



Licence Sciences et Techniques (LST)

GENIE CHIMIQUE

PROJET DE FIN D'ETUDES

Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique, éthanoliques et aqueux des deux variétés de la plante *Rosmarinus officinalis* L.

◆ Présenté par :

MERROUNI Lamyae

◆ Encadré par :

Dr RAIS Chaimae

Pr ZARGUILI Ikbal

Soutenu Le 07 Juillet 2021 devant le jury composé de :

- Pr ZARGUILI Ikbal
- Pr HAZM Jamal Eddine
- Pr OULMEKKI Abdellah

Stage effectué à l'Agence Nationale des Plantes Médicinales et Aromatiques- TAOUNATE

Année Universitaire 2020 / 2021

Dédicace

Du profond de mon cœur, je dédie ce travail à ma chère mère

A mon père

A toute ma famille

A tous mes amies et mes collègues

A tous de m'apporter chacun à votre manière quelque chose dans ma vie.

Remerciement

En premier lieu, Je remercie le Directeur de l'Agence Nationale des Plantes Médicinales et Aromatiques (ANPMA) **Monsieur Abdelkhalek Farhat** qui m'a donnée la chance de réaliser un stage dans un climat ambiant et accueillant.

Je tiens à remercier mon encadrante **Dr RAIS Chaimae** responsable de laboratoire de phytochimie pour l'aide précieuse qu'il nous a apporté, pour ses remarques et ses conseils avisés, qui nous ont permis de mener à bien ce travail.

Je remercie mon encadrant **Pr ZARGUILI Ikbal** d'avoir accepté de diriger ce travail. Merci également pour sa disponibilité et gentillesse.

Je tiens à remercier vivement la doctorante **Chaimae SLIMANI**, pour ses idées et ses aides, pour les conseils qu'elle m'a accordée durant tout le stage.

Mes remerciements vont aussi aux membres de jury : **Pr HAZM Jamal Eddine**, **Pr OULMEKKI Abdellah**.

Je remercie aussi tout le personnel de l'agence nationale des plantes médicinales et aromatique qui m'ont aidé à faire ce travail.

Enfin, pour leur soutien sans faille et permanent, je tiens à remercier de tout cœur ma chère mère, mon frère et mes amies.

Présentation de l'Agence National des Plantes Médicinales et Aromatiques

L'Agence Nationale Des Plantes Médicinales Et Aromatiques (ANPMA) de TAOUNATE.

L'ANPMA est l'unique agence Marocaine de recherche scientifique et de développement l'innovation dans le domaine des Plantes Médicinales et Aromatiques.

Elle assure un rôle de coordination entre les institutions et organismes concernés. Elle est chargée notamment de :

- Elaborer et exécuter des travaux de recherches scientifiques.
- Elaborer et mettre à jour un référentiel des PMA.
- Créer une base de données référentielle nationale des PMA.
- Contribuer à la création d'incubateurs d'entreprises dans le domaine des PMA.
- Effectuer des Expertises scientifiques, sur demande, au profit des personnes publiques et privées.
- Organiser des séminaires, des stages et des conférences sur les plantes médicinales et aromatiques.
- Conclure des partenariats avec des établissements de recherche publics et privés.
- Participer aux travaux des organismes nationaux et internationaux relevant de ses attributions.
- Prendre des participations dans les entreprises publiques ou privées (20% du capital social).
- Créer des filiales (50% du capital).

Résumé

Les plantes aromatiques et médicinales représentent une source de métabolites secondaires biologiquement actifs tels que les polyphénols et les flavonoïdes. Ces substances présentent plusieurs propriétés biologiques, telles que les activités antimicrobienne, anti-inflammatoire et antioxydante. L'objectif de notre travail vise la valorisation de deux variétés de la plante *Rosmarinus officinalis* par la quantification des teneurs en composés phénoliques, et l'évaluation de l'activité antioxydante de leurs extraits.

Les dosages des composés phénoliques ont été évalués par la méthode de Folin-Ciocalteu pour les polyphénols et par la méthode des d'AlCl₃ pour les flavonoïdes. Les résultats obtenus ont révélé une richesse des extraits méthanoliques par rapports aux autres extraits testés en polyphénols avec des teneurs de 97,42 mg EAG/g et 83,65 mg EAG/g et en flavonoïdes avec des teneurs de 56,49 mg EQ /g et 65,04 mg EQ /g pour *Rosmarinus officinalis prostratus* et *Rosmarinus officinalis* respectivement.

L'évaluation de l'activité antioxydante des différents extraits des deux variétés de la plante étudiée ont été quantifiées par le test de DPPH et le test de CAT. D'après l'analyse des résultats obtenus, nous avons pu montrer que l'extrait méthanolique de ces deux variétés présente les teneurs les plus élevées par rapport à l'extrait éthanolique et aqueux. Ainsi, l'IC₅₀ pour le test de DPPH est égale à 0,0339 mg/ml (*Rosmarinus officinalis*) et 0,0384 mg/ml (*Rosmarinus officinalis prostratus*). Pour le test de CAT, nous avons enregistré des teneurs de 108,96 mg EAA/g et 82,81 mg EAA/g pour *Rosmarinus officinalis* et *Rosmarinus officinalis prostratus* respectivement. Ceci, nous permet de souligner que l'extrait méthanolique, représente l'extrait le plus actif.

Les résultats obtenus peuvent être considérés comme très prometteurs et justifient la poursuite des recherches, entre autres, sur l'identification des composants antioxydants dans les extraits des plantes.

Mots clés : *Rosmarinus officinalis* ; *Rosmarinus officinalis prostratus* ; Extrait ; Composés phénoliques ; Activité antioxydante.

Liste des Abréviations

Abs : Absorbance

AlCl₃ : Trichlorure d'Aluminium

ANPMA : Agence Nationale des plantes médicinales et aromatiques

BHT : Butyle hydroxytoluène

CAT : Capacité antioxydante totale

Chl : Chlorophylle

DMSO : Diméthyle sulfoxyde

DPPH : 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl

EA : Extrait aqueux

EAA : Equivalent d'acide ascorbique

EAG : Equivalent d'acide gallique

EE : Extrait éthanolique

EM : Extrait méthanolique

EQ : Equivalent en quercétine

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

H₂SO₄ : Acide sulfurique

IC₅₀ : Concentration inhibitrice 50 %.

Na₂NO₃ : carbonate de sodium

NaNO₂ : Nitrite de sodium

OMS : Organisation mondiale de la Santé.

PAM : Plantes médicinales et aromatiques

Pf : Poids frais de la plante

Ps : Poids sèche de la plante

R. officinalis : *Rosmarinus officinalis*

Listes des figures

Figure 1 : Rosmarinus officinalis	4
Figure 2: Rosmarinus officinalis prostratus	4
Figure 3: Effets biologiques des polyphénols (Martin et Andriantsitohaina, 2002)	9
Figure 4: Structure de base des flavonoïdes (Dacosta, 2003).	10
Figure 5: Schéma de l'extraction par sonication.	14
Figure 6: Forme libre et réduite du DPPH (Mohammedi, 2006)	17
Figure 7 : teneur en chlorophylle totale (g/l) de R. officinalis et R. officinalis prostratus	19
Figure 8 : Teneur en polyphénols totaux de R. officinalis et R. officinalis prostratus.....	20
Figure 9 : La teneur en flavonoïde de R. officinalis et R. officinalis prostratus	22
Figure 10 : pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration des extraits de R. officinalis et BHA.	23
Figure 11 : pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration des extraits de R. officinalis prostratus et BHA.	24
Figure 12 : La capacité antioxydante totale des différents extraits de Rosmarinus officinalis et Rosmarinus officinalis prostratus.....	25

Liste des tableaux

Tableau 1 : Teneur en eau de *R. officinalis* et *R. officinalis prostratus*.

Tableau 2 : IC50 (mg/ml) des extraits de *R. officinalis et Rosmarinus* et *R. officinalis prostratus et de BHT*.

Table des matières

Dédicace	
Remerciement	
Présentation de l'Agence National des Plantes Médicinales et Aromatiques	
Résumé	
Liste des Abréviations	
Listes des figures	
Liste des tableaux	
Introduction Générale.....	1
Partie 1 : Etudes Bibliographiques	
I. Plantes Médicinales et Aromatiques.....	2
1. Généralités.....	2
2. Domaine d'application des PAM.....	2
3. Secteur des PAM au Maroc.....	3
II. Présentation des plantes étudiées.....	4
1. Classification taxonomique.....	4
2. Description botanique et répartition géographique.....	4
2.1 <i>Rosmarinus officinalis</i>	4
2.2 <i>Rosmarinus officinalis prostratus</i>	5
3. Composition phytochimique.....	5
4. Utilisation.....	6
5. Propriétés biologiques et pharmacologiques.....	7

III.Classifications biochimiques.....	7
1. Métabolites primaires	7
2. Métabolites secondaires	7
2.1 Polyphénols.....	8
2.2 Flavonoïdes	9
IV.Activité antioxydante	10
1. Radicaux libres	11
2. Stress oxydatif	11
3. Les antioxydants.....	11
V.Méthode d'extraction.....	12
1. Le choix du solvant	12
2. Extraction par Macération.....	12
3. Extraction par Soxhlet.....	12
4. Extraction par Sonication	13
 Partie 2 : Matériels et Méthodes	
I.Matériel végétal.....	14
II.Méthodes.....	14
1. Extraction par sonication.....	14
2. Analyses physiologiques	15
2 .1 Détermination de la teneur en eau	15
2 .2 Détermination de la teneur en chlorophylles.....	15
3. Analyses phytochimiques.....	15
3 .1 Dosage des polyphénols totaux	15

3.2 Dosage des flavonoïdes	16
4. Evaluation de l'activité antioxydante	16
4.1 Test au DPPH	16
4.2 Capacité antioxydante totale (CAT).....	18
III.Analyses statistiques	18
Partie 3 : Résultats et Discussions	
I.Teneur en eau	19
II.Teneur en chlorophylles	19
III.Teneur en polyphénols totaux	20
IV.Teneur en flavonoïdes	21
V.Evaluation de l'activité antioxydante	22
1. Test par diphényle-picryl-hydrazyl (DPPH)	22
2. Capacité antioxydante totale (CAT).....	24
Conclusion.....	26
Références Bibliographiques.....	27
Annexes	Erreur ! Signet non défini.

Introduction Générale

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses ressources trouvées dans son environnement afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies. Actuellement, l'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 80% des habitants de la terre ont recours aux préparations traditionnelles à base de plantes en tant que soins de santé primaire (Lhuillier, 2007). Ainsi, l'étude de la chimie des plantes est toujours d'une brûlante actualité malgré son ancienneté. Cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante d'une immense variété de molécules bioactives (Ferrari, 2002).

En outre, l'utilisation des molécules antioxydants de synthèse et actuellement remise en cause de risque toxicologiques potentiels (Suhaj 2006 ; Tdhaoui 2007). En effet, les plantes aromatiques et médicinales constituent une grande source d'antioxydants naturels. Leur rôle suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement de plusieurs maladies, ils sont également utilisés comme additifs en industrie agro-alimentaires, pharmaceutique et cosmétiques (Varbanetal, 2009 ; sulhaj, 2006).

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à la valorisation de ce patrimoine végétal. *Rosmarinus officinalis* fait l'objet de récentes recherches dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et agro-alimentaires. C'est un arbrisseau aromatique de la famille des Lamiaceae, appréciée pour ses propriétés aromatiques, antioxydantes, antimicrobiennes, antispasmodiques, emménagogues et antitumorales, largement utilisée dans les produits pharmaceutiques et en médecine traditionnelle (Atik Bekkara et *al.*, 2007).

Ainsi, le présent travail, a pour objectif d'étudier la teneur en composés phénoliques par dosage spectrophotométrique des extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux de deux variétés de *Rosmarinus officinalis* ainsi que d'évaluer leurs pouvoirs antioxydants via deux techniques (DPPH et CAT).

Pour se faire, nous avons abordé dans la première partie de cette étude les différentes connaissances bibliographiques sur les deux variétés de la plante étudiée.

Dans la deuxième partie, nous avons développé le matériel végétal utilisé et l'ensemble des méthodes utilisées.

La troisième partie est consacrée aux résultats obtenus, leur discussion et interprétations ;

Enfin, une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus suivi par des perspectives importantes qui font suite à ce travail.

Partie 1 : Etudes Bibliographiques

I. Plantes Médicinales et Aromatiques

1. Généralités

Les plantes médicinales et aromatiques connues par leurs propriétés biologiques intéressantes sont utilisées dans divers domaines à savoir en médecine, en pharmacie, en cosmétologie et en agriculture.

Environ 35000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (Ahmad,1995).

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

Aujourd'hui, les plantes ont montré leurs efficacités thérapeutiques prouvées et leurs bienfaits incontestables pour notre santé (Newman et *al.*, 2000).

2. Domaine d'application des PAM

Les plantes médicinales sont des plantes dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (Omar et Mohammed El haykle,1993).

Elles sont impliquées dans différents secteurs sous formes de principes actifs, des huiles, des extraits, des solutions aqueuses ou organiques (Iserin,1996). Elle contient, au niveau de ses organes, un ou plusieurs principes actifs utilisables à des fines thérapeutiques.

Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmaceutique et l'élaboration des médicaments, directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments ou comme modèle pour les composés pharmaceutiques actifs. En effet, ces espèces contiennent des huiles essentielles dotées d'activités antimicrobiennes intéressantes et peuvent servir d'agents de conservation alimentaires (Mohammadi, 2006).

Les plantes aromatiques sont à l'origine des aromates. On les utilise en cuisine, en cosmétiques, et en phytothérapie pour les arômes qu'elles dégagent, et leurs huiles essentielles

que l'on peut extraire. Ces plantes aromatiques sont cultivées selon les besoins pour leurs feuilles, tiges, bulbes, racines, graines, fleurs, écorce...

Les plantes aromatiques et médicinales ont une valeur thérapeutique importante et l'intérêt de ces plantes ne cesse de grandir. (Exemple : *Foeniculum vulgare* est utilisée pour le remède des douleurs abdominales et les graines de cette espèce sont utilisées pour la production d'un médicament pour soigner les troubles digestifs (Messkgue, 1975 ; Iserin, 1997).

3. Secteur des PAM au Maroc

Le secteur des plantes aromatiques et médicinales (PAM) au Maroc est l'un des plus riches au monde, en raison de sa diversité plus de 4.200 espèces ont été identifiées dont 800 endémiques et 600 classées comme produits à usage médicinal et/ou aromatique, ce qui lui a permis d'être classé deuxième mondialement après la Turquie et 12^{ème} mondialement au niveau de l'export, avec un volume de 52.000 tonnes de plantes et 5.000 tonnes d'huiles essentielles extraites. Ces produits sont destinés essentiellement à l'Europe et les Etats-Unis », (Abdelkhalek Farhat, Directeur général de ANPMA).

Les principaux produits exportés sont le thym, l'huile d'argan, les roses, le *R. officinalis*, les truffes et la caroube.

Le Maroc se caractérise par la présence d'un grand nombre d'unités de production de petites et moyennes tailles et qui, pour la plupart, ont vu le jour ces trois dernières décennies. Il s'agit principalement :

- Des sociétés étrangères ou filiales de groupes étrangers spécialisées dans la production de molécules naturelles, d'infusettes et dérivés de PAM et dont le nombre est réduit à quelques unités ;
- Des sociétés agro-industrielles marocaines qui essayent de couvrir tous les maillons de la filière depuis la culture passant par la transformation jusqu'à la commercialisation. Leur nombre est également limité et elles sont basées généralement dans les grandes agglomérations (Casablanca, Marrakech) ;
- Des sociétés spécialisées dans la commercialisation des plantes séchées que ce soit de culture (verveine, bouton de roses, fleur d'oranger, sauge, feuille de vigne rouge, feuille d'olivier ...) ou spontanées (*R. officinalis*, myrte, menthe pouliot, mauve, ...) ;
- Des sociétés spécialisées dans l'extraction des huiles essentielles et extraits aromatiques.

II. Présentation des plantes étudiées

1. Classification taxonomique

La classification hiérarchique du *Rosmarinus officinalis* et *Rosmarinus officinalis prostratus* a été déterminée selon (Goetz et Ghedira, 2012) :

- **Règne :** Plantae
- **Embranchement :** Magnoliophyta
- **Classe :** Magnoliopsida
- **Ordre :** Lamiales
- **Famille :** Lamiaceae
- **Genre :** *Rosmarinus*
- **Espèce :** *Rosmarinus officinalis* L
- **Variété :** *Rosmarinus officinalis prostratus*



Figure 1 : *Rosmarinus officinalis*



Figure 2: *Rosmarinus officinalis prostratus*

2. Description botanique et répartition géographique

2.1 *Rosmarinus officinalis*

Rosmarinus officinalis est une plante appartient à la famille des Lamiaceae. Elle se présente sous forme d'arbuste sous arbrisseau ou herbacée (Atik bekkara et *al.*, 2007), mesurant environ de 0.8 à 2m de hauteur (Gonzalez-Trujano et *al.*, 2007). Les feuilles sont étroitement lancéolées linéaires, friables et coriaces, les fleurs d'un bleu pâle, maculées intérieurement de violet sont disposées en courtes grappes denses s'épanouissent presque tout au long de l'année (Atik bekkara et *al.*, 2007).

Le Rosmarinus officinalis est originaire du bassin méditerranéen (Iserin,2001), au Maghreb où il est très fréquent (Kaddem, 1990), il est répandu dans le Rif oriental, le Moyen Atlas oriental, le Haut Atlas oriental et les hauts Plateaux de l'Oriental. Il est sub-spontané en plusieurs endroits privilégiant un sol calcaire, de faible altitude, ensoleillé et modérément sec (Schauenberg et Paris, 1977).

2.2 *Rosmarinus officinalis prostratus*

Rosmarinus officinalis prostratus est une variété du *Rosmarinus officinalis*, Elles se différencient par leur taille maximale (d'une dizaine de centimètres à 2 mètres), leur tenue (vertical ou rampant), la couleur de leurs fleurs (violette, bleue, blanche, rose) et de leurs feuilles, leur rusticité. Elle se présente sous forme d'arbrisseau vivace ligneuse, rameaux, les feuilles persistantes, étroites vertes, blanchâtres dessous, la fleur bleu clair, mauve ou blanchâtre en petite grappe axillaire. Odeur très aromatique camphrée, saveur âpre aromatique amère et un peu piquante.

Rosmarinus officinalis prostratus est cultivé en méditerranée, dans des sols drainés, au soleil (Bremness, 2002). On le cultive du début du printemps, jusqu'à l'été (Poletti, 1988).

3. Composition phytochimique

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).

Les résultats de l'analyse d'HPLC élaborée par (Kosar et al., 2005) et (Luis et al., 2007) ont montré respectivement la composition suivante : lutéoline-glucoside : 2.90 mg/g ; naringine-glucoside : 7.16 mg/g ; lutéoline : 2.45 mg/g ; apigénine : 1.80 mg/g. L'acide vanillique 0.004 mg/g ; l'acide caféique 0.012 mg/g ; naringine 0.570 mg/g ; l'acide rosmarinique 2.080 mg/g ; hispiduline 0.020 mg/g ; cirsimaritrine 0.080 mg/g ; carnosol 0.580 mg/g ; acide carnosique 12.180 mg/g.

L'huile essentielle (1 à 5%) : plus de 50 composants terpéniques qui rentrent dans la composition chimique d'huile essentielle de *R. officinalis* dont les constituants 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).

En plus de l'huile essentielle on trouve dans le *R. officinalis* : 2 à 4% de dérivés triterpéniques tels que : l'acide ursolique, l'acide oléanolique, l'acétate de germanicol ; des lactones

diterpéniques :dérivés de l'acide carnosolique, rosmanol, rosmadial , des acides phénoliques , des acides gras hydroxylés surtout des dérivés de l'acide décanoïque , des acides gras organiques : l'acide citrique, glycolique et glycérique , des stérols, de la choline, du mucilage (Bellakhdar, 1997) et de la résine (Beloued, 1998).

Le criblage phytochimique de l'extrait ethanologique des parties aériennes du *R. officinalis* a indiqué la présence des flavonoïdes, des tannins et des saponines, (Gonzalez-Trujano et *al.*, 2007).

18 éléments minéraux ont été identifiés par la spectrométrie d'émission atomique, les plus abondants sont : Al : 146.48 mg/kg ; Ca : 7791.80 mg/kg ; Fe : 330.16 mg/kg ; K :14916.23 mg/kg ; Mg : 1634.55 mg/kg ; Na : 2711.87 mg/kg ; P : 1474.60 mg/kg ; Cr :97.36 mg/kg ; Sr : 74 .65 mg/kg (Arslan et *al.*, 2007).

4. Utilisation

- ❖ La tisane de *R. officinalis* était employée en médecine populaire pour stimuler le cœur, soulager les maux de tête, faculté le sommeil et traiter toute une gamme de maux, dont l'asthme, la calvitie, la bronchite, les ecchymoses, le cancer, les frissonnements, le rhume, la toux ; les pellicules, la fièvre, le rhumatisme, et les entorses (Small et Deutsch, 2001).
- ❖ Les feuilles de *Rosmarinus officinalis* sont utilisées contre le diabète à raison de 500 grammes par un litre (Ghourri et *al.*, 2013).
- ❖ Comme un bain circulatoire ; Il est indiqué pour les jambes grosses et douloureuses (Goetz, 2007).
- ❖ Les extraits végétaux de *R officinalis* présentent un pouvoir antioxydant et peuvent être appliqués à la conservation des aliments et des huiles lipidiques (F. piozzi,1996).
- ❖ Son huile possède de propriété antibactérienne est employée commercialement dans divers produits de toilette, parfums, shampoings pour cheveux gras (Small et Deutsch, 2001). Détergent, crème, dentifrice et des bains de beauté (Albert.Y.et al. 1996).
- ❖ Le *R. officinalis* est populaire en cuisine dans toute la région méditerranéenne et même plus au nord, les feuilles et les sommités fleuries servent à révéler de nombreux plats, des salades, desserts (Couplan, 2009)
- ❖ Il est également employé contre les coliques néphrétiques, les vers et les rhumatismes.

- ❖ En usage externe, il combat les règles irrégulières, les pertes blanches, accélère la cicatrisation, guérit les entorses, les foulures et les contusions.
- ❖ En gargarisme, il soigne les affections de la bouche

5. Propriétés biologiques et pharmacologiques

Rosmarinus officinalis a fait l'objet de plusieurs études validant ses effets hépatoprotecteurs (Sotelo-Félix et al., 2002), antibactériens (Gachkar et al., 2007), anti thrombotique (Yamamoto et al., 2005), antiulcéreux (Dias et al., 2000), diurétique (Haloui et al., 2007), antioxydant (Bakirel et al., 2008), anti nococéptique (González-Trujano et al., 2007), anti-inflammatoire (Altinier et al., 2007), antiviral (Aruoma et al., 1996) et antidiabétique (Ghourri et al., 2013). L'utilisation d'huile de *R. officinalis* dans un bain stimule la circulation dermique et améliore l'hémodynamique pour les problèmes d'occlusion artérielle (Rulffs, 1984) soulagement des désordres respiratoires (Souza et al., 2008). Il favorise les fonctions d'élimination rénale et digestive et dans le traitement. Les extraits du *Rosmarinus officinalis* sont utilisés également pour traiter quelques désordres psychologiques comme la dépression (Heinrich et al., 2006 ; Machado et al., 2009). Il est également insecticide (Pavela, 2006 ; Traboulci et al., 2002 ; Rozman et al., 2007), et anti parasitaire (Moon et al., 2000).

III. Classifications biochimiques

La plante est le siège d'une activité métabolique aboutissant à la synthèse des métabolites primaires et secondaires (Hartmann, 2007) ; Il existe deux voies de métabolisme chez les végétaux : le métabolisme primaire, et le métabolisme secondaire.

1. Métabolites primaires

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

2. Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des substances dont les fonctions ne sont pas indispensables à la plante, aux protéines, à l'ADN et à l'ARN. La plupart des métabolites secondaires interviennent dans la défense contre les prédateurs et les pathogènes, comme agents chargés de la pollinisation ou de la dissémination des fruits (Judd et al., 2002).

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).

2.1 Polyphénols

Les composés phénoliques d'origine végétale prennent de plus en plus un grand intérêt vu leurs effets fonctionnels et alimentaires bénéfiques. Outre le prolongement de conservation des denrées alimentaires, ces composés éteignent les effets des radicaux libres et protégeant ainsi le corps humain contre leurs dommages (Cicerale et *al.*, 2009)

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, caractérisés par la présence au moins d'un noyau benzénique possédant un ou plusieurs groupes hydroxyle ainsi que des groupes fonctionnels (Ester, Méthyle ester, Glycoside...) (Bruneton, 1999). Dont les cycles aromatiques sont issus du métabolisme de l'acide shikimique (voie de phénylpropanoïde) (Hopkins, 1995). Ou de celui d'un polyacétate (Bruneton, 2009).

Ils ont des fonctions différentes dans les différentes espèces (Marrouf et Reynand, 2007) : Défense contre les pathogènes, molécules de dissuasion alimentaire, attraction des pollinisateurs, Protections des rayonnements UV, molécules qui donnent couleur, arômes, parfums aux plantes, rôle structurel (exemple : lignine, constituante du bois).

Les polyphénols sont répartis en plusieurs classes (Dacosta., 2003) : Les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les stilbènes, les lignanes et xanthones, les saponines (triterpénoïdes), les phytostérols et les phytostanols et les quinones.

Ces composés montrent des activités anti-carcinogènes, anti-inflammatoires, anti-athérogènes, anti-thrombotiques, analgésiques, antibactériens, antiviraux, anticancéreux (Babar Ali et *al.*, 2007), anti-allergènes, vasodilatateurs (Falleh et *al.*, 2008) et antioxydants (Gomez-Caravaca et *al.*, 2006).

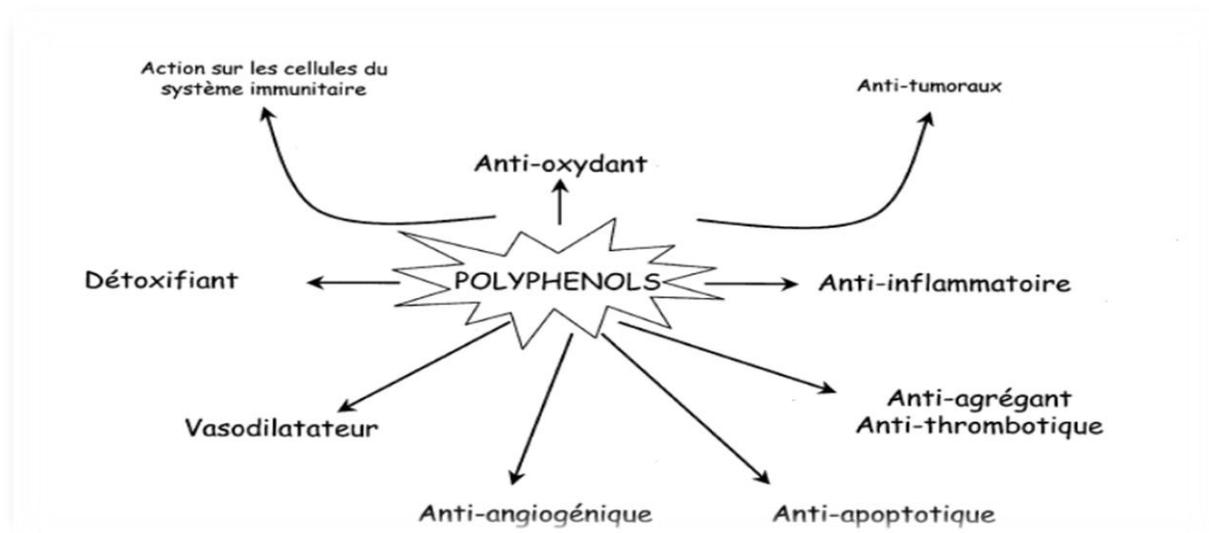


Figure 3: Effets biologiques des polyphénols (Martin et Andriantsitohaina, 2002)

2.2 Flavonoïdes

Le nom dérivé du terme en latin ; flavus= jaune. Ils peuvent être considérés parmi les agents responsables des couleurs de plante à côté des chlorophylles et caroténoïdes (Wichtl et Anton, 2009).

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, reliés par un hétérocycle oxygéné et un pont carboné (Dacosta, 2003), portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides (figure 4). Ils existent sous forme libre dite aglycone ou sous forme d'hétérosides (Heller et Forkmann, 1993). Ils sont synthétisés à partir de phloroglucinols et d'un acide phénylpropanique 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).

Les flavonoïdes ont été découverts dans les années 30 par Albert Szent-Gyorgyi, lauréat prix Nobel, en tant que des composés avec l'activité anti-oxydant prononcée (Hodek et *al.*, 2002), Leur capacité antioxydante réside dans leur faculté à « terminer » les chaînes Radicalaires par des mécanismes de transfert d'électrons et de protons, et par chélation des métaux de transition. Ils sont aussi capables de catalyser la peroxydation lipidique (Schroeter et *al.*, 2002 ; Leopoldini et *al.*, 2011).

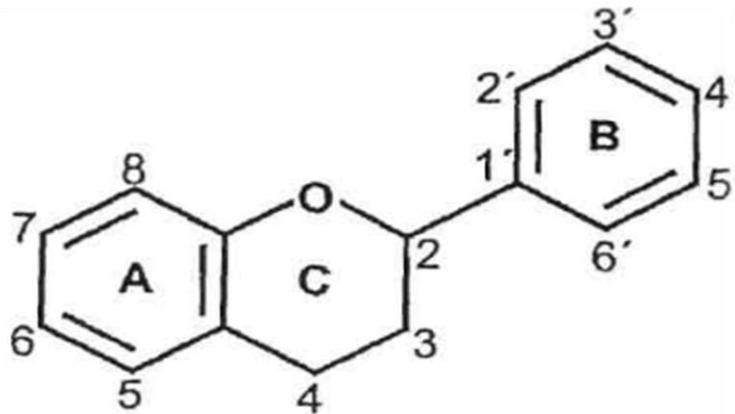


Figure 4: Structure de base des flavonoïdes (Dacosta, 2003).

Les mécanismes d'action des flavonoïdes proposés sont multiples (inhibiteurs de phosphodiesterase, de l'ATP ase membranaire , activité anti radicalaire) leurs indications thérapeutiques concernent principalement les créneaux vasculotropes, veinotropes et protecteurs capillaires, mais leur intérêt première pourrait très bien concerner le maintien d'un certain équilibre de la santé, car les flavonoïdes présents dans les parties vertes de nombreux végétaux sont consommés chaque jour à des doses de l'ordre de gramme (Wichtl et Anton, 2003).

Selon la nomenclature de l'IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry), on peut classer les flavonoïdes en trois groupes, qui contiennent tous une fonction cétonique : les flavonoïdes (quercétine, rutineles), iso flavonoïdes, les néo flavonoïdes (Cabanel, 2013).

LallementGuillbert et Benzager-Beauquesne. 1970 ; Briescon et al. 1973) ont identifiés et isolés plus de dix flavonoïdes dans le *R. officinalis*, la plupart d'entre eux sont les flavones parmi eux : l'apigénine, le genkwanine, le 6-méthoxygenkwanine, (M-Culvier et al. 1996).

IV. Activité antioxydante

L'oxydation est l'un des processus les plus producteurs des radicaux libres dans les aliments et les tissus vivants. Ces radicaux causent des dégradations majeures dans les macromolécules et l'acide nucléique (Bubonja-Sonje et *al.*, 2011). Ils ont, selon les circonstances, des effets favorables ou des effets nocifs, constituant le stress oxydant (Seignalet., 2004).

1. Radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique, atome ou molécule, contenant un ou plusieurs électrons non appariés sur l'orbitale externe, ce qui le rend extrêmement réactif (Novelli, 1997). Ce sont des agents oxydants très agressifs.

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux libres primaires, qui dérivent directement de l'oxygène. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires (radical peroxyde ROO^\bullet , radical alkoxyde RO^\bullet), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (Novelli, 1997).

L'ensemble des radicaux libres primaires est souvent appelé "espèces réactives de l'oxygène" (ERO). Cette appellation n'est pas restrictive. Elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit : radical superoxyde $\text{O}_2^{\bullet-}$, radical hydroxyle OH^\bullet , monoxyde d'azote NO^\bullet , mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante : l'oxygène singulet $^1\text{O}_2$, peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , peroxyde d'azote ONOO^- (Favier, 2003).

2. Stress oxydatif

Le stress oxydant peut être défini comme un déséquilibre entre la production d'espèces radicalaires oxydantes et l'élimination de ces espèces par le mécanisme de défense antioxydante, (que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux). Ceci implique la production d'espèces réactives de l'oxygène (Arous.,2014 ; Delattre et *al.*, 2005). Ce phénomène est associé à une libération massive de radicaux libres (Favier, 2003).

Ce stress peut avoir diverses origines : mauvaise alimentation, phénomènes inflammatoires chroniques ou aigus et habitudes de vie inadéquates (tabagisme, Consommation excessive d'alcool...etc.) (Pincemail et Defraigne, 1999).

3. Les antioxydants

Les antioxydants constituent une famille de substances susceptibles de neutraliser les radicaux libres et prévenir ainsi la survenue des maladies associées au stress oxydant. (Kulawik et *al.*, 2013).

On distingue trois types d'antioxydants : Les antioxydants endogènes (des enzymes comme SOD, CAT, hème oxygénase, peroxyrédoxine..., molécules anti- oxydantes de petite taille

(glutathion, acide urique, bilirubine, ubiquinone, ...) et de protéines (transferrine, ferritine, ...), oligoéléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc) (Haleng et *al.*, 2007).

Les antioxydants exogènes (les médicaments), et les antioxydants naturels (La vitamine C ou acide ascorbique, La vitamine E ou tocophérol, Le β -carotène, les phénols, les flavonoïdes, les tanins...).

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulet, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition (Diallo, 2005).

V. Méthode d'extraction

1. Le choix du solvant

Les solvants permettent d'extraire les métabolites secondaires de la plante (les extraits bruts) et de récupérer des familles chimiques variées telle que les alcaloïdes, les flavonoïdes et les tannins (El-Azrak, 2017). Le choix du solvant d'extraction est très délicat, le solvant choisi doit posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière ou l'oxygène, sa température d'ébullition sera de préférence basse afin de faciliter son élimination, et il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait (Fadi, 2011).

2. Extraction par Macération

La méthode consiste à faire macérer la matière végétale à extraire dans un solvant, grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être passé dans un décanteur puis un concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique (Beneteaud, 2011).

3. Extraction par Soxhlet

L'extraction par l'appareil de Soxhlet consiste à faire passer à travers la matière à traiter contenue dans une cartouche de cellulose, un flux descendant de solvant toujours renouvelable puisque distillé à chaque cycle (Bouhaddouda, 2015). Un extracteur Soxhlet est une pièce de verrerie qui permet de faire l'extraction continue par solvant d'un solide. Il se compose d'un corps en verre dans lequel est placé une cartouche en papier filtre épais, d'un tube siphon et d'un tube d'adduction. Le corps de l'extracteur est placé sur un ballon contenant le solvant extracteur, les matières premières à extraire sont placés dans l'extracteur surmonté d'un réfrigérant. Quand le ballon est chauffé, les vapeurs du solvant passent par le tube adducteur, se condensent dans le réfrigérant et retombent dans le corps de l'adducteur, faisant ainsi macérer

les résidus dans le solvant. Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'à atteindre le sommet du tube siphon, qui provoque alors le retour du liquide dans le ballon, accompagné des substances extraites (Bettahar, 2015).

4. Extraction par Sonication

Elle consiste à détruire les cellules par les ultrasons qui sont des ondes de même nature que le son mais dont la gamme de fréquence se situe entre 20 kHz et plusieurs centaines de mégahertz. Cette gamme est trop élevée pour que l'oreille humaine puisse la percevoir. La sonication est réalisée grâce à un appareil appelé sonicateur qui permet de transformer l'énergie électrique en vibration mécanique longitudinale le long d'une sonde. Cette dernière permet de casser les cellules biologiques en suspension. Il est indispensable de travailler à basse température et d'effectuer des pauses entre les cycles de sonication afin d'éviter la surchauffe de l'échantillon (Elsivier, 2016).

Partie 2 : Matériel et Méthodes

I. Matériel végétal

La matière végétale utilisée dans la présente étude est constituée de la partie aérienne des deux variétés de la plante *Rosmarinus officinalis*. La récolte a été effectuée dans le jardin botanique de l'Agence National des Plantes Médicinales et Aromatiques (ANPMA) le 28 avril 2021. Les échantillons prélevés ont été séchés dans l'étuve pendant 3 jours à une température de 36 °C, ils ont été ensuite broyés à l'aide d'un broyeur électrique afin d'avoir une poudre fine qui servira à la préparation des différents extraits.

II. Méthodes

1. Extraction par Sonication

En milieu liquide, les ondes émises par l'appareil conduisent au phénomène de cavitation (Bulles). Ces bulles microscopiques vont croître jusqu'à devenir instable et imploser, entraînant des températures et des pressions élevées. Au cours de l'implosion, un micro jet dirigé vers le matériel végétal est créé, causant la destruction des parois cellulaires de la matrice végétale et leur contenu peuvent être libéré dans le milieu environnant (Pétrier, 2008). Les extraits sont préparés à raison de 40 mg de la poudre pour 10 ml du solvant (aqueux, méthanol, éthanol). Le mélange a été séparé par centrifugation et l'extrait a été récupérer (surnageant), conservé à 4°C et à l'abri de la lumière.

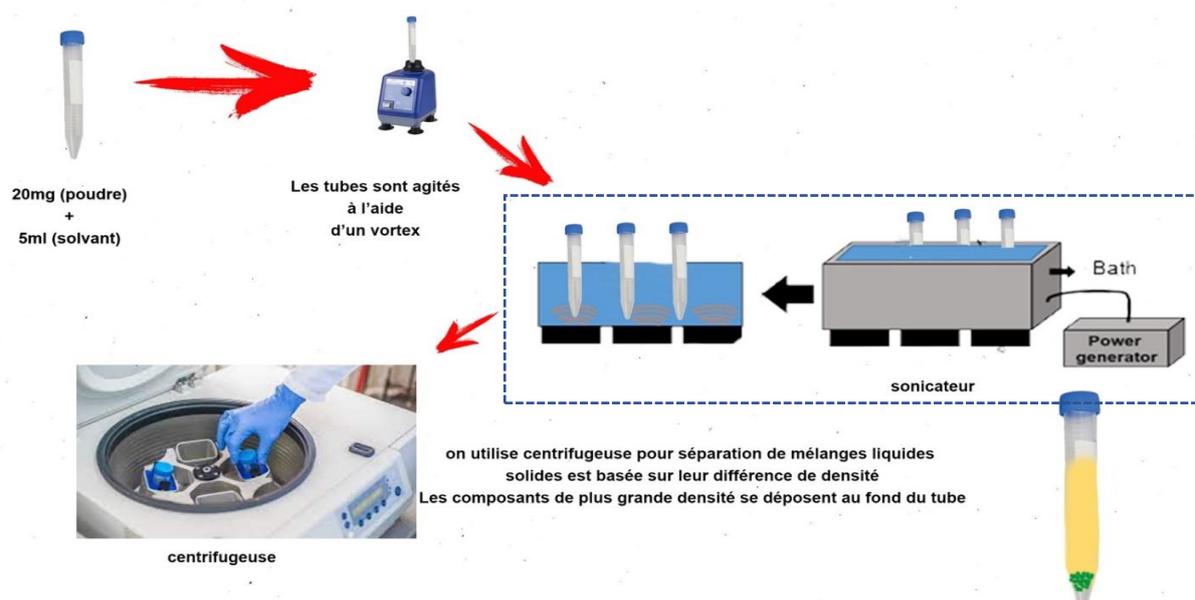


Figure 5: Schéma de l'extraction par sonication.

2. Analyses physiologiques

2.1 Détermination de la teneur en eau

Pour calculer la teneur relative en eau, des échantillons de chaque plante sont mis dans une étuve à une température de 50°C pendant 21 heures. L'opération de séchage est maintenue jusqu'à stabilisation du poids du matériel végétal. Le suivi du changement du poids est réalisé par des pesées jusqu'à l'obtention de poids stable.

Le test de la teneur en eau permet la détermination de la quantité d'eau existante dans la plante.

La teneur relative en eau est exprimée en pourcentage (%) calculée selon la formule suivante (Barrs Et Weatherly 1962 ; Hewlett et Kramer, 1962 ; Scippa et al., 2004) :

$$W = \frac{Pf - Ps}{Pf} \times 100$$

Pf : poids frais de la plante

Ps : poids sèche de la plante

2.2 Détermination de la teneur en chlorophylles

L'extraction de la chlorophylle est faite suivant la méthode de Mac Kiney (1941) et Arnon (1949). 40 mg de feuilles d'échantillon (coupées en très petits morceaux) sont mélangés avec 4 ml de DMSO. Le mélange ainsi obtenu est chauffé dans une étuve à 65 °C pendant 1h. La teneur en chlorophylle est ensuite déterminée à l'aide d'un spectromètre à deux longueurs d'ondes (663 et 645 nm).

On calcule la valeur de deux types de chlorophylle a et b selon la relation suivante :

$$chl\ a \left(\frac{g}{l} \right) = (0,127 \times A_{663}) - (0,00269 \times A_{645})$$

$$chl\ b \left(\frac{g}{l} \right) = (0,0229 \times A_{654}) - (0,00468 \times A_{663})$$

$$chl\ Tot \left(\frac{g}{l} \right) = (0,0202 \times A_{654}) + (0,0080 \times A_{663})$$

3. Analyses phytochimiques

3.1 Dosage des polyphénols totaux

L'estimation de la teneur en polyphénols totaux des extraits de feuilles de deux plantes *R. officinalis* et *R. officinalis prostratus* a été effectué avec le réactif Folin-Ciocalteu selon la méthode citée par (Wong et al., 2006). Ainsi, 100µl de chaque extrait ont été ajoutés à 500µl de réactif de Folin-Ciocalteu 10 fois dilué. Les solutions ont été mélangées et incubées pendant

1 heure. Après l'incubation, 2 ml de la solution de carbonate de sodium Na_2CO_3 (2%) ont été ajoutés. Le mélange final a été incubé pendant 1 heure dans l'obscurité à température ambiante. L'absorbance de tous les extraits a été mesurée par un spectrophotomètre à 765 nm.

- **Expression des résultats :**

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, établie avec le standard l'acide gallique (1mg/1ml) et exprimée en milligramme d'équivalent acide gallique/gramme de matière sèche (mg EAG/g).

3.2 Dosage des flavonoïdes

La méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits (Ribéreau-Gayon et Gautheret 1968). Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre en position 5 susceptible de donner en présence de chlorure d'aluminium un complexe jaunâtre par chélation de l'ion Al^{3+} . La coloration jaune produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait.

En effet 1 ml de chaque extrait a été mélangé avec 0.3ml de NaNO_2 (5%). Après 5 min d'obscurité, 3 ml de AlCl_3 ont été ajoutés au mélange qui est placé à nouveau dans l'obscurité pendant 6 min. puis 2 ml de NaOH (1M) ont été ajoutés. Le volume total a été complété à 10 ml avec de l'eau distillé. L'absorbance a été mesuré à 510 nm.

- **Expression des résultats**

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = a x + b$) réalisé par un standard : la quercétine (1mg/ml) dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g).

4. Evaluation de l'activité antioxydante

Pour évaluer l'activité antioxydante des extraits de deux variétés de *Rosmarinus officinalis* nous avons utilisé deux techniques :

4.1 Test au DPPH

En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH. (2,2 diphényles 1 picryl hydrazyl) de couleur violette se réduit en 2,2 diphényl 1 picryl hydrazine de couleur jaune (figure 6) (Maataoui et *al.*, 2006). Dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons. Ainsi plus la perte de

couleur est rapide plus le donneur d'hydrogène est considéré comme un antioxydant fort (Mansouri *et al.*, 2005).

L'activité du balayage du radical DPPH a été mesurée selon le protocole décrit par (Hatano *et al.*, 1988). Ainsi, la solution de DPPH a été préparée en dissolvant 4 mg de poudre de DPPH dans 100 ml de méthanol. Une période d'agitation de 3h est appliquée tout en gardant la solution en obscurité. Une série de dilution a été préparée à partir de la solution mère de chaque extrait, puis 1 ml de DPPH (0,004%) a été ajoutée. Les mélanges ainsi obtenus sont incubés pendant 30 min avant de mesurer leur absorbance à 517 nm.

L'activité anti-radicalaire où pourcentages d'inhibition des radicaux libres (I %) exprimée par la formule suivante : (Leitao *et al.*, 2002 ; Wang *et al.*, 2002)

$$\text{Activité antioxydante}(\%) = \frac{\text{Abs (DPPH)} - \text{Abs(extrait)}}{\text{Abs (DPPH)}} \times 100$$

Comme il n'existe pas de mesure absolue de la capacité antioxydante d'un composé, les résultats sont souvent portés par rapport à un antioxydant de référence : le BHT (4mg /ml).

La concentration inhibitrice IC₅₀% (la concentration de l'échantillon testé ou BHT nécessaire pour réduire 50% de DPPH initialement présente) est calculée à partir du graphe (Bouhaddouda, 2016). Une faible valeur d'IC₅₀% indique une forte capacité de l'extrait à agir comme piègeur du DPPH (Bouhaddouda, 2016).

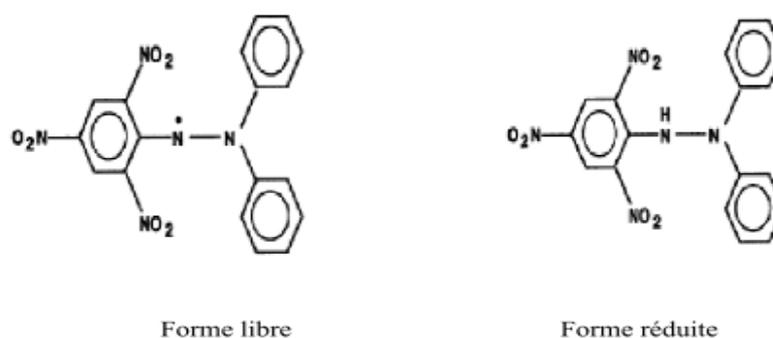


Figure 6: Forme libre et réduite du DPPH (Mohammedi, 2006)

Ce radical est un oxydant qui peut être réduit par l'antioxydant (AH) selon la réaction suivante :



4.2 Capacité antioxydante totale (CAT)

La Capacité antioxydante totale (CAT) des échantillons a été évaluée par la formation du complexe de phosphomolybdène vert selon méthode de Prieto et al (1999) basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate à molybdène Mo (V) MoO^{2+} en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/ Mo(V) à PH acide, On mesure la diminution de la coloration du complexe molybdène (VI) en présence d'antioxydant. En outre, nous avons introduit, un volume de 100 μl de chaque extrait avec 3 ml de solution phosphomolybdate (molybdate d'ammonium 40 mM, phosphate de sodium 280 mM et d'acide sulfurique 6M). Le mélange est porté à l'ébullition pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695 nm contre un blanc.

La capacité antioxydant totale de différents échantillons est déterminé en réalisant une gamme d'étalonnage qui a été préparée à partir d'une série de dilution d'acide ascorbique de concentration initiale égale à 2 mg/ml. Les résultats obtenus sont exprimés en milligramme équivalents d'acide ascorbique par gramme de la matière sèche (mg EAA/ g MS). (Prieto et al ,1999).

III. Analyses statistiques

Tous les résultats ont soumis à une analyse statistique appropriés en utilisant le logiciel IBM SPSS statistique. Le seuil de signification est fixé à 0,05.

Partie 3 : Résultats et Discussions

I. Teneur en eau

Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 1. Ainsi, la teneur en eau de nos échantillons est de l'ordre de : **68,63%** pour le *R. officinalis*, et de **68,07%** pour le *R. officinalis prostratus*. Albu et al., 2004 ; Makhloufi,2013 ; Acourene et al.,2001 ont obtenu des teneurs en eaux (40%), (28,17%), (30%) respectivement dans les feuilles du *R. officinalis*, cette teneur diffère de façon remarquable avec nos résultats. La différence des teneurs de nos échantillons en eau comparées à celles de travaux antérieurs, peuvent être dues à certains facteurs écologiques, varie selon la localisation géographique l'âge de la plante, la période du cycle végétatif, ou même à des facteurs génétiques (Albu et al.,2004).

Tableau 1 : Teneur en eau (%)

Plantes	Teneur en eau (%)
<i>Rosmarinus officinalis</i>	68,63%
<i>Rosmarinus officinalis prostratus</i>	68,07%

II. Teneur en chlorophylles

Les chlorophylles sont des substances colorantes, elles jouent un rôle important dans l'activité oxydante du produit, due à leur nature antioxydante dans l'obscurité et pro-oxydante dans la lumière (Criado et al., 2008 ; Tanouti et al., 2010). D'après la figure 7 les teneurs en chlorophylle total est : 0,0111 g/l pour *R. officinalis*, et 0,0156 g/l pour *R. officinalis prostratus*.

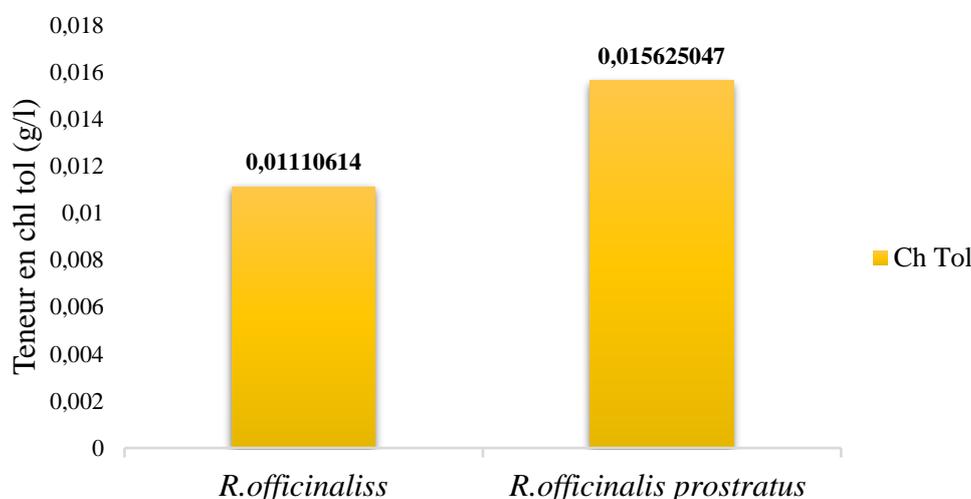


Figure 7 : Teneur en chlorophylle totale (g/l) de *R. officinalis* et *R. officinalis prostratus*

III. Teneur en polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage utilisant l'acide gallique comme standard (Annexe 1). Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent acide gallique/gramme de matière sèche (mg EAG/g).

En effet, les résultats obtenus montrent que les extraits méthanolique des deux variétés représentent les teneurs en polyphénols les plus élevés avec des de 83,65 mg EAG/g et 97,42 mg EAG/g, respectivement pour le *R. officinalis* et *R. officinalis prostratus*. (Figure 8).

L'analyse de la variance relative à la teneur en polyphénols montre une différence significative ($P < 0,01$) entre les différents extraits étudiés, et une différence non significative ($P > 0,05$) entre les deux variétés de la plante étudiées.

Selon Do et *al.*, (2014), le rendement en polyphénols extraites par les solvants organiques montre que le meilleur taux d'extraction est enregistré avec le méthanol suivi de l'éthanol, ceci est en accordance avec nos résultats.

La teneur en polyphénols pour les extraits méthanoliques du *R. officinalis* est supérieur de celle obtenue par Tsai et *al.*, (2007) qui est de l'ordre de 58.1 mg EAG/g et de celle obtenue par Tawaha et *al.*, (2007) qui est de l'ordre de 39.1 ± 3.6 mg GAE/g. Elle est inférieure à celle obtenue par Erkan et *al.* (2008) qui est de l'ordre de 162 mg GAE/g et Ho et *al.*, (2008) qui est de l'ordre de 127 ± 3 mg GAE /g.

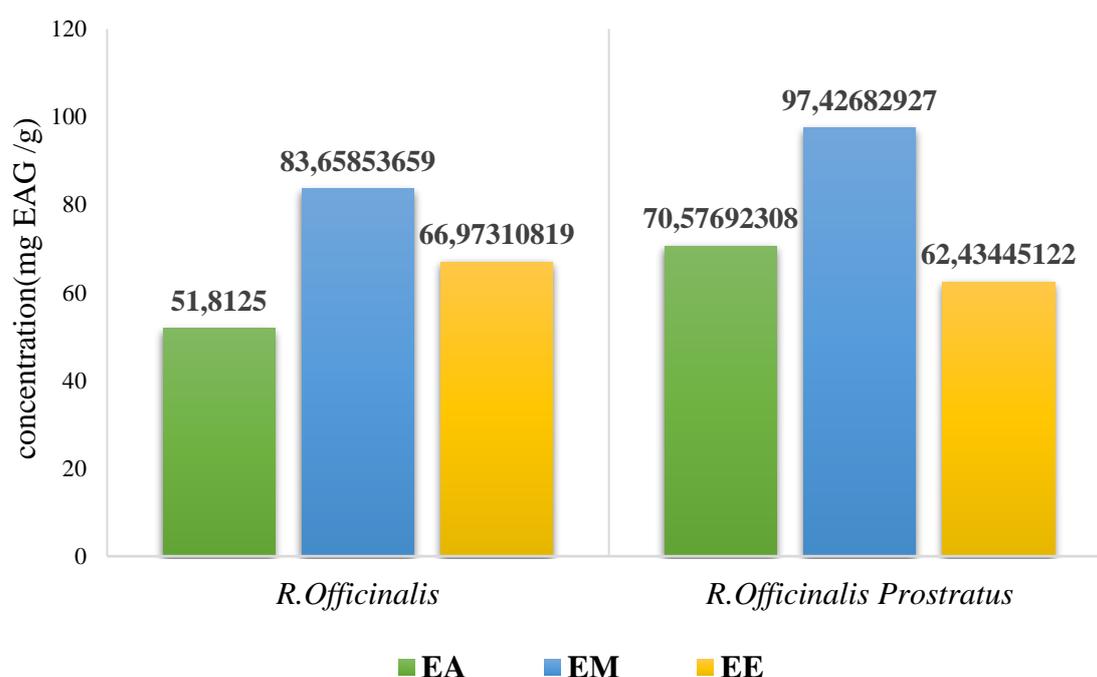


Figure 8 : Teneur en polyphénols totaux de *R. officinalis* et *R. officinalis prostratus*

IV. Teneur en flavonoïdes

La teneur en flavonoïde des extraits de *R. officinalis* et *R. officinalis prostratus* a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage utilisant la quercétine comme standard (Annexe 2). Les teneurs en flavonoïdes exprimés en milligrammes d'équivalent de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g).

La figure 8 représente la teneur en flavonoïdes des deux variétés de la plante étudiée, d'après ces résultats l'EM reste le meilleur extrait qui présente des teneurs en flavonoïdes de 56,49 mg EQ/g, 65,04 mg EQ /g et ce pour le *R. officinalis* et *R. officinalis prostratus* respectivement, par contre l'EA enregistré les teneurs les plus faibles (6,04 mg EQ /g pour *R. officinalis*, 9,40 mg EQ pour *R. officinalis prostratus*).

Statistiquement une différence hautement significative ($P < 0,001$) a été observée entre les différents extraits étudiés. Par contre aucune différence n'a été observée entre les deux plantes étudiées ($P > 0,05$).

La teneur des extraits méthanoliques est proche à celle de Tsai et *al.*, (2007) : 60.7 ± 1.1 mg EQ/g, mais assez loin à celle obtenue par Ho et ses collaborateurs, (2008) qui est de l'ordre de 20.1 ± 1.30 mg EQ/g.

La distribution des métabolites secondaires peut changer pendant la croissance de la plante. Ceci peut être lié aux conditions climatiques (la température élevée, exposition solaire, sécheresse, salinité), le moment de la récolte, le solvant d'extraction, et les conditions de stockage qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols, Cette différence probablement due aussi (Zaouali et *al.*, 2010 ; Falleh et *al.*, 2008 ; Podsedek, 2007).

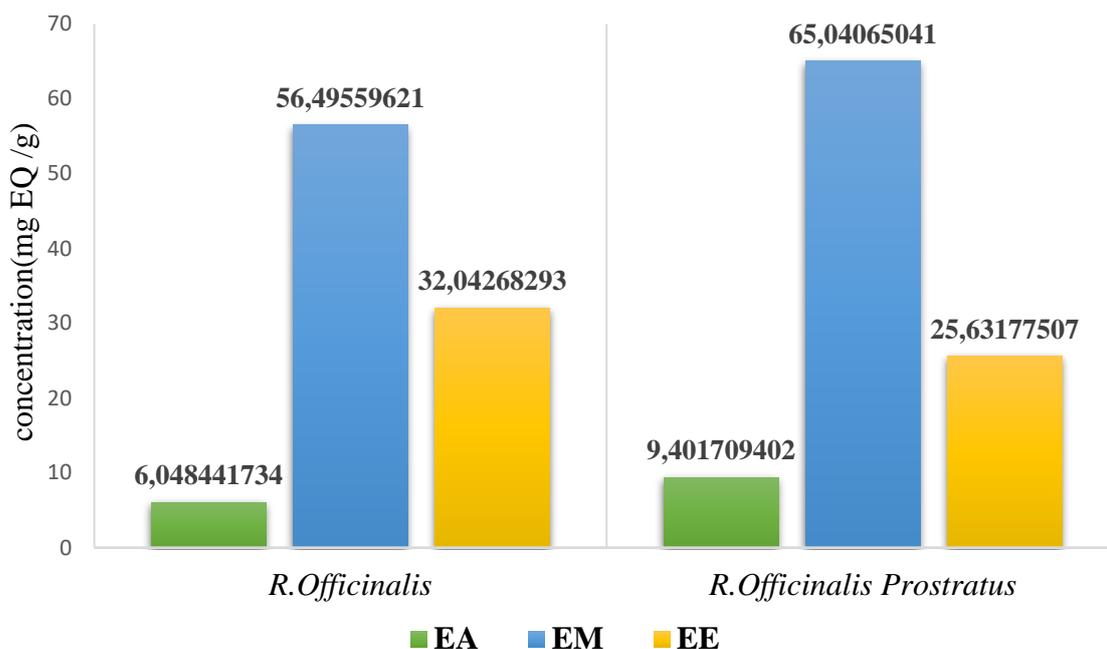


Figure 9 : La teneur en flavonoïde de *R. officinalis* et *R. officinalis prostratus*

V. Evaluation de l'activité antioxydante

1. Test par diphényle-picryl-hydrazyl (DPPH)

Les résultats sont exprimés en pourcentage de l'activité antiradicalaire en fonction de la concentration de standard (BHA) et des extraits (figures 10 et 11), et sont également exprimés en utilisant le paramètre IC₅₀, qui est défini comme la concentration d'antioxydant, ou d'extrait nécessaire pour réduire 50% de DPPH initialement présente (Bouhaddouda, 2016). (Tableau 2).

En effet, les résultats obtenus dans les figures 10 et 11 montrent une corrélation positive entre pourcentage d'inhibition et la concentration des extraits. Nous avons noté aussi que les pourcentages d'inhibition les plus élevées ont été enregistré au niveau de l'EM par rapport à la molécule de référence (BHT) et les autres extraits testés, il est plus significatif dans le cas de *R. officinalis prostratus*. Nous constatons aussi que l'EA des deux plantes a présenté une activité proche que celle du BHT. Donc tous les extraits ont un pouvoir anti-radicalaire vis-à-vis du radical DPPH. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Almela et *al.*, (2006), Ces derniers ont constaté que les EM du *R. officinalis* présente une activité anti-radicalaire plus haute que celle du BHT.

D'après le tableau 2, la valeur de l'IC₅₀ la plus importante est enregistrée au niveau de l'EM pour les deux variétés étudiées, avec des valeurs de 0,0339 mg/ml et 0,1350 mg/ml pour le *R. officinalis* et *R. officinalis prostratus* respectivement. Par contre l'IC₅₀ la plus faible et marqué

dans l'EA avec des valeurs de 0,4089 mg/ml (*R. officinalis*) et 0,2659 mg/ml (*R. officinalis prostratus*). Ainsi les EM présentent des d'IC₅₀ inférieures à celle de BHT pris comme antioxydant de référence (IC₅₀ =0,4606 g/ml). C'est-à-dire l'EM présentent des activités antioxydantes plus élevées par rapport aux autres extraits et a la molécule de référence BHT.

L'analyse statistique de la variance relative à l'IC₅₀ montre une différence hautement significative entre les différents extraits et la molécule de référence ($P \leq 0.001$), et pas de différence significative ($P > 0.05$) entre les plantes étudiées.

Nos EM présentent une grande activité antioxydante par rapport aux valeurs IC₅₀=0,23mg /ml et IC₅₀=0,054mg/ml obtenues par Dorman et ces collaborateurs (2003), et Erkan, (2008) respectivement.

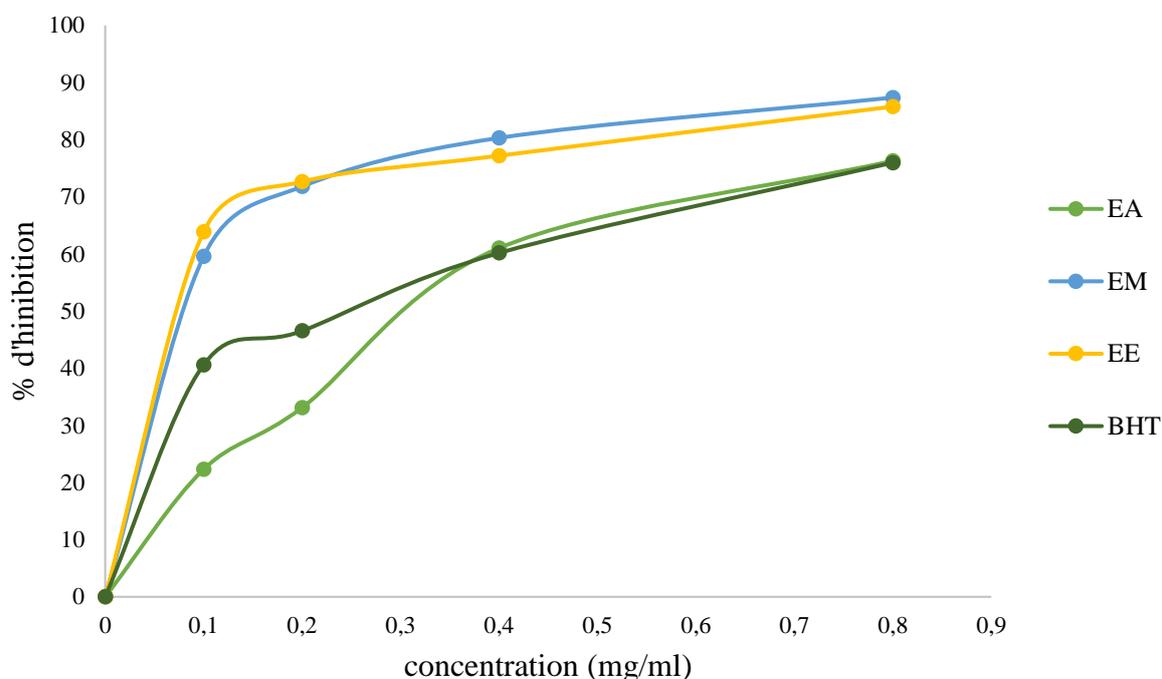


Figure 10 : pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration des extraits de *R. officinalis* et BHA.

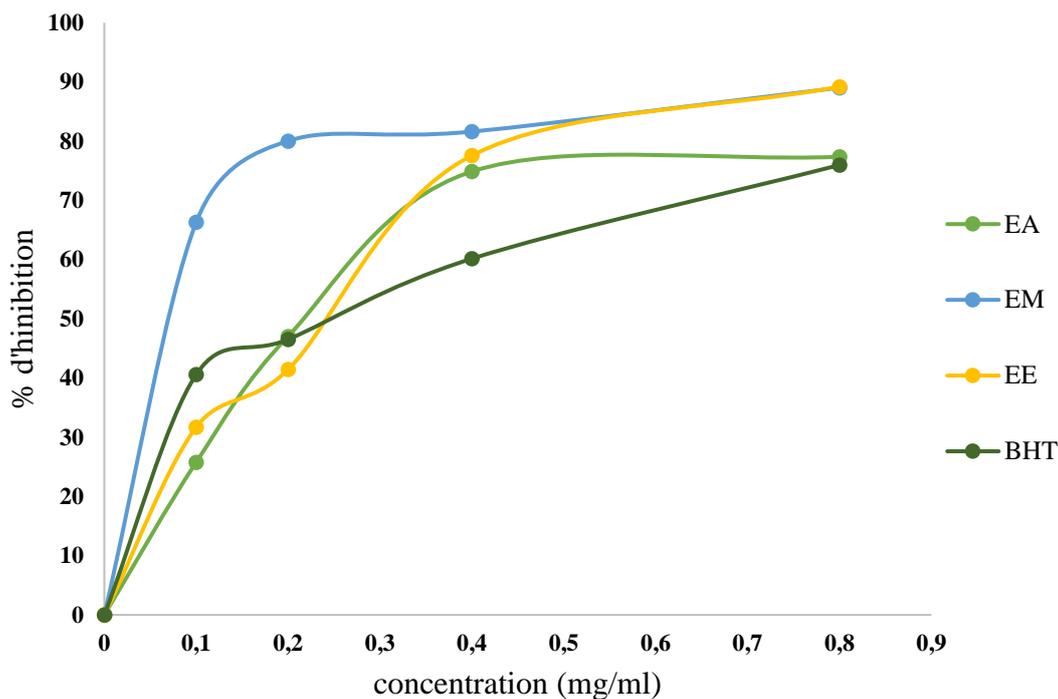


Figure 11 : pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration des extraits de *R. officinalis prostratus* et BHA.

Tableau 2 : IC50 (mg/ml) des extraits de *R. officinalis et Rosmarinus* et *R. officinalis prostratus* et de BHT.

Extrait	IC50 (mg/ml)		
	EA	EM	EE
<i>R. officinalis</i>	0,409	0,034	0,039
<i>R. officinalis prostratus</i>	0,266	0,135	0,248
BHT	0,461		

2. Capacité antioxydante totale (CAT)

La capacité antioxydante totale de différents extraits est déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage en utilisant l'acide ascorbique comme standard (Annexe 3). Les résultats obtenus de CAT sont exprimés en milligramme équivalents d'acide ascorbique par gramme de la matière sèche (Figure 12).

D'après les résultats, la capacité antioxydante totale des différents extraits varie entre 52.73 et 108,96 mg EAA/g. En effet les extraits méthanoliques ont présente la capacité antioxydante

la plus élevée (108,96 mg EAA/g pour *Rosmarinus officinalis* et 82,81 mg EAA/g pour *Rosmarinus officinalis prostratus*), par rapport à l'EA de *Rosmarinus officinalis* (de 52,73 mg EAA/g) et l'EE pour *Rosmarinus officinalis prostratus* (73,85 mg EAA/g).

Nos résultats montrent que le *Rosmarinus officinalis* présente une capacité antioxydante totale plus grande de celle du *Rosmarinus officinalis prostratus*.

Statistiquement une différence hautement significative ($P < 0,001$) a été observée entre les différents extraits et les plantes étudiées.

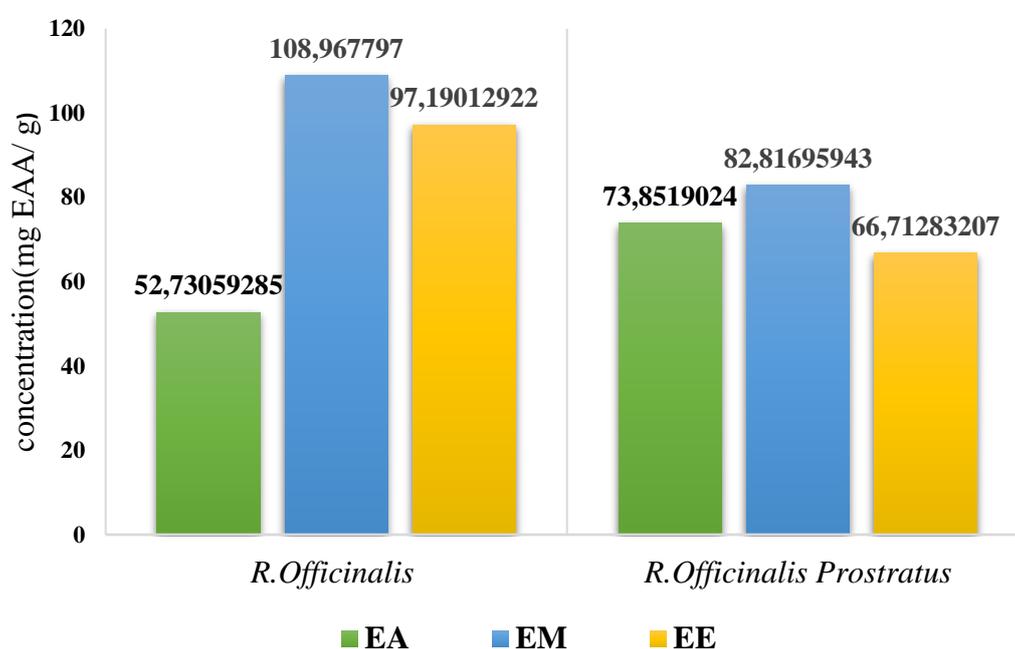


Figure 12 : La capacité antioxydante totale des différents extraits de *Rosmarinus officinalis* et *Rosmarinus officinalis prostratus*

Conclusion

Notre travail est dirigé sur la mise en évidence des propriétés antioxydantes des deux variétés de *Rosmarinus officinalis*. Ainsi, des analyses physicochimiques ont été effectuées, montrent la présence d'un certain nombre de groupes chimiques avec des concentrations importantes à savoir les polyphénols et les flavonoïdes.

A la lumière des résultats obtenus lors de ce présent travail et en se basant sur la littérature, nous avons confirmé un important effet inhibiteur des extraits des deux variétés, aussi ces résultats suggèrent l'importance de cette espèce pour son usage dans la pharmacie et la phytothérapie. Si l'on se fonde sur cette information, on pourrait conclure que cette plante est l'une des sources naturelles de substances antioxydante d'importance élevée. Cette dernière est due principalement aux composés phénoliques, appartenant à trois groupes : les diterpènes phénoliques, les acides phénoliques et les flavonoïdes (Almela et *al.*, 2006).

Comme perspectives de ce travail, il serait important de suivre cette étude par des applications *in-vivo* en étudiant la toxicité de ces substances (DL_{50}), pour guider vers l'élaboration de certaine forme galénique selon le cas, compléter cette étude par d'autres tests afin d'envisager d'autres activités biologiques telles que les activités antimutagène et anticancéreuse. Cela permettrait de préparer des produits pharmaceutiques de grand intérêt thérapeutique et ayant une origine naturelle.

Références

Bibliographique

Acourene S et Tama M, (2001). Caractérisation physicochimique des principaux cultivars de dattes de la région de Ziban. Revue Recherche Agronomique. INRAA Algerie. Vol 1.P 59-66.

Albert Y.leung; Steven Foste; (1996); Encyclopedia of common Naturel Ingredients used In Foods, Drugs, and cosmetics, 2éme edition, Awreley-interscience publication, P445.

Albu S, Joyce E, Paniwnyk L, Lorimer J, Mason T. (2004). Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. Ultrasonics Sonochemistry, 11: 261-265. Altinier,

Almela, L., Sanchez-Munoz, B., Fernandez-Lopez, J A., Roca, M.J, Rabe, V. (2006) Liquid chromatographic- mass spectrometric analysis of phenolics and free radical scavenging activity of rosemary extract from different raw material. J Chromatography A. 1120: 221- 229.

Altinier G ; Sosa S ; Aquino R.P ; Mencherini T ; Loggia R.D ; Tubaro A ; (2007). Characterization of topical anti-inflammatory compounds in *Rosmarinus officinalis* L. J. Agric. Food Chem. 55:1718–23.

Angelov G., Boyadzhiev L., Georgieva S. 2008. Antioxydant properties of some Bulgarian wines. Journal of International Scientific Publication: Materials, Methods and Technologies, 3(1), 143-150.

Arous S ; (2014). Etude phytochimique et évaluation de l'activité antiradicalaire des extraits de *Fredolia aretioides*.

Arslan D; Musa ozcan M; (2007) Evaluation of drying methods with respect to drying kinetics, mineral content and color characteristics of *rosemary* leaves. Energy Conversion and Management. (In press)

Aruoma O. I; Spencer J. P; Rossi R; Aeschbach R; Khan A; Mahmood N; Munoz A; Murcia A; Butler J; Halliwell B. (1996). An evaluation of the antioxidant and antiviral action of extracts of *rosemary* and Provençal herb. Food and Chemical Toxicology.,34(5): 449-456.

Atik bekkara F ; Bousmaha L ; Taleb bendiab S.A ; Boti J.B ; Casanova J ; (2007). Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. Biologie & Santé. 7 : 6-11.

Babar Ali M; Hahn E.J; Paek K.Y; (2007) Methyl Jasmonate and Salicylic Acid Induced Oxidative Stress and Accumulation of Phenolics in *Panax ginseng* Bioreactor Root Suspension Cultures. Molecules. 12: 607-621.

Bakirel T; Bakirel U; Keles O.U; Ülgen S.G; Yardibi H; (2008). In vivo assessment of antidiabetic and antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in alloxan-diabetic rabbits. J. Ethnopharmacol. 116 : 64–73.

Bellakhdar J ; (1997) La pharmacopée marocaine traditionnelle. Ibis Press (Ed). Paris,764 p.

Beloued A ; (1998) Plantes médicinales d'Algérie. 2éme Edition. Office des publications universitaires (Ed). Alger, 274p.

Beneteaud E ;(2011). Les techniques d'extraction. Comité Français du Parfum. p 2-7.

- Bettahar ; (2015).** Extraction des huiles essentielles Analyse par FT-IR et UV-Visible. Mémoire de fin d'étude en Chimie. Univ Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem. p 28.
- Bouhaddouda N ; (2015).** Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local : *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*. Thèse de Doctorat en Biochimie appliquée. Univ Badji Mokhtar -Annaba. p18-19.
- Bremness L ; (2002).** Plantes aromatiques et médicinales. Bordas (Ed). Paris, 303 p.
- Bruneton J;(1999).** Composés phénoliques : phénols, acides phénoliques. In: Pharmacognosie: Phytochimie, Plantes médicinales. Tec&Doc. Paris. Pp : 249-250.
- Bubonja-Sonje M; Giacometti J; Abram M; (2011).** Antioxidant and antilisterial activity of olive oil, cocoa and rosemary extract polyphenols. *Food Chemistry*,**127**: 1821–1827.
- Cabanel S ; (2013).** HouttuyniacordataThunberg Saururaceae. Thèse du grade de Docteur en Pharmacie. Université Toulouse III Paul Sabatier - France. pp 38-102.
- Cicerale S ; Conlana XA; Sinclair AJ; Keast RS; (2009).** Chemistry and health of olive oil phenolics. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **49**(3): 218–236.
- Dacosta E ; (2003)** Les phyto nutriments bioactifs. Yves Dacosta (Ed). Paris, 317p.
- Delattre J ; Beaudoux J.-L ; and Bonnefont-Rousselot D ; (2005).**"Radicaux libres et stress oxydant (aspects biologiques et pathologiques)." Dewick,
- Diallo A ; (2005).** Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* willd. (MYRTACEAE). Thèse de Doctorat. Mali.
- Dias P.C ; Foglio M.A ; Possenti A ; Carvalho J.E ; (2000).** Antiulcerogenic activity of crude hydroalcoholic extracts of *Rosmarinus officinalis* L. J. Ethnopharmacol. 69: 57– 62.
- Dorman H.J.D; Peltoketo A; Hiltunen R; Tikkanen M.J; (2003).** Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. *Food Chem.* 83: 255-262.
- El-Azrak H ; (2017).** Extraction et distillation d'une plante aromatique et médicinale : *Rosmarinus Officinalis*. Mémoire de fin d'étude en Biotechnologie et Valorisation des Phytoressources. Univ de Sidi Mohamed Ben Abdellah Maroc. p 12.
- Erkan N ; Ayranci G ; Ayranci E ; (2008).** Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.). Extract, blackseed (*Nigella sativa* L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. *Food Chem.* 110: 76-82.
- Fadi Z ; (2011).** Le *R. officinalis* , *Rosmarinus officinalis* le bon procédé d'extraction pour un effet thérapeutique optimal. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Univ Mohammed V Maroc. p 51-57.
- Falleh H ; Ksouri R ; Chaieb K ; Karray-Bouraoui, N ; Trabelsi N ; Boulaaba M ; Abdelly C ; (2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities .C. R. Biologies. 331: 372-379.
- Favier A ; (2003) ;** Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'Actualité chimique* ; 108-117.

- Gachkar L; Yadegari D; Bagher MR; Taghizadeh M; Staneh SA; Rasooli I; (2007).** Chemical and biological characteristic of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. Food Chem.; 102: 898-904.
- Ghourri M; Zidane L; 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.
- Gomez-Caravaca A.M; Gomez-Romero M ; Arraez-Roman D ; Segura-Carretero A ; Fernandez-Gutierrez A ;(2006).** Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. JPharmaceutical and Biomedical Analysis. 41 : 1220-1234.
- Gonzalez-Trujano M.E; Pena E.I; Martinez A.L; Moreno J ; Guevara-Fefer P ; Deciga-Campos M ; Lopez-Munoz F.J;(2007).** Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents. J Ethnopharmacol. 111: 476-482.
- Haleng J ; Pincemail J ; Defraigne J O ; Charlier C ; Chapelle J. P; (2007).** Le stress oxydant. Revue Medical de Liege. 10: 628-638.
- Haloui M ; Louedec L ; Michel J.B ; Lyoussi B ; (2007).** Experimental diuretic effects of *Rosmarinus officinalis* and *Centaureum erythraea*. J. Ethnopharmacol. 71 : 465-72
- Hatano; Kagawa; Yasahara; Okuda;(1988).** The effect of extracts on DPPH radical was estimated according to the method. Food Chemistry 78 (3) pp. 347-354.
- Heim K-E; Tagliaferro,A-R; Bobilya D-J; (2002).** Flavonoid antioxidants:chemistry metabolism and structure-activity relationships. Journal of Nutrition and Biochemistry, 13: 572–584.
- Heinrich M ; Kufer J ; Leonti M ; Pardo-de-Santayana M ; (2006).** Ethnobotany and ethnopharmacology – interdisciplinary links with the historical sciences. J. Ethnopharmacol. 107: 157–60.
- Hodek P; Trefil P; Stiborova M; (2002)** Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. Chemico-Biological Interactions. 139: 1- 21.
- Hopkin W.G ; William G ; (1995).** Physiologie végétale. De Boeck Supérieur, Bruxelles. 278-280.
- Hua Li; Xiaoyu Wang; Peihong Li; Yong Li; Hua Wang. (2008)** Comparative Study of Antioxidant Activity of Grape (*Vitis vinifera*) Seed Powder Assessed by Different Methods. Journal of Food and Drug Analysis, 16 (6), 67-73.
- Iserin P ;(2001).** Encyclopédie des plantes médicinales, Tome 2.Ed. Larousse. Londres, 143-225-226p.
- Judd W; Campbell C ;kellogg E ; Stevens p ;(2002).** Botanique systématique : une perspective phylogénique. Boeck université 1ed. Paris. 200p :20.
- Kaddem S ; (1990).** Les plantes médicinales en Algérie. Édition le monde des pharmaciens, 3ed.Alger.181p :149.

- Kivilompolo M; Hyotylainen T; (2007).** Comprehensive two-dimensional liquid chromatography in analysis of Lamiaceae herbs: Characterisation and quantification of antioxidant phenolic acids. *JChromatography A*. 1145: 155-164.
- Kosar M; Dorman H.J.D; Hiltunen R; (2005)** Effect of an acid treatment on the phytochemical and antioxidant characteristics of extracts from selected Lamiaceae species. *Food Chem.* 91: 525-533.
- Kulawik P; Özogul F; Glew R; Özogul Y.(2013).** Significance of antioxidants for seafood safety and human health. *J. Agric. Food Chem.*, **61**(3):475-491.
- Luis J.C; Martin Perez R; Valdes Gonzalez F. (2007)** UV-B radiation effects on foliar concentrations of rosmarinic and carnosic acids in *rosemary* plants. *Food Chem.* 101: 1211-1215.
- Makhloufi A ; (2013).** Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis*) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. Mémoire doctorat. Université Aboubaker Belkaid Bechar, 136p.
- Makris D. P., Boskou G., Andrikopoulos N. K. 2007.** Recovery of antioxidant phenolics from white vinification solid by-products employing water/ethanol mixtures. *Bioresource Technology*, 98, 2963-2967.
- Marrouf A ; Reynand j ; (2007).** La botanique, Dunod, 1ed Paris. p313 :241. 51.
- Martin S ; Andriambelason R ; (2002):** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium .Cellular mechanism of vasculo protection induced by polyphenols on the endothelium *Annales de cardiologie et d'angéiologie.* (51),p 304–315.
- M-Culvier et al,** sage and rosmary phenolic antioxidants, *JAOCS*, 1996 , VOL(73).
- Milane H ; (2004)** La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat. Strasbourg.
- Moon T; Wilkinson JM; Cavanagh HM; (2000).** Anti-parasitic activity of two *lavandula* essential oils against *Giardia duodenalis*, *Trichomonas vaginalis*, and *Hixamita inflota*. *Parasitol. Res.* 99: 722-8.
- Mohammedi Z ; (2006).** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de magister .Tlemcen.
- Mansouri A ; Boskou G ; Kefalas P ; Atoui A.K ; (2005).** Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chem.* 89, 27-36. Ayadi.
- Novelli G. P; (1997).** Role of free radicals in septic shock. *J. Physiol. Pharmacol;* 48: 517- 527.
- Pavela R; (2006).** Insecticidal activity of some essential oils against larvae of *Spodoptera littoralis*. *Pharmacol.* 76: 699-6.
- Peeking A; Picand B; Hacene K; Lokiec F; Guerin P; (1987).** Oligimère sprocyanidoliques (Endotélon) et système lymphatique. Artères et Veines. Publications médicales AGCF. Vol. (6): P 51-178-512.

Pincemail J ; Defraigne J ;(1999)."Les antioxydants: un vaste réseau de défenses pour lutter contre les effets toxiques de l'oxygène." Presented at Symposium «antioxydants et alimentation», Institut Danone, Bruxelles.

Podsdek A; (2007) Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. LWT. 40:1-11.

Poletti A ;(1988) Fleurs et plantes médicinales. 2ème Edition. Delachaux & Niestlé (Ed). Paris, 222p.

Rozman L; Kalinovic I; Korunic Z; (2007). Toxicity of naturally occurring compounds of Lamiaceae and Lauraceae to three stored-product insects. J. Stored Prod. Res. 43: 349– 355.

Schauenberg O; Paris F; (1977). Guide to Medicinal Plants. Keats, New Canaan, C T.

Seignalet J ;(2004) l'alimentation ou la troisième médecine . (O.E.I.L.) François-Xavier de Guibert, 5éd. Paris .660 p : 145.

Sotelo-Félix JJ; Martinez-Fong D; Muriel P; Santillán RL; Castillo D; Yahuaca P; (2002). Evaluation of the effectiveness of *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae) in the alleviation of carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity in the rat. J. Ethnopharmacol. 81:145–54.

Staub H ; Bayer L ;(1997) Traité approfondi de phyto-aromathérapie : avec présentation de 750 huiles essentielles connues. Paris : Grancher, 2013, 685p. (Collection : Le Corps et l'esprit (Paris. 1997)).

Tawaha K; Alali F. Q; Gharaibeh M; Mohammad M; El-Elimat T; (2007). Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. Food Chem; 104: 1372-1378.

Tepe B; Sokmen M; Akpulat H.A; Sokmen A; (2006). Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey. Food Chem. 95: 200-204.

Torres de pinedo A; Pen alver P; Morales J.C; (2007). Synthesis and evaluation of new phenolic-based antioxidant : structure activity relationship. Food Chemistry, 103 :55-61.

Traboulci A.F; Taoubik; el-Haj S; Bessiere J.M; Rammal S; (2002). Insecticidal properties of essential oils against the Mosquito *Culex pipiens molestus*. Post. Mange. Sci. 58: 491-5.

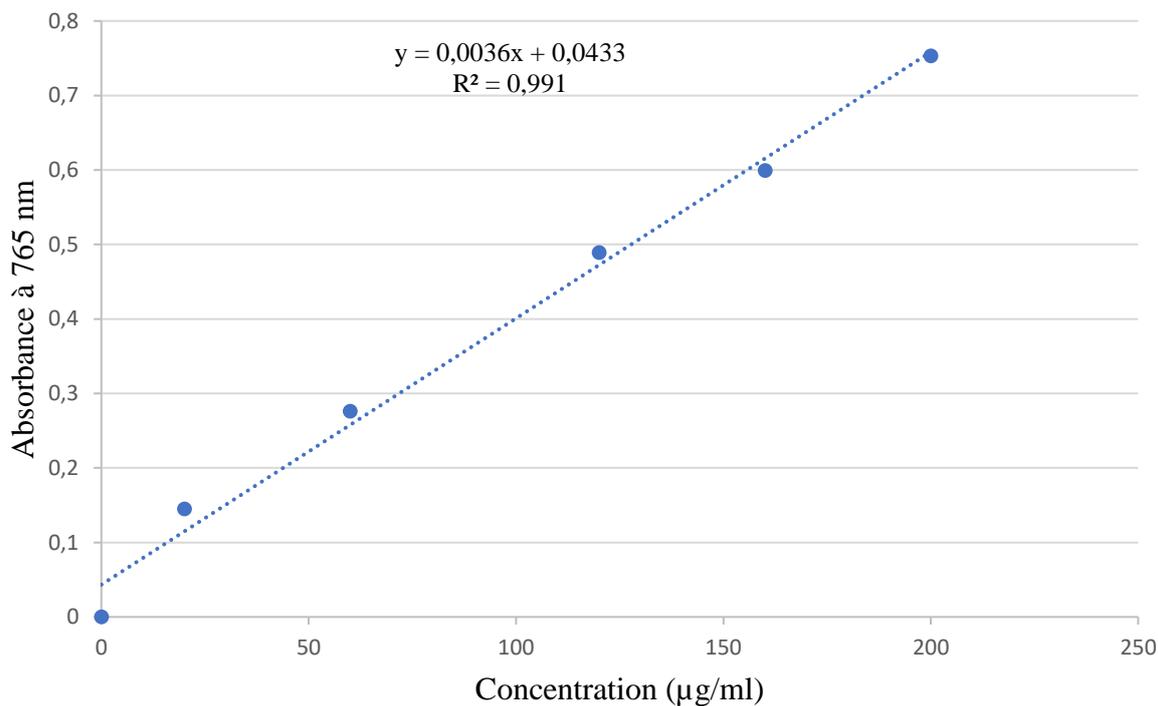
Tsai P; Tsai T; Ho S; (2007). in vitro inhibitory effects of rosemary extracts on growth and glucosyltransferase activity of *Streptococcus sobrinus*. Food Chem. (in press).

Wichtl M ; et Anton R ; (2003). plantes thérapeutiques. Tec et doc ,2 ed. paris. p505 :8.

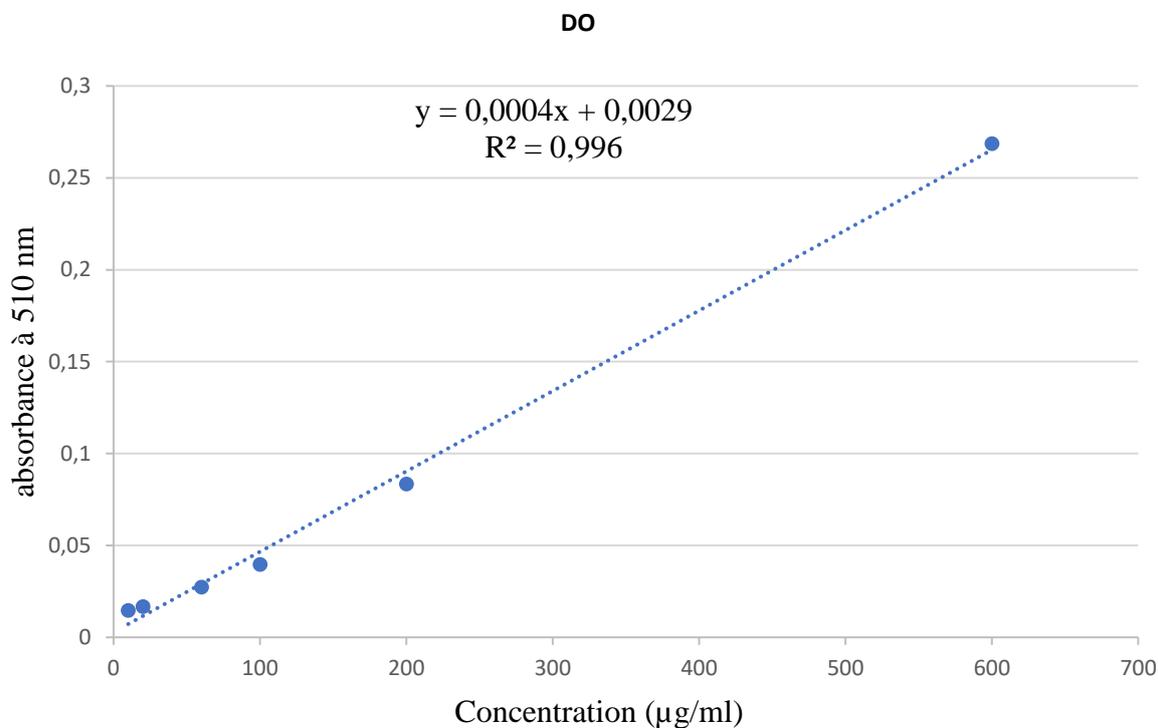
Yamamoto J ; Yamada K ; Naemura A ; Yamashita T ; Arai R ; (2005). Testing various herbs for antithrombotic effect. Nutri. 21 : 580-587

Zaouali Yosr; Taroub Bouzaine ; Mohamed Boussaid; (2010). Essential oils composition in two *Rosmarinus officinalis* L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities. Food and Chemical Toxicology 48, 3144–3152.

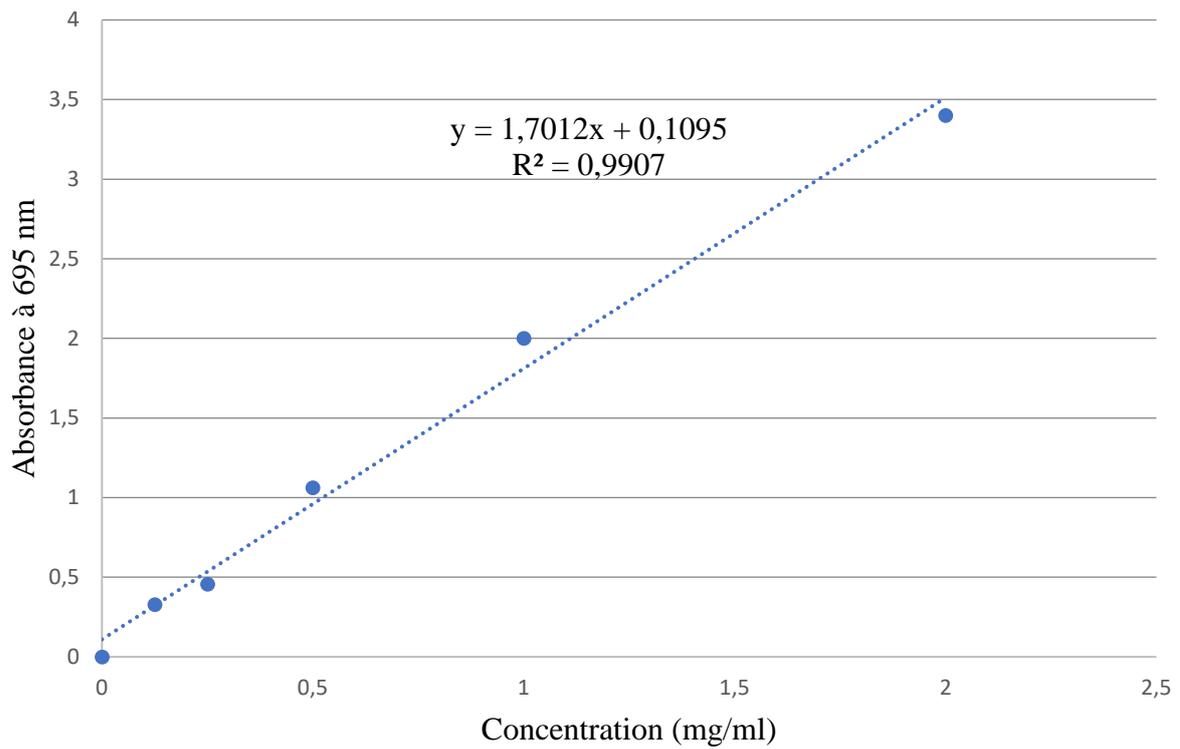
Annexes



Annexe 1 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.



Annexe 2 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.



Annexe 3 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique

Annexe 4 : Analyse de la variance relative à la teneur en polyphénols des différents extraits de *R. officinalis* et *R. officinalis prostratus*

Source de variation	Sommes des carrés	Ddl	Moyennes des carrés	F	P
PLANTES	261,222	1	261,222	4,787	0,071
EXTRAITS	2 055,021	2	1 027,511	18,83	0,003
Interaction	301,046	2	150,523	2,758	0,141
Erreur	327,415	6	54,569		

Annexe 5 : Analyse de la variance relative à la teneur en flavonoïdes des différents extraits de *R. officinalis* et *R. officinalis prostratus*

Source de variation	Sommes des carrés	Ddl	Moyennes des carrés	F	P
PLANTES	10,037	1	10,037	0,498	0,507
EXTRAITS	5 705,160	2	2 852,580	141,409	0
Interaction	115,325	2	57,662	2,858	0,134
Erreur	121,036	6	20,173		

Annexe 6 : Analyse de la variance relative à CAT des différents extraits de *R. officinalis* et *R. officinalis prostratus*

Source de variation	Sommes des carrés	Ddl	Moyennes des carrés	F	P
PLANTES	630,367	1	630,367	1,239	0,287
EXTRAITS	520,261	2	260,13	0,511	0,612
Interaction	40,736	2	20,368	0,04	0,961
Erreur	6 104,677	12	508,723		

Annexe 7 : Analyse de la variance relative à DPPH des différents extraits de *R. officinalis* et *R. officinalis prostratus*

Source de variation	Sommes des carrés	Ddl	Moyennes des carrés	F	P
PLANTES	0,009	1	0,009	7,672	0,032
EXTRAITS	0,14	2	0,07	57,768	0
Interaction	0,065	2	0,033	26,802	0,001
Erreur	0,007	6	0,001		