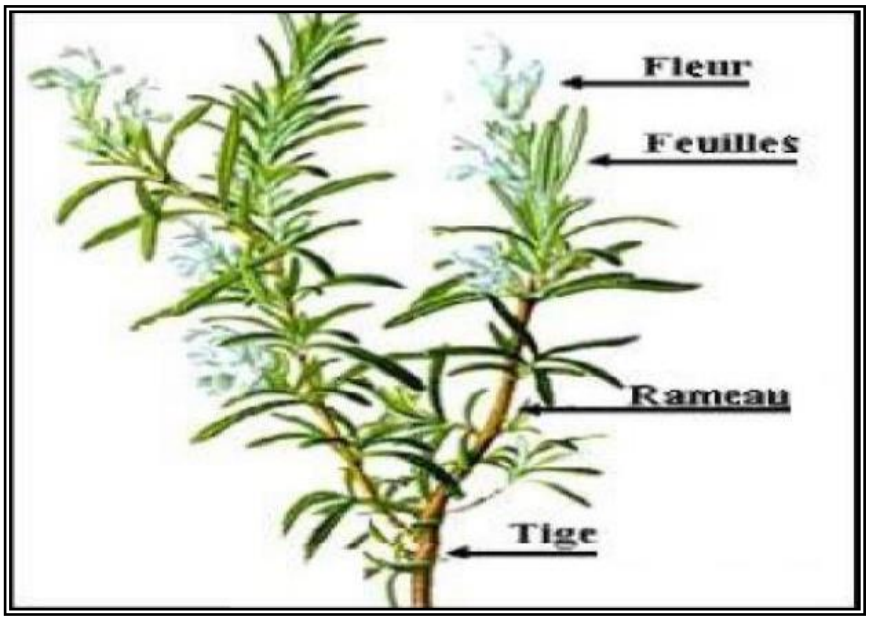



**Figure4:**Tige principale et rameau Feuillé à fleurs du romarin**(Sanon, 1992).**

**c- Feuille:** Les feuilles sessiles et opposées, sont persistantes et vivaces. Elles sont enrouléessur les bords, vertes à la face supérieure, velues et blanchâtres à la face inférieure dont elleest parcourue par une nervure médiane**(GARNIER et *al*., 1961).** Elles possèdent des poils (fig 5).

**Figure5:** Feuille de *Rosmarinus officinalis* L.**(Academic, 2000-2014)**

**III.6.Variétés de la plante étudiée:**

On dénombre plus de 150 variétés de romarin. Elles se différencient par leur taille maximale (d'une dizaine decentimètres à 2 mètres), leur tenue (vertical ou rampant), la couleur de leurs fleurs (violettes, bleues, blanches, roses)et de leur feuilles, leur rusticité.

**Tableau II :** quelquevariété de *Rusmarinus officinalis* L.:

| Variété | Nom | Caractéristiques |
|---|---|---|
| **Rosmarinus officinalis Alba ou Albus** | Romarin à fleurs Blanches | Fleurs et bourgeons blancs. |
| **Rosmarinus officinalis Arp** | Romarin "Arp" | Supporte particulièrement bien le froid (zones 6 à 10). Ses feuilles ont une odeurcitronnée**(Patricia,2010)**. |
| **Rosmarinus officinalis AthensBlue Spire** | Romarin "Athens Blue Spire" | Feuillage dense, arôme puissant**(Rush,2010)**. |
| **Rosmarinus officinalis Barbeque** | Romarin "Barbeque" | Tiges bien droites, adaptées à l'usage des tiges comme brochettes**(Rush,2010)**. |
| **Rosmarinus officinalis Bennenden Blue** | Romarin "Bennende Blue" | Grandes fleurs bleu-ciel, feuilles étroites et foncées**(Patricia,2010)**. |
| **Rosmarinus officinalis Blaulippe** | Romarin "Blaulippe" | Buisson compact, fleurs bleu tirant sur le violet. Sensible au froid. |
| **Rosmarinus officinalis Blue Lagoon** | Romarin "Blue Lagoon" | Buisson compact. Sa floraison le couvre de petites fleurs bleues. |
| **Rosmarinus officinalis Corsican Blue** | Romarin "CorsicanBlue" | Rampant. Fleurs bleu soutenu. |
| **Rosmarinus officinalis Fota Blue** | Romarin "Fota Blue" | Fleurs bleu foncé soutenu, feuillage vert foncé. |
| **Rosmarinus officinalis Gorizia** | Romarin "Gorizia" | Grandes feuilles et grandes fleurs bleues. Saveur légèrement épicée rappelant leGingembre**(Rush,2010)**. |
| **Rosmarinus officinalis Haifa** | Romarin "Haifa" | Rampant. Petit et fragile, adapté à la culture en pot en intérieur. |
| ***Rosmarinus officinalis Jackmann's Blue*** | Romarin "Jackmann'sBlue" | Fleurs bleu ciel, retombant. |

| | | |
|---|---|---|
| **Rosmarinus officinalis Miss Jessop's Upright** | Romarin "Miss Jessop's Upright" | Croissance verticale. Variété utilisée comme haie. |
| **Rosmarinus officinalis Pinkie** | Romarin "Pinkie" | Fleurs roses, feuilles courtes etternes**(Patricia,2010)**. |
| **Rosmarinus officinalis Prostratus** | Romarin "Prostratus" | Feuilles brillantes. Croit en s'étalant, adapté aux topiaires**(Rush,2010)**. |
| **Rosmarinus officinalis Roseus** | Romarin "Roseus" | Fleurs roses**(Patricia,2010)**. |
| **Rosmarinus officinalis SevernSea** | Romarin "Severn Sea" | Les branches sont retombantes. Fleurs bleues tendant vers le violet**(Patricia,2010)**. |
| **Rosmarinus officinalis Sudbury Blue** | Romarin "Sudbury Blue" | Feuilles bleu-vert, fleurs bleues**(Patricia,2010)**. |
| **Rosmarinus officinalis Tuscan Blue** | Romarin "Tuscan Blue" | Croissance rapide, peut atteindre 2 mètres dans de bonnes conditions. Fleurs bleu foncé,feuilles bleu-vert foncé et brillantes. Arôme apprécié pour la cuisine**(Patricia, 2010)**. |
| **Rosmarinus officinalis Lavandulaceus** | Romarin"Lavandulaceus" | Petite plante rampante, fleurs violettes. |

### III.7.Répartition géographique

Le romarin spontané qui pousse sur le bassin méditerranéen, et le sud-ouest de l'asie, est souvent cultivé dans les jardins comme clôture, très exigeant en lumières et en chaleur, et résistant à la sécheresse. Le romarin est une plante des coteaux arides, garrigues et lieux rocheux de la région méditerranéenne**(Boullard,2001).**

Ilest bien apparente en différente région commun dans les maquis, lesgarrigues et les forêts claires, il est sub-spontané en plusieurs endroits privilégiant un sol calcaire,de faible altitude, ensoleillé et modérément sec**(Schauenberg et Paris, 1977).**

**Figure6**: Distribution géographiques de *Rosmarinus officinalis* L. **(Mostafai, 2015).**

**III.8.Principes actifs:**

La composition chimique de la plante dans son ensemble dépend du lieu de croissance et de récolte ainsi que du moment de la récolte dans le cycle végétatif (idéal quand le végétal à le maximum d'essence)**(Staub et Bayer,1997)**.

Des études phytochimiques antérieures de cette espèce ont montré que cette plante accumule :

- **l'huile essentielle (1 à 5%)** : plus de 50 composants terpéniques **:** qui rentrent dans la composition chimique d'huile essentielle de romarin dont les constituant principaux sont :camphre (15-25%); α-pinène(19,6%) ;Bornéol et estérifié (10,0%) ;1,8 Cinéol (15-50%) Limonène (3,6%)**(Albert. Y. et *al.* 1996).**
- **acides phénoliques** : acide vanillique, acide caféique, acide rosmarinique, acide coumarique**(Ibaňez *et al*, 2003).**
- **flavonoïdes**: genkwanine, cirsimaritine **(Ibaňez et *al* ,2000; Cavero et *al*, 2005)**,ériocitrine, hesperédine, diosmine, lutéoline **(Okamura et al, 1994)**, apigénine **(Yang et *al* ,2008).**
- **Les tanins(Yang *et al* ,2008).**

**III.9.Propriétés médicinales du romarin:**

- Antiseptique, cholagogue, antispasmodique, vulnéraire et diurétique **(Koubissi, 2002).**
- Anticancéreuse : les composants du romarin inhibent les phases d'initiation et de promotion de cancérogénèse **(Offord et *al*, 1995).**
- Anti-inflammatoire : La teneur en acide rosmarinique confère au romarinun effet anti-inflammatoire**(Anton et Wichtl, 1999).**

- Antiviral : Carnosol du romarin possède une activité antivirale contre le virus du SIDA (HIV)**(Aruoma et*al*.,1996).**
- Antidiabétique : Les feuilles de *Rosmarinus officinalis L.* sont utilisées contre le diabète à raison de 500 grammes par un litre **(Ghourri et*al*., 2013).**
- C'est un hypoglycémique, il soigne les affections oculaires **(Bnouham et *al*., 2002).**
- L'utilisation d'huile de romarin dans un bain stimule la circulation dermique etaméliore l'hémodynamique pour les problèmes d'occlusion artérielle **(Rulffs, 1984)**soulagement des désordres respiratoires **(Souza et *al*.,2008).**
- Il favoriser les fonctions d'élimination rénale et digestive et dans le traitement
- Symptomatique de troubles digestifs **(Bruneton, 1993).**
- L'infusion de feuilles de romarin, calme les nerfs, surtout au moment de la ménopause **(Volak et Stodola, 1983).**

**III.10.Autre utilisation :**

- Le romarin est utilisé comme arbuste ornementale et pour les haies bien exposées à lalumière**(Delaveau, 1982).**
- Les extraits végétaux de romarin présentent un pouvoir antioxydant et peuvent être appliqués à la conservation des aliments et des huiles lipidiques**(F.piozzi,1996)**.
- L'essence de romarindans la composition de savonnerie, détergent, crème, l'eau de toilette, des poudres, du dentifrice et des bains de beauté**(Albert.Y.*et al.* 1996)**.
- Le romarin entre dans la composition de parfums surtout masculins, hespéridèsaromatiques (eaux de Cologne), boisés et fougères aromatiques**(CALABRESE et *al* 2000).**
- Le romarin entre dans la composition des vinaigres. Sa forte teneur enbornéol lui confère de puissantes propriétés antiseptiques qui fondent de lui unbactéricide de choix en conserverie**(I.T.E.I.P.M.A.I ,1991).**
- Le romarin est populaire en cuisine dans toute la région méditerranéenne et même plus aunord, les feuilles et les sommités fleuries servent à révéler de nombreux plats, des salades, desserts**(Couplan, 2009).**

**III.11.Culture de l'espèce:**

Le romarin se cultive dans un endroit ensoleillé, dans un sol calcaire et bien drainé**(Jean, 2006).**Bien que ce soit une planteaimant les climats chauds, il supporte les gelées si le sol ne conserve pas l'humidité. Idéalement, ce dernier doit avoirun pH compris entre 6,5 et 7

**(Azhar et al., 2005).**La multiplication s'effectue par semis des graines, division des pieds ou boutures. Cette dernière technique est rapide et sûre. Des tronçons de 15 cm sont enterrés à mi-hauteur en mars-avril. L'enracinement se produit dans les deux mois suivants. La mise en place définitive a lieu à l'automne ou au printemps suivant, dès que les pieds ont suffisamment de racines. L'espacement varie de 0, 75 à 1, 5 m pour les interlignes, et il est de 0, 5 cm entre les pieds d'un même rang**(Abdoulhoussen, 1990).**Les feuilles et tiges herbacées sont récoltées lorsque la fleur commence à se développer, 12 à18 mois après plantation**(Reclu, 2004)**. Les feuilles se récoltent toute l'année mais sont plus parfumées l'été. Il faut donc les cueillir à cette période**(Harding, 2011).** La récolte se fait par temps chaud et sec soit deux ou trois heures après le lever du soleil **(Gilly, 2005)**.

# Chapitre II :

# Métabolisme secondaire chez les plantes

**Introduction**

De très nombreuses plantes médicinales,tinctoriales ou aromatiques contiennent des métabolites qui sont très spécifiques et ont des teneurs parfois extrêmement élevées. L'étude biochimique de ces composés a fait l'objet d'intenses efforts, contribuant au développement de plusieurs plantes entiers de la phytochimie ayant des rapports étroits avec la pharmacie **(Gravot, 2008).**La plante est le siège d'une activité métabolique aboutissant à la synthèse des métabolites primaires et secondaires **(Hartmann, 2007).** Les effets curatifs de certaines plantes sont bien connus. Il est indispensable de connaître la composition des plantes pour comprendre comment elles agissent sur l'organisme**.**

**I. Métabolisme des végétaux supérieurs:**

Il existe deux voies de métabolisme chez les végétaux : le métabolisme primaire, et le métabolisme secondaire.

**I.1. Métabolisme primaire**

Au cours de ce que l'on appelle métabolisme primaire, les végétaux synthétisent des Molécules indispensables à leur vie, se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante, ils sont classés en quatre grandes familles. à savoir, les glucides, les lipides, les acides aminés (Protéines) et les acides nucléiques. **(Abderrazak et Joël, 2007).**

**I.2. Métabolismes secondaires**

La plante est le siège d'une intense activité métabolique aboutissant à la synthèse desprincipes actifs les plus divers **(Hartmann, 2007)**. Ce processus métabolique est lié aux conditions mêmes de vie de la plante, donc la plante puisse développer un métabolisme particulier lui permettant de synthétiser des diverses substances pour se défendre. Ces substances prennent la nomenclature des métabolites secondaires **(Kansole, 2009).**

**II. Substances naturelle viennent du métabolisme secondaire:**

Elles sont des molécules organiques complexes synthétisées par les plantes autotrophies **(Boudjouref, 2011).**À partir des métabolites primaires, sont des molécules présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'homme ou l'animal **(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**(Iserin. P, 2001).**Ils jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement, contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son

écosystème **(Peeking et *al*, 1987).** Elle caractérisés par une faible concentration dans les tissus végétaux sauf les lignines **(Newman et Cragg, 2012)**.Et n'exercent pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de la plante **(Guignard, 1996).**Sont d'une grande variété structurale. Ils sont probablement des éléments essentiels de la coévolution des plantes avec les organismes vivants, tels que parasites, pathogènes et prédateurs. Ces différentes relations ont donné lieu à une extrême diversification des composés secondaires **(Sabrina K, 2003).**

**II.1. Rappel sur quelque métabolite secondaire:**

En 1987 Plus de 8500 métabolites secondaires sont déjà connus. Les plus grands Groupes sont les alcaloïdes, les terpénoïdes, les stéroïdes et les composés phénoliques**(Peeking *et al.*, 1987).**

**II.1.1. Alcaloïdes**

Les alcaloïdes sont des molécules d'origine naturelle. On les trouve principalement chez les végétaux, mais aussi chez les animaux et chez certains micro-organismes. **(Zenk et Juenger, 2007).**Généralement, les alcaloïdes sont produits dans les tissus aucours de croissance: jeunes feuilles, jeunes racine. Chez de nombreuses plantes, elles selocalisent dans les pièces florales, les fruits ou les graines, ces substances sont trouvéesconcentrées dans les vacuoles **(Krief, 2003)**. La plupart des alcaloïdes sont dérivés des acides aminés tels que le tryptophane, l'aspartate, **(Cyril, 2001).** Leur structure chimique de base est un hétérocycle azoté sauf pour quelques substances dans lesquelles l'azote est extra cyclique (c'est le cas de la colchicine et de l'éphédrine par exemple).**(Judd W et al., 2002).**Ils agissent directement sur le système nerveux avec des effets sur la conscience et la motricité. les alcaloïdes sont amers et utilisés comme apéritifs **(Bruneton J., 1996)**.

**II.1.2. Glucosides**

Les glucosides sont des produits des métabolismes secondaires Présents dans de nombreuses plantes médicinales quiconstitués de deux parties :

-Lapremière contient un sucre, par exemple le glucose ; presque toujours inactive, elle est exercéeune influence favorable sur la solubilité et l'absorption du glucoside, et le transport vers un organe.

-La deuxième partie elle est la plus active détermine l'effet thérapeutique qui appelé aglycone (**Nicolas, 2012).**Selon **Guignard et *al.* (1985)** La nature des glycosides est très diverse en raison dumode de liaison entre la génine et les oses:

- ✓ O-glycoside: la liaison entre la fonction réductrice de l'ose et un groupement hydroxyle (alcoolique ou phénolique) de l'aglycone.
- ✓ S- glycoside: la liaison entre la fonction réductrice de l'ose et un thiol de l'aglycone.
- ✓ N-glycoside: la liaison entre la fonction réductrice de l'ose et un groupement aminé de l'aglycone.
- ✓ C-glycoside: la liaison entre la génine et l'ose se fait de carbone à carbone.

Les glucosides utilisé dans le traitement des plusieurs maladies: des hépatites, des tumeurs, de l'hypertension, des thromboses, des allergies, des affections bactériennes.**(Anderson et *al.,* 1996)**. Pour les plantes ils jouent un rôle de défense contre l'invasion des tissus par des micro-organismes suivants à la blessure, puisque de nombreux aglycones sont antiseptiques **(Balbaa et *al.*,1981).**

### II.1.3. Les terpènes et stéroïdes:

#### II.1.3.1. Les terpènes

Ils sont des hydrocarbures naturels de structure cyclique ou de chaîne ouverte, largement répandus dans le règne végétal, provenant de la voie de l'acide mevalonique**(Bhat et *al.,* 2005**). Leur particularité structurale est la présence dans leur squelette d'unité isoprénique à 5 atomes de carbone ($C_5H_8$) dérivées du 2-méthylbutadiène **(Bakkali et *al.,* 2008)**. La famille des terpènes comprend des hormones (Gibbérellines et acide abscissique), des pigments caroténoïdes (Carotène et xanthophylle), des stérols (Ergostérol, sitostérol, cholestérol), Ainsi qu'une grande partie des huiles essentielles qui confèrent aux plantes leur parfum ou leur gout **(Hopkins, 2003).**

**A/ Fonctions des terpénoïdes**

Les terpénoïdes forment une partie essentielle des systèmes de défense directs etindirects contre les herbivores et les pathogènes, les bactéries, les champignons, les insectes **(Bohlmann & Keeling, 2008).** L'émission de terpénoïdes participeraitnotamment à l'inhibition de la germination des graines **(Fischer *et al.*,1994 ; Tarayre *et al.*,1995)**

**B/ principales classes des terpénoïdes :**

Selon **Hernandez-ochoa,(2005)**. Ils sont subdivisés selon le nombre d'entités isoprènes en :

- Monoterpènes : formés de deux isoprènes (C10H16).
- Sesquiterpènes : formés de trois isoprènes (C15H24).
- Diterpènes : formés de quatre isoprènes (C20H32).
- Tétraterpènes : formés de huit isoprènes qui conduisent aux caroténoïdes.
- Polyterpènes : formés de (C5H8) n, ou, (n de 9 à 30).

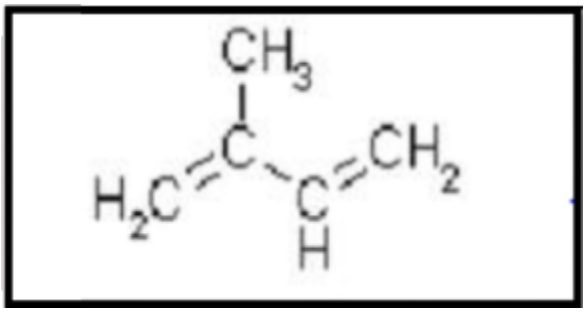



**Figure 7:** Structure de la molécule d'isoprène **(Calsamiglia et *al.*,2007).**

### II.1.3.2. Stéroïdes

Les stéroïdes ne sont pas des terpènes mais des composés de biodégradation des triterpénes, ils constituent une classe de composé abondamment présents dans la nature (règne animal et végétal). **(Bruneton, 1993)**. Ce sont des triterpénes tétracycliques, possèdent moins de 30 atomes de carbone, synthétisés à partir d'un triterpène acyclique **(Hopkins, 2003).**

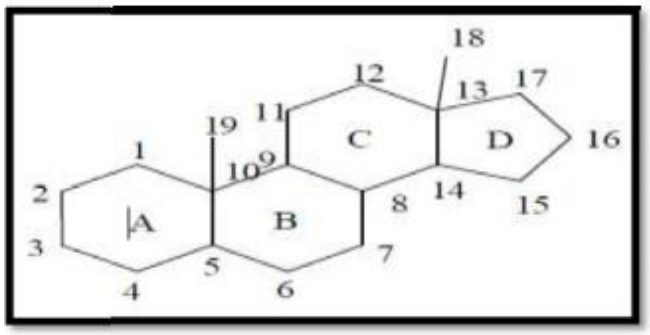



**Figure 8:** Structure de noyau stéroïde **(Ling et jones1995)**

### II.1.4. Huiles essentielles

Les huiles essentielles, essences ou huiles volatiles, sont un extrait pur et naturel provenant de plantes aromatiques **(Wegrzyn et Lamendinh, 2005)**. Elles sont le produit de la distillation d'une plante ou d'une partie de plante. Il s'agit de substances odorantes, volatiles, résinoïdes, de consistance huileuse mais sans corps gras, plus ou moins fluides, très concentrées, souvent colorées, offrant une forte concentration en principes actifs **(Solène, 2012 ; Lorrain, 2013).**

Elles peuvent être stockées dans divers structure de la plante telles que les poils sécréteurs ou les trichomes, les cellules épidermiques, les cellules sécrétrices internes, les poches sécrétrices et les canaux sécréteurs. On les retrouve dans le protoplasme sous forme d'émulsion plus ou moins stable **(Martini et Seiller, 1999)**

Ils Jouent un rôle de protection des plantes contre un excès de lumière, attirer les insectes pollinisateurs **(Dunstan et *al.*, 2013)**, soigner des maladies inflammatoires telles que lesallergies, eczéma et favorise l'expulsion des gaz intestinales **(Iserin et *al.*, 2001).**Les huiles essentielles, constituées des mélanges complexes des composés organiques,possèdent des structures et des fonctions chimiques très diverses **(Lahlou, 2004)**

### II.1.5. Les composés phénoliques:

Ou « polyphénols » regroupe un vaste ensemble de plus de 8000 structures connues différentes **(Bahorun, 1997 ; Garcia-Salas et *al*, 2010**). L'élément structural fondamental qui caractérise les polyphénols est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle ainsi que des groupes fonctionnels (Ester, Méthyle ester, Glycoside…) **(Bruneton, 1999).**Ils font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale **(Martin et Andriantsitohaina, 2002)**.

#### A/ Biosynthèse

Les polyphénols sont synthétisés par deux voies biosynthétiques :

- Celle de l'acide shikimique
- Celle issue de l'acétate **(Bruneton, 2009).**

De plus la diversité structurale des composés poly phénoliques due à cette double originebiosynthétique, est encore accrue par la possibilité d'une participation simultanée des

deuxvoies dans l'élaboration de composés d'origine mixte. **(Martin etAndriantsitohaina, 2002)**.

**B/Classification**

Les polyphénols sont répartit en plusieurs classes :

- ✓ Acide phénoliques
- ✓ Flavonoïdes
- ✓ Tanins
- ✓ Les stilbènes
- ✓ lignines et xanthones
- ✓ Coumarines
- ✓ Saponines
- ✓ Stilbènes
- ✓ Quinones**(Dacosta, 2003)**.

**C/ Effets biologiques des polyphénols**

Les composés phénoliques participent activement aux interactions de la plante avec son environnement en jouant soit le rôle des signaux de reconnaissance entre les plantes et les symbioses, ou bien lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés, donc ces composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel **(Urquiaga I. et Leighton F.,2000)**

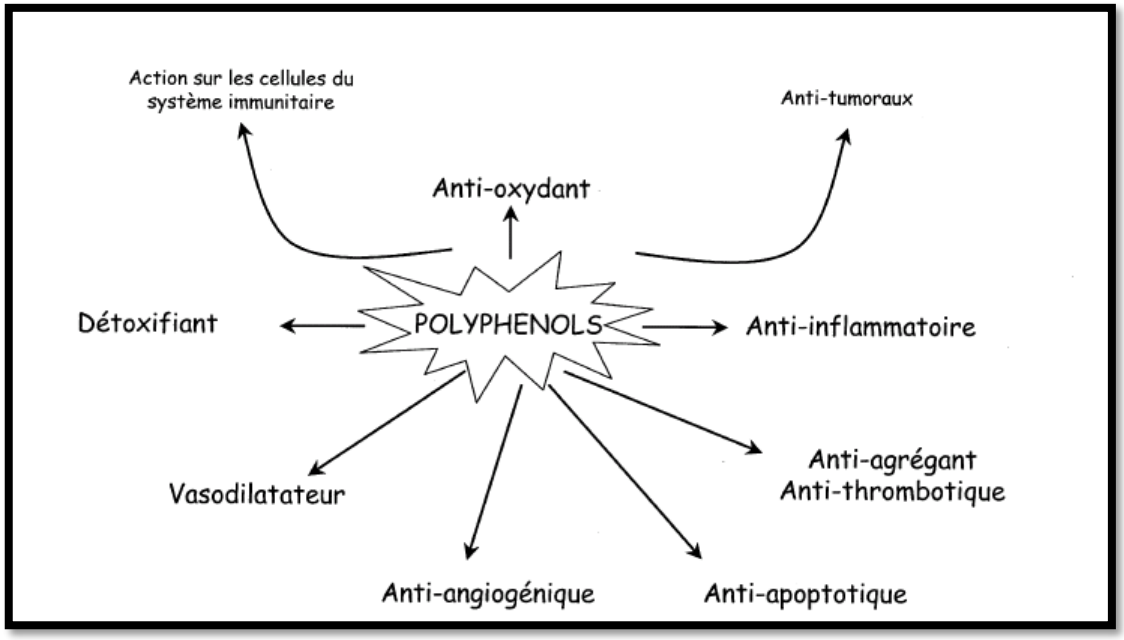



**Figure 9:** Effets biologiques des polyphénols **(Martin et Andriantsitohaina, 2002)**

### II.1.5.1. Acides phénoliques simples

Les acides phénoliques, ou acides phénols sont des petites molécules formées d'unnoyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle, leur catabolisme dérive de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique, elles peuvent être estérifiées, éthérifiées et reliées à des sucres sous forme d'hétérosides, ces phénols sont dissolubles dans les solvants polaires **(Wichtl et Anton, 2009)**, incolore et rare dans la nature **(Haslam, 1994).**

Les acides phénols ont des activités anti-inflammatoires, antiseptiques et analgésiques.Ils se divisent en deux classes: les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique (les acides hydroxycinnamiques) **(Pandey et Rizvi, 2009).**

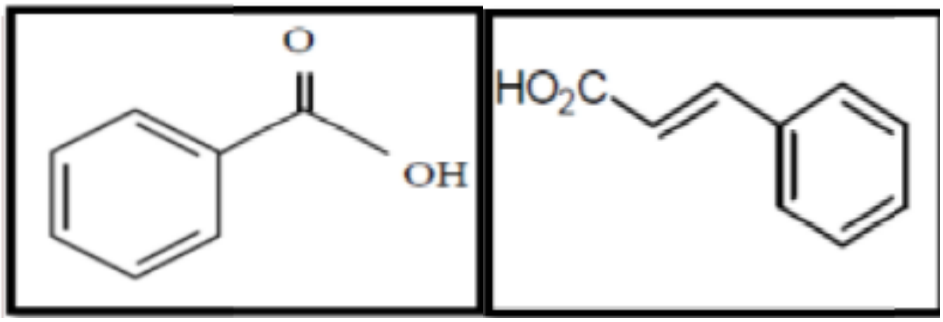



**Fig10:** A. benzoïque **(Gorham, 1977)fig11**: A. cinamique**(pawlowska et *al.*,2006)**

### II.1.5.2. Flavonoïdes

Les composésflavoniques sont des pigments végétaux très communs **(Emerenciano, 2007).** Elle présente en Quantités importantes dans une grande variété des fruits et deslégumes consommés par l'homme Les flavonoïdes sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Ils peuvent être localisés dans divers organe des plantes: racines, tige, bois, feuilles fleurs et fruits, qui jouent un rôle important dans le soutien des plantes **(Bruneton, 1999).**Ils sont synthétisés au niveau du chloroplaste et participent à la phase lumineuse de la photosynthèse comme transporteurs d'électrons, certains quittent le chloroplaste et s'accumulent dans les vacuoles **(Elicoh-Middleton, 2000).**Leur capacité antioxydante réside dans leur faculté à « terminer » les chainesRadicalaires par des mécanismes de transfert d'électrons et de protons, et par chélation des métaux de transition. Ils sont aussi capables de catalyser la peroxydation lipidique**(Schroeteret*al*.,2002; Leopoldiniet *al*., 2011).**

**A/ Caractéristiques**

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

1- La structure ortho-dihydroxy sur le cycle B (groupement catéchol) qui confère la stabilité au radical flavonoxy et participe à la délocalisation des électrons.

2- La double liaison C2-C3 en conjugaison avec la fonction 4-oxo.

3- La présence du groupe 3-OH en combinaison avec la double liaison C2-C3. **(Marfak, 2003).**

**B/ Structure chimique**

Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau flavone ou 2-phényl chromone **(Milane,2004)** à 15 atomes de carbone (C6-C3-C6), constitué de deux noyaux aromatiques, quedésignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné, que désigne la lettre C**(Dacosta, 2003)**, portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides. On signale que le noyau flavone est lui même un dérivé du noyau flavane de base**(Milane, 2004)**.

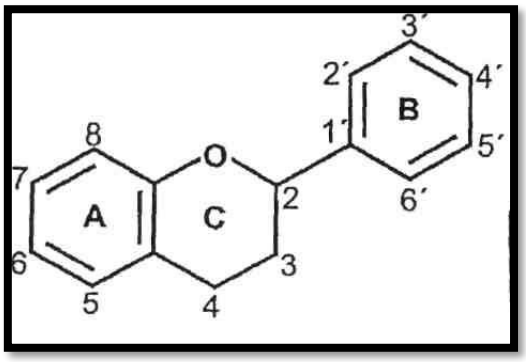


**Figure 12:** Squelette de base des flavonoïdes **(Erlund, 2004).**

**C/ Classification**

Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et de ce fait possèdent lemême élément structural de base. Ils peuvent être regroupés en différentes classes selon ledegré d'oxydation du noyau pyranique central:

-Le noyau B relié à l'hétérocycle C dans lespositions 2, 3 -Dans la position 2 : le flavonoïde est appelé Flavane.

-Dans la position 3 : le flavonoïde est désigné par le terme Isoflavane Si la position 4 de la flavane porte un groupement carbonyl la flavane est appeléFlavanone.

-Si la liaison C2-C3 dans le squelette de la flavanone est insaturée le composé estnommé Flavone.

-Si le squelette est substitué en position 3 par un groupement hydroxyle il est désignépar le nom de Flavonol.**(Bouakaz, 2006)**.

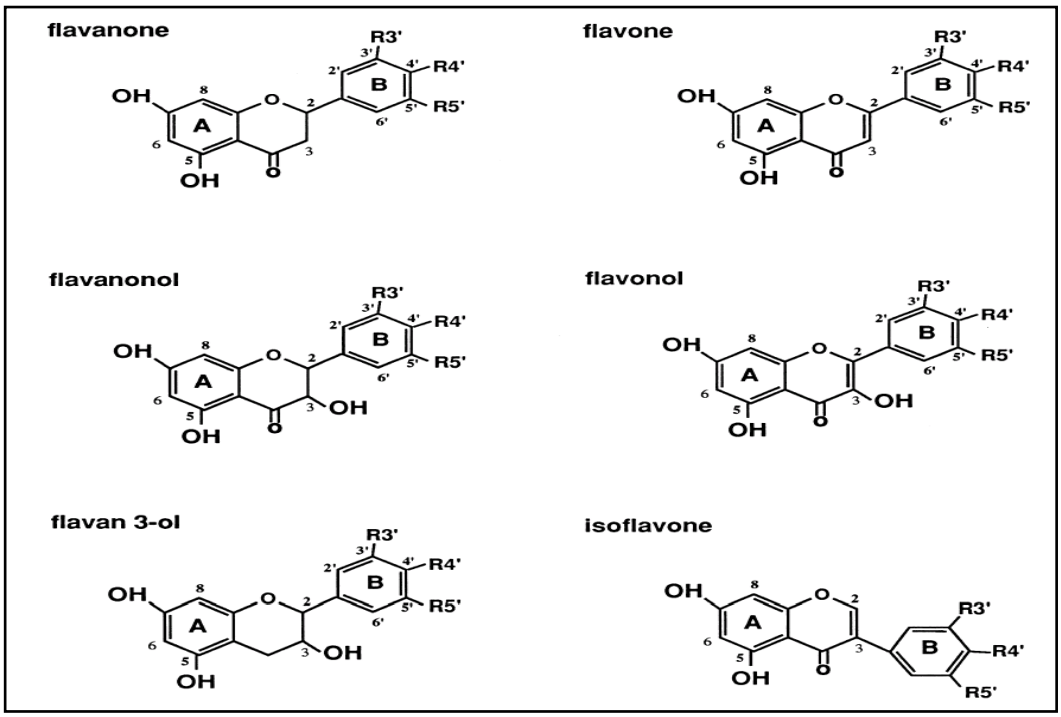



**Figure 13:**Structures des différentes classes de flavonoïdes**(Gamet; Payrastre et*al*.,1999)**.

**II.1.5.3. Les composés quinones et les tanins**

Toutes les plantes contiennent des tanins à un degré plus ou moins élevé. Ceux-ci donnent un goût amer à l'écorce ou aux feuilles et les rendent impropres à la consommation pour les insectes ou le bétail.De plus les tanins ayant la propriété de précipiter les protéines réduiraient la valeur Nutritionnelle de certains tissus végétaux. Ils affectent également la digestion des insectes ense liant aux mucoprotéines de leur cavité orale **(Collin S; Crouzet J,2011).** Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples, comme dans le cas des veines vanqueuses, pour drainer les sécrétions excessives, comme dans la diarrhée, et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure**(Khanbabae Ree, 2001)**. On distingue deux catégories:

**A/ Tanins condensés**

Les tanins condensés (procyanidines), sont des poly-phénols de masse molaire moléculaire élevée **(Wollgast et Anklam, 2000)**. Ce sont des tanins non hydrolysables mais peuvent être oxydées par les acides forts libérant des anthocyanidines **(Hopkins, 2003)** Le mélange de polymérisation oxydative de flavan-3-ol et de flavan-3,4-diol peuve étre constitué ces tanines quilié par les liaisons (C4-C8) **(Richter, 1993).**

**B/ Tanins hydrolysables**

Les tanins hydrolysables (tanins pyrogaliques), sont des hétéro polymères qui contiennent un noyau central formé d'un polyol, ces substances sont influencent sous l'action d'enzymes telle que la tannase. Ces enzymes hydrolysent facilement dans les milieux acides et alcalins, l'eau chaude pour donner des glucides et des acides phénoliques **(Leinmuller et*al.*, 1991)**. Ce sont des esters d'oses et d'acides phénols **(Harborne, 1982).**

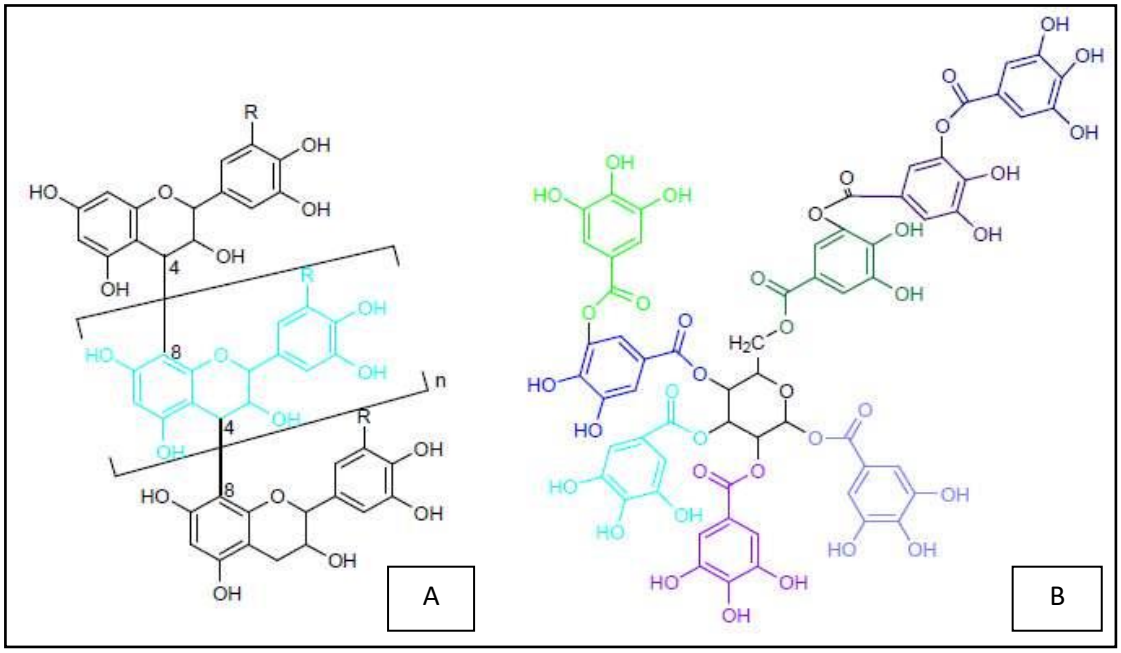



**Figure 14:** A- tanins condensés B- tanins hydrolysables

### II.1.5.4. Coumarines

Les coumarines sont des héterocycles oxygénés, elles sont largement répandues dans les végétaux **(Casley et *al.*,1993)**. Ces composées existent sous forme libre où dissolubles dans les alcools et dans les solvants organique ou les solvants chlorés, et aussi lié a des sucres qui peuvent être plus ou moins hydrolysables **(Bruneton, 1999).**

Les coumarines jouent un rôle dans le traitement des maladies et la résistance des parasites **(Vermerris et Nicholson, 2006)**. Elle présente un intérêt physiologique, inhibent de la croissance des graines en germination. Les coumarines en présences d'UV, se lient aux bases pyrimidiques de l'ADN **(Guilhou et *al.*,1997**).

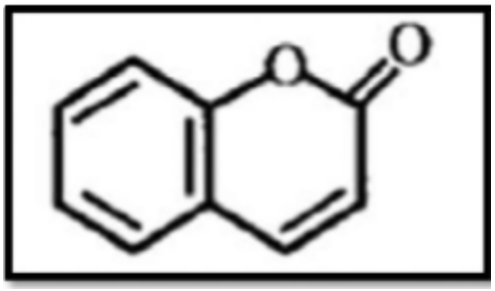


**Figure 15:** Structure d'une molécule de coumarine**(Cowan, 1999)**

### II.1.5.5. Lignines

Les lignines sont des composés importants des produits naturels dans le règne végétal et plus abondants sur terre. Elle constitue de 15 à 40% de la matière sèche des arbres et de 5 à20% des tiges des plantes annuelles **(Privas, 2013).** Leur distribution botanique est large, ils se trouvent souvent dans le bois des gymnospermes et dans les tissus soumis à lignification chez les angiospermes **(Krief, 2003).** Elles sont résultent d'association des trois unités phénoliques de base dénommées monolignols de caractère hydrophobe **(Sarni-manchado et Veronique, 2006).**Cette dernière joue un rôle important dans l'évolution des végétaux, ils forment une barrière mécanique, de goût désagréable, réduisant la digestibilité des sucres de la paroi, la rigidité des fibres et participent à la résistance des plantes aux microorganismes et herbivore **(Murry *et al,* 1982).**

### II.1.5.6. Saponosides

Sont des Principaux constituants de nombreuses plantes médicinales, Le terme saponosides est dérivé de mot savon, parce queelles produisent de la mousse Quand on les plonge dans l'eau, qui se trouve sous forme aglycones polaires liés à un ou à plusieurs sucres, Cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires en explique leur comportement moussant en solution aqueuse **(Vincken et *al.*,2007)**. Ces Dernières ont un goût amer et acre **(Hopkins, 2003)**.

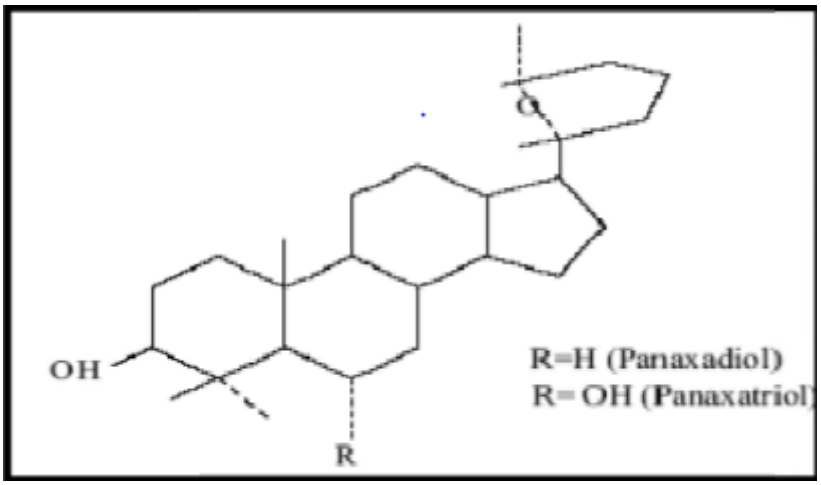



**Figure 16:** Structure des saponines **(Packer, 2001).**

# Chapitre III :

# Activité biologique

**Introduction :**

Le règne végétal constitue un lieu de recherche potentiel. En effet, les plantes supérieures développent des métabolites secondaires, qui sont pharmacologiquement actifs. Ces métabolites font souvent une partie du propre mécanisme de protection de la plante contre les phytopathogènes. Le développement de métabolites secondaires peut être une partie du programme normal de croissance de la plante (composés préformés), ou peut se produire en réponse à une attaque pathogène (composés induits).

**I. Activitéantibactérienne:**

Une plus grande attention est accordée aux méthodes d'évaluation des activités antimicrobiennes. Le choix de la méthode peut être basé sur de nombreux facteurs comme l'aspect pratique, la flexibilité, l'automatisation, le cout et la reproductibilité. Plusieurs essais biologiques tels que diffusion en disque, dilution en bouillon et dilution en gélose sont bien connus et communément utilisés ; il n'y a pas de méthode standardisée pour exprimer les résultats de l'activité antibactérienne, certains auteurs utilisent le diamètre d'inhibition et / ou la concentration minimale d'extrait qui inhibe la croissance des bactéries (**Klančnik, 2010).**

**I.1. Caractères biologiques:**

**A/ *Escherichia coli* :**

Escherichia coli correspond à des bacilles à coloration de Gram négatif, appartenant à la famille des Enterobacteriaceae, et au genre Escherichia **(Eric, 2012).** De type anaérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à 6µm, alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5µm **(Steven et *al.*, 2004).** La plupart de cette bactérie se trouve dans l'intestin des êtreshumains**(Gerard et al., 2011).** Certaines souches sont virulentes, capables de déclencher spécifiquement chez l'homme ou certaines espèces animales des infections spontanées des voies digestives ou urinaires ou bien encoredes méningites néo-natales **(Berche et *al.*, 1988).**

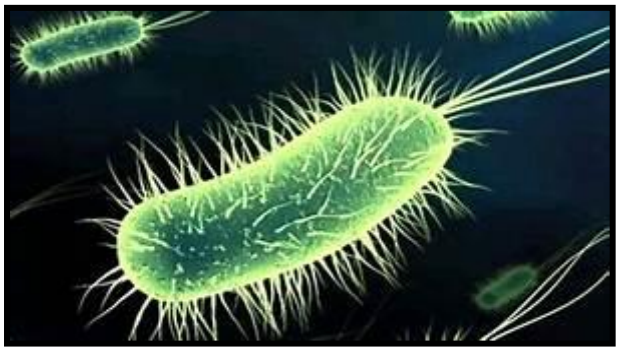


**Figure 17:** Aspect morphologique *d'Escherichia. Coli***(kaper, 2004)**

**B/ *Pseudomonas aeruginosa***

Les espèces P.aeruginosa sont des bacilles à Gram négatif, ces bactéries finessont de 1.5 à 3 µm de long et 0.5 à 0.8 µm de large. Elles sont mobiles grâce à une ciliature de type polaire monotriche, ce type de bactéries possède un aspect de vol moucheron. P.aeruginosa ne forme ni des spores ni sphéroplastes. Elle est responsable de 10 % de l'ensemble des infections nosocomiales, occupant le 3ème rang après *E.coli* et S.aureus, mais le 1èr rang pour les 56 infections pulmonaires basses et le 3ème rang pour les infections urinaires **(Richard et Kiredjian, 1995)**

**Figure 18:** Aspect morphologique de***Pseudomonas aeruginosa*** **(kaper, 2004)**

**C/*Staphylococcus aureus***

Les espèces S.aureus sont des cocci à Gram positif, de forme sphérique, avec un diamètre de 0.8 à 1 µm. Elles sont regroupées en diplocoques ou en petits amas (grappe deraisin). Ce type de bactéries est immobile, asporulé, habituellement sans capsule. De nombreuses souches de S.aureus produisent un pigment jaune doré (Berche et al., 1988). S. aureus se développe dans certains aliments dans lesquels la pression osmotique est élevée ou bien la teneur eau faible.Cette bactérie est la cause de méningite, ostéomyélite et diarrhée **(Steven et al., 2004).**

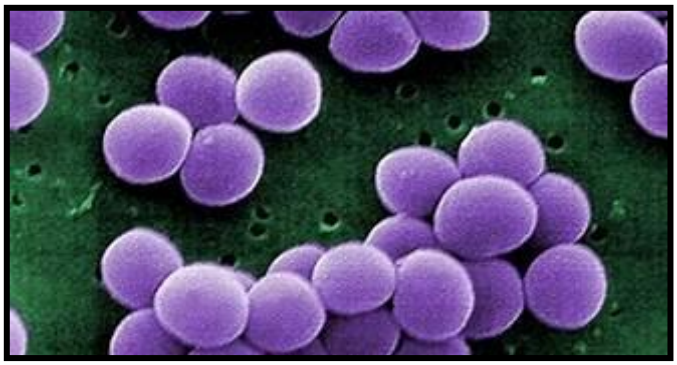


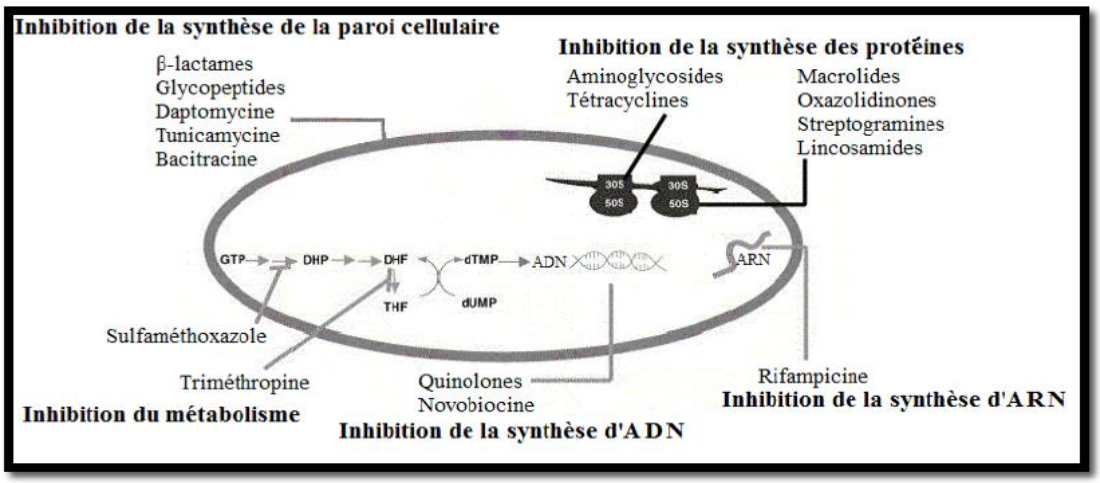
**Figure 19:** Aspect morphologique de***Staphylococcus aureus*** **(kaper, 2004)**

## I.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. 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 (**Figure 18**). **(Minor et Veron 1989).**




Avec DHP : dihydroptéroate ; DHF : dihydrofolate ; THF : tétrahydrofolat

**Figure 20:** Mode d'action des antibiotiques **(El amriet*al.*, 2014)**

### I.3. Résistance bactérienne aux antibiotiques

Les bactéries ont développé différents mécanismes afin de neutraliser l'action des agents antibactériens **(Guardabassi et Courvalin, 2006)**. 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 suractivation de l'efflux bactérien, l'inactivation des antibiotiques par dégradation ou modification enzymatique et l'altération de leurs cibles cellulaires **(Levy et Marshall, 2004)**.

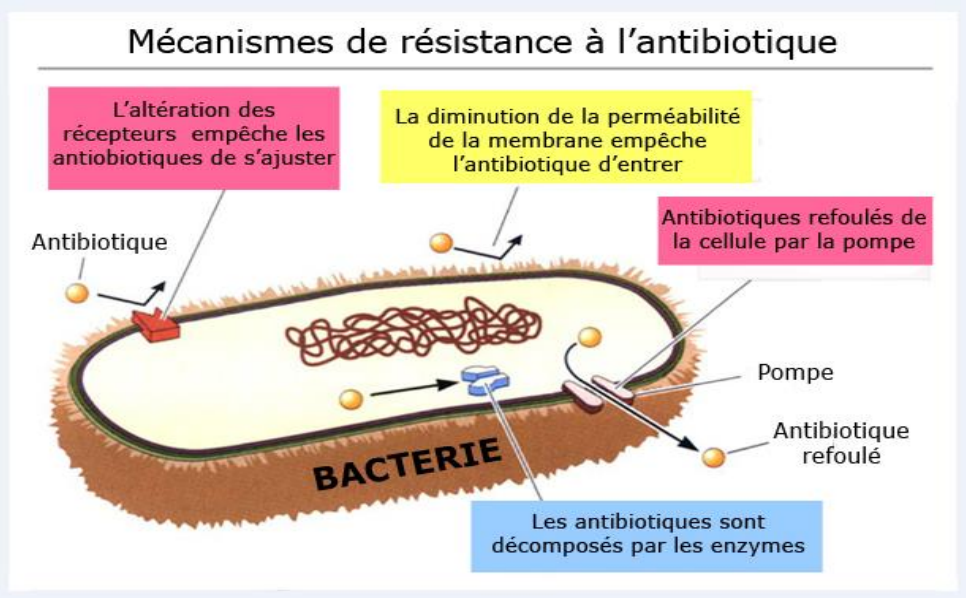



**Figure 21:** La résistance bactérienne aux antibiotiques **(Levy et Marshall, 2004)**.

### I.4. Activités antimicrobiennes des polyphénols

Les composés phénoliques jouent un rôle important dans la résistance aux maladies, protection contre les ravageurs et la diffusion d'espèces bactériennes. Ces substances ont une action pharmacologique remarquable et une faible toxicité **(Silva et *al*., 2006).**Le mécanisme d'action des polyphénols sur ces agents pathogènes n'est pas bien connu, les études exploitées par **Domineco et *al* (2005)** ont mené à conclure que l'effet antimicrobien des composés phénoliques est dû partiellement à une perturbation des fractions lipidiques de la membrane plasmique des microorganismes, qui en résulte une altération de la perméabilité de la membrane et la perte de ses organites intracellulaires.

En plus, les composés phénoliques sont doués d'activités antimicrobiennes importantes et diverses, probablement du à leurs diversités structurales **(Domineco et *al*., 2005)**. Les sites et le

nombre des groupes hydroxyles sur les groupes phénoliques sont supposés être reliés à leur relative toxicité envers les microorganismes, avec l'évidence que le taux d'hydroxylation est directement proportionnel à la toxicité **(Cowan, 1999)**. Il a été aussi rapporté que plus les composés phénoliques sont oxydés et plus ils sont inhibiteurs des microorganismes **(Scalbert, 1991).**De même, Les caractéristiques physicochimiques des composés poly phénoliques (la solubilité dans l'eau et la lipophilie) peuvent influencer cet effet antibactérien.

## II. Activité anticoagulante:

### II.1. Coagulation

La coagulation conduit à la formation d'un caillot sanguin, appelé thrombus, grâce à une cascade de réactions enzymatiques entraînant l'activation en chaîne des facteurs plasmatiques de la coagulation, circulant sous forme de précurseurs inactifs (zymogènes) **(Ajjan et Grant, 2006).** Ces facteurs sont des protéases soumises à des activations et à des inhibitions. L'étape finale est la transformation du fibrinogène soluble en filaments de fibrine insolubles qui capturent alors les cellules circulantes et donnent naissance à un thrombus**(Haertter et*al.*, 2010).**

### II.2. Facteur de la coagulation

Les facteurs de la coagulation sont désignés par des numéros allant de I à XIII **(Tableau0)** .A l'exception du facteur XIII qui intervient dans la dernière étape de la coagulation, les autres facteurs interviennent dans l'ordre inverse de leur numérotation**(Fressinaude et Meyer, 1994).**

**Tableau III:** Facteurs de la coagulation plasmatique **(Boisseau, 1996).**

| N° de facteurs | Nom de facteurs | Rôle | Lieu de synthèse |
|---|---|---|---|
| I | Fibrinogène | Substrat | Foie |
| II | Prothrombine | Zymogène | Foie |
| III | Facteur tissulaire | Cofacteur | Sous-Endothélium Cellules sanguines |
| V | Proéaccélérine | Cofacteur | Foie |
| VII | Proconvertine | Zymogène | Foie |
| VIII | Facteur antihémophilique A | Cofacteur | Foie |
| IX | Facteur antihémophilique B | Zymogène | Foie |
| X | Facteur STUART | Zymogène | Foie |
| XI | Facteur de Rosenthal | Zymogène | Foie |
| XII | Facteur de Hageman | Zymogène | Foie |

**II.3. Voies de coagulation:**

**II.3.1. Voie endogène**

Dans cette voie de coagulation tous les éléments nécessaires de la coagulation sont présents dans le plasma sans apport extérieur. Cette voie est déclenchée par l'activation du facteur XII par leur contact aux structures électronégatives de la matrice sous-endothéliale (collagène, sulfatides, glycosaminoglycanes) **(Vogler et Siedlecki, 2009).**

**II.3.2. Voie exogène**

La voie exogène est la voie la plus simple et la plus rapide que la voie endogène, elle fait intervenir un nombre limité de facteurs **(Caen et *al.*, 1975).**Cette voie est activée par un facteur non plasmatique qui est le facteur tissulaire, une glycoprotéine membranaire exprimée sur la surface des cellules endothéliales et les cellules de la matrice sou-endothéliale.

Lors d'une brèche vasculaire, le facteur tissulaire devient en contact avec le plasma ce qui permet l'interaction avec le facteur VII (pro-convertine) pour former un complexe enzymatique réactif (Facteur tissulaire-FVII). Ce complexe est responsable de l'activation de facteur X et aussi de facteur IX et par conséquence de prothrombine en thrombine **(Colvin, 2004).**

La thrombine formée par les deux voies catalyse la conversion de fibrinogène en monomères de fibrine qui s'associent les unes aux autres grâce à des liaisons hydrogène pour former un réseau fibrineux instable, où le facteur XIII a (le facteur stabilisateur de fibrine) préalablement activé par la thrombine intervient pour la solidification du caillot fibrineux par l'établissement de liaisons covalentes entre les différentes molécules de fibrine **(Ajjan et Grant, 2006)**.

**II.4. Anticoagulants:**

Les anticoagulants représentent le traitement principal de la maladie veineuse thromboembolique. De nomnjbreux anticoagulants agissants à différents niveaux de la cascade de la coagulation sont utilisés et ils sont regroupés en trois classes, deux classes des anticoagulants classiques (les héparines et les anti vitamines K) et la classe des nouveaux anticoagulants **(Demange et *al.*, 1999).**

### II.4.1. Héparines

L'héparine est un polysaccharide présent dans divers tissus, notamment le poumon et l'intestin. Il existe deux catégories des héparines utilisables et administrées par voie intraveineuse ou sous cutanée, l'héparine non fractionnée ou standard (HNF) et les héparines de bas poids moléculaire (HBMP) **(Xavier, 2013).**

L'héparine standard est composée d'un mélange hétérogène de chaînes polysaccharidiques sulfatées de structures et de taille différentes, alors que les héparines de bas poids moléculaire obtenues par fragmentation des chaînes polysaccharidiques de l'héparine standard. L'HNF et les HBPM forment un complexe avec l'anticoagulant physiologique l'antithrombine III potentialisant son effet sur l'inactivation de divers facteurs de coagulation **(Batty et Smith., 2010).**

### II.4.2. Anti-vitamines K

La vitamine K est un élément nécessaire dans la synthèse au niveau du foie de quatre facteurs de la coagulation, la prothrombine II, la proconvertine VII, le facteur antihémophilique B (le facteur IX) et le facteur stuart X **(Vidal, 2009).**

Les anti-vitamines K exercent leurs effets anticoagulants en inhibent le recyclage de la vitamine K, ce qui conduit à la perte de l'activité enzymatique des enzymes vitamine K dépendants et par conséquence le ralentissent de la vitesse de la coagulation **(Batty et Smith, 2010 ; Hirsh et *al*., 2001).**

### II.4.3. Nouveaux anticoagulants

Une nouvelle classe d'anticoagulants oraux, appelée anticoagulants oraux directs ou nouveaux anticoagulants oraux (NACO) est disponible depuis 2009. Elle comprend actuellement 3 molécules : apixaban, rivaroxaban et dabigatran. Ces nouveaux anticoagulants font l'objet d'un suivi renforcé. En effet, à la différence des anti-vitamines K, il n'existe pas de test de routine pour surveiller le risque hémorragique lié à l'utilisation de ces nouveaux anticoagulants oraux **(Girardel et Samama, 2006).**

# Chapitre I :

# Matériel et méthodes

## I. Matériel et méthode:

### I.1. Matériel végétal:

#### I.1.1. Collecte des échantillons

La récolte de matériel végétal *(rusmarinus officinalis* L.) a été effectuée manuellement au mois defévrier 2019de site Youkousde la région de Hammamet, daïra de Bir M'Kadem, wilaya de Tébessa,La dite région appartient aux domaines des hautes plaines de l'Est algérien aux confins algéro-tunisien plus précisément sur le piémont des Nemamcha avec une superficie de 375 $Km^2$. Caractérisée par un climat semi-aride. Son altitude est de 854 m **(Benarfa, 2005).** On a utilisé les parties de la plante suivant(tiges, feuilles, racines).

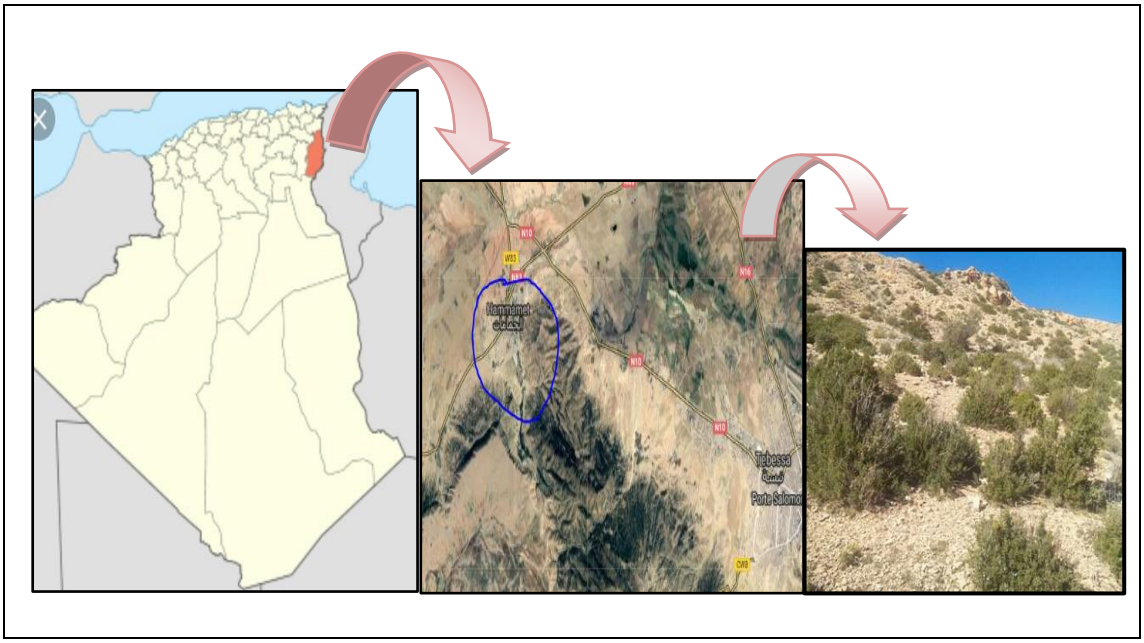


**Figure 22:**Localisation du site de prélèvement

#### I.1.2. Séchage

Les partiesrécoltées sont débarrassées des impuretés récoltées sont séchées durant 15 jours à l'abri du soleil, et déposéesDans un endroit sec, ventilé et ombragé.

#### I.1.3. Broyage

Les parties de plante ont été broyées à l'aide d'un broyeur pour obtenir une poudre.Cette dernière a été conservée dans un flacon en verre, fermés hermétiquement et stockésjusqu'à l'utilisation.(Fig 23).

**Figure 23:** broyage du *rusmarinus officinalis*L.

### I.2. Matérielde laboratoire

Le matériel de laboratoire et produits utilisé au cours de notre travail sont mentionné aux annexes I et II.

## II. Screening phytochimique

### II.1. Principe

Le screening phytochimique est un ensemble des méthodes et techniques d'analyse dessubstances organiques naturelles de la plante. L'examen phytochimique est utiliséessentiellement afin de détecter les différentes classes de composés chimiques existantes dans la plante étudiées et de réaliser une étudecomparative des principaux constituants de *rusmarinus officinalis*L.

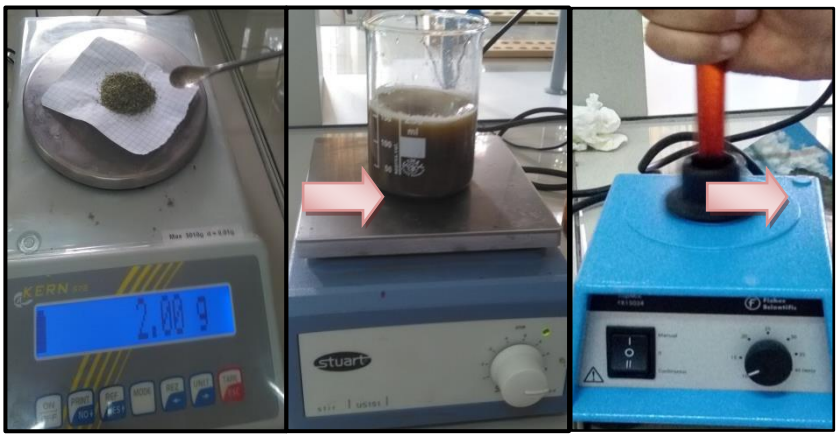
### II.2. Tests de screening phytochimique

Les tests de screening phytochimique de notre travail ont été réalisés au sein du laboratoire du Centre Universitaire Abd elhafide Boussouf Mila.

#### II.2.1. Test des saponosides

Leur détection est réalisée par prendre 2g de chaque partie d'organe du plante étudier séparément (tige, feuille, racine) et bouillir avec 80ml d'eaux distillé jusqu'à 100°C dans l'agitateur électrique durant 15min, puis laisser la solution jusqu'au refroidissement pour la

filtration. Elle dépose dans 3 type à essai et comparé avec un témoin qui contient l'extrait. Agiter chaque tube sous agitation vigoureuse pendant1min et reposer (30min). La formation d'une mousse stable persistant pendant 15 min, indique la présence des saponosides, **(Benzahi, 2001; Chaouch, 2001)**(Fig 24).

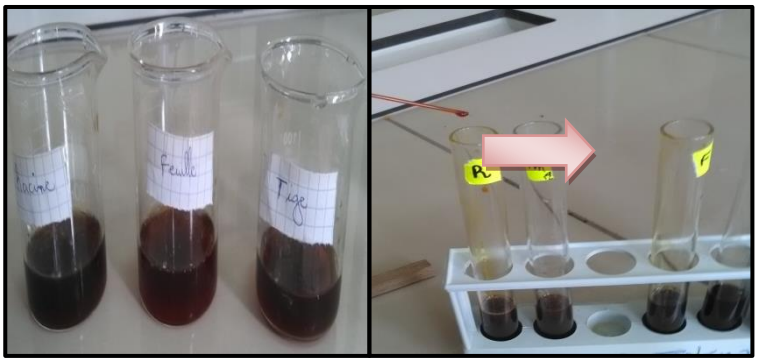



2g de poudre bouillir avec l'eau distillé agitation de filtrat

**Figure 24:** testedes saponosides

**II.2.2. Test des tanins :**

Le test consiste à macéré 10 g de la poudre avec 80 ml d'alcool éthylique (50%) pendant quelques minutes, après on agite le filtrat obtenu et ajoute ensuite quelques gouttes de $FeCl_3$ à 1% au milieu. L'apparition d'une couleur verte preuve la présence des tanins **(Kalla, 2012).** (Fig 25).



Macération Adition de $FeCL_3$

**Figure 25:** Test des tanins

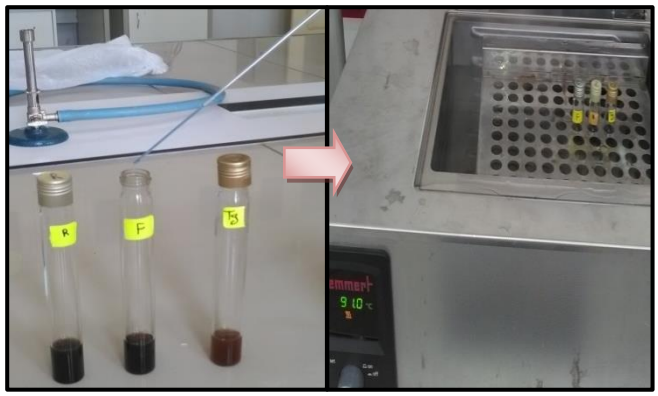
### II.2.3. Test des alcaloïdes :

Le test est réalisé par des réactions de précipitation avec le réactif de Wagner. 20 ml de l'extrait (après macération et filtration du broya). A été ajouté avec 5 ml d'acide chlorhydrique HCl (10%), puis chauffer dans le bain marie pour l'évaporation. Le résidu est repris de l'éther di éthylique avec 5 ml de HCl (2%), est trait par quelques gouttes de réactif de Wagner afin d'obtenir un précipité brun indiquant la présence des alcaloïdes **(Memelinketal., 2001).** (Fig 26).

**Figure 26:** Test des alcaloïdes

### II.2.4. Teste des glucosides

1g de poudre de chaque partie séparément est traité avec 2 ml d'eau distillé, avec l'ajout de 20 gouttes de la liqueur de Fehling suivi de 2 min de chauffage au bain marie à 70°C. Un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge brique**(Tresse et Evans, 1987)** (Fig 27).



20 goutes de liqueur de Fehling chauffage au bin marie

**Figure 27:**Teste des glucosides

### II.2.5. Test des stéroïdes et triterpène

La présence des stérols et triterpène est mis en évidence à l'aide de $H_2SO_4$ concentré. Un extrait est tout d'abord réalisé à partir d'une macération pendant 24 heures de 5g de poudre de chaque organe étudiédansl'éthanol 70%. Après une nuit entière l'extrait est filtrer et évaporer dans rotavapeur, le résidu obtenu soluble avec 20ml de chloroforme anhydre et mélangée avec 1ml d'acide acétique anhydride, et suivie par 1ml d'acide sulfurique concentré sur la paroi de type. La formation d'un anneau rouge violet à la zone de contact des deux couches indique la présence des stérols et triterpène**(Harborne, 1973)**

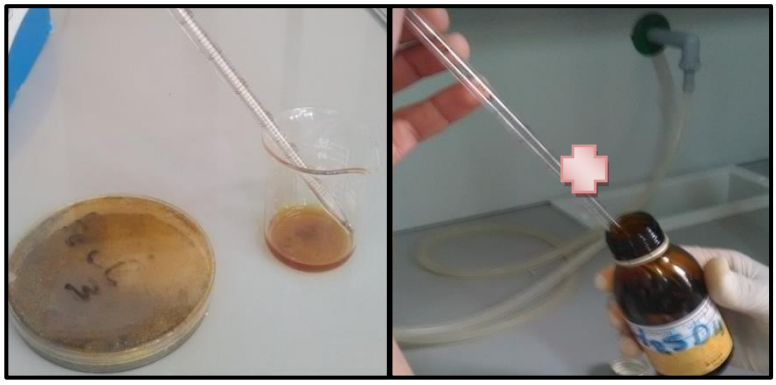
### II.2.6. Test des flavonoïdes

Macérer 5g de poudre de chaque partie d'organe de la plante étudier séparément (tige, feuille, racine), dans 150ml de solution d'acide hydrochlorique HCl(1%), puis filtré. Le filtra résulte a ététesté par le Teste d'hydroxyde de potassium (KOH). L'apparition de couleur jaune claire indique la présence des flavonoïdes **(Tadros, 1979).**

### II.2.7. Test des cardinolides

Leur détection est réalisée par Prendre 1g de poudre végétale de chaque organeétudier séparément, et macérer dans 20ml d'eau distillé.Prélever 10ml de filtrat et mixe avec 10ml d'un mélange de chloroforme et l'éthanol(5ml /5ml), la couche organique évaporé jusque à la sécheresse et le sédiment se dissout dans 3ml d'acide acétique glaciel, puis ajouter quelque gouttes de chlorure de fer et suivre directement par 1ml d'acide sulfurique concentré ($H_2SO_4$) sur la paroi du tube. L'apparition de couleur vert bleuâtre dans la couche acidique indique la présence de cardinolides dans les diffèrent organes **(Tadros, 1979)**. (Fig 28).

a. Maceration b. Chloroforme+ethanol c. Evaporation



f.Acide sulfurique d. Chlorure de fer

**Figure 28:** teste des cardinolides

### II.2.8. Test des polyphénols

La caractérisation des polyphénols est basée sur une réaction au chlorure ferrique ($FeCl_3$). A 2 ml d'extrait une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2% est ajoutée. L'apparition d'une coloration bleu noirâtre ou verte plus ou moins foncée fut le signe de la présence des polyphénols **(Békroet *al*.,2007).**

### II.2.9. Test des huiles essentielles

Peser environ 5g de poudre de chaque parties de la plante séparément et met dans un flacon, puis ajouter 1000ml d'eau distillée, bouiller lentement dans l'appareille de distillation durant quatre à cinq heures. L'observation des huiles essentielles dans l'extrait distillée indique leur présence **(TEP, 1963).**(Fig 29).

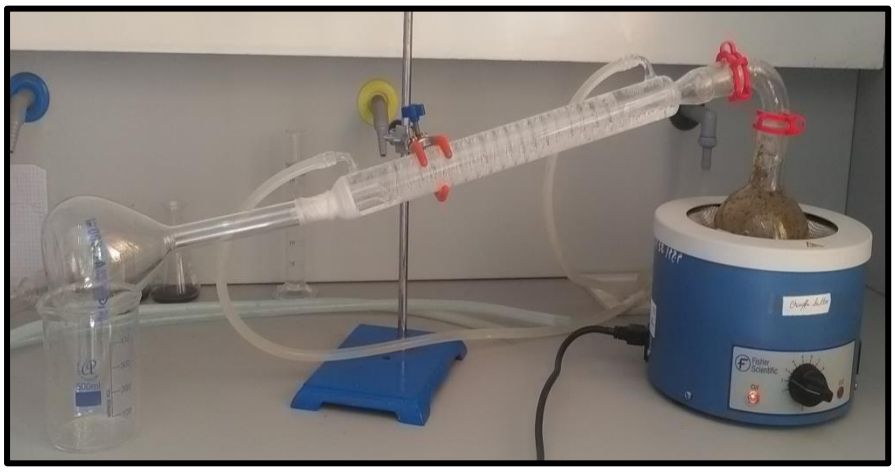


**Figure 29:**Test des huiles essentielles par l'appareille de distillation

## III. Extraction des composés phénoliques

### III.1. Principe

Les extraits du *rosmarinus officinalis* L. sont obtenus par la méthode d'extraction solide-liquide appeler La macération. Elle consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant sans ou avec agitation, pour récupérer le maximum de composés naturels **(Leybros et Fremeaux, 1990).**

### III.2. Mode opération

La méthode de l'extraction des composés phénoliques se fait par macération de 50gde poudre des feuilles de plante dans 200ml d'éthanol (70%) ou d'eau distillée, durant 24h. Les mélanges sont filtrés sur un papier filtre, puis évaporé dans l'étuve à 37°C jusqu'à l'obtention un

10ml. Le résidu de filtrat d'éthanol est macéré dans l'éthanol et le résidu de filtrat d'eau distillée est macéré dans l'eau distillée avec les mêmes étapes précédant (fig. 30).

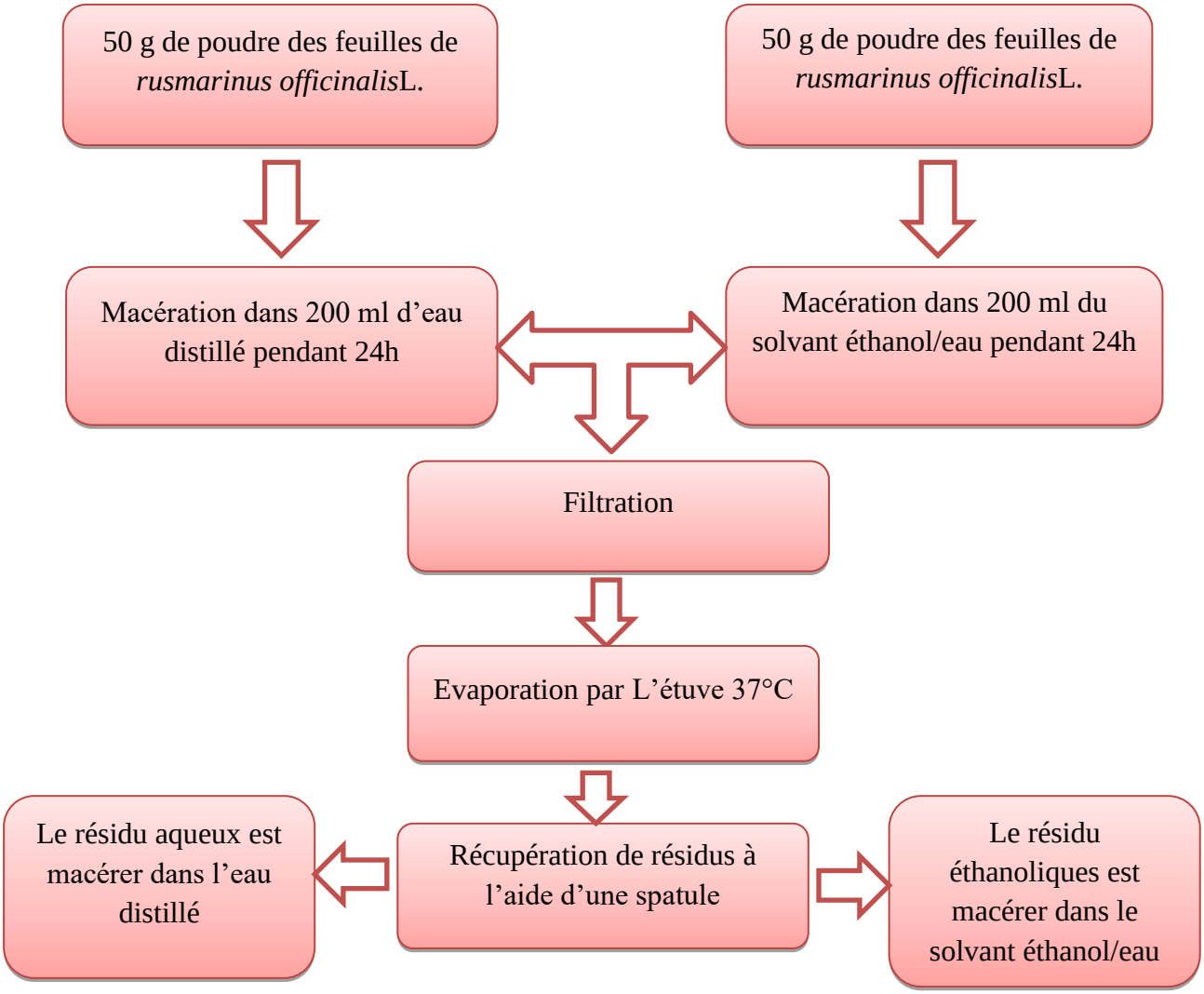



**Figure30:** Protocol d'extraction des compose phénolique**(Chaabna, 2014).**

### III.3. Calcul le rendement

Le rendement d'extraction de chaque extrait est calculé par la formule suivant**:**

**Taux d'extraction (%) = (Ps/ Pi) * 100**

**Ps :** Poids sec de l'extrait (g).

**Pi** : Poids initial de la plante (g).

## IV. Activités biologiques:

### IV.1. Activité antibactérienne:

#### IV.1.1. Principe

L'activité antibactérienne est évaluée par la méthode d'aromatogramme qui permet de déterminer la sensibilité des différentes espèces bactériennes vis à vis des extraits aqueux et éthanoliques de la plante *rusmarinus officinalis*L. Elle consiste à placée des disques en papier de whatman de 6 mm de diamètre sur un milieu gélosé ensemencée avec une suspension de différentes souches bactériennestestées.Après incubation, les colonies se développent à la surface de la gélose laissant des zones vierges autour des puits appelées zones d'inhibitions. Le diamètre de ces derniers est proportionnel à l'activité bactériostatique de l'extrait sur la souche testée. Plus il est grand, plus la souche est dite sensible. Cette activité peut s'exprimer directement en indiquant le diamètre de la zone d'inhibition en millimètre**. (Hayes et Markovic, 2002).**

#### IV.2.2. Matériel bactériologique et milieux:

#### IV.2.2.1. Origine des souches bactériennes

Dans notre travail l'étude de l'activité antibactérienne de l'extraitéthanoliques et aqueux de la plante *rosmarinus officinalis*L. vis à vis des différentes souches bactérienne référencier, deux a gram$^{(-)}$: *Escherichia coli*ATCC 25922et *Pseudomonas aeruginosa*ATCC *27853*et une de gram$^{(+)}$ : *Staphylococcus aureus*ATCC 25923, cette activité a été réalisée dans le laboratoire pédagogique du centre universitaire de Mila**.**

#### IV.2.2.2. Préparation de milieu de culture

La culture des bactéries a nécessité l'utilisation des milieux suivants :

- La Gélose M-H (Mueller-Hinton) qui est un milieu non sélectif pour l'étude de la sensibilité ou la résistance des germes pathogènes.
- Le bouillon nutritif (BN): pour l'isolement et l'entretien des souches bactériennes

**A-Gélose Muller-Hinton**

Dissoudre 38g de poudre de gélose de MH dans 1000 ml d'eau distillée. Puis bouiller jusqu'à résolution complète (fig 31).

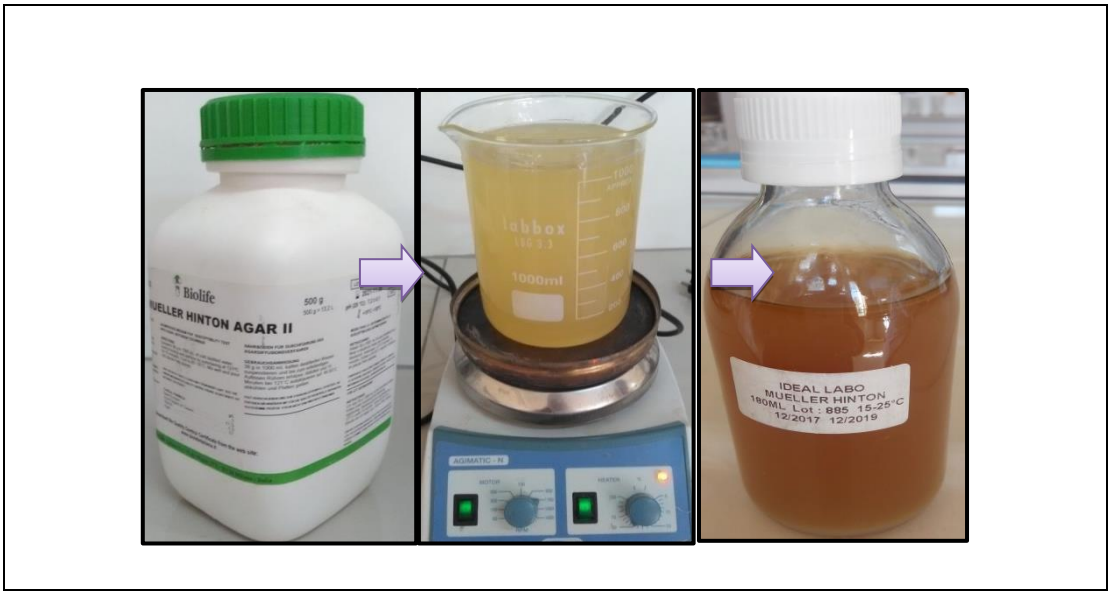



**Figure 31**: préparation de milieu Gélose Muller-Hinton

**B- Bouillon nutritif (BN)**

Dissoudre 2.8g de poudre de BN dans 100 ml d'eau distillée Puis bouiller jusqu'à dissolution complète. (fig 32).

**Figure 32:** preparation de Bouillon nutritif (BN)

**IV.2.2.3. Préparation des disques**

On a coupé le papier de whatman N°03 en disque de diamètre doivent posséder un contour régulier pour donner une zone d'inhibition que l'on peut mesurer facilement. Ces disque sont met dans des tubes à essai et stérilisés dans un autoclave a 120 pendant 20 minute

### IV.2.2.4. Stérilisation du matériel

Toutes le matériel utilisé lors la activité antibactérienne L'eau physiologique, les disques en papier Wattman, bouillon nutritif (BN), l'eau distillée, les pinces et les tubes à essai dans un papier aluminium, sont été stérilisés à l'autoclave à 120 C pendant 20 minute (annexes I).

### IV.2.2.5. Préparation des dilutions des extraits

Les extraits bruts de *rosmarinus officinalis* L. ont été dilués par les mêmes solvants utilisés pendant la macération (les extraits aqueux par eau distillée, les extraits éthanoliques par éthanol). On prépare 4 tubes en verre stérilespour préparer les différentes concentrations avec quatre dilutions successives (Sm, 1/2,1/4,1/8). (fig 33) Le premier contient la solution mère le deuxième contient 2ml de l'extraitavec 2ml d'eau distillée où éthanol. On ajoute dans le troisième tube (1/4) 2ml d'eau distillée où éthanol et 2ml de l'extrait du deuxième tube (1/2) On répète le procédé jusqu'ont terminé (fig 33).

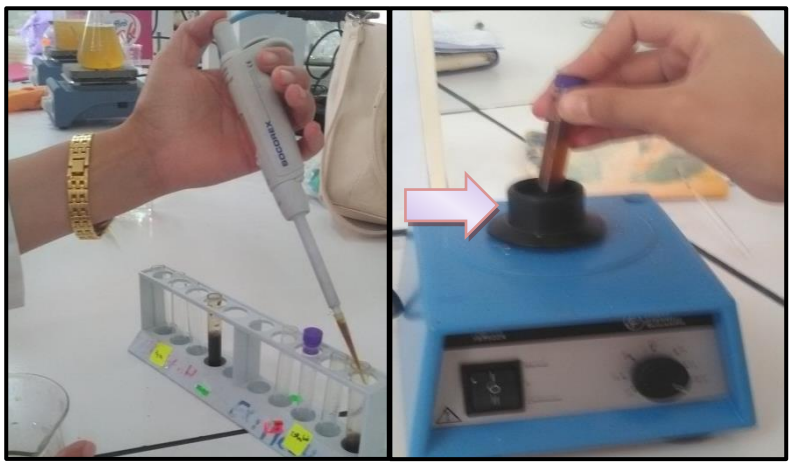


**Figure 33 :** préparation des extraits

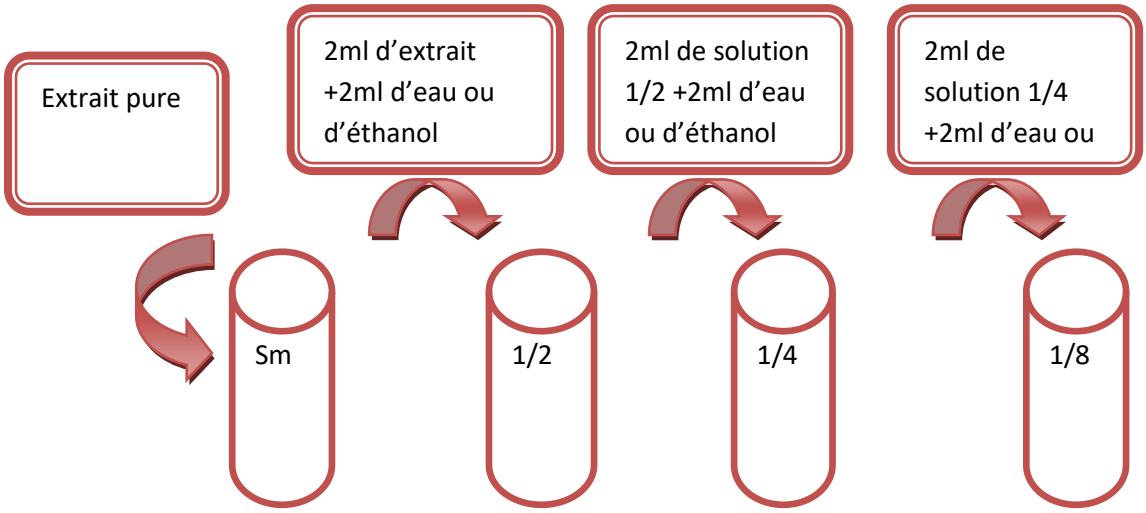



**Figure 34:**préparation des dilutions des extraits

### IV.1.2. Tests d'activité antibactérienne

Test d'activité antibactérienne des extraits aqueux et éthanoliques de la plante *rusmarinus officinalis*L.a été effectué selon les étapes suivantes :

### A/Réactivation des bactéries

Après la stérilisation de zone de travaille les souches bactérienne sont réactivées dans le milieu BN stérile et incubé dans l'étuve durant 24h à 37°C (fig 35).

**Figure35:** Réactivation des bactéries

### B/ Repiquage des souches bactériennes

Les souches bactériennes à tester ont été repiquées par la méthode des stries pour s'assurer de leur pureté (afin d'obtenir une culture jeune, et des colonies isolées), qui ont servi à préparer l'inoculum bactérien.Dans des boites de pétri contenant de la gélose nutritive, puis incubéesà l'étuve àpendant 18 à 24 heures à 37°C. (fig 36).

**Figure 36:** Etape de repiquage des bactéries dans les boite de pétrie.

**C/ Ensemencement**

Cette opération se fait sur boites de pétri après le coulage de gélose (Mueller-Hinton) avec une épaisseur de 4 mm, l'ensemencement est effectué à partir de l'inoculum préparerdans la suspension qui contient des colonies bien isolées dans 9 ml d'eau physiologique stérile. Cette suspension bactérienne est ajustée (ajout de la culture bactérienne ou ajout de l'eau physiologique) jusqu'à l'obtention d'une 10 à une longueur d'onde de 625nm **(Bendahou et *al*.,2007).** Puis imbiber un écouvillon de coton à trois répétitions sur la totalité et autour du bord de la surface gélosée de façon à former des stries serrées, un étalement uniforme en nappe, après chaque application pour obtenir une distribution égale de l'inoculum(fig 37).

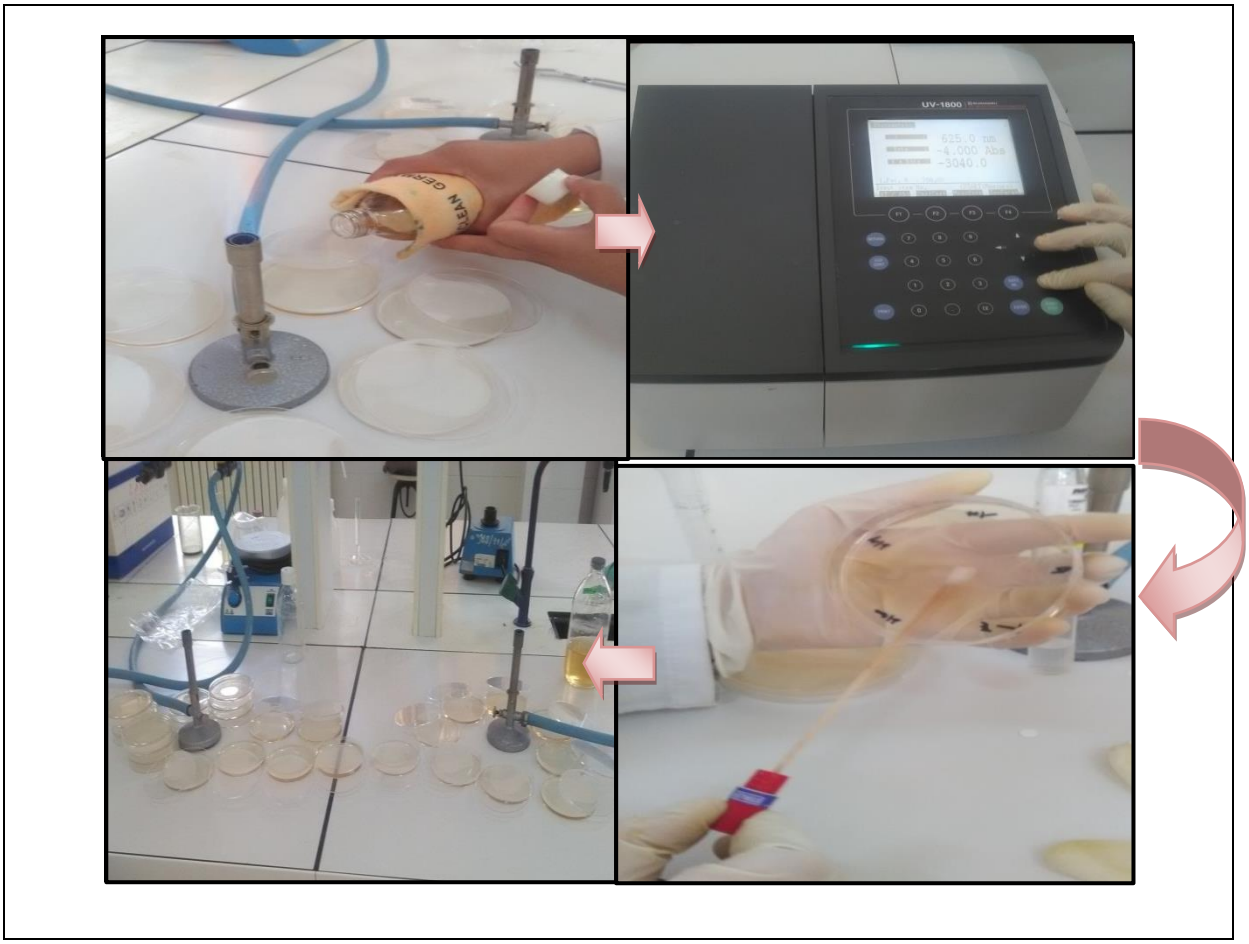


**Figure 37:** Etape d'ensemencement des bactéries sur milieu gélosé

**D/ Disposition des disques**

Cette méthode consiste à déposer des disques de papiers wattmans de 6 mm de diamètresur la surface des géloses ensemencées par lessouchestestéà l'aide d'une pince stérile (fig38).

**Figure 38:**Disposition des disques

**E/ Trempage d'extrait**

Les disques ont été trempés a l'extrait de 5 µl à l'aide de micropipette et déposé délicatement sur la surface de gélose (MH) imprégné par les extraits phénolique avec quatre dilutions d'extrait de plante *rusmarinusofficinalis*L.(solution mère concentrée, ½ et ¼ et $^1/_8$),. Dans chaque boite de Pétri ensemencée on applique 5 disques:* Le premier imbibé par l'antibiotique Gentamicine

* Le deuxième contient l'extrait pure non dilué *Le troisièmeimprégné parl'extrait dilué à ½. * Le quatrième imprégné par l'extrait dilué à ¼. * Le cinquième disque imbibé par l'extrait diluéà$^1/_8$. On utilise des témoins négatifs utilisant uniquement l'éthanol sur des disques placés sur gélose Hinton). (fig39).

**Figure 39:** trempage d'extrait

**F/ Lecture du résultat**

toute activité antimicrobienne se manifesterait par la formation d'un halo d'inhibition autour du disque où la culture est absente; c'est ce qu'on appelle diamètre d'inhibition qui sera alors mesuré en mm avec un pied à coulisse, et comparé avec des diamètres de référence relatifs aux antibiotiques utilisés, le diamètre d'inhibition rapportée est inclus en diamètre du disque de papier (6 mm). Plus de 6 mm ont indiqué une inhibition de croissance tandis que 6 mm signifie aucune activité.

## V. Activité anticoagulante vis-à-vis la voie exogène (TQ)

L'activité anticoagulante des extraits de la plante étudiée *(Rosmarinus officinalis* L.), A été réalisée au sein du laboratoire d'analyses médicales : Dr.Mirouh.A à Ferdjioua.

Cette activité a été évaluée in vitro vis-à-vis la voies exogène de la coagulation sur un pool des plasmas normaux déplaquettés et à l'aide de tests chronométrique globaux, le test de temps de Quick (TQ).

### V.1. Principe

La technique originale a été décrite par Quick en 1935.Ce test consiste à mesurer le temps de coagulation à 37C° d'un plasma pauvre en plaquettes en présence d'un mélange de facteurs tissulaires et des phospholipides (la thromboplastine) et de calcium. Les facteurs de la voie exogène donc sont activés et le temps qui s'écoule jusqu'à la formation du caillot est mesuré **(Athukorala *et al*., 2007).**

### V.2. Préparation du pool plasmatique :

Le pool plasmatique déplaquettés est un mélange de plasmas déplaquettés des 10 volontaires sains adultes non traités, dont les TQ et TCK sont normaux et comparables.Le sang de chaque volontaire est prélevé par ponction veineuse dans un tube en plastique sur une solution anticoagulante de citrate de sodium à 3,2 % et à raison de 1 volume pour 9 volumes du sang. Le sang est ensuite centrifugé pendant 10 minutes à 3000 rpm pour obtenir un plasma pauvre en plaquettes (Figure 39).Le mélange de ces plasmas (plasma standard) est conservé à basse température (-10C°) jusqu'à son utilisation. (fig40).

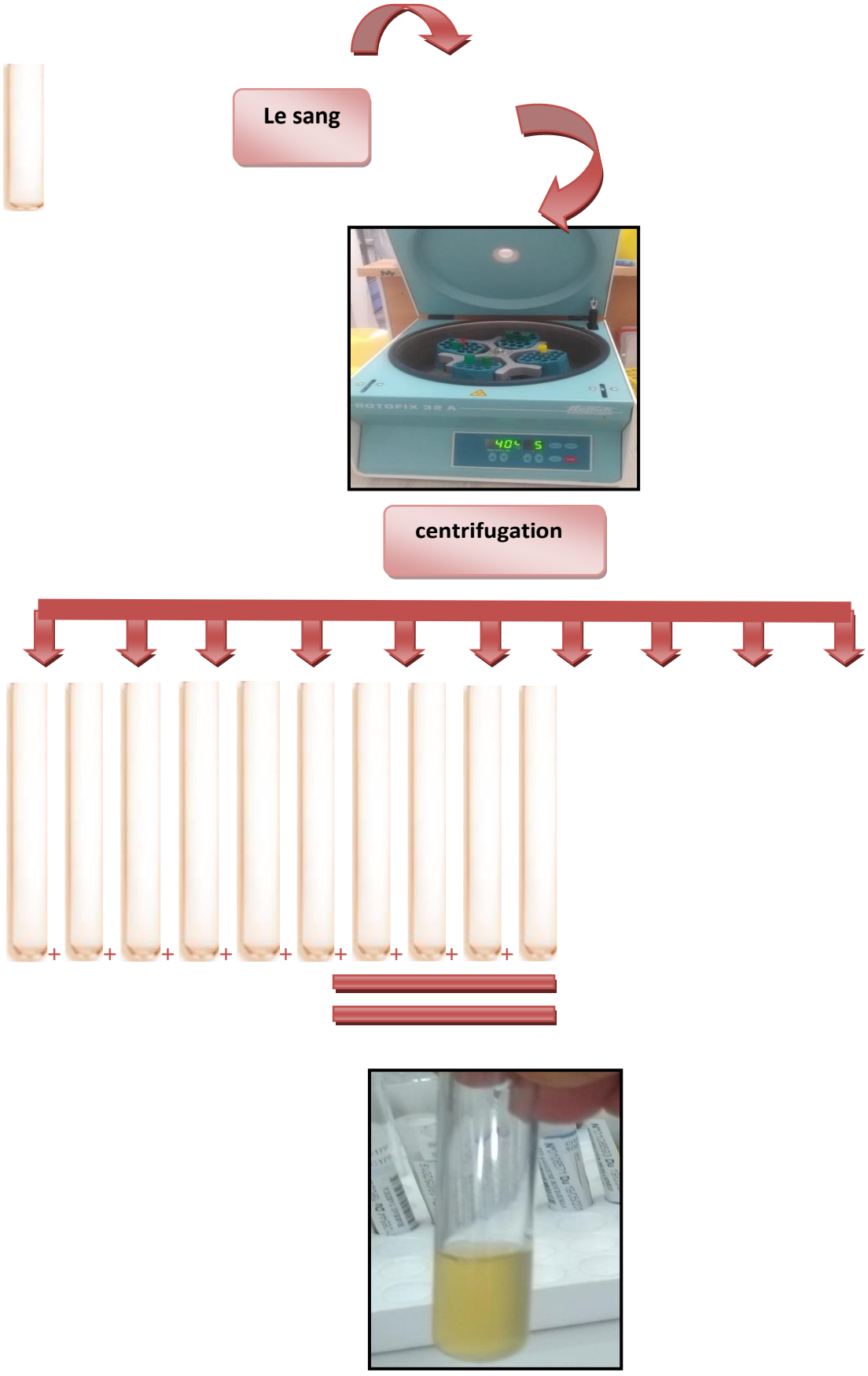



**Figure40:** Préparation d'un pool de plasma

**V.3. Mode opératoire :**

L'effet des extraits sur la voie exogène de la coagulation a été évalué selon le protocole décrit par Wang et ses collaborateurs (2010), Les facteurs de la voie exogène sont donc activés et le temps qui s'écoule jusqu'à la formation du caillot est mesuré.

- ✓ préchauffer 100 µl de plasma pauvre en plaquettes durant 2 min à 37C°.
- ✓ mélanger ce plasma avec les différents volumes des extraits (10, 20, 30 µl),préparées à une concentration donnée.
- ✓ incuber le mélange(plasma pauvre en plaquettes extraits) durant 15 min.
- ✓ additionner 200 µl de thromboplastine calcique (préchauffée au moins 15 minutes à 37°C) au mélange.
- ✓ Le temps de la coagulation est alors enregistré à l'aide d'un coagulomètre. (fig 41)

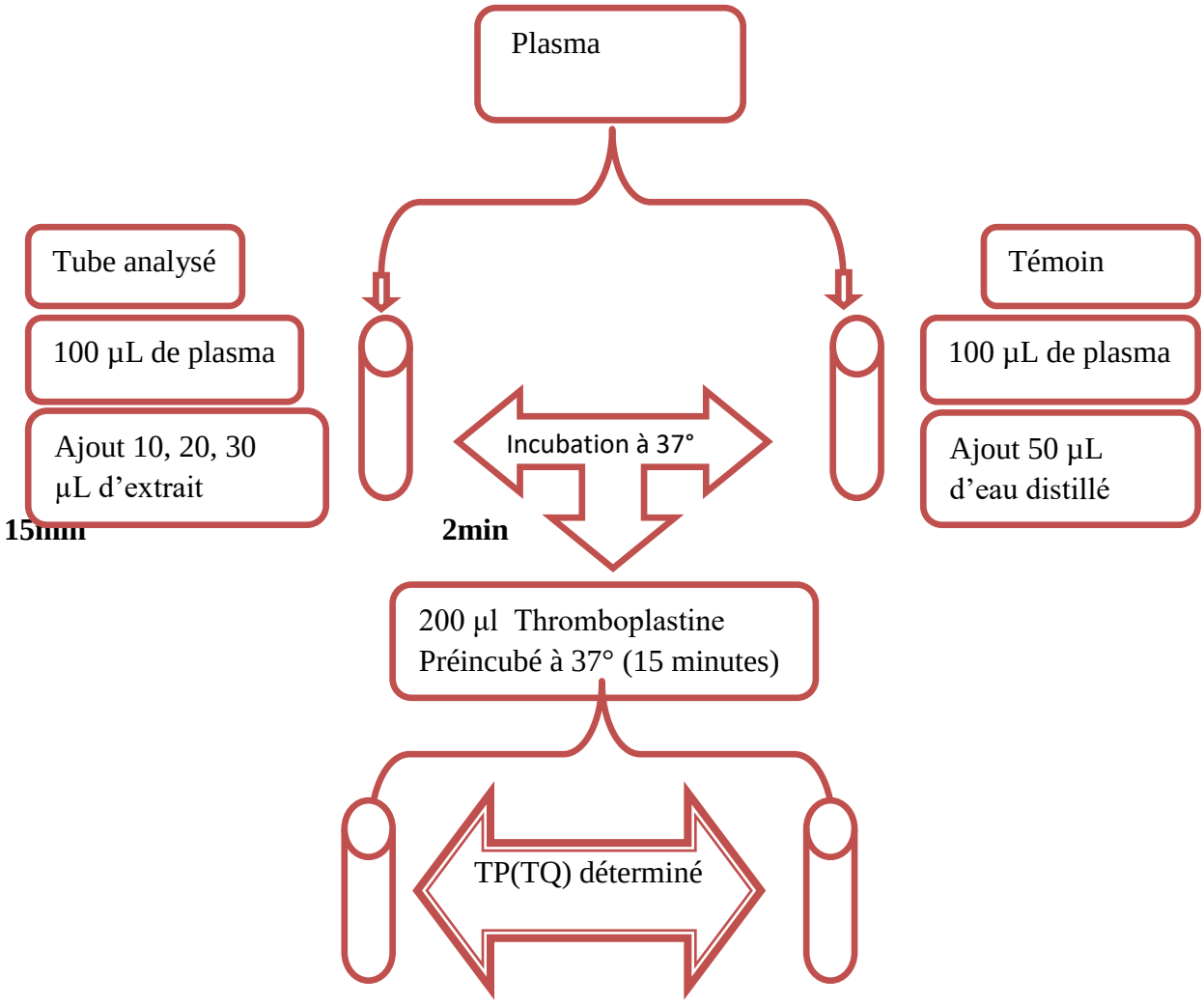



**Figure 41:** Etapes de la voie exogène

# Chapitre II :

# Résultats et discussions

## I. Criblage phytochimique:

### I.1. Analyse des résultats:

La réalisation de ces tests a pour but de révéler les différentes substances existantes dans les différentes parties de la plante étudiée (tige, feuilles et racine) en se servant des réactions qualitatives de caractérisation. Ces dernières reposent sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque catégorie de composés. Les résultats des tests phytochimique sont mentionnés dans le tableau III.

**Tableau IV:** Screening phytochimique de *rusmarinus officinalis* L.:

| | | | **Résultat obtenu** | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **Substances testées** | Réactifs utilisent | Observation | feuille | tige | Racine |
| **Saponines** | L'eau distillée | Mousse stable | ++ | +++ | + |
| **Tanins** | Chlorure de fer | Couleur verte foncée | +++ | ++ | + |
| **Alcaloïdes** | Réactif de Wagner | Couleur brune | - | - | - |
| **Glucosides** | Réactif de Fehling | formation d'un précipité rouge brique | + | + | +++ |
| **Flavonoïdes** | l'acide hydrochlorique hydroxyde de potassium | couleur jaune claire | +++ | +++ | + |
| **Cardinolides** | chlorure de fer d'acide sulfurique | couleur verte bleuâtre | ++ | +++ | +++ |
| **Tri terpènes et stéroïdes** | Acide acétiques anhydride+ Acide sulfurique | La formation d'un anneau rouge violet | +++ | ++ | ++ |
| **Huiles essentielle** | L'eau distillée | L'apparition des huiles | +++ | ++ | - |
| **Acide phénolique** | chlorure ferrique | coloration bleu noirâtre ou verte | +++ | ++ | + |

*(+++) : Réaction fortement positive*(++) : Réaction moyennement positive*(-) : Réaction négative

#### I.1.1. Test des saponosides

Après agitation des tubes à essai, on observe l'apparition d'une mousse persistante avec une hauteur plus de 1cm dans les trois extraits des organes de la plante étudiée ce qui indique la richesse de romarin en saponosides(Fig42).

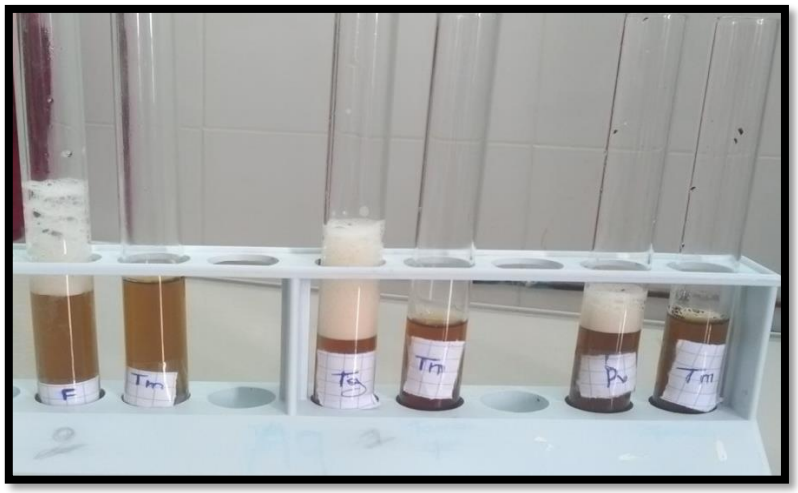



**Figure 42:** test des saponpsides

### I.1.2. Test des cardinolides

Pour les résultats de test des cardinolides**,** nous remarquons l'apparition d'une couleur vert bleuâtre dans les extrais des trois organes de la plante étudiée cela montre la présence des cardinolides. On remarque que les cardinolides sont abondants dans les feuilles les tiges et les racines avec une dominance dans les tiges et les racines par rapport aux feuilles (fig 43).

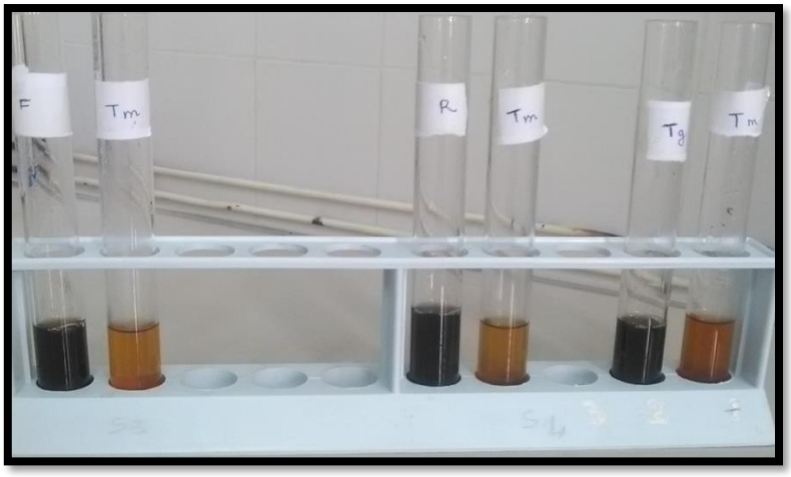



**Figure 43:** test des cardinolides

### I.1.3. Test des flavonoïdes

Nous avant remarqué une couleur jaune claire qui indique la présence des flavonoïdes dans les trois organes étudiés (feuilles, tiges, Racines). la teneur en flavonoïdes est plus élevée dans les deux organes (feuilles et tiges) par rapport aux Racines. Les résultats sont présentés dans (fig44).

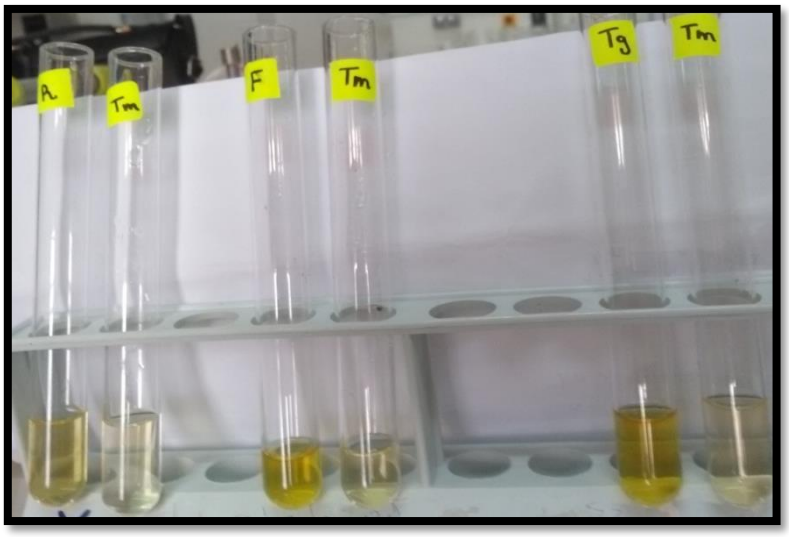



**Figure 44:** test des flavonoïdes

### I.1.4. Test des acides phénoliques

On remarque l'apparition d'une couleur bleu noirâtre ou verte qui confirme la présence des composés phénoliques avec des valeurs déférentes dans les trois parties de la plante étudiée. La teneur en polyphénols est plus élevée dans feuilles que dans les tiges et les Racines (Fig46).

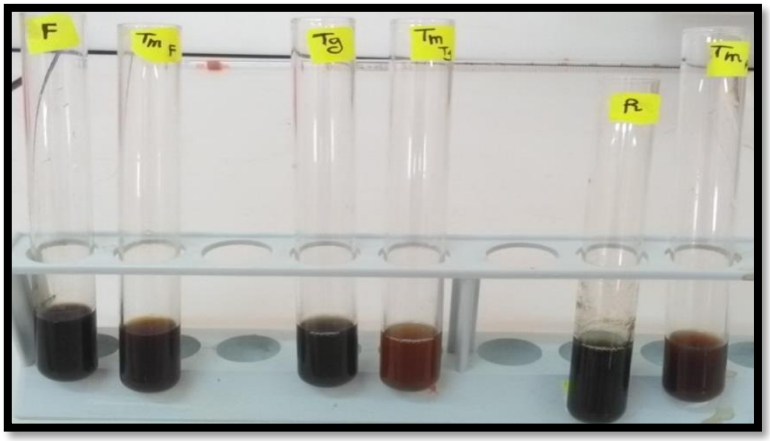



**Figure 45:** test des polyphénols

### I.1.5. Test des alcaloïdes

Le test phytochimique réalisé montre l'absence des alcaloïdes dans les trois organes de la plante étudié; et cela a été confirmé par l'absence d'une coloration brune par l'addition du Réactif de Wagner (Annexe II), (Fig46).

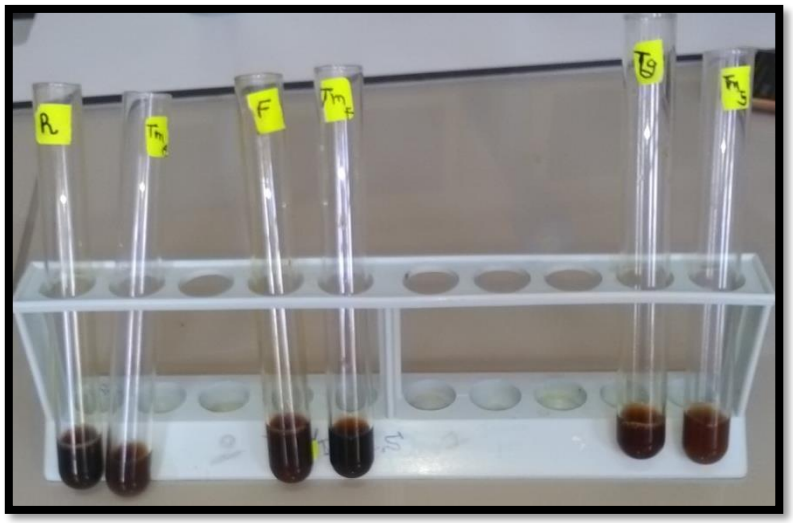



**Figure 46:** test des alcaloïdes

### I.1.6. Test des glucosides

Nous avons noté une formation des précipitations d'une couleur rouge brique dans les extraits des deux organes (tiges et racines) et l'absence des précipitations dans l'extrait des feuilles. Les résultats obtenus pour les extraits des tiges et des racines indiquent la présence de glucosides. On remarque que la teneur des glucosides dans racines est plus élevée que celui dans les tiges (Fig48).

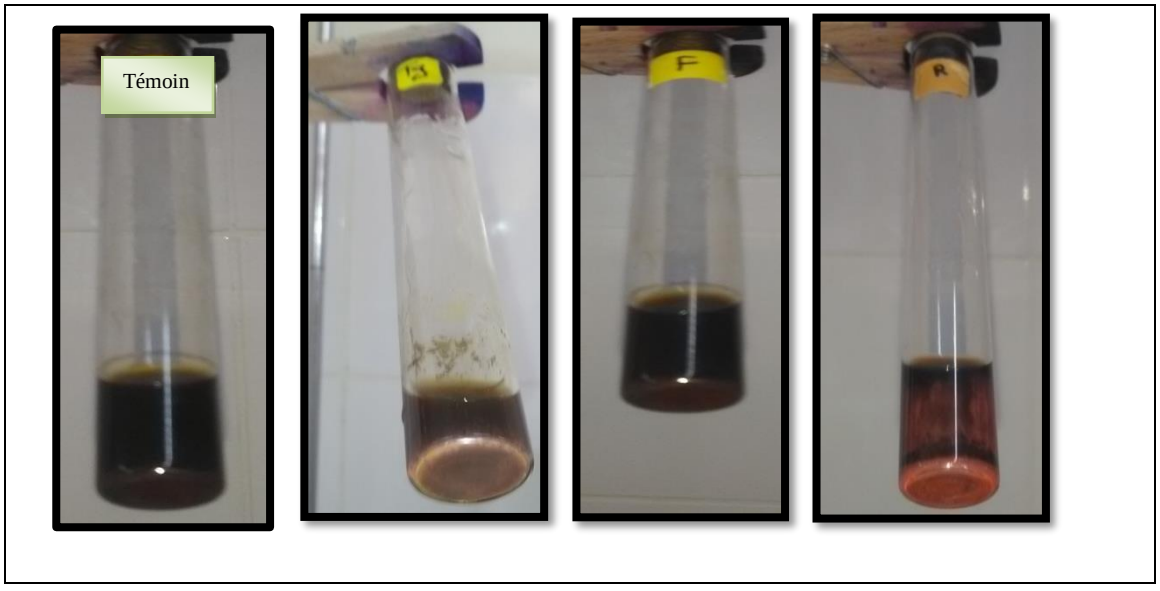



**Figure 47:** test des glucosides

### I.1.7. Test des triterpènes et stéroïdes

Concernant les résultats de test des triterpénes et stéroïdes**,** on observe La formation d'un anneau rouge violet dans les extraits des trois organes de la plante étudiée**,** qui signifie la présence des triterpènes et stéroïdes avec une dominance dans les feuilles (Fig48)

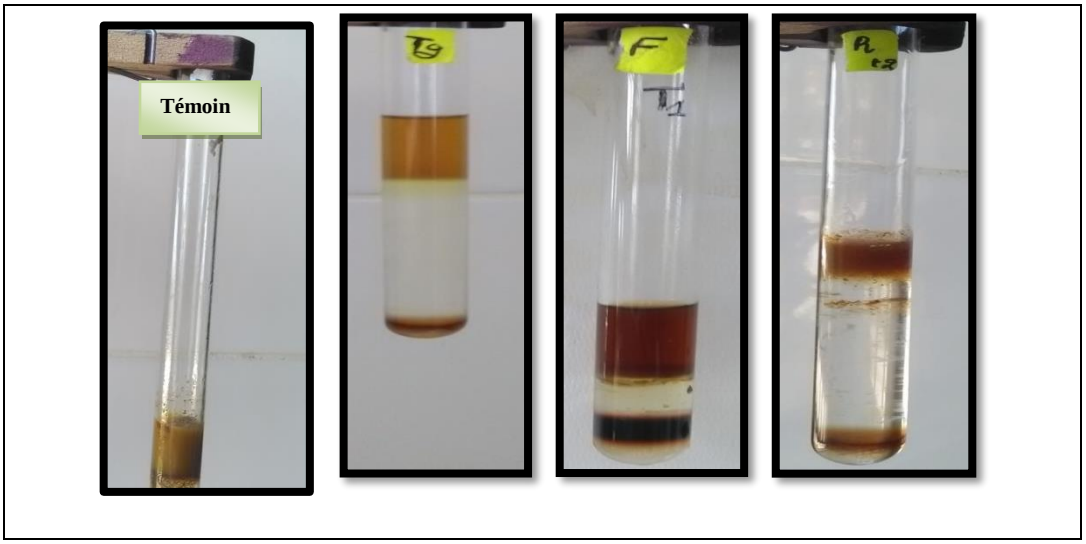



**Figure 48:** test des triterpene

### I.1.8. Test des tanins

On remarque l'apparition d'une couleur verte foncée, ce qui indique la présence des tanins par une réaction fortement positive dans l'extrait des feuilles. (fig 49).

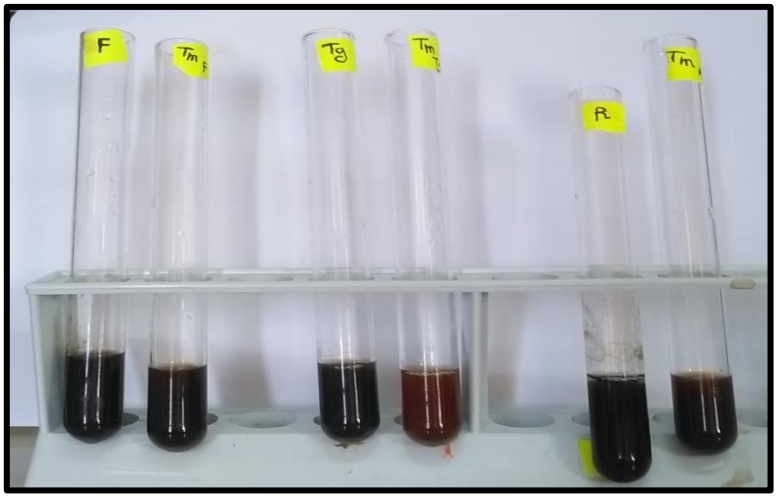



**Figure 49:** teste des tanins

### I.1.9. Test des huiles essentielles

On observe une couche mince huileuse transparente au-dessus de l'eau récupéré avec des gouttes sur les parois de la verrerie et l'émersion d'une odeur très forte (fig50).

**Figure 50:** test des huiles essentielles

### I.2. Discussion:

La teneur en matière extraite est influencée par la méthode de préparation du matériel végétative également la méthode et le solvant utilisé. Généralement les solvants organiques sont les plus utilisés pour l'extraction des différents constituants des plantes **(Velickovic et *al*., 2006).**

Concernant le test des saponosides, l'apparition d'une mousse persistante avec une hauteur plus de 1cm, après agitation. Ce qui montre la présence des saponosides dans la plante étudiée. Ce résultats s'accorde avec ceux obtenus par **(Fadili et *al.*, 2015)**.En contradiction à nos résultats, des études sur la même espèce ont été effectuées par**( Boumadjen et Kimouche**, **2018)** à Djebel ELwahch de la wilaya de Constantine, ont montrés l'absence des saponosides. Cela peut être due à certains facteurs écologiques: climat, altitude, précipitation**.**

Du même **(Fadili et *al.*, 2015)** ont montrent l'absence des alcaloïdes. Ce qui signifie l'absence de la couleur brune, après l'utilisation du Réactif de Wagner. L'absence des alcaloïdes dans les trois organes de la plante étudiée peut être probablement due à des facteurs génétiques.

Les résultats de la screening phytochimique de notre travail montrent que le romarin renferment les flavonoïdes ces résultats d'analyses phytochimiques s'accordent avec ceux obtenus par **(Stephanovits et *al*., 2007).**

Tsai *et al.,* (2007) ont mentionné que l'extrait du romarin contient des teneurs très élevées en flavonoïdes ce qui supporte nos résultats**.**

Les variations, rencontrées dans les teneurs en Glucoside dans nos échantillons, comparées à certains travaux antérieurs, peuvent être probablement dues à l'âge de la plante et la période du cycle végétatif**.**

D'après les résultats de test des composés phénoliques on observe que ces derniers sont très élevés dans la plante étudiée ce résultat d'analyse phytochimique s'accorde avec ceux obtenus par **( Hegnaijer, 1966) .**

D'après nos tests, la présence des Tanins est révélée par l'apparition d'une coloration verte foncée ce qui infirme les travaux de (**Fadili et *al*., 2015).**

La formation d'un anneau rouge violet indique La présence des triterpènes et stéroïdes dans R. officinalis cette résultats s'accorde avec ceux obtenus par **(Pourrat et Lemen., 1953).**

L'HE de Romarin est obtenue par entraînement à la vapeur d'eau des parties aériennes **(**feuilles**)** de *Rosmarinus officinalis L.* Ce résultats est confirmé par les études de **(Rasooli et *al.*, 2008).** Et selon **(Lakhdar, 2015) .**Les huiles essentielles sont particulièrement abondantes chez certaines familles telles que les lamiacées

De même les résultats réalisés par **(Naghibi et *al*., 2005)** ont montré que La famille des Lamiacées contient une très large gamme de composés comme les terpénoïdes, les polyphénols, les flavonoïdes, les huiles essentielles et plus précisément les courtes chaines des terpénoides qui sont responsables de l'odeur et la saveur caractéristique des Lamiacées.

Enfin**,** on peut déduire que le romarin **(**R. officinalis**)** est une espèce très riche en certains principes bioactifs, qui lui donnent des propriétés biologiques particulières tels que: antibactérienne, anticoagulante.

## II. Teneur en polyphénols:

### II.1. Analyse des résultats:

L'objectif de notre étude c'est la quantification des teneurs en composés phénoliques par la technique d'extraction qui consiste à macéré le broyat de feuille, tige et racine séchée de *rosmarinus officinalis* L. dans eau et éthanol/eau (70/30:v/v). permet d'isolement sélective et la récupération des composés phytochimiques existants dans le matériel végétal **(Romanik et *al.*,**

**2007).** Les résultats des teneurs en composés poly phénoliques des extraits aqueux et éthanolique sont reportés en pourcentage par rapport à la matière sèche de la plante. Les résultats obtenus sont représentés dans la Figure (fig 51).

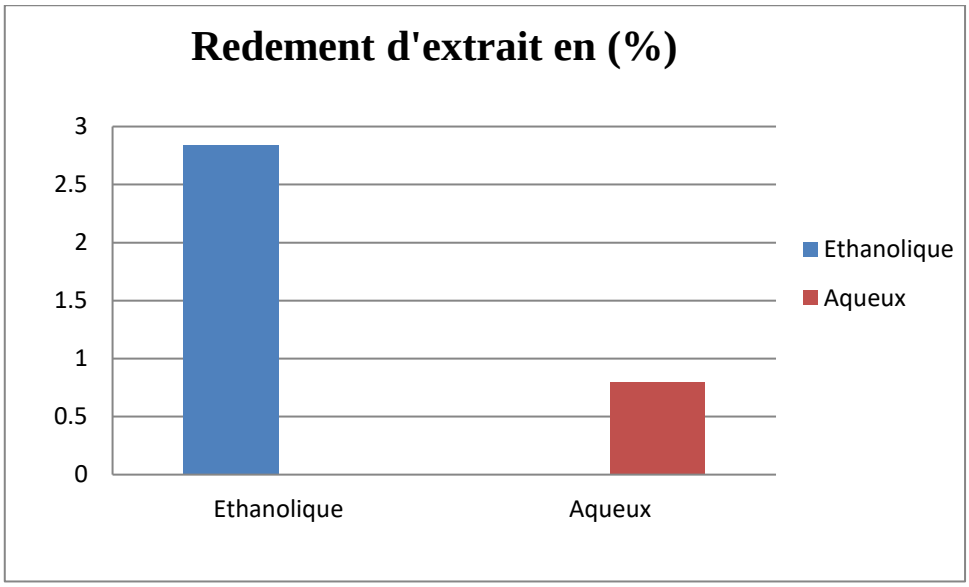



**Figure 51:** rendement d'extraits aqueux et éthanolique de *rosmarinus officinalis* L.

**II.2. Discussion:**

A partir des résultats représentés dans la Figure (51), le rendement de polyphénols obtenu dans l'extrait aqueux est (0,8%)

Le rendement de polyphénols obtenu dans l'extrait éthanolique est (2,84%) ils montrent une différence significative par rapport aux résultats obtenu par Fadili et *al.;* (2015) qui sont obtenu un rendement considérable (13,06%).

Cependant, l'étude menée par Balouiri en (2011) sont relativement supérieurs que celui de notre extrait (2,84%), qui sont obtenu un rendement considérable (15,8%).

Ces différences enregistrées en rendement de plantes avec les données des chercheures peuvent être attribuées aux différents facteurs : la partie extraite de la plante (partie aérienne (feuilles et fleur, feuilles), séchage, les conditions pédoclimatique de la région d'étude, l'origine géographique de la plante utilisée **(Bencheqroun et *al.*, 2012 ; Chaabna, 2014 ; Makhloufi, 2017 ),** le stade de développement de la plante et la saison. En effet, les plantes médicinales devront être récoltées à la saison optimale de leur maturation pour assurer l'extraction de produits naturels de la meilleure qualité possible **(Marie-Josèphe, 2011).**

**III. Activité biologique:**

**III.1. Activité antibacterienne:**

**III.1.1. Analyse des résultats:**

L'activité antibactérienne se manifeste par l'apparition d'un halo d'inhibition de la croissance bactérienne autour des disques contenant l'extrait inhibiteur de notre plante testé **(Boumaza, 2011).** La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide du pied de coulisse (mm). Le diamètre de la zone d'inhibition montre la sensibilité des souches vis-à-vis des extraits aqueux et éthanolique.

• Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8mm • Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm • Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm • Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm, **(Benkiki, 2006).**

Nos résultats du test de la sensibilité des souches bactériennes *E. coli*, *P.aeruginosa* et *S.aureus* vis-à-vis des extraits aqueux et éthanolique de *rosmarinus officinalis* L. sont présenté au tableau suivant :

❖ **Résultats d'activité antibacterienne des extraits éthanoliques**

**Tableau V:** moyennes des diamétre de zone d'inhibition d'extrait éthanolique de *rosmarinnus officinalis* L. sur des souches bacteriennes *E. coli*, *P.aeruginosa* et *S.aureus*

| Souches bactériennes | Les concentrations mg/ml | Moyen de diamètre des zones d'inhibition en mm |
|---|---|---|
| ***E. coli*** | Tm+ | 16,3 |
| | Sm | 20,03 |
| | ½ | 23,96 |
| | ¼ | 21,46 |
| | 1/8 | 18,83 |
| ***P.aeruginosa*** | Tm+ | 10,06 |
| | Sm | 9,36 |
| | ½ | 7,83 |
| | ¼ | 9,43 |
| | 1/8 | 11,76 |
| ***S.aureus*** | Tm+ | 12,9 |
| | Sm | 11,76 |
| | ½ | 10,8 |
| | ¼ | 12,16 |
| | 1/8 | 11,93 |

+La moyenne des résultats est réalisés sur 3 essais±SD.

Les résultats obtenus dans le tableau **IV** ont montrés que les extrait brut du romarin de la région de Hammamet possède une activité antibactérienne contre les souches *E. coli*, *P.aeruginosa*, *S.aureus* avec des diamétres d'inhibitions varies entre (7,83et 23,96). le témoin positive Gentamicine affecte une zone d'inhibition a un diamétre varie entre (10,6 et 16,3). Il faudrait mentionner que la sensibilité des souches testées varie selon les dilutions, et la nture des souches bacterienne. **(Jordán et *al.* ; 2013).** Leur aspect est mentionné dans la Figure (fig52).

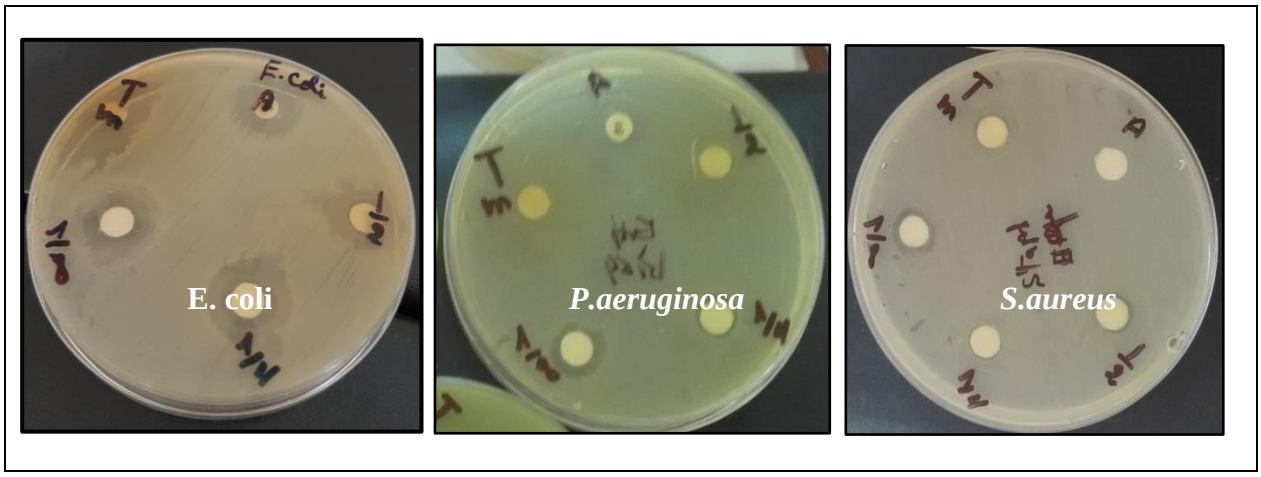



**Figure 52:** zones d'hinibition d'extrait ethanolique de *rosmarinus officinalis* L. sur les bacterie *E.coli*, *P.aeruginosa* et *S.aureus*

Ces résultats témoignent de l'efficacité des extraits de *rosmarinus officinalis* L. qui sont résumés dans la (fig 53).

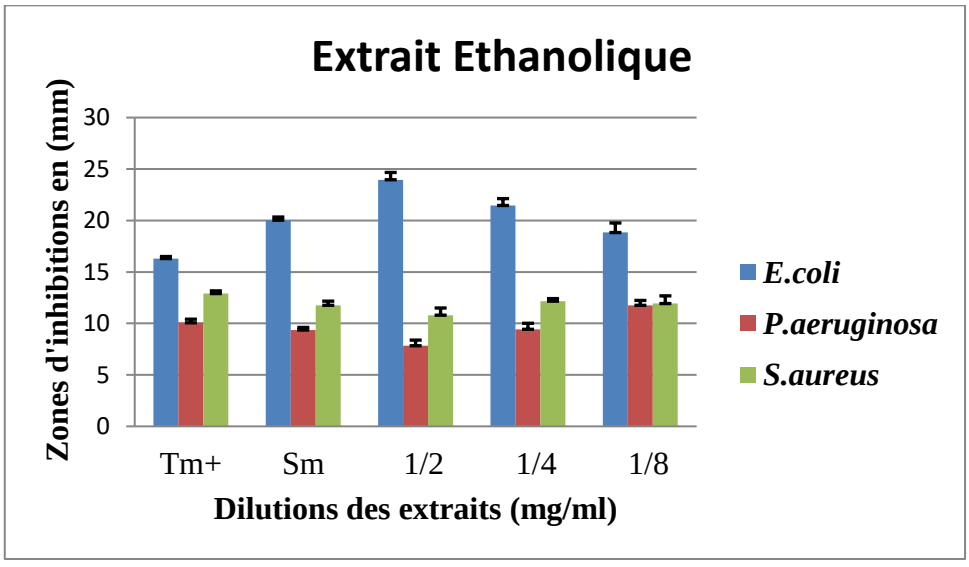



**Figure 53:** Moyenne de diamétre de Zones d'inhibitions en niveau des extraits ethanoliques des feuilles de *rosmarinus officinalis* L.

**III.1.2. Discussion:**

D'après les résultat présenté dans l'histogramme (fig53). en remarque que la bactérie la plus sensible aux extraits éthanoliques du *Rosmarinus officinalis* L. c'est *l'Escherichia coli* qui enrégistre des zones d'inhibition alignées de (18,83 à 23,96 mm). L'activité antibactérienne des extraits actifs de la plante était comparable à l'antibiotique Gentamicine.

L'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique du romarin en combinaison avec la gentamicine ont indiqué leurs effets antibactérienne.

Par contre une étude menée par **Balouiri. (2011), Seddik** et *al*., **(2006)** et Athemena et *al.*, **(2014)** indique que les extraits éthanoliques aqueux se sont révélé inactifs sur toutes les souches a Gram $^{-}$ (*E. coli*, *P. aeruginosa*), quel que 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).**

Alors que l'effet de l'extrait éthanolique du romarin contre *Staphylococcus aureus* et *pseudomonas aeruginosa* est moyenne. Ces souches représente une sensibilité dans la dilution $^{1}/_{8}$ que la dilution ¼, tandis que ces souches représente une résistance aux dilutions ½ et Sm. Ces résultats s'accorde avec une étude menée par **Balouiri**. **(2011)** sur l'effet antibactérien de l'extrait éthanolique de *R. officinalis* à donner un effet remarquable de l'extrait vis à vis de *S.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 des parties aériennes de *R. officinalis* exerçait l'effet antibactérien moyen vis-à-vis *S.aureus* avec des diamètres de zones d'inhibition comprise entre 11 et 18 mm.

L'activité antibiotique du romarin contre les bactéries testées pourrait être attribuée à la présence de flavonoïdes, acides phénoliques (acide caféique, acide chorogenique, et acide rosmarinique) et les huiles essentielles (camphre et cineole) et diterpenes (carnosol). (**Faixova Z, 2008), (Rozman T, 2009)**

❖ **Résultats d'activité antibacterienne des extraits aqueux**

**Tableau VI:** moyennes des diamétre de zone d'inhibition d'extrait aqueux de *rosmarinnus officinalis* L. sur des souches bacteriennes *E. coli*, *P.aeruginosa* et *S.aureus*

| Souches bactériennes | Les concentrations mg/ml | Diamètre des zones d'inhibition en mm |
|---|---|---|
| ***E. coli*** | Tm+ | 16,06 |
| | Sm | 9,53 |
| | ½ | 7,3 |
| | 1/4 | 8,7 |
| | 1/8 | 8,7 |
| ***P.aeruginosa*** | Tm+ | 8,3 |
| | Sm | 7,4 |
| | 1/2 | 7,43 |
| | 1/4 | 8 |
| | 1/8 | 10,46 |
| ***S.aureus*** | Tm+ | 11,36 |
| | Sm | 8,33 |
| | 1/2 | 9,76 |
| | 1/4 | 9 |
| | 1/8 | 11,26 |

La moyenne des résultats est réalisés sur 3 essais±SD.

D'aprét le tableauVI ont note que l'extrait aqueux de *rosmarinnus officinalis* L. affecte une faible sensibilité contre les souche bacteriennes testés avec une zone d'inhibition limité (fig 54).

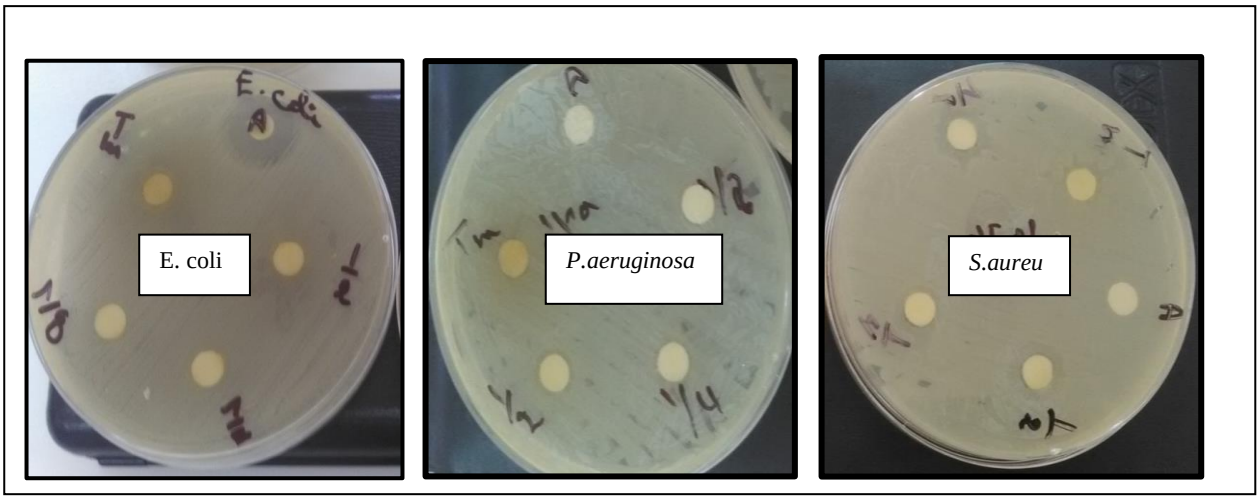



**Figure 54:** Zones d'hinibition d'extrait aqueux de *rosmarinus officinalis* L. sur les bacterie *E.coli*, *P.aeruginosa* et *S.aureus.*

Les résultats obtenus sont résumé dans l'histogramme suivant (fig 55).

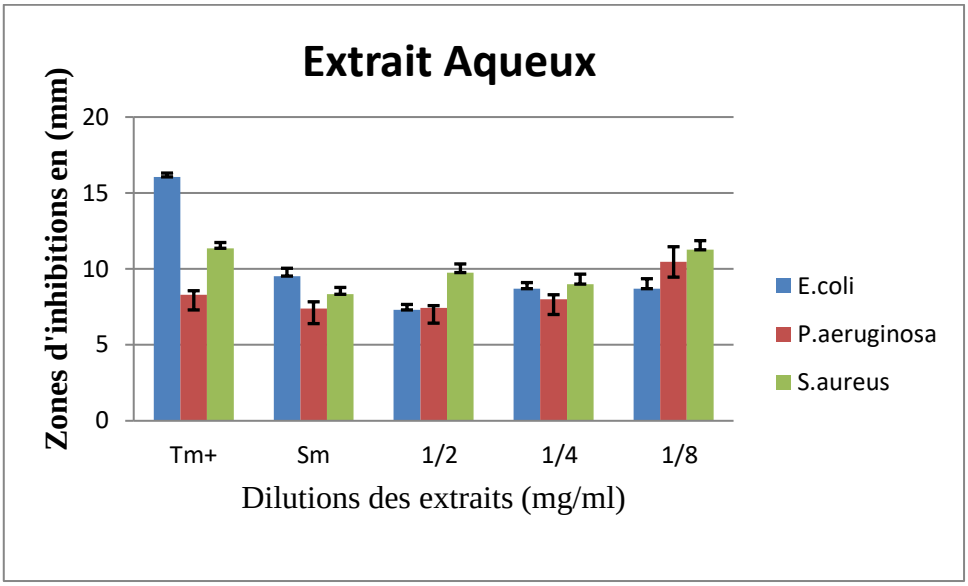



**Figure 55:** Moyenne de diamétre de Zones d'inhibitions en niveau des extraits aqueux des feuilles de *rosmarinus officinalis* L.

**III.1.3. Discussion:**

D'après les résultat présenté dans l'histogramme(fig55). Ont observe une faible sensibilité des souches bacteriennes testés aux extraits aqueux du *Rosmarinus officinalis* L. avec des diamétres des zones d'inhibition varies entre (7,03 à 11,36 mm).

L'activité antibactérienne des extraits aqueux de notre plante était comparable à l'antibiotique Gentamicine (30µL/disc). Qui indique leur faible effet antibactérien.

Nos résultats a été diffrencier que les travaux scientifiques de **Balouiri. (2011).** mensionné que l'extrait aqueux de *rosmarinus officinalis* L. est inactifs sur toutes les souches a Gram $^{-}$ (*E. coli, P. aeruginosa*).

D'après nos résultats ont remaque que l'effet antibacterienne de l'extrait éthanolique de *rosmarinus officinalis* L. sur les souches *E.coli, P.aeruginosa* et *S.aureus* est plus que l'effet antibactérienne d'extrait aqueux de la plante étudier sur les souches sélectionné. Cette supériorité est due à la solubilité majeure des composés phénoliques dans les solvants alcooliques qui jouent un rôle indispensable dans l'activité antibactérienne; tandis que ces molécules sont moins solubles dans l'eau ce qui affirme leur faible effet contre les bactéries.

### III.2. Activité anticoagulante:

#### III.2.1. Analyse des résultats:

Notre étude a été effectuée selon le test classique de taux de prothrombine (TP), qui détecte la voie exogène de la coagulation sanguine. Cela a été réalisé en utilisant le facteur tissulaire (thromboplastine) **(Tripodi, 2009).**

**Tableau VII:** Variabilité de temps de Quick en fonction de concentration des extraits aqueux de *rosmarinus officinalis* L.

| **Concentration des extraits en (µL)** | **Tm** | **10µL** | **20µL** | **30µL** |
|---|---|---|---|---|
| **Temps de Quick en seconde** | 14,4s | 48s | 90s | 155s |

Les résultats représentés dans le tableau VI Ont montré que l'extrait aqueux de *Rosmarinus officinalis* L. ayant un effet anticoagulant remarquable on comparaît avec un témoin négatif. Nos résultats sont éclairés dans la (fig 56).

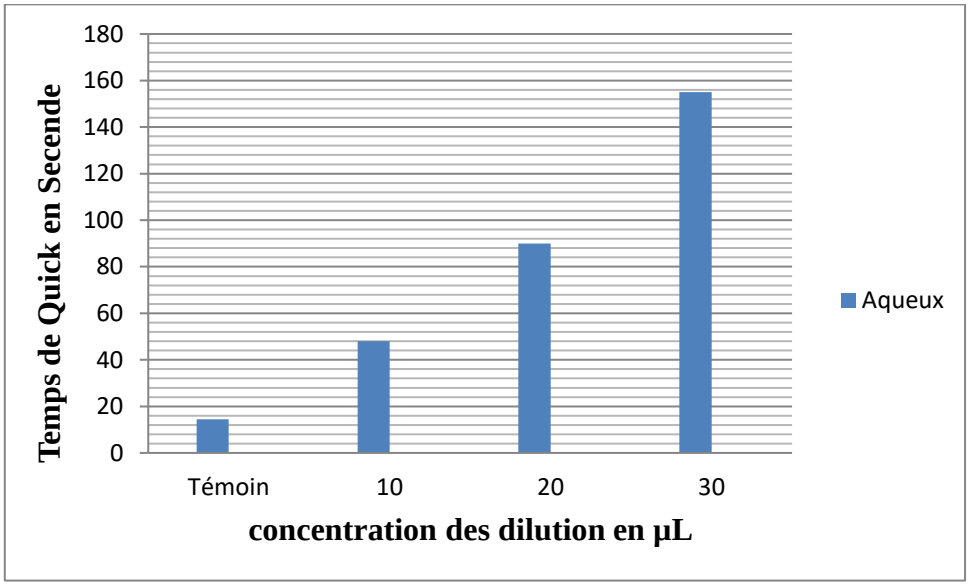



**Figure 56:** Temps de Quick de différentes concentrations d'éxtrait aqueux de *rosmarinus officinalis* L.

**III.2.2. Discussion**

D'après les résultats présentés par l'histogramme (fig56), on remarque clairement une activité anticoagulante importante des extraits polyphénoliques de la plante étudiée (*Rosmarinus officinalis* L.).

Le Temps de Quick est positivement proportionnel par rapport aux concentrations des extraits. On remarque un allongement de TQ de l'ordre de 48s pour la concentration10µL en comparant à celui du témoin (14,4).

Alors que le volume 20µL de l'extrait présente une activité anticoagulante avec un TQ de 90s, ce dernier est relativement élevé par rapport au témoin(14,4).

Concernant la concentration 30µL de l'extrait**,** on note une augmentation considérable de la valeur TQ qui estime par 155s.

Le prolongement provoqué au niveau du temps de coagulation vis-à-vis la voie exogène montre que le Romarin exerce une activité anticoagulante remarquable.

Le résultat obtenu s'accorde avec l'étude réalisée par **(Bae, 2011)** qui a confirmée l'efficacité des polyphénols notamment les tannins comme des éléments anticoagulants.

Des études précédentes ont été effectuées sur d'autres espèces: *d'Olea europaea* L. par **(Yang, et *al*. 2005)** et *Nigella sativa* L. par **(Lemaoui ,2011)** sont montrées la capacité anticoagulante des extraits phénoliques.

D'autre part, il faut indiquer qu'il existe des composés doués aussi de cette activité, tel que, les polysaccharides **(Youmbai**, **2015),** les glycoprotéines **(Zhou et *al.* 2009)** et les peptides **(Mieszczanek et *al.* 2004)**.

Les résultats obtenus dans ce travail et ainsi que d'autre travails relatifs, peuvent considérer comme références pour le développent des nouveaux suppléments alimentaires qui contribuent à la prévention des thromboses.

# Conclusion et perspectives

**Conclusion et perspectives**

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques.

L'Algérie est un pays très riche en plantes médicinales qui poussent généralement à l'état spontané . La région de Hammamet de la wilaya de Tébessa est l'une des régions du pays connue pour sa richesse en plantes médicinales et aromatiques, , mais qui reste encore méconnue par les uns et les autres. Pour ces raisons, nous avons effectué une étude sur l'une de ces plantes qui est le romarin (*Rosmarinus officinalis*).

Le présent travail est consacré à la détermination des compositions chimiques et des propriétés antibactériennes et anticoagulant des extraits de *Rosmarinus officinalis L*.

Le screening phytochimique réalisé, a révélé la richesse de notre plantes en métabolites secondaires notamment: Saponines, Tanins, Glucosides, Flavonoïdes, Cardinolides, Tri terpènes et stéroïdes, acides phénoliques.

L'extraction des huiles essentielles nous a permis de constater la richesse de *Rosmarinus officinalis L*. Par cet essences aromatique volatile, ce qui explique l'odeur forte de l'extrait. L'extraction des composés phénoliques nous a permis d'évaluer le pouvoir antibactérien des extraits éthanoliques et aqueux de la partie aérienne de *Rosmarinus officinalis L*.De la famille des Lamiaceae. Cela confirme aussi que le romarin se caractérise par les déférentes propriétés biologiques qui assurent l'efficacité de la plante et sa survie.

Les résultats de l'activité antibactérienne enregistrés de cette étude révèlent la sensibilité variable des agents pathogènes aux extraits des plantes médicinales testées. Les effets les plus prononcés sont observés chez les extraits testés vis-à-vis des souches Gram négatif E.Coli.

L'activité anticoagulante de L'extrait polyphénolique a été évaluée *in vitro* en utilisant le test de TQ qui affirme que les polyphénols exercent une grande activité anticoagulante sur la voie exogène de la coagulation.

Malgré les résultats importants de cette enquête concernant la phytothérapie, ces résultats restent préliminaires et nécessitent d'encourager des études complémentaires et approfondies , de cet effet, et comme perspectives on propose de :

- Réaliser d'autres études pour évaluer le potentiel biologique de la plante in vivo sur modèle animal.

- L’évaluation des activités antibactérienne et anticoagulantes en utilisant les huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis L*.
- L’estimation des déférentes activités biologiques de la teneur en composés polyphénoliques issus de différentes sources: tiges, fleures, racines.
- La culture des plantes médicinales pour permettre à la population d’avoir des médicaments moins chers et d’éviter la disparition de certaines espèces rares et endémiques.

# Références bibliographiques

# *Références bibliographiques*


- **A Bouzid, R Chadli, K Bouzid,**(2016); Étude ethnobotanique de la plante médicinale Arbutusunedo L. dans la région de Sidi Bel Abbés en Algérie occidentale, Phytothérapie,.
- **Ahmed A., Hajer E J., Sondes A et Mohamed N.** (2010) **.**Screening of antiradical and antibacterialactivities of essential oils of Artemisiacampestris l., Artemisia Herba Alba Asso, & thymus capitatushoff. etlink. Growingwild in the southern of Tunisia .RecentResearch in Science and Technology. 2(1): 29–39.
- **Ajjan, R, Grant, P. J.** (2006): Coagulation and atherothromboticdisease. Atherosclerosis,186 ,p240–259
- **Albert.Y.leung, Steven Foste.** (1996); Encyclopedia of common Naturel Ingradients used In Foods ,Drugs, and cosmetics, 2éme édition , Awreley-interscience publication, P445.
- **Ali Amine Zeggwagh, Younes Lahlou, Yassir Bousliman**, Enquête sur les aspects toxicologiques de la phytothérapie utilisée par un herboriste à Fès, Maroc, The Pan AfricanMedical Journal, 14 (2013).
- **Alignan M.** (2006). Thèse de doctorat : Phoma du Tournesol : déterminisme de la tolérance de l'hôte à la maladie, Toulouse.
- **Anton R., Lobstein A., Tec et Doc.,** (2005). Lavoisier. P 7. -Arumugam P., GayatriPriya N., Subathra M., Ramesh A., (2008). Anti-inflammatoryactivityWX of four solvent fractions of ethanolextract of Menthaspicata L. investigated on acute and chronic inflammation induced rats. EnvironmentalToxicology and Pharmacology, 26. P 92–95.
- **ANTON R., WICHTL M**., (1999). Plantes thérapeutique (tradition, pratique officinale, science et thérapeutique), 3eme édition allemande sous la direction de MAX WICHTL, MARBURG, édition française par ROBERT ANTON, Strasbourg avec la collaboration de MARTINE BERNARD.
- **Aruoma O. I., Spencer J. P., Rossi R., Aeschbach R., Khan A., Mahmood N., Munoz A., Murcia A., Butler J. et Halliwell B**. (1996). An evaluation of the antioxidant and antiviral action of extracts of rosmary and provençal herb. *Food and Chemical Toxicology*.,**34**(5) : 449-456.
- **Athukorala,Y., Lee, KW., Kim, SK., Jeon, Y.J.** (2007):Anticoagulant activity of marine green and brown algae collected from Jeju Island in Korea.Bioresource Technology, **98**,p1711–1716.

- **Auguste Scheler**, (1862) ;*Dictionnaire d'étymologie française d'après les résultats de la science moderne*.
- **Azhar Ali Farooqi et al**., *Cultivation of Spice Crops*, 2005.
- **Bae, J.** (2011).Antithrombotic and profibrinolytic activities of phloroglucinol. Food and Chemical Toxicology, 49: 1572 - 1577.
- **Bahorun T.,** (1997). Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. Food and agricultural resarchcouncil, Réduit, Mauritus. P 83-94.
- **Balbaa S.I., Hilal S.H., Zaki A.Y.,** (1981). Médicinales utilisation de 400 plantes. Poulshau en burg. Ferdinande. Paris. P 254-255.
- **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. p : 4-68
- **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. p : 4-68
- **Barnes, J., Linda, A., Anderson, J., David, P.** (2007).HerbalMedicines, Toisièmeédition.Schneider A. Arbres et arbustes thérapeutiques : les connaître, les protéger, les utiliser.Montréal : Ed. de l'Homme, 2002, 384p.
- **Basli A., Chibane M.,** (2012). Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie : OriganumglandulosumDesf. Phytothérapie 10: P2–9
- **Batty P et Smith G.** (2010) **:**Anticoagulation. Surgery, 28 (6), p243-247.
- **Beddou F.** (2015). Etude phytochimique et activités biologiques de deux plantes médicinales saharienne Rumex vesicarius L. et AnvillearadiataCoss and Dur. Thèse de doctorat en Biologie cellulaire et Biochimie. Université Abou BekrBelkaid Tlemcen. p: 59-68

- **Bekkara et BekkaraAtik, Bousmaha F, Taleb bendiab L, Boti S.A, Casanova J. (2007).** Composition chimique de l'huile essentielle de Rosmarinusofficinalis L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Bio & San*.**( 7)**: 6-11.
- **Békro Y.A., Békroj A.M., Bouab.B., Trab F.H. and Ehilé E.E.**2007 :Etude ethnobotanique et Screningphytochimique de Caesalpiniabenthamiana. (Bai) Herend et Zarucchi (caesalpiniaceae). Rev. Sci. Nat, 4 (2),p217-225.
- **Benarfa N.,** (2005)- Inventaire de la faune apoidienne dans la région de Tébessa. Mémoire Magister, Univ. Mentouri-Constantine. 130 p.
- **Bencheqroun HK., Ghanmi M., Satrani B., Aafi A et Chaouch A.** (2012).Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'Artemisiamesatlantica, plante endémique du Maroc. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège 81 : 4-21.
- **Bendahau M., Nenyoucef M., benkhada D., Elissacosta J.,** (2007). Influence of the processes extraction on essentialoli of origanumgl and ulosum .J. of applied sciences. 8: P 1152-1157.
- **Beniston B**. ; 1982 : Fleursd'Algérie – E.N.A. 2 p 47.
- **Bhat S.V., Nagasampigi B.A. Sivakumar M.** (2005): Chemistry of Natural Products; Ed 1: NAROSA, SPRINGER, p 115-252.**Boisseau M.R, 1996**. Données actuelles sur l'hémostase. Phlébologie, 42 (2) ,p175 –186.
- **Botineau M**. Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Paris : Ed.Tec&Doc, 2010, 1335p
- **Bouakaz I.** (2006). .Etude phytochimique de la plante GenistaMicrocephala. Mémoire de magister. Batna.
- **Boudjouref M.** (2011). Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'Artemisiacampestris L. Mémoire de Magister en Biochimie. Université Ferhat Abbes-Sétif. p: 1-20.
- **Boudjouref M.,** (2011). Etude de l"activitéantioxydante et antimicrobienne extraits d'Artemisiacampestris L. Thèse de Magister en Biochimie. Université Ferhat Abbes, Sétif. Algérie. P99.
- **Boullard B**. (2001);Plantes médicinales du monde réalités et croyances.ESTEM (Ed) Paris. 660p.

- **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.
- **Bouras.F ; Houchi.A.** (2013).: Etude de L'activité Antioxydante de La Plantes Rumex Vesicarius L. Mémoire Master Académique,P28.
- **BoutabiaL., Salah T. E., BouguetofI., GuenadilFetChefrourA.(2016).** Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinusofficinalis*L de la région de Hammamet (Tébessa-Algérie). *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*. **(85)**:174 Ŕ 189.
- **BoutabiaL., Salah T. E., BouguetofI., GuenadilFetChefrourA.(2016).** Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinusofficinalis*L de la région de Hammamet (Tébessa-Algérie). *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*. **(85)**:174 Ŕ 189.
- **Bowen I.H., Cubbin I.J.,** (1992). Menthapiperita and Menthaspicata. In: Adverse Effects of HerbalDrugs, De Smet, P.A.G.M., Keller, K., Hänsel, R., and Chandler, R.F., Eds., Adverse effects of herbaldrugs 1. Springer-Verlag, Berlin. P 171–178.
- **Brahmi I.** (2014).Etude in vitro de l'effet allélotoxique des extraits aqueux des quelque plantes spontanées sur la croissance des quelque moisissures associé aux céréales. Master Académique en Biotechnologie végétale. Université KasdiMerbahOuargla. p : 1-6
- **Bruneton J.** (1999). Composés phénoliques: phénols, acides phénoliques. In: Pharmacognosie: Phytochimie, Plantes médicinales. Tec&Doc. Paris. pp: 249-250.
- **Bruneton J.** (1999). Pharmacognosie. Phytochimie Plantes médicinales, 3ème Ed Techniques et documentations. Paris. Pp : 227-310-312-313-314.494.
- **Bruneton J.** (1993) **:**Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques et Documentation. Ed. Lavoisier. Paris, p 274-285.
- **Bruneton J.,** (1993). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales. Paris, Lavoisier. P 623- 915. -Bruneton J., (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème Ed. Paris. P 101-120-533-536-1120.
- **Burt S.,** (2004). Essential oils: theirantibacterialproperties and potential application in foods-a review. International journal of foodmicrobiology, 94: p 223-253.

- **Caen, J., Lrrieu, M.J., Samama, M.** (1975) **:**L'hémostase : méthodes d'exploration etdiagnostic pratique (2éme éd), Expansion Scientifique Francaise (Paris), p15-20.
- **CALABRESE, V ; SCAPAGNINI, G ; CATALONA, C ; DINOTTA, F ; GERACI, D ET MARGANT,P** (2000)-Biochemical studies of o naturel antioxidant isolated from rosemaryand its application in cosmetic dermatology. Int. J. Tissue Reac. Vol.22,pp:5-13.
- **Calsalmiglia S., Busquet M., Cardozop W., Castillejos L., Ferret A.** (2007). Invitedreview: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. Journal of dairy science. Vol. (90): P 2580–2595.
- **Caquet R., 2004 :**250 examens de laboratoire : prescription et interprétation (9éme Ed), Masson (Paris); p 388-389.
- **Catier O., Roux D.** (2007). Botanique, pharmacognosie, phytothérapie : Cahiers du préparateur en pharmacie. 3eme ed. France : Walters Kluwer
- **Cavero S., Jaime L., Martin-Ălvarez P. J., Señoráns F. J., Reglero G. et Ibañez E**. 2005. *In vitro* antioxidant analysis of supercritical fluid extracts from rosmary (*Rosmarinus officinalis* L). *Europeanfoodresearch and technology*.,**221**: 478-486.
- **Chaabna N. (**2014**).** Activité anticoccidienne des extraits d'Artemisia herba alba .Thèse de Magister en biologie et physiologie végétale. Université Ferhat Abas Sétif. p: 57**.**
- **Chaouch N,** (2001). Etude des Alcaloïdes dans la coloquinte Colocynthisvulgaris L Schrad (cucurbitacées) Région de Oued N'sa (wilaya de Ouargla), mémoire de magister ; Université de Ouargla. P 44.
- **Chastrette M**. Histoires de grands parfums anciens et moins anciens(consultéle 18/11/2014.
- **Chikhoune.,** (2007). les huiles essentielles d'espèces de thym et d'origan. Memoir de magister, INA. Alger. P 118.
- **COLLIN S., CROUZET J.** (2011). Polyphénols et procédés. En France par EMP. S.S.A., Paris, p 5.
- **Collin, S., etCrouzet, J. (2011). Polyphénols et procédés. Edition Lavoisier TEC & DOC, p 5-13- 16-235.**
- **Colvin, B.T. (2004):** Physiology of haemostasis.VoxSanguinis, 87(1): 43-46.
- **Couplan F.,** (2000). Dictionnaire étymologie de botanique .Nestlé (Ed). Luisane. Paris.

- **Couplan, F**. (2009).le régale végétal : plantes sauvages comestibles. sang de la terre.2éd,paris .404 p :370.**Claire H.,**(1994). Contribution à l'étude pharmacologique des extraits de Rosmarinuofficinalis L ., et notamment des jeunes pousse:s activités cholérétiques anti-hépatotoxiques
- **Cowan M M.** (1999) .Plant products as antimicrobial agents. ClinMicrobiol. Rev. 12 564-582. Cueva C., Moreno-Arribas M V., Martin-Alvarez P J., Bills G ., Vicente M F et Basilio A. (2010) .Antimicrobialactivity of phenolicacidsagainst commensal, probiotic and pathogenicbacteria. Res. Microbiol. 161 372–382
- **Cowan N. M.,** (1999). Plants products as anti microbial agents. ClinicalmicrobiologyReviews. Vol. 12(4): P 564-582. -Crietti I., (1981). Les plantes aromatiques et médicinales, comment les reconnaître et les utilisées, Ed. Atlas. P 128.
- **Cronquist A.,** (1981). An integrated system of classification of flowering plants. Columbia Univ. Press. New York. P 1262.
- **Cyril. T.** (2001) : étude des métabolismes primaires et secondaires de racines transformées de CatharanthusRoseusen, vue du développement d'un modèle cinétique, université de Montréal, p 28.
- **Decaux I.** (2002).*Phytothérapie : Mode d'emploie*. Ed : Le bien public. Pp 6.
- **Delaveau P,** (1982): histoire et renouveau des plantes médicinal, Paris albin Michels :éditeur. p348.
- **Dupont F., Guignard J**.-L. Botanique systématique moléculaire. 14e édition révisée. Issy-les-Moulineaux : Elsevier Masson, 2007, 283p. (Collection des abrégés)
- **Elqaj M., Ahami A. et Belghyti D.,** (2007). La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique "ressourcesnaturelles et antibiotiques". Maroc.
- **Evans, W. J.** (2000)**:** Vitamin E, vitamin C, and exercise. Am J ClinNutr, 72, 647S– 652S.
- **F.Piozzi,J. phytochemestry,** (1996) , vol :6 , p146.
- **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: RosmarinusOfficinalis et Thymus Satureioides. International Journal of Innovation and ScientificResearch .ISSN 2351-8014 Vol. 17 No. 1 Aug., pp: 24-33

- **Fadili K., Amalich S., Soro KN., Bouachrine M., Mahjoubi M., El hilali F., Zair T**. (2015). Polyphenols content and antioxidant of two species from Moroccan high Atlas :*Rosmarinus Officinalis* et *Thymus Satureioides*. Journal of innovation and scientific research, Vol.17, pp.24-33.
- **Farnsworth N. R., Akerele O., Bingel A. S., Soejarto D. D. et Guo Z**., (1986). Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. Bulletin de l'organisation mondiale de la santé.**64** (2) : 159-164.
- **favonoids. Pharmacologytherapeutique.** 96: 317-322, 67-202.
- **Frouhat.Z et Lahcini.B** ; « Lutte biologique par l'huile essentielle de Rosmarinusofficinalis ; mémoire de master académique » ; université de KasdiMerbah de Ourgla ; 2013.
- **GARNIER G., BEZANGER BEAUQUESNEL., DEBRAUX G**., 1961. Ressources médicinales de la flore française .Ed. Vigot Frères. Tome II. Paris.
- **Ghourri,M; Zidane,L ;et Douira ,A**. (2013). Usage des plantes médicinales dans le traitement de Diabète Au Sahara marocain (Tan Tan) .Journal of Animal and Plant Sciences,17 ,2388-2411.
- **Gibbons S.** (2004) . Anti-staphylococcal plant natural Product. Natural Product Rep. 21 263-277.
- **Gibbons S.,** (2008). Phytochemicals for BacterialResistance-Strengths, Weaknesses And Opportunities. Planta Medica, 74 (6): P 594-602.
- **Gilly G**. Les plantes aromatiques et huiles essentielles à Grasse : botanique, culture,chimie, production et marché. Paris : L'Harmattan, 2005, 414p.
- **Girardel J.M et Samama C.M.** (2006) **:** Les nouveaux antithrombotiques: une thérapeutique en mutation, des perspectives d'avenir New anticoagulant agents: the presentand the future. Réanimation, 15,p 117-123.
- **Gorham J.,** (1977). Lunularicacid and relatedcompounds in liverworts, algae and hydrangea. Phytochemistry. Vol. (16): P 249-253.
- **Guignard J.L.,** (1996). Biochimie végétale. Ed. Masson, Paris. France. P 274.
- **Guignard J.L., Cosson L., Henry M.,** (1985). Abrégé de phytochimie. Ed Masson. p175203.

- **Hammami S., Abdesselem M.,** (2005). Extraction et analyse des huiles essentielles de la menthe poivrée de la région de Ouargla. Thèse IngUniv Blida. P 69.
- **Hamza N.** (2011). Effets préventif et curatif de trois plantes médicinales utilisées dans la Wilaya de Constantine pour le traitement du diabète de type 2 expérimental induit par le régime «High fat» chez la souris C57BL/6J. Thèse de doctorat en Sciences Alimentaires. Université de Mentouri-Constantine.
- **Harborne J.B.,** (1973). Phytochemicalmethods, London. Chapman and Hall, LTD. P 49188.
- **Harborne J.B.,** (1982). Introduction to Ecologicalbiochemistry. AcademicPress, London.
- **Harborne J.B., Williams C.A.,** (2000). Advances in flavonoidsresearchsince 1992. Phytochemistry, 55: P 481–504.
- **Harding J**. Bienfaits des herbes & des plantes : un guide pour la culture et l'utilisation des herbes aromatiques et des plantes médicinales. Bath :Parragon, 2011, 256p.
- **Havsteen.B.** (2002)**:** The biochemistry and medicalsignificances of the favonoids. Pharmacologytherapeutique. 96: 317-322, 67-202.
- **HEGNAUERR, .,** (1966), ChimiotaxonomiederPlanzen,B ALE-STUTTGART: Ed BirkhâuserVerlag, Tome lV, 289-346.
- **Helmut Genaust,** ***EtymologischesWörterbuch der botanischenPflanzennamen***,**Meigs**,P (1960). Les plantes médicinales des régions arides. l'organisation des nations unies pour l'éducation ; Unesco. 7ed .Paris.99p :52.
- **Hennebelle T**. (2006). Investigation chimique, chimiotaxonomiqueetpharmacologique de lamiales productrices d'antioxydants: Marrubiumperegrinum, Ballota larendana, Ballota seudodictamnus (Lamiacées) et Lippia alba (Verbénacées). ThesedeDoctoratUniversite des sciences et technologies de lille 1, lille, Pp 304.
- **Herbert R.B.** (1989)**:** The Biosynthesis of secondarymetabolites. Ed.(2è) .Chapman and Halle 2, p 11 - 15.
- **Hopkins W. G.,** (2003). Physiologie végétale. 2éme édition américaine, de Boeck et Lancier S A, Paris. P 514. -Hordé P., (2014). Plantes médicinales-Définition. Consulté le 8 juillet 2015.
- **Hopkins, W. G.** (2003) **:** Physiologie végétale. 2ème édition. Edition de Boeck Université, p 268,280.

- **I.T.E.I.P.M.I.,** (1991).Généralités sur le romarin (Rosmarinusofficinalis L.).Fiches techniques élaborées à partir de sources multiples. Mise à jour (Janvier), pp.2-5,7-12.
- **Ibañez E, Kubátová A, SeñoránsF ,Cavero S, Reglero G. et Hawthorne S. B.** ( 2003). Subcritical water extraction of antioxidant compounds from rosmary Plants. *Journal of Agricultural and Food Chem,* **51** (2): 375-382.
- **Ibañez E., Cifuentes A., Crego A. L., Señoráns F. J., Cavero S. et Reglero G**. (2000).Combined use of supercritical fluid extraction, Micellar electrokinetic chromatography and reverse phase high performance liquid chromatography for the analysis of antioxidants from Rosmary (*Rosmarinus officinalis* L). *Journal of Agricultural and Food chemistry*.,**48** (9) :4060-4065.
- **Iserin P ; Masson M ;Restellini J P.** (2007) : Larousse des plantesmédicinales. Identification, préparation, Soins .Ed. Larousse, Paris. France. p335.
- **Iserin P., Masson M., Restellini J-P., Ybert E., De Laage de Meux A., Moulard F., Zha E., De la Roque R., De la Roque O., Vican P., Deelesalle –Féat T., Biaujeaud M., Ringuet J., Bloth J. et Botrel A. (2001).** Larousse des plantes medicinales : identification, préparation, soins. Ed Larousse. p10-12.
- **Iserin P., Masson M., Restellin J.P.,** (2007). Larousse des plantes médicinales. Identification, préparation, Soins .Ed. Larousse, Paris. France. P 335.
- **Iserin P., Masson M., Restellini J.P., Yberte E., De Laage De Meux A., Moulard F., Zha E., De La Roque R., De La Roque O., Vica P., Deelesalle-Feat T., Biaujeaud M., Ringuet J., Bloth J., Botrel A.,** (2001). Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. 2éme édition de VUEF, Hong Kong. P 335.
- **Jean-Claude Rameau et al**.,*Flore forestière française: Région méditerranéenne*, 2008.
- **Jean-Jacques Macheix.** (1996). Les composés phénoliques des végétaux : quelles perspectives à la fin du XXème siècle?, Acta BotanicaGallica, 143:6, 473-479, DOI : 10.1080/12538078.1996.10515344
- **Jean-Marie Polese**, *La culture des plantes aromatiques*, 2006.
- **Jones J. D., Dangl J. L.,** (2006). The plant immune system, Nature, 444: P 3
- **Judd C., Kellogg S.,** (2002). Boutaniquesysthématique une prespective phylogénétique. 1ére Ed, Boeck, Paris. P168.

- **Kalla A,** (2012). Etude et valorisation des principes actifs de quelques plantes du sud algérien : Pituranthosscoparius, Rantheriumadpressum et Traganumnudatum. Thèse doctorat. Université Mentouri – Constantine.
- **Kansole M.,** (2009). Etude ethnobotanique, phytocuimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de Leucasmartinicansis (Jacquin) Brown, Hoslundiaopposstavahl et Orthosiphonpallidusroyle ex benth. Mémoire pour obtenir un diplôme Diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso.
- **Kateb. J** ; « Le travail sur la culture des plantes médicinales » ; Edition Masson ; aris ; 1989 ; pp14.
- **Kennedy, D.O., Scholey, A.B.** (2006).The Psychopharmacology of European Herbs with Cognition-Enhancing Properties. Current Pharmaceutical Design, 12, 4613-4623.
- **KOUBISSI H**., (2002). Dictionnaire des herbes et des plantes médicinales. Édition Daar el kooub el Elmia Bierut, Liban, 82 L'agriculture, Rapport général des résultats définitifs.
- **Lahlou M.,** (2004). Methods to studyphytochemistry and bioactivity of essential oils. Phytother. Res., 18: P 435- 448.
- **Lamarti A, Badoc A, Deffieux J, Carde J.,** (1994). Biogenèse des monoterpènes. Journal de pharmacologie, 13 : p 69-118.
- **Lamarti A., Badoc A., Deffileux G., et Carde J .P.,** (1994). Biogénèse des monoterpènesIlocalisation et sécrétion. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 133: P 69-78.
- **LemaouiAfaf, 2011.** Activités antioxydante et anticoagulante des huiles essentielles des graines de *Nigellasativa*.L Algérienne. Mémoire Pour l'obtention du diplôme de Magister en Biochimie. Université Ferhat Abbas, Sétif. 72 pp.
- **Levy SB, Marshall B.** (2004)Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. *Journal of Nature Medicine*, ***10***, 122-129.
- **Mahmoudi Y.,** (1990). La thérapeutique par les plantes communes en Algérie. Ed. Palais du livre, Blida. P 71. -Makhloufi A., (2010). Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (Matricariapubescens (Desf.) et Rosmarinusofficinalis L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre. Thèse de Doctorat d'état en Biologie. Université de Tlemcen. P 77.

- **Makhloufi A.** (2017). Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Bechar (Matricariapubescens (Desf.) et Rosmarinusofficinalis L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. Thèse de doctorat d'état en Biologie. Université AboubakerBelkaid. p :4-100
- **Makkar H.P.S.,** (2003). Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcomedetrimentaleffects of feeding tannin-richfeeds. Small Ruminant Research. Vol. (49). P 241-256.
- **Mangan J. L.,** (1988). Nutritionaleffects of tannins in animal feeds. Nutr. Res. Rev. Vol. (1). P 209-231. -Martini M.C., Seiller M., (1999). Actifs et additifs en cosmétologie, Editions Tec & Doc Paris. P 214-219.
- **Marie-Josèphe D J.** (2011). Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l'île de la Réunion: à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin généraliste. Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en médecine, Université Bordeaux 2 - Victor Segalen, p: 164.
- **Martin, S., Andriambeloson, R.** (2002): Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium .Cellular mechanism of vasculoprotectioninduced by polyphenols on the endothelium Annales de cardiologie et d'angéiologie. (51),p 304–315.
- **Mcsweeney C.S., Palmer B., Mcneill D.M. and Krause D.** (2001)**:** Microbial interaction with tannins: nutritionalconsequencesforruminants. Animal Feed Science and Technology. Vol. (91),p: 83-93.
- **Mcsweenry C.S., Palmer B., Mcneill D.M., Krause D.O.,** (2001). Microbial interaction with tannins: nutritionalconsequences for ruminants. Animal Feed Science and Technology. Vol. (91): P 83-93.
- **Mieszczanek J, Harrison L. M, Vlasuk G.P, Cappello M.,** (2004). Anticoagulant peptides from *Ancylostomacaninum*are immunologically distinct and localize to separate structures within the adult hookworm. *Molecular et BiochemicalParasitology*, 133, 319 - 323.
- **Mostefai A.** (2012). Contribution à une étude morphométrique de Romarinusofficinalis L (Lamiacées) dans la région de Tlemcen. Mémoire de Master en Ecologie et Environnement.

- **Mostefai A.** (2012)**.** Contribution à une étude morphométrique de *Romarinusofficinalis L (Lamiacées)* dans la région de Tlemcen. Mémoire de Master en Ecologie et Environnement. UniversitéAbou Baker Belkaid – Tlemcen. p: 3-81.
- **Murry R. D. H., Mendez J., Brown S. A.,** (1982). The Natural Coumarins Occurrence Chemistry and Biochemistry. Ed Chichester John Wiley and Sons, UK. New York. England. P 702.
- **N. Abdoulhoussen**, Romarin officinal, Rosmarinusofficinalis L. (Lamiaceae). Thèse de doctorat, 1990. IRAN.
- **Naghibi F., Mosaddegh M., Motamed S-M. andGhorbani A**. (2005). Labiatae Family in folk Medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2, 63-79.
- **Nasri, I., Hadje Brahim, M.** (2014):Apport des thérapeutiques antioxydantes dans le tratement du daibete, diplôme de master en biologie animal, p 22, 25.
- **Newman D.J., Cragg G.M.,** (2012). Natural Products as Sources of New Drugs over the 30 Yearsfrom 1981 to 2010. J. Nat. Prod. Vol. (75): P 311-335.
- **Nicolas Blot.,** (2012). Atlas illustré des plantes médicinales et curatives. 1ére Ed, Asie, de Borée. P18.
- **Offord E. A., Macé K., Ruffieux C., Malnoë A. et Pfeifer A. M**. (1995). Rosmary components inhibit benzo [a] pyrene-induced genotoxicity in human bronchical cells. *Carcinogenesis*.,**16** (9) : 2057-2062.
- **Okamura N., Haraguchi H., Hashimoto K. etYaghi A**. (1994). Flavonoids in *Rosmarinus officinalis* leaves. *Phytochemistry*.,**37** (5) : 1463-1466.
- **Oomah B.D., Tiger N., Olson M., Balasubramanian P.,** (2006). Phenolic and oxidativeactivities in Narrow-Leafed Lupins (Lupinusangustifolius L). Plant foods for Human Nutrition 61: P 91-97.
- **Packer L.,** (2001). Flavonoids and otherpolyphenols. Ed AcademicPress,California. P 483.
- **Paris M., Hurabielle M.,** (1981). Abrégé de matière médicale (pharmacognosie) Tome. Ed. Masson. P 339. -Pawlowska AM., Deleo M., Braca A., (2006). Phenolics of Arbutusunedo L. (Ericaceae) fruits: Identification of anthocyanins and gallicacidderivatives. J. Agric. Food Chem. Vol. 54 (26): P 10234-10238.
- **Patricia Lanza**. *Lasagna Gardening with Herbs*. 2004.

- **Peeking A., Picand B., Hacene K., Lokiec F., Guerin P.,** (1987). Oligimèresprocyanidoliques (Endotélon) et système lymphatique. Artères et Veines. Publications médicales AGCF. Vol. (6): P 51-178-512.
- **POURRAT, H., LE MEN, J**., (1953), Répartition de l'acide ursoligue chez les Labiées : acide ursoligueHeuxième mémoire), Ann PharmFranç, 2' 190-192.
- **Privas E.,** (2013). Matériaux ligno-cellulosiques «Élaboration et Caractérisation laboration ». Thèse de Doctorat en Science et génie des matériaux, L'École Nationale Supérieure des Mines, Paris. France. P 166.
- **Quezel, P., Santa, S.**(1963) **;** Nouvelle flore de l'Algerie et des regionsdesertiquesméridionales. Tome II. C.N.R.S. (Ed). Paris, 565p.
- **Rasooli I., Fakoor M.H., Yadegarinia D., Gachkar L., Allameh A., Rezaei M.B.,** (2008). Antimycotoxigeniccharacteristics of Rosmarinus officinalis and Trachyspermumcopticum L. essential oils. Food Chemistry: p 135-140.
- **Rasooli I., Shayegh S., Taghizadeh M. *et al***. Phytotherapeutic prevention of dental biofilm formation. PhytotherapyResearch, 2008 ; 22 ; 1162-67.
- **Reclu M**. Manuel de l'herboriste : comprenant la culture, la récolte, la conservation, les propriétés médicinales des plantes du commerce, et un dictionnaire des maladies et des remèdes. Nîmes : C. Lacour, 2004, 160p.
- **Rees M.D., Kennett E.C., Whitelock J.M and Davies M.J**. (2008): Oxidative damage to extracellular matrix and its role in human pathologies. Free radical biology & Medicine 44,p:1973-2001.
- **Romanik G., Gilgenast E., Przyjazn A et Kami M.** (2007).Techniques of preparing plant material for chromatographicseparation and analysis J. Biochem. Biophys. Methods 70:253– 261.
- **Rush** Creek Growers Catalog (2010).
- **Sabrina K.**(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. Sciences du Vivant [q-bio]. Museum national d'histoire naturelle - MNHN PARIS, Français.

- **SANON E**., (1992). Arbre et arbrisseaux en Algérie O.P.U. Ben Aknoun.Algerie N°686 Alger. 121p.
- **Sarni-Manchado P. et Cheynier V.** (2006): Les polyphénols en agroalimentaire. Ed Lavoisier, p :2- 10.
- **SARNI-MANCHADO P., VERONIQUE C.**(2006). Les polyphénols en agroalimentaires. Collection sciences et techniques agroalimentaires, édition TEC et DOC, Paris (France) : 398
- **SCHAUENBERG O**., PARIS F., (1977). Guide to Médicinal Plants. Keats, New Canaan, CT.
- **Seddiek S A., Ali M M., Khater H F et El-Shorbagy M M.** (2011). Anthelminticactivity of the white wormwoodArtemisiaherba-alba againstHeterakisgallinaruminfectingturkeypoults .Journal of Medicinal Plants Research .5 (16): 3946-3957.
- **Sefi M, Fetoui ,Makni M, and NajibaZeghal N.** (2010). Mitigating effects of antioxidant properties of *Artemisia campestris*leaf extract on hyperlipidemia, advanced glycation end products and oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. J. *Food. Chem.Toxicol. (***48)**: 1986–1993.
- **SEMRAU, R**., (1958). IJber die Flavone in der Familie der Labiaten, lnaugDissert, Mûns che7, 1.
- **Sinon L.** (2001). Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne des extraits des feuilles de Dichrostachyscinerae (L.) wight et arn (mimosaceae). Thèse de doctorat en pharmacie. Université d'Ouagadougou Burkina Faso. p: 20
- **Small, E ; Deutsch, G**. (2001) .herbes culinaire pour nos jardin de pays froid. Le conseil nationa Son huile possède de propriété antibactérienne (Small et Deutsch, 2001).l, 3éd, Canada. 205p:157.
- **Staub H., Bayer L**. Traité approfondi de phyto-aromathérapie : avec présentation de 750 huiles essentielles connues. Paris : Grancher, 2013, 685p. (Collection: Le Corps et l'esprit (Paris. 1997)).
- **StephanovitsBanyai E., Tulok M-H., Hegedus A., Renner C., SzololosiVarga L**. (2003). Antioxydant effect of various Rosemary (Rosmarinus Officinalis L.) clones, Vol 47 (1-4) : 111-113.

- **Tache, S.** (2000) :Speciilereactivealeoxigenului si azotului:formaresiconsecin;e. In Dejica D (ed.). Stresuloxidativînbolile interne. CasaCartiidestiinta, Cluj-Napoca, P: 15-76
- **Tadros S. H.,** (1979). Pharmacognosticalstudy of entrolobiumcyclocarpumgrisebgrowing in egypt. Ph. D. thesis.Faculty of pharmacy. Cairouniversity.Florida state horticultural society. P 426.
- **Tela Botanica Association.** (2014) **:** Benoît Bock & al. Référentiel des trachéophytes de France métropolitaine, p : 11.
- **Tresse E et Evans W.C.**(1987). PharmacognosyBilliaire. Ed. Tindall, London, 13,p:61-62.
- **Tripodi A, 2009.**Tests of Coagulation in Liver Disease. *Clin Liver Dis.* 13: 55-61.
- **Velickovic M., Velickovic Z et Dunckley H.**(2006). Diversity of killer cell immunoglobulin-like receptor genes in Pacific Islands populations. Immunogenetics. 58:523–532.
- **Vidal Dictionnaire.** 2009. Editions Vidal, p:3024 .
- **Vogler, A.E., Siedlecki, A.C.**(2009):Contact activation of blood-plasma coagulation.Biomaterials.
- **VOLAK S., STODOLA J**., (1983). Plantes médicinales. Illustrations de Frantisek seven. Ed. Gründ. Paris.
- **Yang L, Sado S, Vincent M, Emmanuel P,.** (2015). Phylogeny and polyploidy Resolving the clafssificationofcyprinine fishes.
- **Yang R. Y., Lin S. et Kuo G**. (2008). Content and distribution of flavonoids among 91 edibles plant species. *Asia of pacific journal of clinical nutrition*.,**17** (S1) : 275-279.
- **Youmbai A,** (2015)**.** Contribution à l'étude des polysaccharides hydrosolubles de quelques plantes de la famille des Apiaceae récoltées dans la région de Ghardaïa (Sahara septentrional Algérien). Mémoire Pour l'obtention du diplôme de Magister en Biologie. Université KasdiMerbah, Ouargla. 64pp.
- **Zegad N.** (2009) **:**Etude contenu polyphénoliques de deux plantes médicinales d'intérêt économique (Thymus vulgaris, Rosmarinusofficinals) et évaluation de leur activité antibactérienne. Thèse magister. Université Constantine.
- **Zeghad N.** (2009). Etude du contenu poly phénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (Thymus vulgaris, Rosmarinusofficinalis) et évaluation de leur

activité antibactérienne. Mémoire de Magister en Biotechnologie Végétale. Université Mentouri- Constantine. p : 8-28

- **Zhou H.Y, Hong J.L, Shu P, Juan Ni Y, Qin M. J .,** (2009)**.** A new coumarin and anticoagulant activity from Viola yedoensis Makino. *Fitoterapia*, 80**:** 283–285.: Pelt J-M. (1980). Les drogues. Leur histoire, leurs effets, Ed. Doin.

# Annexes

**Annexes I:** Matériel de laboratoire

**A/ Appareillage**

<table>
<tr>
<td> <br>Bain-marie</td>
<td> <br>Autoclave</td>
<td> <br>Spectrophotomètre</td>
</tr>
<tr>
<td> <br>coagulomètre</td>
<td> <br>centrifugeuse</td>
<td> <br>Etuve</td>
</tr>
<tr>
<td> <br>Balance de précision</td>
<td> <br>Agitateur magnétique</td>
<td> <br>Pied de coulisse</td>
</tr>
</table>

**B/ Verreries et produits chimique**

| Verreries | Produits chimique |
|---|---|
| **- Pipettes** | -Acide acétique glacière |
| **- Micro pipette (1000 µl, 200 µl)** | - Acide Hydrochlorique |
| **- Tubes à essai** | - Acide sulfurique |
| **- Flacons (250 ml)** | - Acide tartrique |
| **- Erlenmeyer** | - Alcool Amylique |
| **- Papier aluminium** | - Chlorure de fer (FeCl3) |
| **- Béchers** | - Chloroforme-Eau distillée |
| **- Spatule** | - Chlorure de fer |
| **- Anse de platine** | - Chlorure de sodium Na Cl |
| **- Entonnoir** | - Ethanol |
| **- Eprouvette** | - Hydroxyde de sodium |

**C/ Réactif utilisés:**

- Réactif de Wagner

Ce réactif est composé d'un mélange de 1.27 g d'Iode et 2.0 g d'Iodure de potassium dissout dans 75 ml d'eau distillée. Ce mélange est jaugé jusqu'à l'obtention de 100 ml de la solution.

- Réactif de Liqueur de Fehling

- Réactif de thromboplastine

**Annexes II**

A/ Diamètre des zones d'inhibition des extraits éthanoliques des feuilles de *rosmarinus officinalis* L.

| Souche **bactérienne** | **Répétition** | **Concentration d'extrait (Mg/ml)** | **Diamètre de la zone d'inhibition en (mm)** |
|---|---|---|---|
| *E. Coli* | Boite 1 | $Tm^+$ | 16,1 |
| | | Sm | 19,7 |
| | | 1/2 | 24,6 |
| | | 1/4 | 22,2 |
| | | 1/8 | 19,9 |
| | Boite 2 | $Tm^+$ | 16,3 |
| | | Sm | 20,1 |
| | | 1/2 | 24,1 |
| | | 1/4 | 20,9 |
| | | 1/8 | 18,4 |
| | Boite 3 | $Tm^+$ | 16,5 |
| | | Sm | 20,3 |
| | | 1/2 | 23,2 |
| | | 1/4 | 21,3 |
| | | 1/8 | 18,2 |
| *P.aeruginosa* | Boite 1 | $Tm^+$ | 10,4 |
| | | Sm | 9,4 |
| | | 1/2 | 7,8 |
| | | 1/4 | 9,2 |
| | | 1/8 | 11,6 |
| | Boite 2 | $Tm^+$ | 9,7 |
| | | Sm | 9 ,1 |
| | | 1/2 | 8,4 |
| | | 1/4 | 10,1 |
| | | 1/8 | 12,3 |
| | Boite 3 | $Tm^+$ | 10,1 |
| | | Sm | 9,6 |
| | | 1/2 | 7,3 |
| | | 1/4 | 9 |
| | | 1/8 | 11,4 |
| *S.aureus* | Boite 1 | $Tm^+$ | 13,2 |
| | | Sm | 12,2 |
| | | 1/2 | 11,5 |
| | | 1/4 | 12,2 |
| | | 1/8 | 12,7 |
| | Boite 2 | $Tm^+$ | 12,7 |
| | | Sm | 11,4 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| | | 1/2 | 10,1 |
| | | 1/4 | 12,4 |
| | | 1/8 | 11,2 |
| | Boite 3 | $Tm^+$ | 12,8 |
| | | Sm | 11,7 |
| | | 1/2 | 10,8 |
| | | 1/4 | 11,9 |
| | | 1/8 | 11,9 |

B/ Tableau des diamètres des zones d'inhibition des extraits aqueux des feuilles de *rosmarinus officinalis* L.

| Souche **bactérienne** | **Répétition** | **Concentration d'extrait (Mg/ml)** | **Diamètre de la zone d'inhibition en mm** |
|---|---|---|---|
| **E. Coli** | Boite 1 | $Tm^+$ | 15,8 |
| | | Sm | 9,4 |
| | | 1/2 | 7,6 |
| | | 1/4 | 8,7 |
| | | 1/8 | 8,1 |
| | Boite 2 | $Tm^+$ | 16,3 |
| | | Sm | 10,1 |
| | | 1/2 | 6,9 |
| | | 1/4 | 9,1 |
| | | 1/8 | 9,4 |
| | Boite 3 | $Tm^+$ | 16,1 |
| | | Sm | 9,1 |
| | | 1/2 | 7,4 |
| | | 1/4 | 8,3 |
| | | 1/8 | 8,6 |
| **Pseudomonas** | Boite 1 | $Tm^+$ | 8,6 |
| | | Sm | 7,2 |
| | | 1/2 | 7,6 |
| | | 1/4 | 7,9 |
| | | 1/8 | 11,6 |
| | Boite 2 | $Tm^+$ | 8,1 |
| | | Sm | 7,1 |
| | | 1/2 | 7,4 |
| | | 1/4 | 7,6 |
| | | 1/8 | 9,7 |
| | Boite 3 | $Tm^+$ | 8,2 |
| | | Sm | 7,9 |
| | | 1/2 | 7,3 |
| | | 1/4 | 8,2 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| | | 1/8 | 10,1 |
| **staphylococcus** | Boite 1 | $Tm^+$ | 11,2 |
| | | Sm | 8,8 |
| | | 1/2 | 9,6 |
| | | 1/4 | 8,3 |
| | | 1/8 | 10,7 |
| | Boite 2 | $Tm^+$ | 11,1 |
| | | Sm | 8,3 |
| | | 1/2 | 9,3 |
| | | 1/4 | 9,1 |
| | | 1/8 | 11,2 |
| | Boite 3 | $Tm^+$ | 11,8 |
| | | Sm | 7,9 |
| | | 1/2 | 10,4 |
| | | 1/4 | 9,6 |
| | | 1/8 | 11,9 |