



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la
Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Biologie Et Ecologie Végétale

قسم بيولوجيا و ايكولوجيا النبات

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : sciences biologiques

Spécialité : Biologie et physiologie de reproduction

Intitulé :

Etude phytochimique et évaluation des activités antioxydante, antibactérienne des espèces :

Rosmarinus officinalis L. et Helichrysum italicum L.

Présenté et soutenu par : Abderzak Mehdi

Abdesamad Alaa

Jury d'évaluation :

Président du jury : MCA KARA KARIMA

Rapporteur : MCA CHIBANI SALIH

Examineurs : MAA BOUCHOUKH

LE : 24/6/2018

Année universitaire 2017/2018

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciement

on remercie dieu le tout puissant de nous à voir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire. Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de Mr SALIH CHIBANI. On le remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.

Nous sommes conscients de l'honneur que nous a fait Mr Kara Karima en étant président du jury et madame Bouchoukh d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nos remerciements s'adressent également à tous nos professeurs pour leurs générosités et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leurs charges académiques et professionnelles.

Remerciements vont également à toutes les personnes qui nous ont aidés et soutenus .

Nous exprimons aussi nos remerciements et notre gratitude à tout le personnel des laboratoires de la biologie écologie végétal Constantine1, pour leurs encouragements et leurs aides précieuses durant toute la période de notre travail.

mehdi .

DEDICACE



Je dédie ce travail tout d'abord à ma chère mère. Merci de m'avoir soutenu tant moralement que matériellement pour que je puisse atteindre mon but, et de vos prières pour moi.

A mon cher père qui ont toujours souhaité notre réussite et qui m'ont permis d'atteindre mes objectifs dans mes études et dans ma vie.

Mes frères, et ma sœur, que la solidarités que nous cultivons ne s'estompe jamais .

*A tous mes amies de la promotion de master en biologie
a tous ceux qui ont pris place dans mon coeur et a tous ceux qui m'ont aidé de près ou de
loin.*

*Sans oublie tous les professeurs que ce soit de primaire, du moyen, du secondaire, ou de
l'enseignement supérieure.*

Mehdi .

Liste de Figure

Figure1 : <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	2
Figure2 : <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	3
Figure 3 : Formule chimique brute d'une fonction phénol (C ₆ H ₅ OH).	16
Figure 4 : Structures des polyphénols.....	16
Figure 5 : Effets biologiques des polyphénols (Martin et Andrantsitohaina R ,2002)... ..	18
Figure 6 :Structure de base de coumarin.....	19
Figure 7 :La formule générale des anthraquinones.....	20
Figure 8 :Différentes structures des tanins.	21
Figure 9 :Structure de base des flavonoïdes (Alejandro et <i>al.</i> , 2013).	22
Figure 10 :Les différentes classes des flavonoïdes.	23
Figure11 : Effets biologiques des flavonoïdes.....	24
Figure 12 : Squelette d'antocyanes (Kueny-Stotz, M. (2008).	25
Figure 13 :Bactérie d' <i>Escherichia coli</i>	28
Figure 14 : Bactérie <i>Staphylococcus aureus</i>	28
Figure 15 : Organes végétaux broyés	30
Figure 16 : Obtention des extraits	31
Figure 17 : Protocole d'extraction	32
Figure 18 : Macération	33
Figure 19 : Filtration	33
Figure 20 : Evaporation par rotavapor	33
Figure 21 : Tests des activités antibactériennes	39
Figure 22 : Spectrophotomètre UV utilisé pour la lecture de l'absorbance.	40
Figure 23 : : Photographies des saponosides de l'espèce <i>Rosmarinus officinalis</i> L. (tiges, racines, fleures).	48
Figure 24 : Photographies des saponosides de l'espèce <i>Helichrysum italicum</i> L. (feuilles, tiges)..	48
Figure 25 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	52
Figure 26 : Evaluation de l'activité antioxydant de l'extrait EMRO	53
Figure 27 : Histogramme représentatif de % d'inhibition du DPPH par l'extrait méthanolique de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. de la partie aérienne (EMRO).	54
Figure 28 : Evaluation de l'activité antioxydante de l'extrait EMHI.	54
Figure 29 : Histogramme représentatif de % d'inhibition du DPPH par l'extrait EMHI.	55
Figure 30 : activité antibactérienne de l'extrait metahnoliques de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. et de L' <i>Helichrysum italicum</i> L. (technique de disque).	56

Liste de photo

Photo 1 : photo de l'espèce <i>Helichrysum italicum</i> L.	9
photo 2 : L'inflorescence en capitule	9
Photo3 : Observation des chromatogrammes	37

Liste de tableaux

Tableau1 : position systématique de l'espèce <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	6
Tableau2 : Les variétés de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	6
Tableau 3 : les caractéristiques de plantes qui appartenant à la famille des <i>Asteraceae</i>	10
Tableau4 : Sous-espèces <i>Helichrysum italicum</i> L.	11
Tableau5 : position systématique de l'espèce d' <i>Helichrysum italicum</i> L.	12
Tableau6 : principales classes de composés phénoliques.	17
Tableau 7 : Différentes concentrations des extraits	41
Tableau 8 : Résultats des composés phénoliques de l'espèce <i>Rosmarinus officinalis</i> L. ...	42
Tableau 9 : Résultats des composés phénoliques de <i>l' Helichrysum italicum</i> L.	42
Tableau10 : Photographies des composés phénoliques de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. et <i>l'Helichrysum italicum</i> L.	44
Tableau 11 : Criblage des alcaloïde des espèces <i>Rosmarinus officinalis</i> L. et <i>Helichrysum italicum</i> L.	45
Tableau 12 : Résultats des criblages des triterpènes et stéroïdes du <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	46
Tableau 13 : Résultats des criblages des triterpènes et stéroïdes du <i>l' Helichrysum italicum</i> L. ...	46
Tableau 14 : Photographie de stérols et triterpènes et stéroïdes.	47
Tableau 15 : Résultats de criblages des saponosides de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. et <i>l'Helichrysum italicum</i> L.	48
Tableau16 : Résultats des plaques de ccm prise après la révélation à la lumière UV (254nm) pour des extraits du <i>Rosmarinus officinalis</i> L. et <i>Helichrysum italicum</i> L.	49
Tableau 17 : Résultats de criblage des coumarines dans les deux espèces <i>Rosmarinus officinalis</i> L. et <i>l' Helichrysum italicum</i> L.	49
Tableau18 : Résultats des chromatogrammes du <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	50
Tableau 19 : Résultats des chromatogrammes du <i>l' Helichrysum italicum</i> L.	51
Tableau 20 : Le taux de polyphénols totaux. 52	
Tableau 21 : Taux d'inhibition du DPPH par les extraits EMRO et EMHI.	53
Tableau 22 : Diamètre en nm des zones d'inhibition des extraits EMRO ET LMHI.	55

Liste des abréviations

AcOEt : Acétate d'éthyle

AcOH : Acide acétique

BuOH : butanol

Cc : Concentré

CCM : Chromatographie sur couche mince

CHCl₃ : Chloroforme

Conc. : Concentration

EtOH : Éthanol

Extrait M : Extrait méthanolique

EMRO: Extrait méthanolique de *rosmarinus officinalis* L.

EMHI: Extrait méthanolique de *helichrysum italicum*

FeCl₃ : trichlorure de fer

g : gramme

H₂SO₄ : Acide sulfurique.

HCl : Acide chlorhydrique

KOH : Hydroxyde de potassium

MeOH : Méthanol

Mg: Magnésium.

mg : Milligramme

min : Minute

ml : Millilitre

NaOH : Hydroxyde de sodium

Na₂SO₄ : sulfate de sodium

nm : nanomètre

R_f : Rapport frontal

Sys: Système

Tol : Toluène

MH: Mueller Hinton.

MS: matière sèche.

Na Cl : Chlorure sodium.

Na₂ CO₃ : carbonate sodiume.

NaOH : Sodium hydroxyde.

PM : Plant Médicinale.

Mg :Magnésium

Et *al* :Et autres auteurs

µg : Microgramme

OMS :Organisation mondiale de la sante

S.M : Solution méthanolique

% : Pourcentage

S1 : Système 1 : Chloroforme / Méthanol (90 :10).

S2 : Système 2 : Acétate d'éthyle / Méthanol / Eau (10 : 1 : 0,5).

S3 : Système 3 : Butanol / Acide acétique / Eau (6 /1,5/2,5).

Sommaire

La première partie : Etude bibliographique

Chapitre 1 : Etude botanique

Introduction

I- La plante <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	2
I-1- Famille des Lamiaceae	2
I-2- Genre <i>Rosmarinus</i> :	2
I-2-1-Le Genre <i>Rosmarinus</i> : à 1 seule espèce. l'espèce <i>Rosmarinus officinalis</i>	3
I-2-2-Définition de <i>Rosmarinus officinalis</i>	4
I-2-3- Caractéristique botanique	4
I-2-4- Origine du nom	4
I-2-5- Description botanique des lamiaceae	4
I-2-6- Habitat	5
I-2-7- Culture	5
I-2-8- Production mondiale	6
I-3- Les variétés de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	6
I-3-1- Composition biochimique de <i>Rosmarinus officinalis</i> L	6
I-3-2- Propriétés pharmacologiques et thérapeutiques du Romarin :.....	7
I-3-3- Propriétés médicinales de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. en utilisation interne	7
1- 4 - Famille des Asteraceae:	8
I-4-1- Description général	8
I-4-2- les caractéristiques de plantes qui appartenant à la famille des <i>Asteraceae</i>	10
I-4-3- Genre <i>Helichrysum</i>	10
I-4-4- l'espèce <i>Helichrysum italicum</i> L.	10
I-4-5- Description botanique de l' <i>Helichrysum italicum</i> L.	10
I-4-6- Sous-espèces <i>Helichrysum italicum</i> L.	11
I- 4-7- Répartition géographique	11
I-4-8- position systématique de l'espèce d' <i>Helichrysum italicum</i> L.	12
I-4-9- Usage médicinaux	12

Chapitre 2 : Métabolites secondaires

Introduction:.....	13
II-1- Synthèse de métabolites secondaires chez les végétaux :.....	14
II-2-Définition générale :.....	14
II-3- Les métabolites secondaires :.....	14
II-4- Fonctions des métabolites secondaires	15
II-5-Classification des métabolites secondaires :	15
II-5-1- Les composés phénoliques :	15
II-5-1-1- Les principales classes de composés phénoliques :.....	16
II-5-2-Les acides phénoliques	17
II-5-2-1- Biosynthèse des composés phénoliques	18
II-5-2-2- Rôle biologique des composés phénoliques :.....	18
II-5-3- Les coumarines :	19
II-5-4- Les quinones	19
II-5-5- Les anthraquinones	19
II-5-6-Les tanins.....	20
II-5-6-1- Structure chimique et classification :.....	20
II-5-6-2- Propriétés biologiques :	21
II-5-7-Les flavonoïdes :.....	22
II-5-7-1- Structure :.....	22
II-5-7-2- Différents types de flavonoïdes :.....	22
II-5-7-3- Biosynthèse des flavonoïdes :	23
II-5-7-4- Localisation et distribution Les flavonoïdes :.....	23
II -5-7-5- Propriétés thérapeutiques des flavonoïdes :.....	23
II-5-8- Les anthocyanes	24
II-5-8-1- Structure	24
II-6- Les alcaloïdes :.....	25
II-6-1- Propriétés	25
II-7- Les terpènes :	25
II-7-1-Classification des terpénoïdes	26
II -7-2- Importance des Terpénoïdes.....	26

II-8- Les saponosides :	26
II-8-1-Les propriétés biologiques des saponosides :	26
III- Evaluation des activités biologiques :	27
III-1-Activité antibactérienne :	27
III-2-Mécanisme d'effet antimicrobien des polyphénols	27
III-3-Définition de la bactérie :	27
III-3-1- Caractéristiques des souches bactériennes utilisées : A : <i>Escherichia coli</i> . B : <i>Staphylococcus aureus</i>	28
III-4-Méthodes de détermination de l'activité antioxydante	29

La deuxième partie : Etude expérimental

Chapitre 1 : Matériel et méthode

I- Le matériel végétal :.....	30
I-1- Broyage de parties sec :.....	30
I-2- Préparation des extraits hydroalcooliques	31
I-3-La macération 32	
I-3-1-Protocole de macération:	32
I-4-Évaporation : 33	
I-5-Screening phytochimique:	34
I-5-1- Tests phytochimiques :	34
I-5-2- Criblage des flavonoïdes	34
I-5-3-Criblage des quinones	34
I-5-4- Criblage des anthraquinones	34
I-5-5- Criblage des tanins	35
I-5-6- Criblage des coumarines.....	35
I-5-7- Criblage des stérols et tritérpens	35
I-5-8-Criblage d'alcaloïde	36
I-6- Etude analytique par ccm	37
I-6-1-La chromatographie	37
I-6-2-Protocole de La chromatographie	37
I-7- Evaluation des activités biologiques	38
I-7-1- Activité antibactérienne.....	38
I-7-2-Protocole expérimental	38
I-8-Dosage des composés phénoliques totaux	39

I-9-Activité anti-oxydante	40
I-9-1- Protocole expérimental de Préparation de la solution DPPH	41
I-9-2-protocole expérimental de l'Activité anti-oxydant	41
Chapitre 2 : Résultats et discussions.....	42
II.1. Screening phytochimique :.....	42
II.1.1. Criblage des composés phénoliques	42
II.1.1.1. Criblage de flavonoïdes.....	42
II.1.1.2. Criblage des anthocyanes	43
II.1.1.3. Criblage des quinones.....	43
II.1.1.4. Criblage des anthraquinones	43
II.1.1.5. Criblage de tanins	43
II.1.2. Criblage de stérols et triterpènes	46
II.1.3. Criblage des saponosides	48
II.1.4. Criblage des coumarines	49
II.1.5. Chromatographie sur couche mince CCM :.....	50
II.1.6. Dosage des polyphenols totaux	52
II.2. Les activités biologiques :.....	53
II.2.1. Activité antioxydante	53
II.2.2. Activité antibactérienne	55
Conclusion.....	57
Résumé	
Référence	

Partie I

Chapitre I

Etude botanique

Introduction.

Depuis longtemps l'homme reconnaît et utilise les plantes, pour se nourrir et pour traiter diverses maladies. Les vertus thérapeutiques des plantes, ont été expérimentées depuis lors et leurs précieuses caractéristiques, se sont transmises oralement de génération en génération, ou consignés dans les vieux écrits.

Les remèdes de bonne réputation, ont prévalu malgré le développement de la médecine moderne, qui est venue marginaliser, le recours aux techniques médicales naturelles (**GOEB, 1999**).

Selon **HOSTETTMANN (1997)**, connaître une plante ayant des vertus médicinales, suppose pouvoir décrire sa morphologie, et son anatomie, connaître son origine et son mode d'action, apprécier l'incidence de ceux-ci sur sa qualité, analysé sa composition chimique et les facteurs qui peuvent la faire varier, connaître la structure et les propriétés des principes actifs. Aussi bien que leurs activités pharmacologiques.

En l'absence d'un système médical moderne (**Tabuti et al, 2003**). Actuellement, le développement de la résistance microbienne, aux antibiotiques, ont conduit les chercheurs à puiser dans le monde végétal, et particulièrement les plantes médicinales et culinaires en quête de molécules naturelles efficaces et dénuées de tout effet adverse.

De nombreuses études ont mis en évidence, la présence de métabolites secondaires, doués d'activités biologiques, telles que les polyphénols, alcaloïdes, terpènes etc. La flore algérienne, avec ses différentes espèces, appartenant à plusieurs familles botaniques, reste très peu explorée tant sur le plan phytochimique que sur le plan pharmacologique (**Merzoug, 2009**).

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressées à l'étude de deux espèces médicinales, *Rosmarinus officinalis* L. et *Helichrysum italicum* L. Ce manuscrit est divisé en deux parties : La première partie comprend 2 chapitres, le premier chapitre est consacré à l'aspect botanique et phytochimique.

Le deuxième chapitre, élucide les métabolites secondaires. La deuxième partie est subdivisée en 2 parties : matériel et méthodes, résultats et discussion.

I- La plante *Rosmarinus officinalis* L.

I-1- Famille des Lamiaceae.

Les lamiaceae ou labiatae (lamiacées, labiacées ou labiées), sont une importante famille de plantes dicotylédones, qui comprend environ 6 000 espèces et près de 210 genres. La famille des dicrastylidiaceae (encore appelée chloanthaceae), y est incorporée par la classification phylogénétique.

Ce sont 11 genres d'arbustes, des régions tropicales d'Afrique de l'Est, de Madagascar, des Mascareignes, d'Australie et des îles du Pacifique. Certains genres provenant de la famille des Verbenaceae y sont maintenant incorporés.



Figure1 : *Rosmarinus officinalis* L.

I-2- Genre *Rosmarinus* :

Le genre *Rosmarinus* comprend 2 espèces de plantes de la famille des lamiacées originaires du bassin méditerranéen.

A : *Rosmarinus eriocalyx* Jordan & Fourr.

B : *Rosmarinus officinalis* L. - Romarin.

I-2-1-Le Genre *Rosmarinus* : à 1 seule espèce.

Particularité de l'espèce *Rosmarinus officinalis* : Arbuste de 0,80-1,50 m, dense, aromatique, très feuillé. Feuilles persistantes, 2,5-5 cm de long, effilées, entières, roulées sur les bords, sessiles, vert foncé dessus, blanc feutré dessous. Inflorescence en grappes courtes, axillaires. Fleurs de 1 cm, à calice purpurin, campanulé, duveteux. Corolle bilabée, bleu violacé, 4 étamines, 2 dépassant la lèvre supérieure de la corolle. Floraison en mars-juin, mais souvent en septembre-mars en région méditerranéenne. Fruit globuleux.



Romarin officinal 'Prostratus.'



Romarin officinal 'Corsican Blue'.



Romarin officinal 'Pointe du Raz.'



Romarin officinal 'Mrs. Jessop's Upright'.

Figure2 : *Rosmarinus officinalis* L.

I-2-2-Définition de *Romarin officinale*.

Le *Romarin* est une plante, des coteaux arides, garrigues, et lieux rocheux de la région méditerranéenne, et même un peu plus au sud jusqu'aux confins sahariens, depuis l'antiquité, il est employé pour améliorer et stimuler, la mémoire encore aujourd'hui en Grèce, les étudiants en font brûler dans leurs chambres en période d'examens (BOULLARD, 2010).

I-2-3-Caractéristique botanique de *Rosmarinus officinalis* L.

Les feuilles sont étroitement lancéolées linéaires, faibles 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 (GONZALEZ-TRUJANO et al. 2007 ; ATIK BEKKARA et al. 2007).

I-2-4- Origine du nom.

Cet arbrisseau est retrouvé en bord de mer, d'où son nom de "rhusmarinus, arbre marin ; Ros marinum, rosée marine".

I-2-5- Description botanique des lamiaceae.

Ce sont le plus souvent des plantes herbacées, des arbustes et rarement des arbres ou des lianes, producteurs d'huiles essentielles, largement répandus autour du monde et dans tous types de milieux. Pour la plupart des genres, 10 critères caractérisent cette famille :

Racine pivotante ramifiée. Des feuilles simples, opposées décussées (disposées en paire se croisant d'un nœud à l'autre), parfois verticillées, dépourvues de stipules, à limbe souvent lobé ou découpé, à la marge entière ou dentée. Une tige à section quadrangulaire, en raison de la présence de faisceau de collenchyme aux quatre angles.

La forme de la fleur : La plupart du temps zygomorphes à symétrie bilatérale, mais parfois presque radiaire. Inflorescence : Fleurs en cymes, souvent réunies en faux-verticilles étagés, axillaires ou terminaux, d'aspect globuleux et dense (condensation des cymes en glomérules) ; rarement fleurs isolées.

Calice zygomorphe tubuleux à 5 sépales soudés (5-12 lobes égaux), parfois bilabié (deux lèvres), persistant et se terminant par des dents ou des aiguillons.

Corolle généralement caduque zygomorphe, constituée de 5 pétales soudés (tube se terminant par 4 ou 5 lobes) ou parfois à 4 lobes subégaux (*Mentha*, *Lycopus*, *Lavandula*), bilabiée (corolle soudée bilabiée de *Lamium*) ou unilabiée (une lèvre inférieure, la supérieure étant très réduite : *Ajuga*, *Teucrium*). Par tube de la corolle, il faut entendre la partie basilaire, plus ou moins cylindrique, de cet organe.

Androcée oligostémone composé typiquement de quatre étamines fertiles (en deux paires parfois inégales : androcée didyname) soudées au tube de la corolle, la cinquième n'apparaissant pas ; parfois aussi, deux des étamines stériles se réduisent à des staminodes ; anthères introrsées dorsales fixes à déhiscence longitudinale, parfois fixés par un connectif élargi. La protandrie se manifeste au niveau des fleurs d'un même étage qui fleurissent de manière synchrone.

Gynécée composé de deux carpelles, soudés entre eux ; ovaire supère, à quatre ovules anatropes unité gumentés (carpelles à 2 ovules mais chaque loge divisée par une fausse cloison) ; un style gynobasique, naissant le plus souvent entre les lobes de l'ovaire et portant un stigmate bifide ou à 4 lobes.

À la fructification, une fausse-cloison divise chaque carpelle en deux, formant ainsi un tétrakène composé de quatre nucules (parfois une drupe). Le fruit est enfermé dans le calice persistant, qui ne s'ouvre que par temps humide. Lorsqu'il reçoit les gouttes de pluies, ce calice se comprime vers le bas, puis se détend, propulsant les fruits comme une catapulte. Les nucules peuvent aussi être dispersés par le vent, les oiseaux frugivores ou les fourmis. La myxocarpié chez les Nepetoideae se traduit par des nucules à mucilages qui se collent aux agents disperseurs¹⁰.

Formule florale : (S)₅ (P₍₅₎E₄₋₂) C₍₂₎.

I-2-6-Habitat de *Rosmarinus officinalis* L.

Originaire des régions méditerranéennes, le *Rosmarinus officinalis* L. Pousse spontanément dans le sud de l'Europe. On le cultive dans le monde entier à partir de semis ou de boutures au printemps. Il apprécie les climats chauds, modérément secs, les branches récoltées pendant l'été sont séchées à l'air et à l'ombre (HEINRICH et al. 2006).

I-2-7-Culture de *Rosmarinus officinalis* L.

Le Romarin se cultive dans un endroit ensoleillé, dans un sol calcaire et bien drainé. Bien que ce soit une plante aimant les climats chauds, il supporte les gelées, si le sol ne conserve pas l'humidité. Idéalement, ce dernier doit avoir un pH, compris entre 7 et 7,5. Une légère taille au printemps, après sa floraison a essentiellement pour but de lui conserver une forme harmonieuse. Il ne doit pas être rabattu trop court. Son feuillage persistant et sa tenue rend tenue rend propice l'utilisation de certaines variétés touffues à une utilisation en topiaire. Il se multiplie facilement au printemps ou à l'automne par bouturage ou marcottage ; plus difficilement en été par semis car sa germination est lente⁷.

Le *Rosmarinus officinalis* L. est assez résistant aux nuisibles.

Il craint toute fois le [rhizoctone brun](#) en cas d'humidité trop importante.

I-2-8-Production mondiale de *Rosmarinus officinalis* L.

Le *Rosmarinus officinalis* L. Est cultivé à large échelle en Espagne, en Tunisie, au Maroc, en Italie, en France, en Algérie et au Portugal, principalement pour en extraire de l'huile essentielle. La production mondiale d'huile essentielle de Romarin atteint 200 à 300 tonnes en 2005.

En [Inde](#), la CIMAP (Central Institute of Medicinal and Aromatic Plants) a introduit la production de *Rosmarinus officinalis* L. À la fin des années 80, qui s'est développée au cours des années 90. Cette production est concentrée dans le sud, dans les [Nilgiri](#) et autour de [Bangalore](#).

I-2-9- position systématique de l'espèce *Rosmarinus officinalis* L. (Tableau 1)

Règne	plantes
Embranchement	Spermaphytes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Lamiales (labiales)
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Rosmarinus</i>
Espèce	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.

I-3-Les variétés de *Rosmarinus officinalis* L. (Tableau 2)

Pour changer, optez pour le **Romarin à fleurs blanches** que l'on trouve dans les pépinières spécialisées. Le parfum est le même que chez les autres romarins et il forme un joli arbuste.

-Le **Romarin corse** rampant porte lui des fleurs bleues. Son port retombant est parfait pour des hautes jardinières.

-Le **Romarin boule** forme un arbuste arrondi très élégant. Il peut être cultivé en bordure, en petite haie ou pour ponctuer un passage près de la cuisine, par exemple.

I-3-1-Composition biochimique du *Rosmarinus officinalis* L.

L'huile essentielle du Romarin (1 à 2% dans la plante) contient: de la pinène, (7 à 80%) de l'acétate de pinène, (1 à 37%) du camphre, (1 à 35%) de l'eucalyptol, (1 à 35%) du

bornéol , (4 à 19%), de l'acétate de bornyle (jusqu'à 10%), et du camphène. En plus de l'huile essentielle on trouve dans le *Romarin* : 2 à 4 % de dérivés triterpéniques tels que : l'acide ursolique, l'acide oléanolique, l'acétate de germanicol ; des lactones diterpéniques : picrosalvine, dérivés de l'acide canosolique, romanol, romadial, des acides Phénolique, 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 J, 1997**) et de la résine (**BELOUED A, 1998**).

I-3-2-Propriétés pharmacologiques et thérapeutiques du *Rosmarinus officinalis* L.

Cette plante est utilisée en médecine, en raison de ses différentes propriétés : Anti spasmodiques, diurétiques, hépato protectrices, soulagement des désordres (**Lemonica et al 1996 ; Souza et al 2008**).

Antibactériennes, antimutagéniques, antioxydantes, chémopréventives (**Ibañez et al, 2000 ; Pérez et al, 2007 ; Wang et al, 2008**).

Anti-inflammatoires, antimétastasiques (**Cheung et Tai, 2007**).

Inhibition de la genèse des tumeurs mammaires (**Singletary et Nelshoppen, 1991**), et la prolifération des tumeurs cutanées (**Huang et al ,1994**).

D'autres études montrent que les composants du Romarin inhibent les phases promotion de cancérogénèse (**Offord et al, 1995**).

Carnosol du Romarin possède une activité antivirale, contre le virus du SIDA (HIV) (**Aruoma et al, 1996**), alors que l'acide carnosique a un effet inhibiteur très puissant contre la protéase de HIV-1 (**Paris et al, 1993**).

I-3-3-Propriétés médicinales du *Rosmarinus officinalis* L. en utilisation interne

Favorise la digestion, régule les lipides, améliore la circulation sanguine : Cholagogue (aide à l'évacuation de la bile), antispasmodique.

Diurétique : il réduit les risques de calculs rénaux ou de goutte et prévient les rhumatismes.

Antistress, antifatique : Il prévient l'insomnie et permet de lutter contre le surmenage intellectuel.

Effet antioxydant : Contre le vieillissement cellulaire.

Contre les affections de la peau : Infections, plaies, nettoyage de la peau et des zones génitales.

Permet de lutter contre certains agents pathogènes : Antimycosique et antibactérien.

Soulage les rhumatismes.

Accélère la pousse des cheveux.

1-4 - Famille des Asteraceae:

Un des taxon des plantes à fleurs dicotylédones, sont la deuxième famille en importance de la division magnoliophyta, avec quelques 1100 genres et plus de 20 000 espèces reconnues, avec environ 350 genres et 2687 espèces en Amérique du Nord (USA et Canada), et d'après la "flore laurentienne, de frère Marie-Victorin, 41 genres and 311 espèces au Québec.

Seule la famille des orchidées (*Orchidaceae*) contient plus de genres et d'espèces, près de 25 000 espèces décrites. C'est l'une des familles les plus importantes des angiospermes.

Ce sont presque toujours des plantes herbacées avec souvent des racines charnues : rhizomateuses, tubéreuses, ou pivotantes.

Cette famille présente, des caractères morphologiques divers : herbes annuelles ou vivaces, plus rarement des arbustes, arbres ou plantes grimpantes.

I-4-1- Description général des Asteraceae.

A- Appareil reproducteur :

Inflorescence en capitule : Ensemble de fleurs sessiles, serrées les une contre les autres, sans pédoncules, réunies sur un réceptacle floral élargi.

La fleur : Les fleurs sont donc regroupées en capitules qui peuvent compter plusieurs centaines de fleurs. Les capitules sont parfois réduits à quelques fleurs.

Le calice est très réduit.

Ces fleurs à pétales soudées, peuvent être tubuleuses (on parle de fleurons) ligulées (on parle de demi-fleurons) ou très rarement bilabiées.

Fruits : Ce sont des akènes (fruits secs indéhiscent uniséminés) possédant le plus souvent un pappus provenant du développement du calice après la fécondation.

B- Appareil végétatif :

Habitus : Herbes vivaces, herbes annuelles, arbustes, lianes, voir astéracées cactiformes.

Feuilles : Les feuilles sont alternes, moins souvent opposées, rarement verticillées, toujours exstipulées. Feuilles sessiles ou pétiolées à limbe entier ou pluri-pennatiséqué.



Photo 1 : photo de l'espèce *Helichrysum italicum* L.

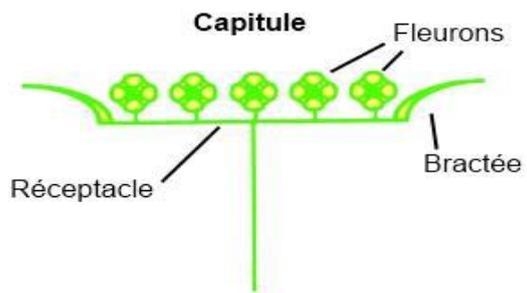


photo 2 : L'inflorescence en capitule

I-4-2- les caractéristiques de plantes qui appartenant à la famille des *Asteraceae* : (Tableau 3)

L'inflorescence est un capitule.

Les anthères sont syngénésiques, i.e. les étamines sont soudées ensemble par les bords de leurs anthères, formant ainsi un tube.

Les ovules sont à la base de l'ovaire.

L'ovaire n'a qu'un seul ovule.

Le fruit a généralement une aigrette.

Le fruit est un achène (ce qui s'écrit également akène ou achaine).

Elles contiennent des sesquiterpènes dans leurs huiles essentielles, mais ne contiennent pas d'iridoïdes.

I-4-3- Genre *Helichrysum*

Helichrysum est un genre de sous-arbrisseaux dans la famille des *asteraceae*. Ce sont les différentes espèces d'immortelles.

I-4-4- l'espèce *Helichrysum italicum* L.

Est une espèce de plantes à fleurs de la famille des asteraceae et du genre *Helichrysum*. Elle est présente tout autour de la méditerranée. Elle prend la forme d'un petit buisson de 40 à 60 cm en hauteur, fleurissant jaune d'or de début juin à fin juillet. Elle est réputée pour sa forte fragrance, et on l'utilise couramment pour en extraire de l'huile essentielle, à partir de souches cultivées (dans plusieurs pays, c'est une espèce protégée).

Le terme « *Helichrysum* » vient du grec *helios*, soleil, et *chrysos*, or (allusion à la couleur générale de la fleur). L'appellation « *italicus* », vient du latin *italicus*, italie, région où la plante a été décrite pour la première fois. L'appellation française d'« immortelle » viendrait de la conservation exceptionnellement longue des bouquets secs.

I-4-5- Description botanique de l' *Helichrysum italicum* L.

Helichrysum italicum L. est une plante vivace de 25 à 50 cm, ligneuse à la base et sempervirente. Hermaphrodite, elle fleurit de mai à août. Elle est pollinisée par les insectes (et parfois autogame) et ses fruits sont dispersés par la gravité. L'espèce type, déterminée par la sous-espèce *Helichrysum italicum* L. subsp. *italicum*, est décrite ainsi : toute la plante a une odeur forte de curry. Dressée ou ascendante, rameuse et porte des feuilles

linéaires très étroites, grêles et allongées, atteignant 2 à 3 cm, roulées en dessous par les bords, tomenteux, verdâtres ou verts sur les deux faces. Son involucre est petit (2 à 3 mm de diamètre), franchement oblong-cylindrique.

Les fleurs sont des bractées, d'un jaune pâle, regroupées en capitules serrés, en corymbe. Les bractées internes sont linéaires, dressées-appliquées, oblongues et non élargies au sommet, glanduleuses sur le dos et bien plus longues que les externes, ovales-obtuses. Les fruits sont des akènes très petits, couverts de petites glandes blanches et brillantes.

I-4-6- Sous-espèces *Helichrysum italicum* L. (tableau4)

***Helichrysum italicum* subsp. *italicum* - L'Immortelle d'Italie à proprement parler.**

***Helichrysum italicum* subsp. *microphyllum* (Willd.) Nyman Elle se distingue de l'espèce type par des feuilles plus courtes (1 cm) et par ses bractées internes et externes glanduleuses sur le dos.**

***Helichrysum italicum* subsp. *serotinum* (DC.) P.Fourn. Elle se distingue de l'espèce type par des capitules plus ovoïdes et des akènes dépourvus de glandes.**

***Helichrysum italicum* subsp. *pseudolitoreum* (Fiori) Bacch. & al.**

***Helichrysum italicum* subsp. *siculum* (Jord. &Fourr.) Galbany & al.**

***Helichrysum italicum* subsp. *picardii* (Boiss. &Reut.) Fr.**

I- 4-7- Répartition géographique

l'immortelle d'italie est endémique du pourtour méditerranéen. Plus précisément, elle est présente en algérie, au maroc, à chypre, en grèce, en albanie, en monténégro, en italie, en slovénie, en croatie, en france, au portugal, en bosnie-et-herzégovine et en espagne. Malgré certaine zones bien fournies (Corse, Sardaigne, zone littorale des Balkans), elle reste globalement rare. En france, elle est rare à très rare dans le Languedoc-Roussillon, les alpes maritimes et dans le var et assez rare à moyennement courante en Corse.

Son comportement est variable suivant la sous-espèce. Néanmoins toutes sont héliophiles, thermophiles et souvent xérophiles. Elles affectionnent essentiellement les roches composées d'altérites de calcaires ou de silice où elles s'installent souvent dans les fentes ou sur des zones très rocailleuses. Elles affectionnent donc des ph très différents. La sous-espèce *italicum* est propre aux falaises et pierriers granitiques des littoraux (*Helichryse taliaitalici*) et des maquis (synonyme *Rosmarinenalia officinalis*).

I-4-8- position systématique de l'espèce *Helichrysum italicum* L. (Tableau5)

Règne	<i>Plantae</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Ordre	<i>Asterales</i>
Famille	<i>Asteraceae</i>
Genre	<i>Helichrysum</i>
espèce	<i>Helichrysum italicum</i> L.

I-4-9-usage médicaux

Les sommités fleuries d' *Helichrysum italicum* L. sont distillées afin de produire une huile essentielle. Il existe plusieurs chénotypes. Les chénotypes des sous-espèces *microphyllum* et *serotinum* semblent être les plus appréciés.

Leurs huiles essentielles contiennent des monoterpènes, des sesquiterpènes, un ester terpénique particulier, l'italidione².

Elles ont des propriétés antioxydante, antibactérienne et antifongique⁴. Ce sont également de puissants analgésiques⁵.

En aromathérapie, elle est utilisée dans le traitement des hématomes, les douleurs Inflammatoires et les troubles de la circulation sanguine. Son huile est surnommée « huile du boxeur ». utilisations : voie cutanée: adultes : 1 goutte 3 fois par jour pendant 7 jours⁶.
comme la plupart des huiles essentielles, elle est déconseillée aux enfants et aux femmes .

Chapitre II

Métabolites secondaires

Introduction:

On désigne par « métabolite secondaire » toute substance présente chez un organisme, et qui ne participe pas directement, aux processus de base de la cellule vivante. Ce concept est historiquement attribué à Kossel (Kossel, 1891), qui l'introduisit par opposition à celui de métabolites primaires, ces derniers étant directement impliqués dans les grandes voies, du métabolisme basal de la cellule.

Chez les végétaux, ces composés secondaires, regroupent plusieurs dizaines de milliers de molécules différentes, généralement rassemblés en super familles chimiques, tel que les polyphénols, les terpènes et stérols, les alcaloïdes, les polycétides, etc. Outre la très grande diversité chimique qu'ils représentent, ces métabolites secondaires se caractérisent généralement, par de faibles concentrations, dans les tissus végétaux (généralement quelques pourcents du carbone total, si on exclue la lignine de cette catégorie), ainsi que par leur stockage, que par leur stockages ouvent réalisé dans des cellules ou organes dédiés.

Pour ce qui concerne leurs fonctions chez les plantes, les métabolites secondaires exercent un rôle majeur, dans l'adaptation des végétaux, à leur environnement. Ils assurent des fonctions clés, dans la résistance aux contraintes biotiques (Phytopathogènes, herbivores, etc.) et abiotiques (UV, température, etc.).

Sur le plan agronomique, le rôle de ces composés dans la protection des cultures est connu (résistance aux maladies cryptogamiques, aux infections bactériennes, à certains insectes), mais a été relativement peu exploité, pour ce qui concerne le développement de variétés résistantes.

Ces métabolites secondaires constituent, aujourd'hui, un des leviers d'une possible intensification écologique de l'agriculture, en substituant notamment l'usage d'intrants chimiques, par des mécanismes de défense naturelle des plantes.

D'un point de vue pharmacologique, les métabolites secondaires constituent la fraction la plus active des composés chimiques, présents chez les végétaux, et on estime aujourd'hui qu'environ 1/3 des médicaments actuellement sur le marché, contiennent au moins une telle substance végétale (Newman and Cragg, 2012).

Cette efficacité pharmacologique, des métabolites secondaires, s'est traduite par le développement de médicaments majeurs, sur les 30 dernières années, tel que le taxotère (Sanofi-Aventis), ou la Vinorelbine (Pierre Fabre Médicaments), utilisés dans le traitement de certains cancers.

II-1- Synthèse de métabolites secondaires chez les végétaux :

De nombreuses familles de métabolites secondaires, ont fait l'objet de recherches actives, lors des 30 dernières années, et certains processus de synthèse sont aujourd'hui bien décrits, comme dans le cas des flavonoïdes (**Pfeiffer and Hegedus, 2011; Tanaka et al., 2008**), des dérivés d'acide caféique (**Weng and Chapple, 2010**), des coumarines et furocoumarines, des terpènes et stérols (Lee *et al.* 2012), ou de certains alcaloïdes (**Jirschitzka et al., 2012**).

Cependant, dans la mesure où les plantes élaborent des dizaines de milliers de composés secondaires, de nombreuses voies restent encore à découvrir aujourd'hui.

L'organisation de la synthèse des métabolites secondaires, est schématisé eau travers de l'exemple des furo coumarines, molécules de défenses bien connues de la famille des apiacées (céleri, persil, panais, etc.) (**Bourgaud et al., 2006**).

D'une manière générale, les stress environnementaux, qu'ils soient biotiques ou abiotiques, provoquent des cascades réactionnelles conduisant à la transcription de certains.

II-2-Définition générale :

Les métabolites sont les produits intermédiaires, du métabolisme. Le terme métabolite est généralement par définition limité à de petites molécules.

Les métabolites ont diverses fonctions, y compris l'énergie, la structure, la signalisation, un stimulant et des effets inhibiteurs sur les enzymes, l'activité catalytique, la défense et les interactions avec d'autres organismes, par exemple des pigments, des substances odorantes et les phéromones.

II-3- Les métabolites secondaires :

Le terme « métabolite secondaire » qui a probablement été introduit, par (**Albert Kosselben 1891**), est utilisé pour décrire une vaste gamme de composés chimiques, dans les plantes, qui sont responsables des fonctions périphériques, indirectement, essentielles, à la vie des plantes telles que la communication intercellulaire, la défense, la régulation des cycles catalytiques (**Guillaume2008**).

Les métabolites secondaires, sont présent dans toutes les plantes supérieures, et ayant une répartition limitée, dans l'organisme de la plante. Dont plus de 200.000 structures on été définit (**Hartmann 2007**), et sont d'une variété extraordinaire.

II-4- Fonctions des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires, ne sont pas vitaux pour l'organisme, mais jouent nécessairement un rôle important, de part la machinerie enzymatique complexe, nécessaire à leur production. Elles représentent donc une grande source potentielle d'agents thérapeutiques (**Thomas, 2009**).

Ils pourraient jouer un rôle, dans la défense contre les herbivores, et dans les relations entre les plantes et leur environnement : Plusieurs composés phénoliques, participent à la filtration des UV, les pigments floraux sont essentiels aux processus de pollinisation (**Gravot, 2008**).

II-5-Classification des métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires sont produits en très faible quantité, il existe plus de 200 000 métabolites secondaires classés selon leur appartenance chimique en l'occurrence, les terpènes, les alcaloïdes, les composés acétyléniques, les cires, et les composés phénoliques (**Cuendet, 1999 ; Vermerris, 2006**). On distingue trois classes principales:

II-5-1- Les composés phénoliques :

Les composés phénoliques, sont une vaste classe, de substances organiques cycliques, très variées, d'origine secondaire qui dérivent du phénol C_6H_5OH qui est un monohydroxy benzène.

Les composés phénoliques sont fort répandus dans le règne végétal ; on les rencontre dans les racines, les feuilles, les fruits et l'écorce. La couleur et l'arome, ou l'astringence des plantes, dépendent de la concentration et des transformations des phénols.

Ces composés représentent 2 à 3% de la matière organique des plantes, et dans certains cas jusqu'à 10% et même d'avantage .Ils existent également sous forme de polymères naturels (tanins). Le groupe le plus vaste et plus répandu des phénols est celui des flavonoïdes (**Walton et Brown ; 1999**).

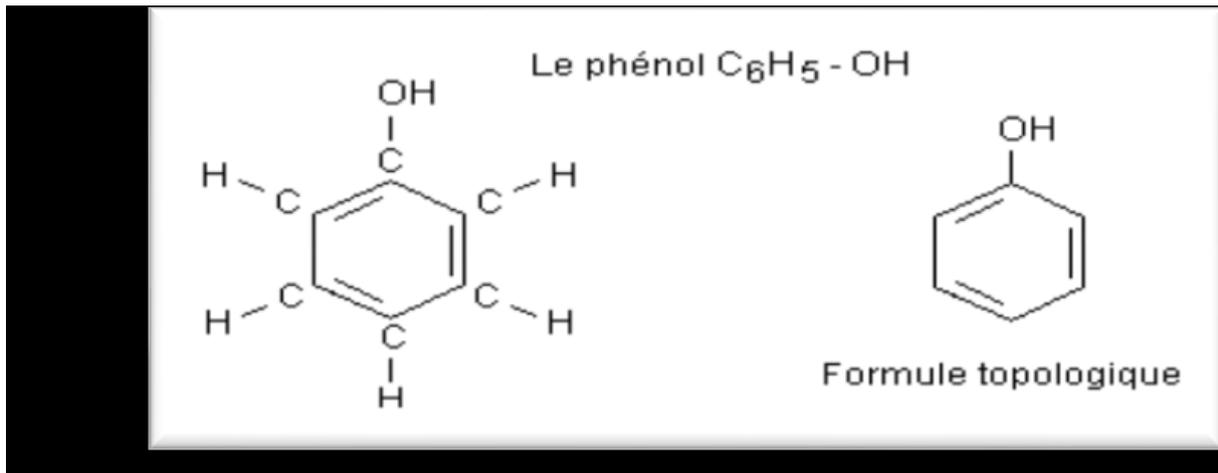


Figure 3: Formule chimique brute d'une fonction phénol (C6H5OH).

II-5-1-1- Les principales classes de composés phénoliques :

Les composés phénoliques sont classés, selon le nombre d'atome de carbone, dans le squelette de base, ces structures peuvent être sous forme, libres ou liées à l'ester ou hétérosides , **(Bruneton,1999)**.

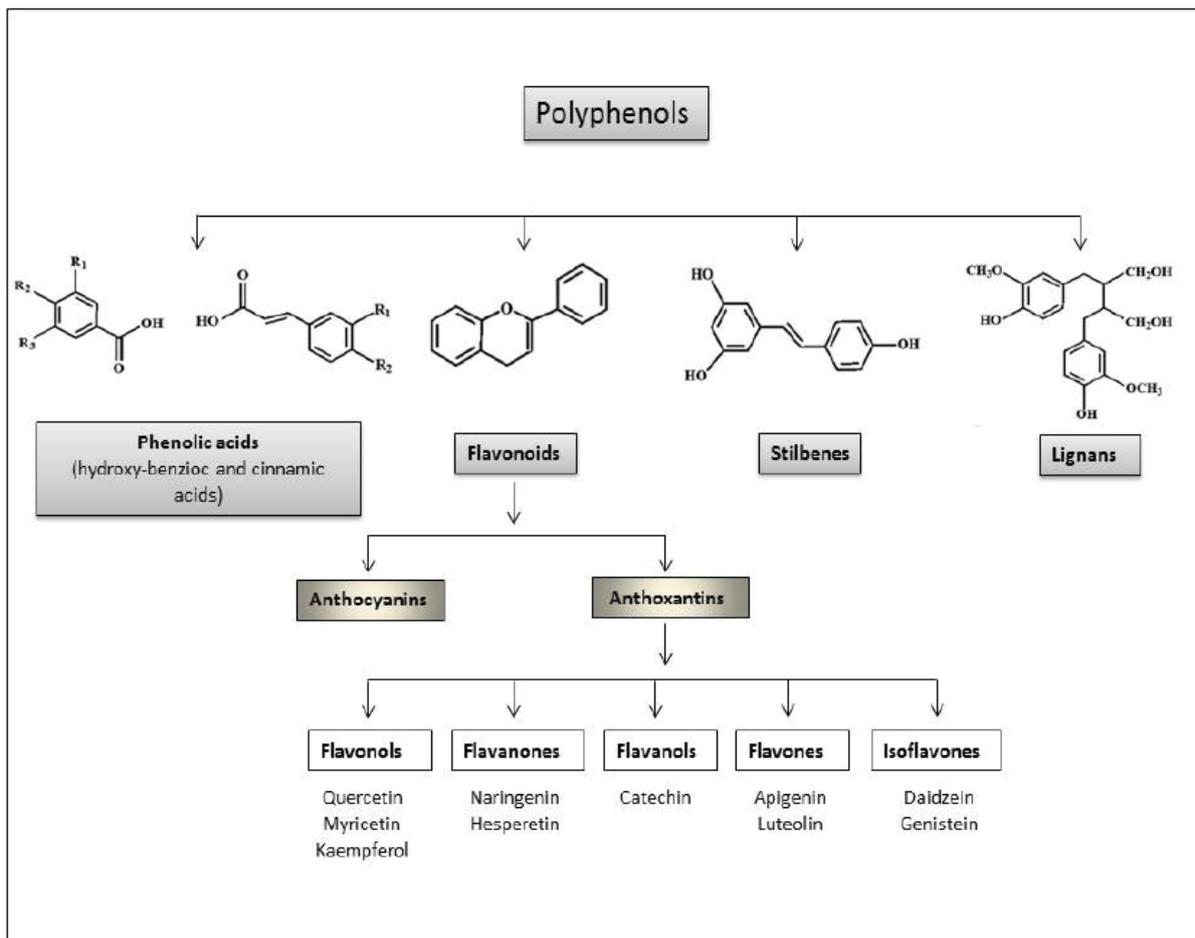


Figure 4 : Structures des polyphénols.

II-5-2-Les acides phénoliques

Ils ne possèdent pas de squelette flavane. Ils sont solubles dans l'éther. Ils peuvent être associés à la lignine, présents sous forme d'ester, ou bien localisés dans la partie de la feuille insoluble dans l'alcool (**Barboni, 2006**).

Ils présentent des propriétés biologiques intéressantes: anti-inflammatoires, antiseptiques urinaire, antiradicalaires, cholagogues, hépato protecteurs, cholérétiques, immunostimulants (**Bruneton, 1999**).

On distingue : Les dérivés de l'acide benzoïque (constitués d'un squelette à sept carbones). les dérivés d'esters hydroxycinnamiques (constitués d'une structure de type C6-C3) (**Barboni, 2006**).

1. Les acides benzoïques : Les acides benzoïques sont formés d'un squelette à sept atomes de carbones. Ils sont principalement représentés par les acides p-hydroxybenzoïques, protocatéchiques, vanilliques, galliques, syringiques, salicyliques, o-hydroxybenzoïques et gentisiques.

Les acides protocatéchiques et galliques ont probablement une origine et des fonctions différentes, dans la plante. Le premier est très largement répandu, le second est plus rare, on le rencontre dans la nature, surtout sous forme de dimère (**Ribereau, 1968**).

2. Les acides cinnamiques : Ces acides possèdent une structure du type C6-C3.

Les composés les plus fréquents sont l'acide p-coumarique, l'acide caféique, l'acide fertarique et l'acide cinnamique (**Ribereau, 1968**).

Tableau 6 :principales classes de composés phénoliques.

Tableau 1. Principales classes de composés phénoliques.⁵

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine
C ₆	Phénols simples	Catéchol	Nombreuses espèces
C ₆ -C ₁	Acides hydroxybenzoïques	<i>p</i> -hydroxybenzoïque	Epices, fraise
C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinnamiques, Phenylpropenes	Acide caféique, acide férulique	Pomme de terre, Pomme, citrus
	Coumarines	Myristicin, eugénol	
	Isocoumarines	Scopolétine	
	Chromones	Myristicine, eugénol	
C ₆ -C ₄	Naphtoquinones polyphénols	Eugenine	Noix
C ₆ -C ₁ -C ₆	Xanthones	Juglone, plumbagine	
C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbènes	Mangiferine	
C ₆ -C ₃ -C ₆	Anthraquinones	Resvératrol	Vigne
	Flavonoïdes, isoflavonoïdes	Anthraquinones	
(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanes	Quercétine, cyanidine, daidzéine	Fruit, légumes, fleurs, soja, pois
	Neolignanes	Pinorésinol	Pin
(C ₆ -C ₃ -C ₆) ₂	Biflavonoïdes	Eusiderine	
(C ₆ -C ₃) _n	Lignines	Amentoflavone	
(C ₆ -C ₃ -C ₆) _n	Tanins condensés		Bois, fruits à noyaux, raisin, kaki

II-5-2-1- Biosynthèse :

Les composés phénoliques, sont des métabolites secondaires, synthétisés par des plantes, au cours de leur développement, ces composés phytochimiques, provenant de la **phénylalanine** et la tyrosine, sont ubiquitaires dans les plantes (**Pereira Nunes X et al. 2012**), ils sont eux-mêmes formés à partir de sucres simples issus du métabolisme primaire (**Macheix, 2005**).

Les polyphénols sont synthétisés généralement à partir de deux voies : La voie de l'acide shikimique et la voie de l'acide malonique.

La diversité structurale des composés polyphénoliques, due à cette double origine biosynthétique, est encore accrue par la possibilité d'une participation simultanée, des deux voies, dans l'élaboration de composés d'origine mixte, tels que les flavonoïdes (**Martin et Andrantsitohaina, 2002**).

II-5-2-2- Rôle biologique des composés phénoliques :

Selon « **Macheix et al. 2005** », le rôle des composés phénoliques est reconnu dans différents aspects de la vie de la plante et dans leurs utilisations par l'homme. Ils peuvent en effet intervenir :

- Dans certains aspects de la physiologie de la plante (régulation de la croissance, interactions moléculaires avec certains parasites).
- Dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (relations avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV).
- Organes végétaux (fruit, légumes) et des produits qui en dérivent par transformation.
- Dans la protection de l'homme vis-à-vis de certaines maladies.

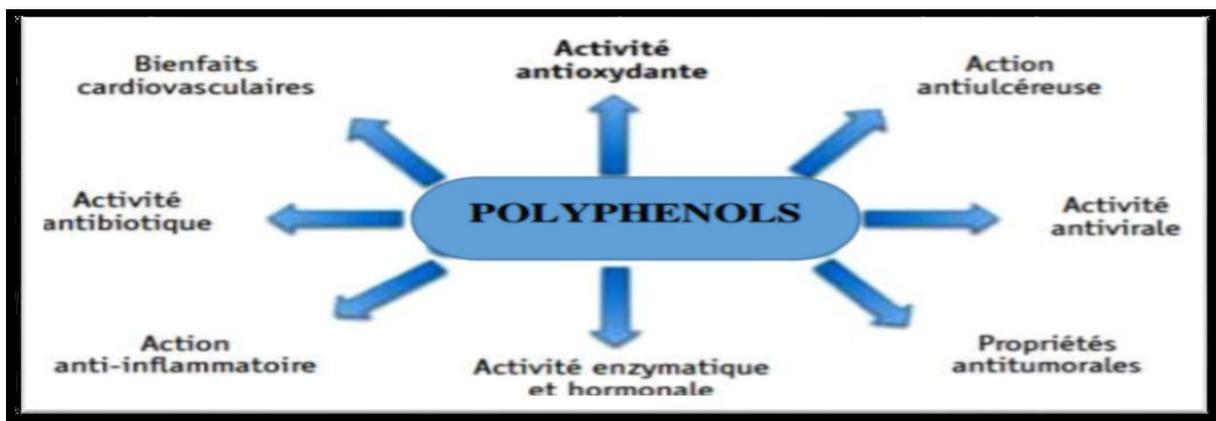


Figure 5 :Effets biologiques des polyphénols (Martin et Andrantsitohaina R ,2002).

II-5-3- Les coumarines :

Les coumarines sont parmi les composés phénoliques, les plus connus. Elles sont substituées en C-7 par un hydroxyle. La 7-hydroxycoumarine, connue sous le nom d'ombelliférone, est le précurseur des coumarines 6,7-di- et 6,7,8-trihydroxylées.

Les coumarines, de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales, et possèdent des propriétés très diverses. Elles sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires, et de capter les radicaux hydroxyles, super oxydes et peroxydes (**Igor, 2002**). Les coumarines sont connues par leurs activités cytotoxiques, antivirales, immunostimulantes, tranquillisantes, vasodilatatrices, anticoagulantes (au niveau du cœur), hypotensives, elles sont également bénéfiques, en cas d'affections cutanées (**Gonzalez et Estevez-Braun, 1997**).

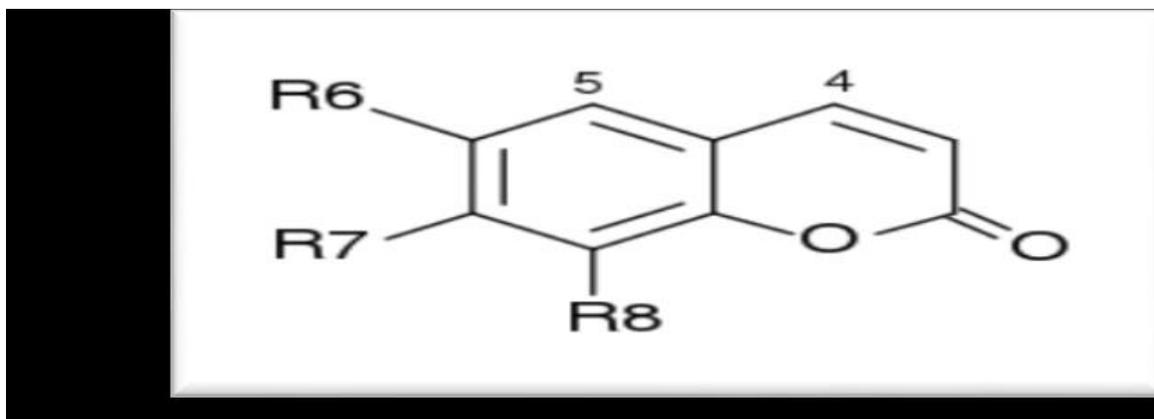


Figure 6 :Structure de base de coumarin.

II-5-4- Les quinones

Ce sont des substances colorées, et brillantes en général rouges, jaunes ou orange et possédant deux fonctions cétones. On trouve les quinones dans les végétaux, les champignons, les bactéries.

Les organismes animaux, contiennent également des quinones, comme par exemple la vitamine K, qui est impliquée dans la coagulation du sang. Les quinones sont utilisées dans les colorants, dans les médicaments, et dans les fongicides (**Kansole ; 2009**).

II-5-5- Les anthraquinones

Sont des composés aromatiques, qui provoquent des contractions des parois du gros intestin et ont ainsi une action extrêmement laxative. Le séné (*cassia angustifolia*) et la rhubarbe d'ornement (*Rheum palmatum*) contiennent par exemple de l'anthraquinone (**Hans et Kothe ; 2007**).

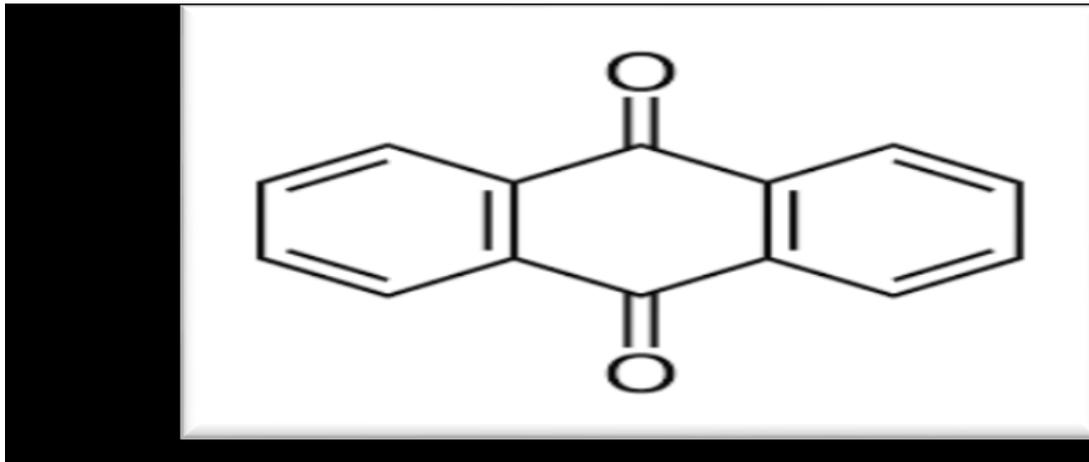


Figure 7: La formule générale des anthraquinones.

II-5-6- Les tanins

Les tanins naturels sont des molécules polyphénoliques, hydrosolubles, de masse moléculaire comprise en 500 et 3000 et, qui outre les réactions habituelle des phénols, provoquent la précipitation des protéines (ou autres polymères), et les tanins, ou acides tanniques, sont des composés organiques complexes, présents dans pratiquement toutes les plantes, à des concentrations diverses. Ils sont souvent contenus dans l'écorce, ou dans les feuilles, ce qui leur donne un goût piquant désagréable, et les rend immangeable pour le bétail (Roux, 2007).

II-5-6-1- Structure chimique et classification

On distingue habituellement, chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tanins différents par leur structure, aussi bien que par leur origine biogénétique, les tanins hydrosolubles et les tanins condensés.

Tanins hydrolysables: Ce sont des oligo ou des polyesters, d'un sucre et d'un nombre variable, de molécules d'acide phénol. Le sucre est très généralement le glucose. L'acide phénolique est soit l'acide gallique dans le cas des tanins galliques. Soit l'acide hexahydroxy diphénolique, dans le cas des tanins classiquement dénommés tanins ellagiques.

• **Tanins condensés :** Les tanins condensés ou tanins catéchiques, sont des substances qui ne sont pas hydrolysées par les acides, ni par la tannase. Les acides forts à chaud ou les agents d'oxydation, les convertissent en substances rouges ou brunes, insolubles dans la plupart des solvants. par distillation sèche, ils fournissent du pyrocatechol.

Ces tanins dérivent des catéchols, par condensation de molécules et ils sont d'ailleurs toujours accompagnés de catéchols dans les plantes fraîches.

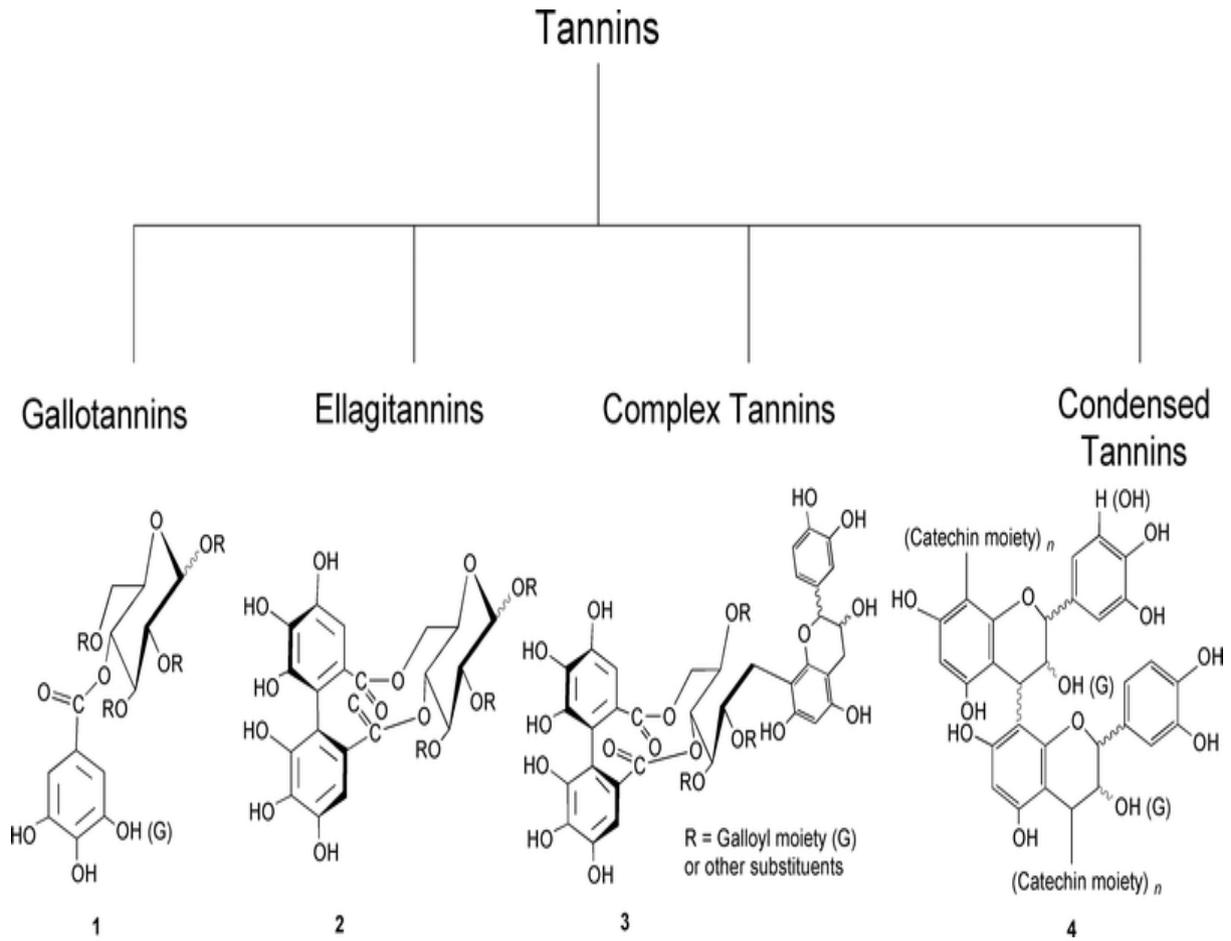


Figure 8 : Différentes structures des tanins.

II-5-6-2- Propriétés biologiques :

Ils découlent essentiellement de leurs propriétés, à former des complexes, avec les macromolécules. Les propriétés biologiques des tanins sont :

Astringente qui correspond à la précipitation des glycoprotéines. C'est la propriété la plus importante des tanins.

- Action anti diarrhéique : Les tanins vont imperméabiliser, les couches externes de la peau, et les muqueuses, et surtout la muqueuse intestinale, d'où cette action.
- Effet vasoconstricteur notamment au niveau des vaisseaux superficiels.
- Action antiseptique qui se traduit par des effets antibactériens et antifongiques.
- Piégeurs de radicaux libres comme tous les polyphénols (propriétés antioxydantes).

II-5-7-Les flavonoïdes :

Occupant une place prépondérante dans le groupe des phénols, les flavonoïdes sont des métabolites secondaires ubiquistes, des plantes. On n'estime que 2 % environ du carbone organique photo-synthétisé par les plantes, soit quelques 109 tonnes par an, est converti en flavonoïdes (**Lhuillier, 2007**).

Les flavonoïdes sont réputés pour leur caractère antioxydant, neutralisant les radicaux libres et limitant, ainsi certains dommages oxydatifs responsables de maladies. Ils sont donc à l'origine d'effets physiologiques bénéfiques, pour l'organisme humain (**Raskin et al., 2002**).

II-5-7-1- Structure :

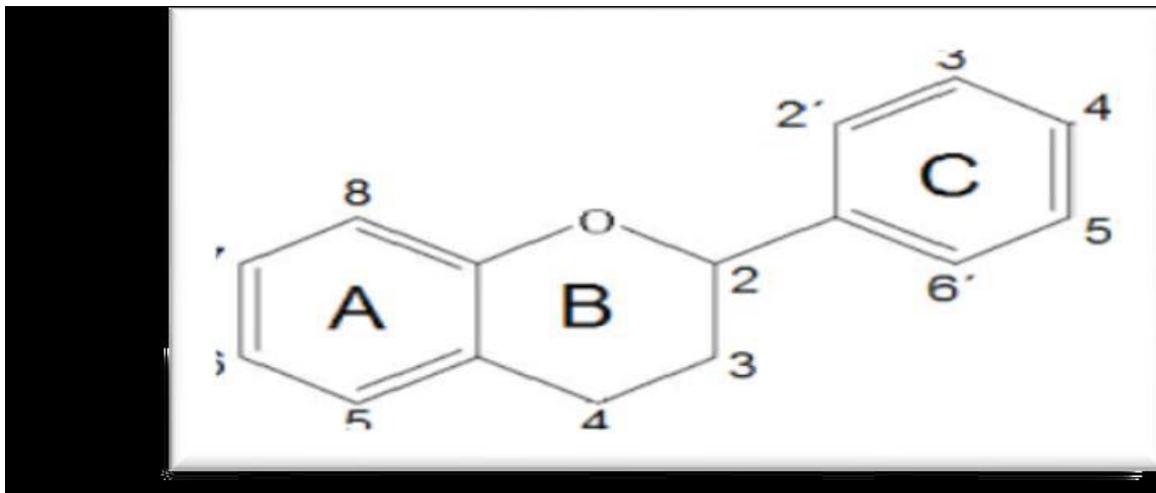


Figure 9 : Structure de base des flavonoïdes (Alejandro et al., 2013).

II-5-7-2- Différents types de flavonoïdes :

Les flavonoïdes peuvent se présenter, sous forme d'aglycones, ou génines (entités dépourvues de reste osidique), ou d'hétérosides (portant un ou plusieurs résidus osidiques).

Flavones et flavonols sont les composés flavonoïdiques les plus répandus dont notamment : la quercétine, le kaempférol, la myricétine et l'apigénine ; Les flavanones (naringénine) et les flavanols (catéchine) ainsi que les dihydro flavonols (dihydrokaempférol, dihydroquercétine) et les dihydroflavan-3,4-diols (leucopélargonidol, leucocyanidol) sont considérés comme des flavonoïdes minoritaires, en raison de leurs distribution naturelle, restreinte (**GhediraK, 2005**).

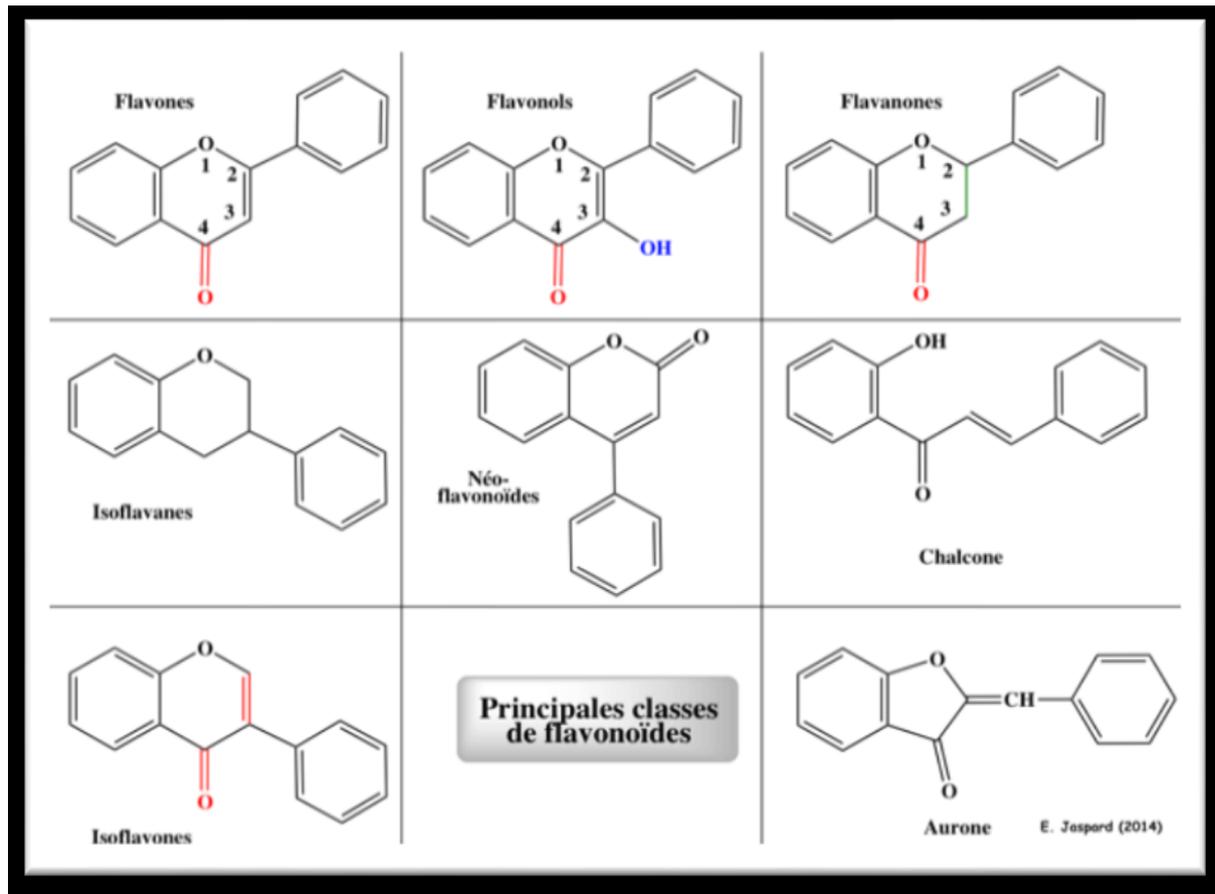


Figure 10 : Les différentes classes des flavonoïdes.

II-5-7-3- Biosynthèse des flavonoïdes :

Les flavonoïdes résultent, de la condensation de trois groupements acétates (fournis sous forme malonyl-CoA), avec l'acide 4 hydroxy cinnamoyl-CoA, cette condensation conduit à la formation de 2 noyaux benzéniques –A et B –, réunis par une chaîne de trois atomes de carbones (hétérocycle C) (Merghem R, 2009).

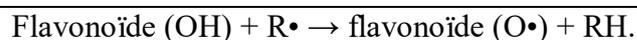
II-5-7-4- Localisation et distribution Les flavonoïdes :

Possèdent une large répartition, dans le monde végétal, ils sont distribués dans les feuilles, les graines, l'écorce et les fleurs, des plantes (MEDIC et al., 2003).

II -5-7-5- Propriétés thérapeutiques des flavonoïdes :

Propriétés antioxydantes et piègeurs de radicaux libres :

La propriété des flavonoïdes la mieux décrite, est leur activité antioxydante, et leur capacité à piéger les radicaux libres : radicaux hydroxyles (OH·), anions super oxydes (O₂⁻) et radicaux peroxy lipidiques, selon la réaction suivante :



En tant qu'antioxydants, les flavonoïdes sont capables d'inhiber la carcinogenèse. Ils inhibent en plus l'angiogenèse, la prolifération cellulaire et affectent le potentiel invasif et métastatique des cellules tumorales. (Ghedira K, 2005).

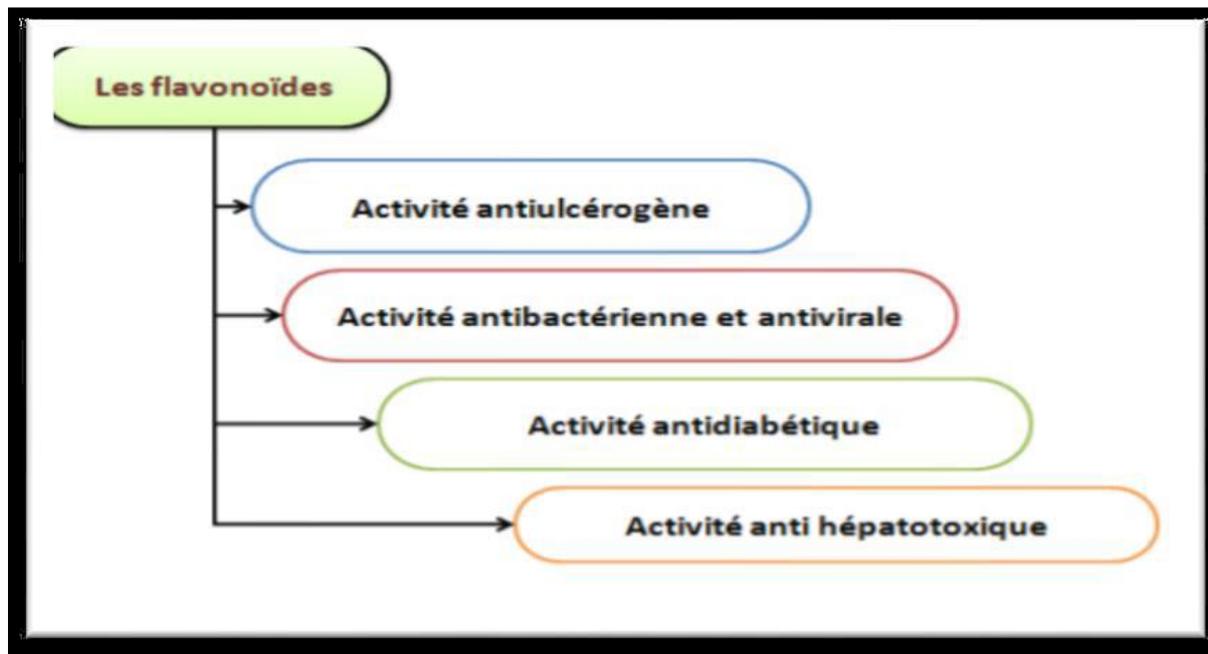


Figure11 : Effets biologiques des flavonoïdes.

II-5-8- Les anthocyanes

Les anthocyanes (du grec anthos, fleur et Kuanos, bleu violet), terme général qui regroupe les anthocyanidols, et leurs dérivés glycolyses. Ces molécules faisant partie de la famille des flavonoïdes, et capables d'absorber la lumière visible, ce sont des pigments qui colorent les plantes en bleu, rouge, mauve, rose ou orange. Leur présence dans les plantes est donc détectable à l'œil nu. A l'origine de la couleur des fleurs, des fruits et des baies rouges ou bleues, elles sont généralement localisées, dans les vacuoles, des cellules épidermiques, qui sont de véritables poches remplies d'eau. On trouve également les anthocyanes dans les racines, tiges, feuilles et graines. En automne, les couleurs caractéristiques des feuilles des arbres sont dues aux anthocyanes et aux carotènes qui ne sont plus masqués par la chlorophylle (Bassas et al, 2007).

II-5-8-1- Structure

Leur structure de base est caractérisée, par un noyau "flavon" généralement glucosylé en position C3. Les anthocyanes se différencient, par leur degré d'hydroxylation et de méthylation, par la nature, le nombre et la position des oses liés à la molécule. L'aglycone ou anthocyanidine constitue le groupement chromophore du pigment (Bessas et al.,2007).

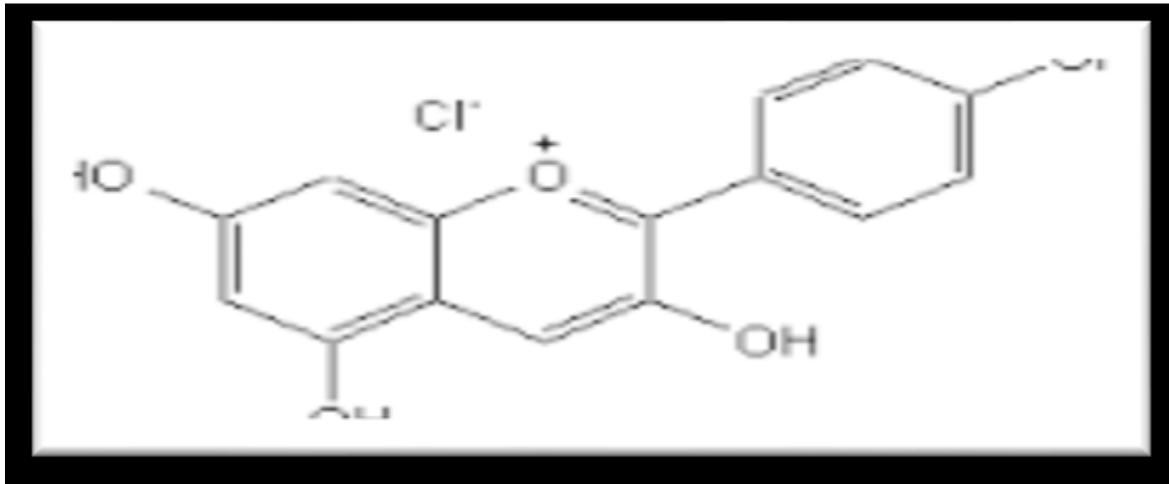


Figure 12: Squelette d'antocyanes (Kueny-Stotz, M. (2008)).

II-6- Les alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont un groupe de composés azotés et faiblement basiques issus principalement des végétaux. Ils présentent des réactions communes de précipitation. Après extraction, ils sont détectés par des réactions générales de précipitation, fondées sur leur capacité de se combiner avec des métaux.

II-6-1- Propriétés

Les propriétés toxiques, ou médicamenteuses des alcaloïdes, font de ce groupe de métabolites secondaires, un intérêt particulier. Au niveau du système nerveux central, ils agissent comme dépresseurs (morphine, scopolamine), ou comme stimulants (caféine, strychnine).

Au niveau du système nerveux, autonome comme sympathomimétiques (éphédrine), anticholinergiques (atropine). Certains jouent le rôle d'anesthésiques locaux (cocaïne), d'antipaludiques (quinine) (Kansole, 2009).

II-7- Les terpènes :

Les terpènes sont des hydrocarbonés naturels, de structure soit cyclique, soit à chaîne ouverte. Leur formule brute est $(C_5H_X)_n$, dont le x est variable en fonction du degré d'insaturation de la molécule, et n peut prendre des valeurs de 1 à 8 sauf dans les poly terpènes, qui peut atteindre plus de 100 (le caoutchouc). La molécule de base est l'isoprène de formule C_5H_8 .

II-7-1-Classification des terpénoïdes

- Hémi terpènes [C₅H₈].
- Mono terpènes [C₁₀H₁₆].
- Sesquiterpènes [C₁₅H₂₄].
- Di terpènes [C₂₀H₃₂].
- Sesterpènes [C₂₅H₄₀].
- Tri terpènes [C₃₀H₄₈].
- Tetraterpènes [C₄₀H₆₄].
- Polyterpènes [C₅H₈] n

II -7-2- Importance des Terpénoïdes

Constituants des huiles et des extraits ingrédients, dans les savons, parfums, médicaments (l'exemple le plus courant est le camphre disponible à l'état solide, introduit par l'orient en europe, de puis environ 11 siècles). Agents naturels anti HIV, insecticides, fongicides, antiappétants, pour les insectes, antitumoraux (taxol) ainsi que des agents modulateurs de la MDR.

Les sesquiterpènes lactones (Asteraceae, Apiaceae) sont particulièrement actifs :

- Antifongiques.
- Cytotoxiques.
- Antibactériens.
- Antitumoraux.
- Anti-inflammatoires.

Les triterpènes entrent dans la production de médicaments stéroïdiques, ayant des propriétés : contraceptives, anabolisantes, anti-inflammatoires(**D .dehak k avrile 2013**).

II-8- Les saponosides :

On entend par saponosides (mot latin « sapon », savon ; « saponaire », l'herbe à savon), des hétérosides à aglycones, de structure stéroïde ou triterpéniques, qui tiennent une grande place parmi les substances d'origine végétale.

II-8-1-Les propriétés biologiques des saponosides :

Les saponosides ont une activité expectorante, ils rendent un peu moussant la muqueuse des bronches inflammatoires, et facilitent l'expectoration. De plus, ils sont de puissants hémolyants, ils possèdent également des propriétés édulcorantes, largement utilisés dans l'industrie agro-alimentaire.

Chapitre III

Les Activités Biologiques

III- Evaluation des activités biologiques :

III-1-Activité antibactérienne :

Malgré les avancées spectaculaires, dans les recherches pharmaceutiques, l'apparition et le développement de bactéries résistantes aux antibiotiques, est devenu un défi médical mondial. Les professionnels de la santé ne cachent pas leurs inquiétudes, suite aux développements des bactéries multi-résistantes. Ces dernières provoquent des infections, qui ne réagissent plus aux antibiotiques. Selon l'OMS, plus de 1,4 million de personnes dans le monde, sont victimes des infections nosocomiales, provoquées par les bactéries résistantes, aux traitements et contractées lors des soins médicaux. Il est à noter que 70% des infections nosocomiales sont graves. Les fréquences maximales, ont été rapportées dans les hôpitaux, des régions de la méditerranée orientale et de l'Asie du Sud- Est (11,8% et 10,0% respectivement), et la prévalence atteignait 7,7% en Europe et 9,0% dans le Pacifique occidental.

Par ailleurs, les plantes possèdent un système de défense naturelle, très efficace, basé sur la biodiversité, de leurs métabolites secondaires. Cette diversité, des groupes structuraux et fonctionnels, permet de se protéger efficacement contre de nombreux pathogènes, tels que les bactéries, les champignons et les virus.

III-2-Mécanisme d'effet antimicrobien des polyphénols

Il est sans doute très complexe, peut impliquer multiples modes d'actions tels que : l'inhibition des enzymes extracellulaires microbiennes, la séquestration de substrat nécessaire à la croissance microbienne ou la chélation de métaux tels que le fer, l'inhibition du métabolisme microbien (Milane, 2004), dégradation de la paroi cellulaire, perturbation de la membrane cytoplasmique, ce qui cause une fuite des composants cellulaires, l'influence de la synthèse de l'ADN et l'ARN (Zhang *et al.*, 2009), des protéines des lipides et la fonction mitochondriale (Balentine *et al.*, 2006), ainsi que la formation des complexes avec la paroi .

III-3-Définition de la bactérie :

Une bactérie est un microbe, formé d'une seule cellule, visible au microscope, appartenant à une zone de transition, entre le règne animal et le règne végétal. Comme toute cellule, les bactéries sont constituées d'un noyau, isolé ou diffus, un protoplasme contenant des granulations et des vacuoles, une paroi parfois d'une capsule. Certaines bactéries sont mobiles, grâce à des cils vibratiles. Selon leur mode de nutrition et leur comportement vis-à-vis de l'oxygène, les bactéries sont classées en aérobies et en anaérobies.

III-3-1- Caractéristiques des souches bactériennes utilisées :**A : *Escherichia coli* .**

Bacille, mobile, gram négatif, pathogène, c'est l'espèce dominante de la flore aérobie du tube digestif. *Escherichia coli* est habituellement une bactérie commensale. Elle peut devenir pathogène si les défenses de l'hôte se trouvent affaiblies ou si elle acquiert des facteurs de virulence particuliers (Nauciel, 2000).



Figure 13 :Bactérie d'*Escherichia coli*.

B : *Staphylococcus aureus*.

Une coccobactérie à Gram positif, catalase positive, immobile, asporulé et facultativement anaérobique, il est habituellement disposé en grappes. *Staphylococcus aureus* fait partie de la flore humaine et est surtout présent dans le nez et sur la peau.

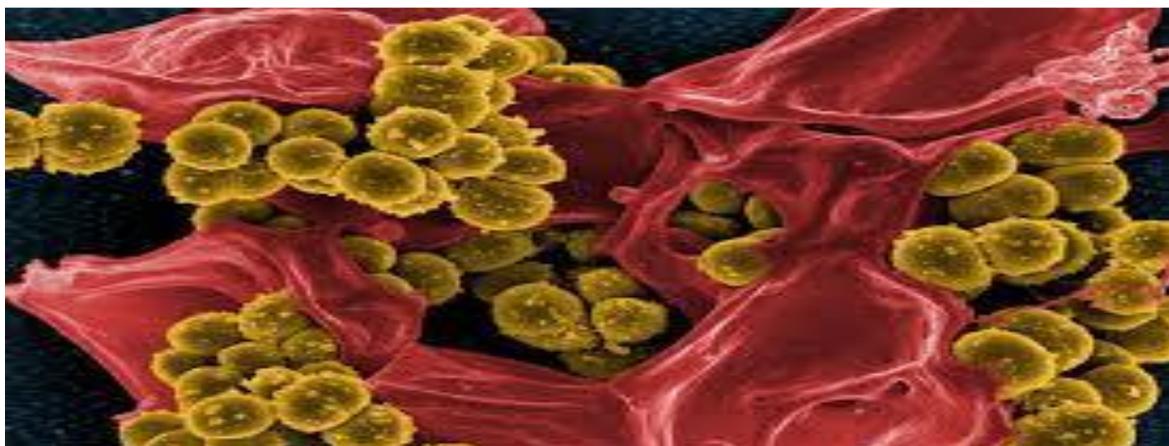


Figure 14 : Bactérie *Staphylococcus aureus*.

III-4-Méthodes de détermination de l'activité antioxydante

Il existe une grande diversité, de méthodes physico-chimiques, pour évaluer l'activité antioxydante, des extraits naturels. Plusieurs méthodes s'intéressent à l'analyse, des étapes distinctes du processus d'oxydation, comme par exemple les mesures :

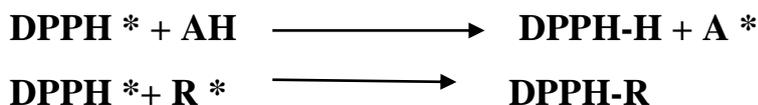
- a) Affaiblissement du substrat, et ou la consommation de l'oxygène, au cours de l'oxydation.
- b) La formation des produits d'oxydation.
- c) La capacité a piéger, les radicaux libres, en différentes phases.

Citons quelques méthodes connues :

- ✓ Méthode TEAC (Trolox Equivalent Antioxydant Capacity)
- ✓ Méthode de SR – TBA (Substances Réactive Acid Thiobarbuturic)
- ✓ Méthode par résonance paramagnétique électronique (RPE)
- ✓ Test DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazy1)
- ✓ Test de crocine
- ✓ Détermination de l'indice de peroxyde (IP)
- ✓ Détermination des diènes conjugués
- ✓ Test DPPH (1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl)

Le potentiel anti radicalaire, d'une substance peut être évalué, a l'aide d'une méthode colorimétrique, en utilisant des radicaux de substitution, tels que radical 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl appelé DPPH.

En effet, à température ambiante et en solution, le radical DPPH présente une coloration violette intense. Son passage à la forme non radicalaire, après saturation de ses couches électronique s'accompagne d'une disparition de la coloration violette



Par cette méthode, on considère que l'activité antioxydant, n'est autre que la capacité des antioxydants, d'agir comme piégeur, des radicaux libres. Ils agissent en transférant, un atome d'hydrogène ce qui conduit a la réduction, du DPPH au cours de la réaction et à un changement de coloration, dans la solution initiale, qui devient jaune pale. L'avancement de la réaction est suivi par spectrophotométrie à 517 nm (Linszen, 2002).

Partie II

Chapitre I

Matériel et méthodes

I- Le matériel végétal :

Notre étude est portée sur deux espèces, de deux familles différentes, la première espèce *Rosmarinus officinalis* L. de la famille des lamiacées, et la deuxième espèce *Helichrysum italicum* L. de la famille astéracées.

Le matériel végétal est constitué de : racines, tiges, feuilles, fleurs de *Rosmarinus officinalis* L., sèches, et des tiges et feuilles et racine de *Helichrysum italicum* L., obtenus à, de la région de constantine et de sidi amar en février 2018.

I-1- Broyage de parties sec :

Les organes de plantes sélectionnées, ont été broyés, à l'aide d'un mortier, pour obtenir une poudre fine, pour qu'elle soit prête à l'utilisation.



Photo 4 : photographie de récolte de *Rosmarinus officinalis* L.



Figure 15: Organes végétaux broyés

I-2- Préparation des extraits hydroalcooliques

Extraits méthanoliques: (2g) de poudre de chaque organe, sont mélangé avec 20 ml méthanol (70 %) dans un flacon, laissé le mélange macérer pendant 24 heures, après filtration, nous obtenons les extraits hydrométhanoliques.

Extraits chloroformiques: 1 gramme de poudre ou de résidu, est mis en suspension, dans 20 ml de chloroforme. La suspension est laissée macérer, pendant 24 heure, puis filtrée . Le filtrat constitue la solution chloroformique.

Extrait éther de pétrole: De la même manière, et a partir de 1 gramme de poudre, ou de résidu mis en suspension, avec 15 ml d'éther de pétrole, nous obtenons des extraits étheriques.

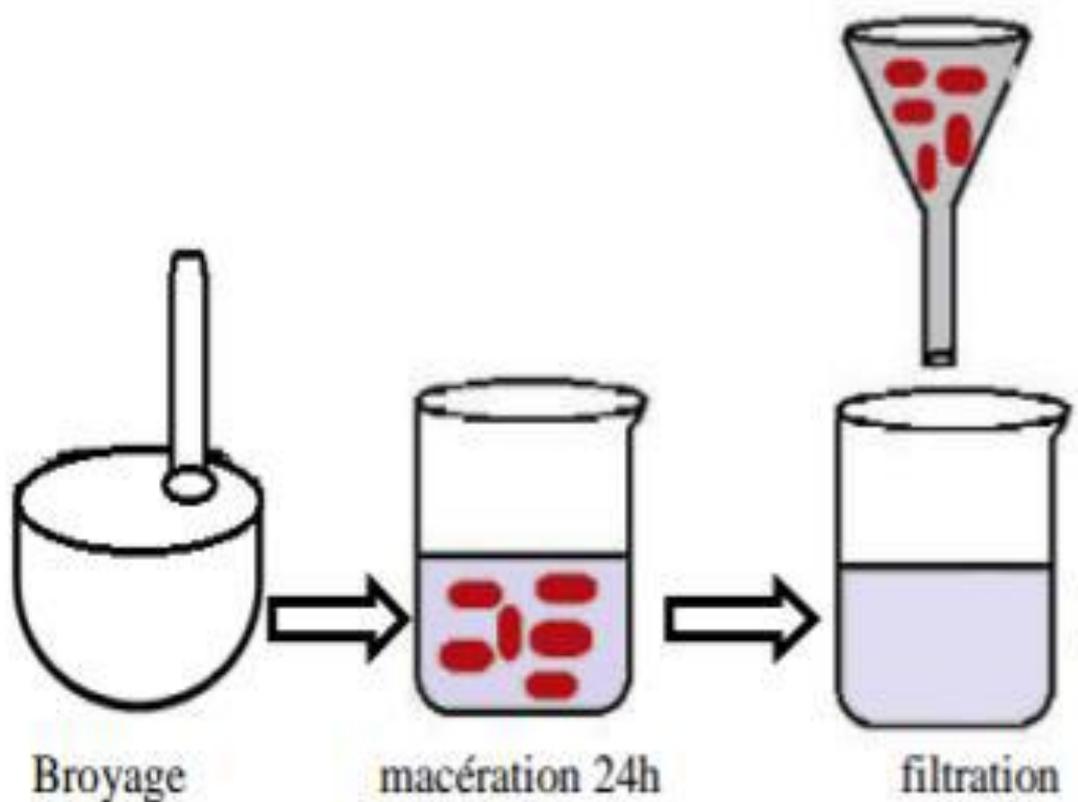


Figure 16 : Obtention des extraits

I-3-La macération : La macération est une méthode classique, qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal, en contact prolongé avec un solvant, pour en extraire les principes actifs, elle se déroule à température ambiante, ce qui est très positif, pour conserver l'intégrité des molécules.

I-3-1-Protocole :

On a utilisé 100 g des parties aériennes, de la plante *Rosmarinus officinalis* L. et 100 g de la plante *Helichrysum italicum* L. sous forme de poudre, dans un décimateur, contenant un mélange solvant : (méthanol: eau) (70 :30), et puis laisser macérer pendant 72h.

Cette macération est répétée 03 fois. Les macérâtes hydrométhanoliques ont été filtrés. Après filtration, le mélange hydroalcoolique est concentré à sec, sous pression réduite au moyen d'un évaporateur rotatif.

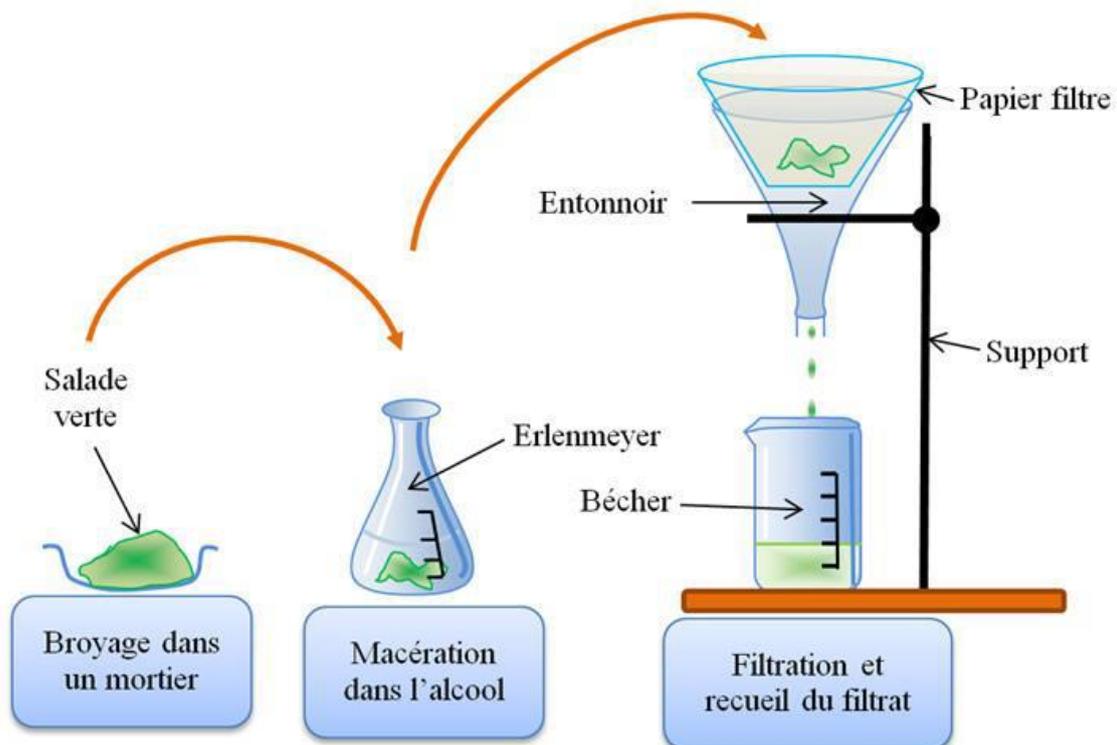


Figure 17 : Protocole d'extraction



Figure 18 : Macération



Figure 19 : Filtration

I-4-Évaporation :

Elle est réalisée, à l'aide d'un évaporateur rotatif (Rotavapor), à une température, comprise entre 37° à 40 °C, afin d'obtenir un extrait sec.



Figure 20: Evaporation par rotavapor

Cette étape a permis d'obtenir un extraits organiques brute, qui sera récupéré dans des boites de pétris stériles puis conservés jusqu'à l'utilisation.

I-5-Screening phytochimique:

Le screening phytochimique, est un ensemble des méthodes et techniques, de préparation et d'analyse, des substances organiques, naturelles de la plante.

I-5-1- Tests phytochimiques :

Les espèces sélectionnées, fait l'objet d'une étude phytochimiques, qui consiste à détecter les composants chimiques, existant dans les plantes. Trois solvants de polarités différentes (méthanol, éther de pétrole, chloroforme), ont été utilisés au cours de ces tests, qui sont basés sur des essais de solubilité, des réactions de coloration et de précipitation, ainsi que des examens en lumière ultraviolet.

I-5-2- Criblage des flavonoïdes:

Se réalise à partir de 100 mg d'extraits hydrométhanoliques, reparti dans 3 tubes, le premier tube servant de témoin, les deux autres tubes pour les tests :

Test de Wilstater et test de Bâte-smith.

A-Test de Wilstater : HCl concentré + trois ou quatre tournures de Mg, Le changement d'une coloration, en rouge pourpre, ou rouge violacées (*karumi*, 2004).

B-Test de Bate-Smith : Additionner dans le 3^{ème} tube, quelques gouttes d' HCl concentré, porte au bain marie 30 minutes. L'apparition d'une coloration rouge, dénoté la présence de leuco anthocyanes.

I-5-3-Criblage des quinones

Un gramme de matériel végétal sec, est broyé, est placé dans un tube à essai, avec 15 d'éther de pétrole. Après agitation et un repos de 24 heures, la présence de quinones libre, et confirmée par l'ajout de quelques gouttes, de NaOH 10%, lorsque la phase aqueuse vire au jaune rouge ou violet. (*Reberreau* 1968).

I-5-4- Criblage des anthraquinones

A l'extrait chloroformique de chacun des organes, on ajoute de KOH aqueux 10%. Après agitation, la présence d'anthraquinones, est confirmée par un virage, de la phase aqueuse au rouge. (*Reberreau* 1968).

I-5-5- Criblage des tanins

Les tannins sont mis en évidence à partir de 1ml d'extrait méthanolique, placé dans un tube à essai en présence de quatre gouttes de solution de la gélatine (1%). L'apparition d'un précipité causé par la gélatine signifie la présence de Tanins.

L'addition du réactifs FeCl_3 à l'extrait méthanolique. L'apparition de la coloration vire au bleu noir indique la présence de tanins galliques et au brun verdâtre signifié la présence de tanins catéchiques.

I-5-6- Criblage des coumarines

Protocol : Test de détection 2g de matériel végétal, en poudre mélanges à 10 ml CHCl_3 . Après un chauffage de quelque min, et une filtration, les extraits chloroformiques sont soumis a une CCM, et le solvant étant le mélange et toluène / AcOEt (36 :14).

La visualisation de chromatogramme, après migration se fait à 365nm.

I-5-7- Criblage des stérols et tritérpens

Dépigmenter 100 mg d'extrait hydrométhanoliques, par addition de 10 ml de cyclohexane, et agitation pendant 5 min.

Dissoudre le résidu dépigmenté, dans 10 ml de chloroforme.

Sécher la solution obtenue, sur Na_2SO_4 anhydre, puis filtrer.

Répartir les filtrats dans quatre tubes à essais et le 4^{ème} tube servira comme témoin.

Tube n°1 : Test de Salkowski : incliner le tube à 45° , ajouter 1 à 2 ml de H_2SO_4 .

Le changement graduel de coloration, est noté immédiatement.

Agiter le mélange légèrement et noter le changement graduel, de coloration .

Une présence de couleur rouge, indique la présence de stérols insaturés.

Tube n°2 : Test de Libermann-burschard : Additionner trois gouttes, d'anhydride acétique, puis agiter l'égerment. Ajouter une goutte de H_2SO_4 concentre. Le changement de la coloration, est observe pendant une heure : une coloration rouge indique la présence des stéroïdes, tandis que bleu-violet a rose dénote la présence de triterpenes.

Tube n°3 : Test de Bajet-kedde : Additionner quelques gouttes, d'acide picrique. L'apparition d'une coloration orange, est due aux stéroïdes lactoniques.

1-5-8-Criblage d'alcaloïde

Dans un tube à essai de 16 ml, on introduit 0.5g, de poudre végétale, de chaque organe, avec 10 ml d'acide sulfurique (1)%, on agite pendant 2 min, et on filtre sur papier.

Après on partage le filtrat, entre trois tubes, et on ajoute respectivement au :

Tube1 : reste comme témoin.

Tube2 : quelques gouttes, de réactif dragendorff. Apparition d'un précipité, et la couleur orange, confirme, la présence des alcaloïdes.

Tube3 : quelques gouttes de réactif mayer. Apparition d'un précipité, de la couleur jaune, confirme la présence des alcaloïdes.

I-6- Etude analytique par ccm

I-6-1-La chromatographie : Et un outil analytique, utilisé pour la séparation, l'identification, et la quantification, de composés chimiques, dans des mélanges complexes, comme les extraits des plantes.

I-6-2-Protocole

On a utilisé 3 systèmes solvant (S1, S2 ET S3), à différentes polarités, pour mieux connaître, le profil flavonique, de ces extraits méthanoliques, des espèces *Rosmarinus officinalis* L. et *Helichrysum italicum* L.

Système 1 : Chloroforme/Méthanol (90/10).

Système 2 : Acétate d'éthyle /Méthanol / Eau (10/1/0.5).

Système 3 : Butanol / Acide acétique / Eau (6 : 1,5 : 2,5).

A : Dépôt d'échantillon (phases : Butanol, Chloroformique, Acétate d'éthyle) :

Pour chaque extrait on fera 2 à 3 dépôts successifs. Le dépôt de produit doit être effectué de façon homogène à l'aide d'un capillaire sans creuser le support solide (**Erika et al., 2008**).

c- Développement de la plaque

C'est la migration de l'éluant à travers la plaque.

On doit préparer la cuve et puis la placer dans la cuve verticalement.

Enferme la cuve bien durant le développement de la plaque.

Visualisation sous UV à longueur d'onde : 254 nm. On prépare la phase mobile, dans la cuve chromatographique bien fermée.

Chaque constituant, migre d'une certaine distance, caractéristique de la substance, que l'on appelle rapport frontal ou rétention frontale (RF).



Photo3 : Observation des chromatogrammes

I-7- Evaluation des activités biologiques

I-7-1- Activité antibactérienne

Le principe de la méthode, repose sur la diffusion, du composé antibactérien, en milieu solide (MHA), dans des boîtes de pétrie, après un certain temps de contact, entre le produit et le micro-organisme cible. L'effet du produit antibactérien, sur la cible est apprécié, par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition (hellal, 2011).

L'évaluation de l'activité antibactérienne, de notre extrait de la plante,

Rosmarinus officinalis L. et de la plante *Helichrysum italicum* L. ont été faite sur 2 souches bactériennes.

Les micro-organismes testés sont :

A : *Escherichia coli* .

B : *Staphylococcus aureus*.

I-7-2-Protocole expérimental

Des disques de 5mm de diamètre, préparés avec des papiers whatman n°1, puis sont placés dans l'autoclave, pendant 20 min à 120°C, et stockés à une température ambiante, (le tube à essai est hermétiquement fermé), ces disques stériles, sont plongés, dans l'extrait hydrométhanolique.

Dans des boîtes de pétries stériles, le milieu Muller Hinton est coulé, puis laissé 15 min pour se solidifier, Les bactéries sont déposées etensemencées, à l'aide d'un écouvillon stérile, l'ensemencement s'effectue de telle sorte, pour assurer une distribution homogène, des bactéries.

Les disques remplis d'extrait, sont déposés, à la surface de la gélose contaminée, et l'antibiogramme est fixé, au milieu de la boîte de pétrie, L'activité antimicrobienne se manifeste, par l'apparition d'une zone d'inhibition, de la croissance microbienne produite, autour des disques, après 24 heures d'incubation à 37°C (Treki, 2002).



Figure 21 : Tests des activités antibactériennes

I-8-Dosage des composés phénoliques totaux

A partir de la solution mère (1 mg/ml), des extraits méthanoliques, des parties aériennes, nous avons préparé deux répétitions, d'une même concentration (125 μ l), avec la méthode suivante :

Une prise de 125 μ l de l'extrait dilué (SM), est mélangée avec 500 μ l d'eau distillée et 125 μ de réactif de folin-ciocalteu.

Après une agitation vigoureuse du mélange, suivie d'un repos de 3 minutes, une prise de 1250 μ l de Na_2CO_3 de 2 à 7%, est additionnée. Enfin le mélange obtenu, est ajusté par de l'eau distillée à 3ml.

Après un repos de 90 minutes, à l'obscurité la lecture de l'absorbance, est effectuée à une longueur d'onde de 760 nm (*Heilerova et al*, 2003).

La gamme étalon est préparée, avec de l'acide gallique, a des concentrations variables de 50, 100, 200, 300, 400,500 mg.l⁻¹.

Les teneurs en polyphénols, sont exprimées en mg d'équivalent acide gallique par gramme de matière sèche (mg/EAG.g⁻¹ MS) (*Singleton et al.* ,1999).



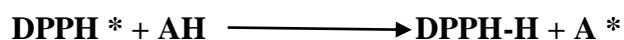
Figure 22: Spectrophotomètre UV utilisé pour la lecture de l'absorbance.

I-9-Activité anti-oxydante

Test DPPH (1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl)

Le potentiel anti radicalaire, d'une substance, peut être évalué, à l'aide d'une méthode colorimétrique, en utilisant des radicaux de substitution, tels que radical 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl appelé DPPH.

En effet, à température ambiante et en solution, le radical DPPH présente une coloration violette intense. Son passage à la forme non radicalaire, après saturation de ses couches électronique, s'accompagne d'une disparition de la coloration violette.



Par cette méthode, on considère que l'activité antioxydante, n'est autre que la capacité des antioxydants d'agir comme piègeur, des radicaux libres. Ils agissent en transférant, un atome d'hydrogène, ce qui conduit à la réduction du DPPH au cours de la réaction, et à un changement de coloration, dans la solution initiale, qui devient jaune pale.

L'avancement de la réaction, est suivi par spectrophotométrie à 517 nm (*Linssen, 2002*).

I-9-1- Protocole expérimental**A :Préparation de la solution DPPH**

0.049g de DPPH (C₁₈H₁₂N₅O₆ ; Mr : 394.33), est solubilisé dans 122.5 ml de MeOH absolu pour avoir la concentration de 0.4g/l.

B : Préparation des solutions mères de concentration 5mg/ml

On mélange 0.05g de chaque extrait avec 10 ml de MeOH absolu dans un tube à essai (Solutions mères).

c-Préparation des dilutions des extraits :

L'expérience effectuée sur 5 concentrations différentes d'échantillon de l'ordre décroissant, dilués dans le méthanol.

Tableau 7: Différentes concentrations des extraits

Concentration finale (mg/ml)	V de SM (ml)	V de l'eau distillé (ml)
3	3	2
2	2	3
1	1	4
0.5	0.5	4.5
0.25	0.25	4.75

I-9-2-protocole

On mélange 3ml, de la solution méthanolique du DPPH préparé, avec 30µl de chaque extrait. Laisser à l'abri de la lumière, et température ambiante, pendant 30 min.

On mesure l'absorbance, à l'aide d'une spectrophotométrie à 517 nm.

Finalement on mesure l'absorbance, de chaque concentration, par rapport à un blanc, constitué uniquement par le méthanol pure (30µ) et le DPPH (3ml).

On trace la courbe, de la cinétique, de disparition du DPPH, en présence de l'échantillon, à tester en fonction du temps, pour déterminer le temps de stabilisation, de ma réaction et pour effectuer la lecture, de l'absorbance du produit.

Chapitre II

Résultats et discussion

II. Résultats et discussion

II.1. Screening phytochimique :

II.1.1. Criblage des composés phénoliques

II.1.1.1. Criblage de flavonoïdes

La mise en évidence des flavonoïdes, dans les extraits méthanoliques , dans différents organes (Racines, tiges, feuilles, fleurs), du *Rosmarinus officinalis* L. est confirmée par l'apparition d'une couleur rouge intense, en contact avec 2 tournures de mg. Les tests phytochimiques ont montré, que *Rosmarinus officinalis* L. est riche en flavonoïdes. (tableau8).

Par contre seulement les feuilles de l' *Helichrysum italicum* L. sont riches en flavonoïdes. (Tableau9).

Tableau 8 : Résultats des composés phénoliques de l'espèce *Rosmarinus officinalis* L.

Organes	racines	tiges	feuilles	fleurs
Quinones	+++	-	-	-
Anthraquinone	-	-	-	-
Flavonoïdes	++	++	+++	+++
Anthocyanes	+	-	-	+++
Tanins	+++	+++	+++	+++

Tableau 9: Résultats des composés phénoliques de *L' Helichrysum italicum* L.

Organes	tiges	feuilles	fleurs
Quinones	-	-	-
Anthraquinone	-	-	-
Flavonoïdes	+	+++	-
Anthocyanes	+	++	+
Tanins	+++	+++	+++

II.1.1.2. Criblage des anthocyanes

Les fleurs du *Rosmarinus officinalis* L., sont riches en anthocyanes, par rapport aux racines, qui contiennent des quantités considérables. *L'Helichrysum italicum* L. Renferment des anthocyanes, dans les organes étudiés (tiges, feuilles, fleurs). Tableaux (3 et 4).

II.1.1.3. Criblage des quinones

Le réactif spécifique (KOH), a montré que les racines, du *Rosmarinus officinalis* L. sont très abondantes en quinones. De l'autre côté *L'Helichrysum italicum* L. est dépourvu de ces molécules.

II.1.1.4. Criblage des anthraquinones

Le criblage phytochimique, a montré que les deux espèces *Rosmarinus officinalis* L. et *Helichrysum italicum* L., ne contiennent pas d'anthraquinones.

II.1.1.5. Criblage de tanins

Les tests phytochimiques, ont montré que les 2 plantes *Rosmarinus officinalis* L. (racines, tiges, feuilles, fleurs), *Helichrysum italicum* L. (tiges, feuilles, fleurs), sont très riches, en Tanins dans les organes étudiés respectivement.

Tableau10: Photographies des composés phénoliques de *Rosmarinus officinalis* L.et
l'Helichrysum italicum L.

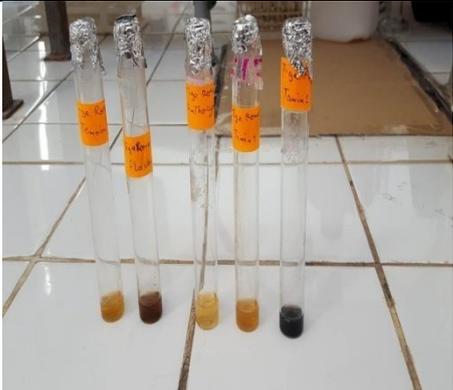
	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	<i>Helichrysum italicum</i> L.
racines		
tiges		
fleurs		

Tableau 11 : Criblage des alcaloïdes des espèces *Rosmarinus officinalis* L. et *Helichrysum italicum* L.

Tests	racines	tiges	feuilles	fleurs
Extrait methanolique (EMRO) + Mayer	--	+	+	+
Extrait methanolique (EMRO) + dragendorff	-	+	++	++
Extrait methanolique(EMHI) + MAYER	-	-	+	++
Extrait methanolique(EMHI) + dragendroff	-	-	+	+

Les tests phytochimiques des criblages du alcaloides indique que : La plante *Rosmarinus officinalis* L. est riche en alcaloides, surtout les fleurs et les feuilles, Para port a L'*Helichrysum italicum* L. qui contient des quantités considérables dans les feuilles et les fleurs.

II.1.2. Criblage de stérols et triterpènes

Le test positif des stérols, nous a montré leur abondance, dans les tiges du *Rosmarinus officinalis* L., avec une apparition, d'un anneau rouge brun (stérols), et une couche surnageante de couleur verte, dans l'extrait des fleurs, indiquant la présence des terpènes. Les stéroïde existent à forte concentration uniquement dans les tiges du *Rosmarinus officinalis* L.

Les criblages, par les réactifs spécifiques, ont élucidé la richesse des tiges, feuilles et fleurs, de l'*Helichrysum italicum* L. en Stérols. Les feuilles et fleurs, de cette même plante, contiennent des quantités considérables, en triterpènes. Les stéroïdes lactoniques, sont totalement absents, dans les parties aériennes de cette plante.

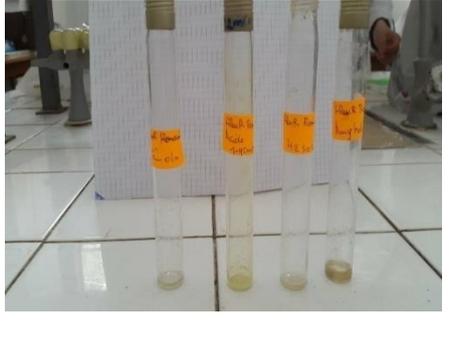
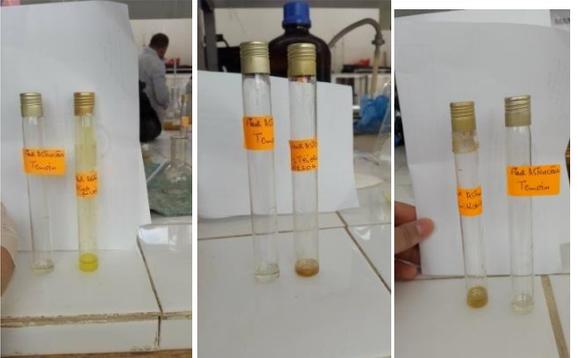
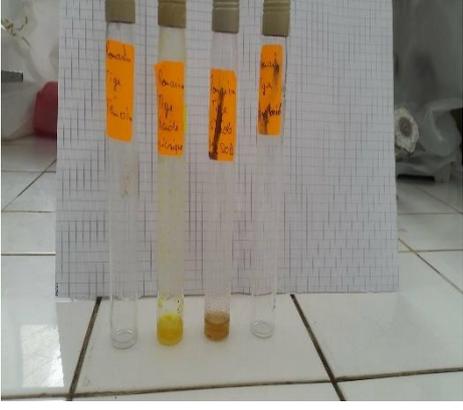
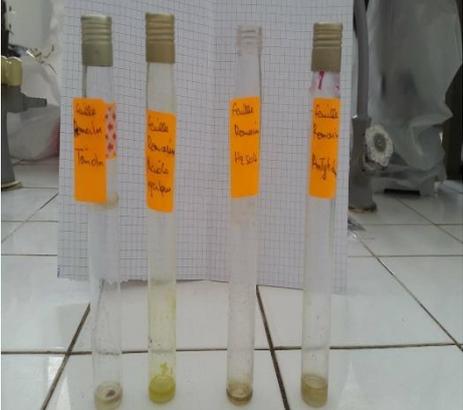
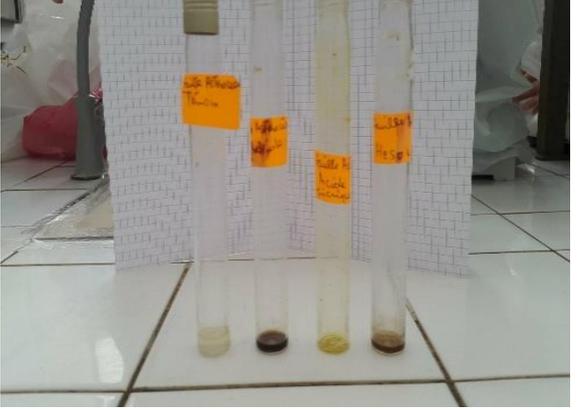
Tableau 12: Résultats des criblages des triterpènes et stéroïdes du *Rosmarinus officinalis* L.

	Racines	Tiges	Feuilles	Fleurs
Stérols	-	+++	+	+
Triterpène	-	-	-	+
Stéroïdes	-	+++	+	-

Tableau 13: Résultats des criblages des triterpènes et stéroïdes du l'*Helichrysum italicum* L.

	Tiges	Feuilles	Fleurs
Stérols	+++	+++	+++
Triterpène	-	+++	++
Stéroïdes	-	-	-

Tableau 14: Photographie de stérols et triterpénes et stéroïdes.

<p>Fleurs</p>		
<p>Tiges</p>		
<p>Racines</p>		
<p>Feuilles</p>		

II.1. 3. Criblage des saponosides

La mise en évidence des saponosides, dans l'extrait méthanolique de plante *Rosmarinus officinalis* L., indique la formation d'une mousse persistante, après 15min dans bain marie. On remarque la présence de saponosides, dans les (racines, tiges), de *Rosmarinus officinalis* L., avec une quantité moyenne. Et l'absence totale, dans *l'Helichrysum italicum* L.

Tableau 15: Résultats de criblages des saponosides de *Rosmarinus officinalis* L.et *l'Helichrysum italicum* L.

espèces	racines	tiges	feuilles	fleurs
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	+	+	-	-
<i>Helichrysum italicum</i> L.	-	-	-	-



Figure 23 : Photographies des saponosides de l'espèce *Rosmarinus officinalis* L. (tiges, racines, fleurs).

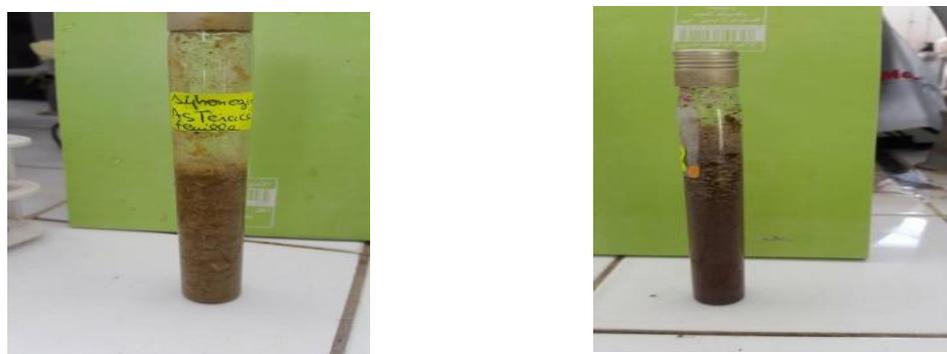


Figure 24: : Photographies des saponosides de l'espèce *Helichrysum italicum* L. (feuilles, tiges).

II.1.4. Criblage des coumarines

L'apparition d'une fluorescence sous une lumière ultra violette par la méthode du ccm indique la présence des coumarines dans les deux extraits de plantes de *Rosmarinus officinalis* L. et *Helichrysum italicum* L.

Tableau16_: Résultats des plaques de ccm prise après la révélation à la lumière UV (254nm) pour des extraits du *Rosmarinus officinalis* L. et *Helichrysum italicum* L.

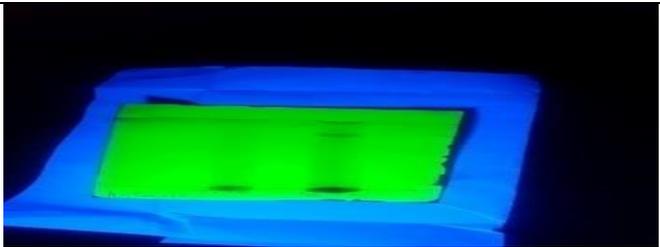
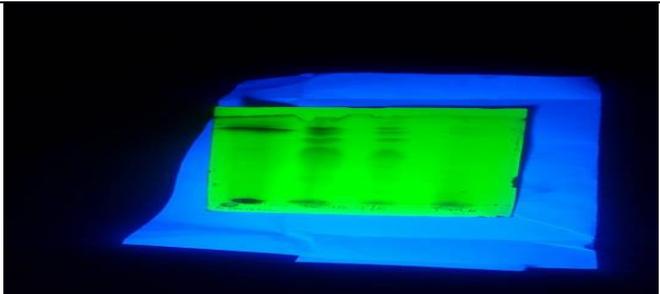
Espèce	Photographie de résultat observation Par UV 254
<i>Helichrysum italicum</i> L.	
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	

Tableau 17 : Résultats de criblage des coumarines dans les deux espèces *Rosmarinus officinalis* L. et *Helichrysum italicum*

L'espèce	organe	Réactions	L'espèce	organes	Réactions
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	feuilles	+	<i>Helichrysum italicum</i> L.	tiges	+
	racines	+		feuilles	+
	tiges	+		tiges	+

II.1.5. Chromatographie sur couche mince CCM :

L'étude analytique par CCM de l'extrait hydro - méthanolique a montre que les deux plantes *Rosmarinus officinalis* L., (tableau18) et *l'Helichrysum italicum* L., (tableau19) sont riches, essentiellement en composés phénoliques, et stérols, ce qui confirme les résultats obtenus par les criblages précédents.

Tableau18 : Résultats des chromatogrammes du *Rosmarinus officinalis* L.

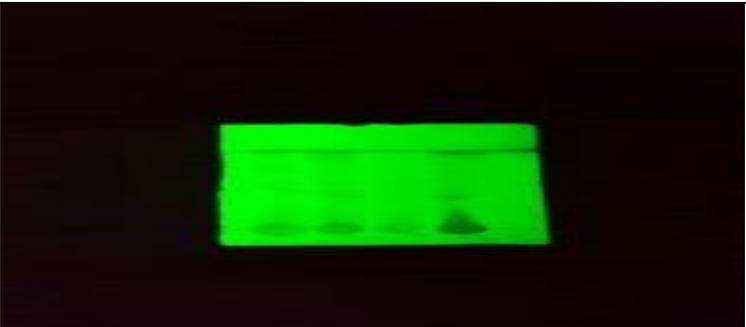
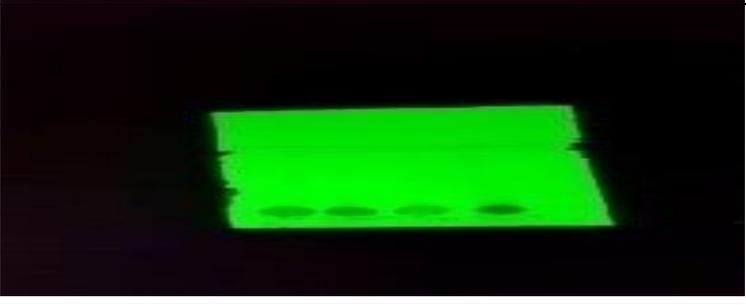
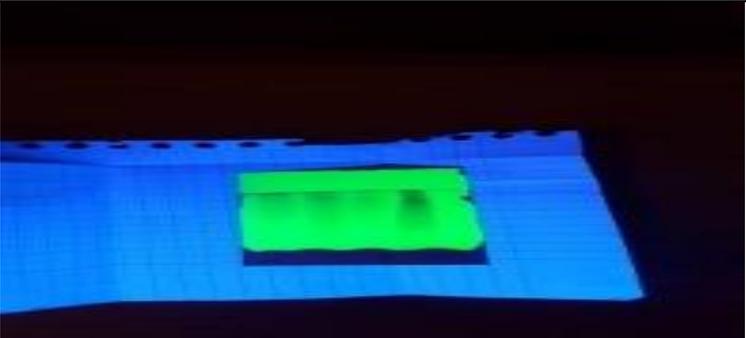
Système solvant	Photographie des résultats Observation par UV 254
S1 Chloroforme /MeOH 9/1	
S2 Acétate/MeOH/H2O 10/1/0.5	
S3 BuOH/ACOH/H2O 4/1/5	

Tableau 19 : Résultats des chromatogrammes du *l'Helichrysum italicum L.*

Système solvant	Photographie des résultats Observation par UV 254
S1 Chloroforme /MeOH 9/1	
S2 Acétate/MeOH/H2O 10/1/0.5	
S3 BuOH/ACOH/H2O 4/1/5	

II.1.6. Dosage des polyphenols totaux

Le dosage de phénols totaux, a été effectué par la méthode spectrophotométrique, adaptée de singleton et ross (1965), avec le réactif de folin-ciocalteu.

Les résultats obtenus, sont exprimé en mg, équivalent d'acide gallique par gramme, de la matière végétale sèche (mg gae/g), en utilisant l'équation de la régression linéaire, de la courbe d'étalonnage, tracée de l'acide gallique.

La courbe d'étalonnage de l'acide gallique, et représentée dans la figure.

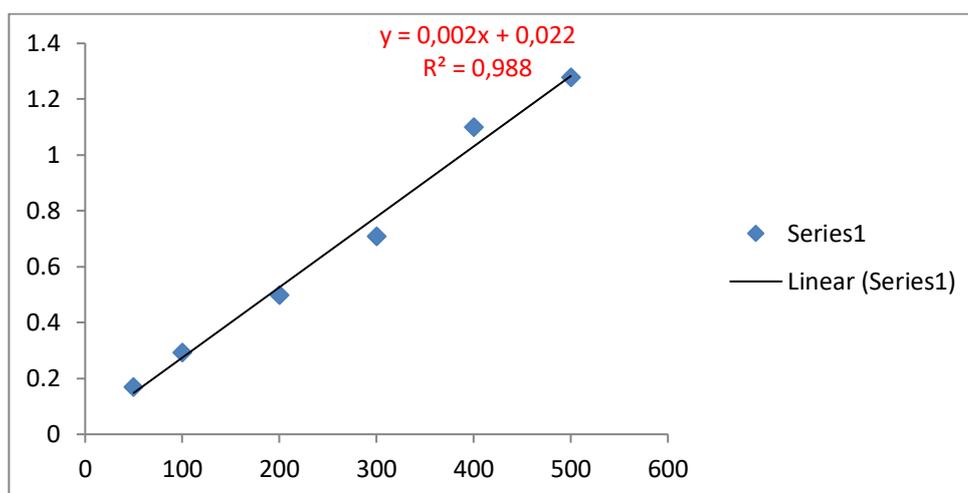


Figure 25 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Le taux de polyphénols totaux, calculés à partir de la courbe d'étalonnages d'acide gallique, a révélé que les deux espèces sont très riches en composés phénoliques, avec un taux élevé pour *l'Helichrysum italicum* L. (940 ± 21.21 mg EAG/g MS), et le *Rosmarinus officinalis* L. ($857,5 \pm 81,31$ mg EAG/g MS).

Tableau20 : Le taux de polyphénols totaux.

Plantes	Taux de polyphenols totaux
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	$857,5 \pm 81,31$ mg EAG/g MS
<i>Helichrysum italicum</i> L.	940 ± 21.21 mg EAG/g MS

II.2. Les activités biologiques :

II.2.1. Activité antioxydante

L'évaluation de l'activité antioxydante, par le radical libre DPPH, a montré que les parties aériennes, du *Rosmarinus officinalis* L. et l' *Helichrysum italicum* L., ont manifesté une activité importante, vis-à-vis du piégeage, des radicaux libres, avec cependant un meilleur taux d'inhibition, pour l'extrait de l' *Helichrysum italicum* L. (85,50%), suivi de *Rosmarinus officinalis* L. (80,74%) (Tableau 21).

Tableau 21 :Taux d'inhibition du DPPH par les extraits EMRO et EMHI.

Concentration mg/ML	50	100	200	500
Taux d'inhibition d' EMHI	63.63%	78.35%	81.91%	85.50%
Taux d'inhibition d' EMRO	28.08%	68.43%	76.91%	80.74%

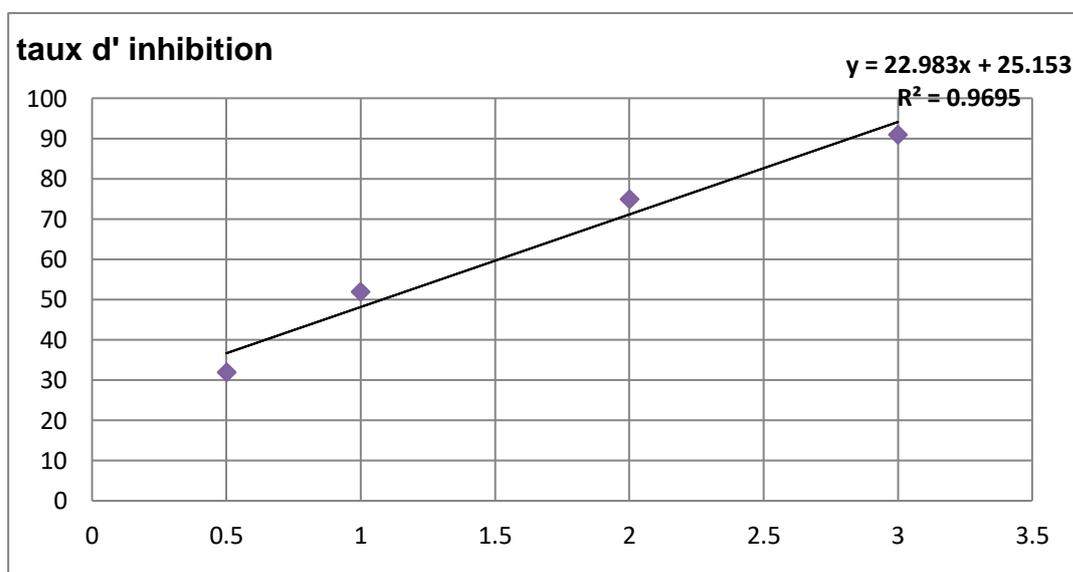


Figure 26 : Evaluation de l'activité antioxydante de l'extrait EMRO.

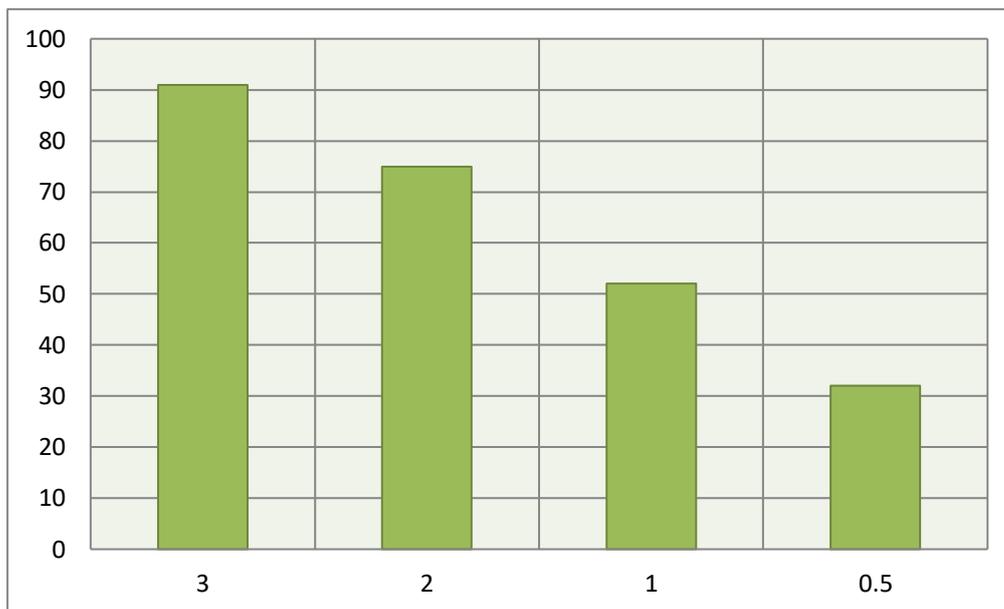


Figure 27: Histogramme représentatif de % d'inhibition du DPPH par l'extrait méthanolique de *Rosmarinus officinalis* L. de la partie aérienne (EMRO).

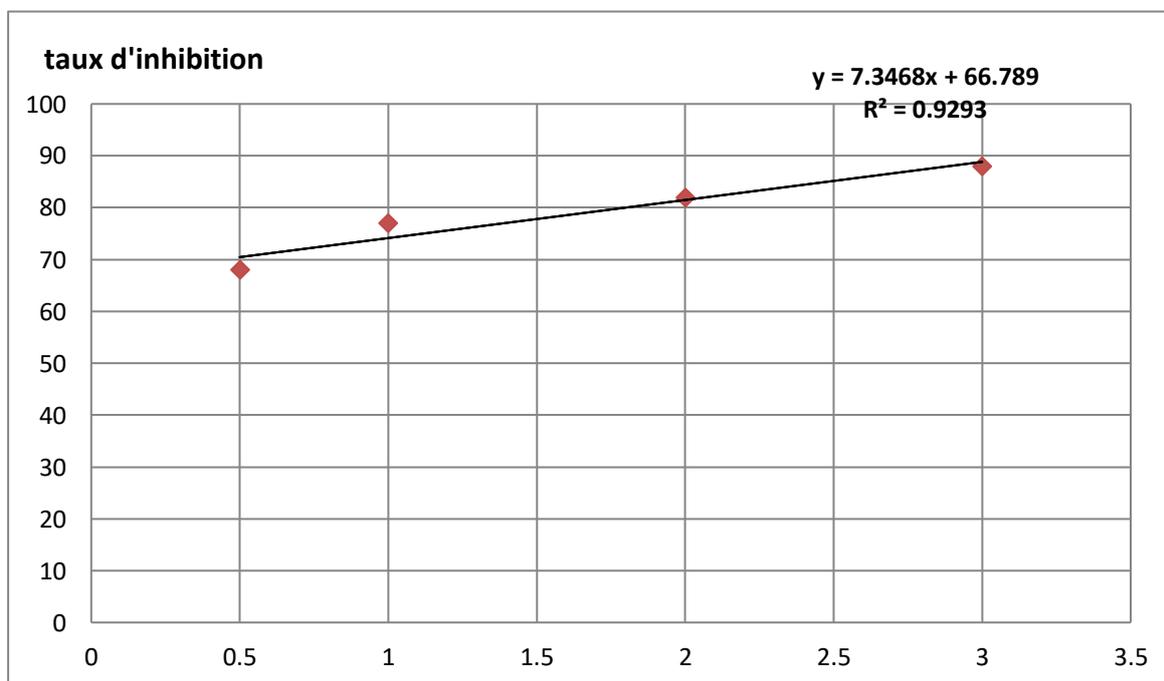


Figure 28 : Evaluation de l'activité antioxydante de l'extrait EMHI.

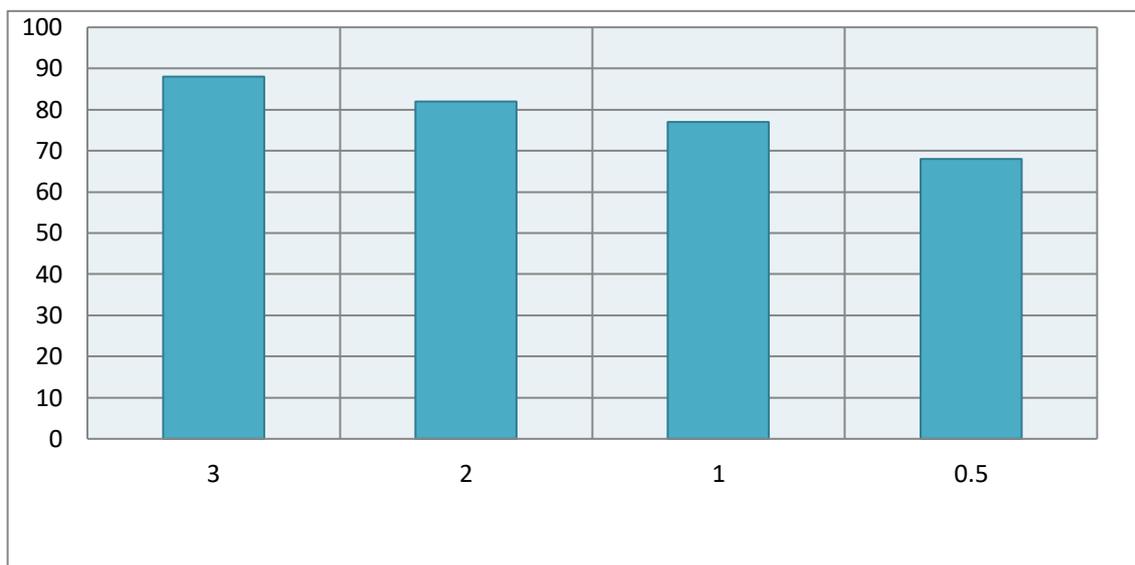


Figure 29: Histogramme représentatif de % d’inhibition du DPPH par l’extrait EMHI.

II.2.2. Activité antibactérienne

Les tests préliminaires, de l’activité antibactérienne, par la méthode de diffusion sur disque, montré que les extraits méthanoliques, des parties aériennes, du 2 espèces étudiés EMRO et EMHI ont un effet inhibiteur sur la croissance d’*E.Coli* et *Staphylococcus aureus*.

Tableau 22: Diamètre en nm des zones d’inhibition des extraits EMRO ET LMHI.

		Diamètre de la zone d’inhibition (mm)			
Souches bactériennes	Extrait méthanolique des espèces	C1 (0.25)	C2 (0.50)	C3 (0.75)	C4 (1)mm
<i>E. coli</i>	(EMRO)	7	0	0	12.5
<i>Staphylococcus aureus.</i>	(EMRO)	10.5	10	0	0
<i>E. coli</i>	(EMHI)	9	0	0	8.5
<i>Staphylococcus aureus</i>	.(EMHI)	0	10	13	10

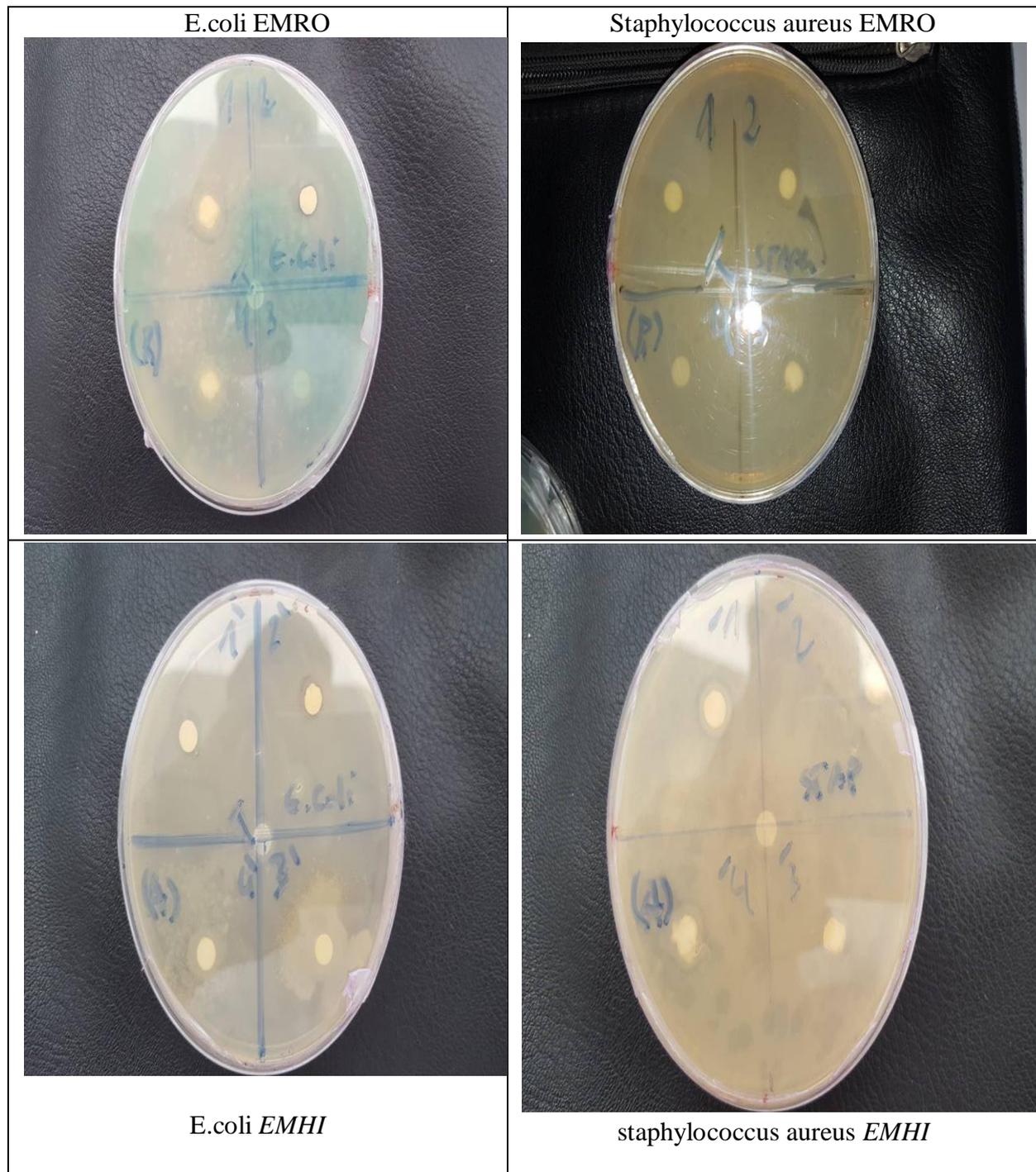


Figure 30: activité antibactérienne de l'extrait metahnoliques de *Rosmarinus officinalis* L. et de *L' Helichrysum italicum* L. (technique de disque).

Conclusion

Conclusion

les plantes médicinales, représentent une source inépuisable de substances et composés naturels bioactifs qualifiés de métabolites secondaires, leur répartition qualitative et quantitative est inégale selon les espèces, dont l'accumulation de ces composés dans les différents organes des plantes joue un rôle essentiel pour sa durabilité naturelle.

Le but de ce travail est l'investigation phytochimique et l'activité biologique des plantes *Rosmarinus officinalis* L., appartenant à la famille Lamiaceae récoltées de Djebel Ouahch et *Helichrysum italicum* L., de la famille des Astéraceae cueillies à Sidi Ammar. Ces espèces sont importantes et utilisées en médecine traditionnelle.

Les tests phytochimiques réalisés indiquent que sur les extraits des deux espèces ont montré que : les deux plantes sont riches en flavonoïdes, tanins, coumarines, stérols et triterpènes.

Les teneurs des composés phénoliques totaux chez les 2 espèces étudiées, sont très importantes.

L'évaluation de l'activité anti-radicalaire par le test de DPPH a révélé que les deux plantes ont un pouvoir antioxydant puissant.

Les tests préliminaires antibactériens ont illustré que les 2 extraits EMRO et EMHI ont un effet inhibiteur sur la croissance des souches *E.coli* et *Staphylococcus aureus*.

On conclut avec les résultats obtenus que notre espèce étudiée *Rosmarinus officinalis* L. est riche en métabolite secondaire flavonoïdes, anthocyanes, tanin, et un taux important de composés phénoliques qui présentent un pouvoir antioxydant et antibactérien très intéressant. Ainsi que *Helichrysum italicum* L. est moins riche en métabolite secondaire, alors est moins riche en molécule bioactive.

Mots clés : *Rosmarinus officinalis* L., *helichrysum italicum* L.

Activité antibactérienne, Activité antioxydante, polyphénols, tanin, Flavonoïdes, Composés phénoliques.

Références bibliographiques

Référence bibliographique

Allert kosselben Biochimie et biologie moléculaire ; 2eme Ed : De BOECK, en Belgique
1891. P19

Bruneton, J. (1999) Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3ème Ed.
Ed. médicales internationales and Tec & Doc Lavoisier, Paris.

Cuendet, 1999 ; Vermerris, 2006 Métabolisme des végétaux. Physiologie et biochimie, 526
pages, Presses polytechniques et universitaires Romandes. Lausanne .P19

Ghedira K, 2005 Les flavonoïdes ,structures,propriétés biologiques, rôle prophylactiques et
emploi en thérapeutique,phytotérapie. P27

Guillaume, 2008 Chemical from Plants: Perspectives on plant secondary products; Ed:
WORLD SCIENTIFIC. P19

- **Gonzalez et Estevez-Braun, 1997**Coumarins, Nat. Prod. Reprod, 1 .P24

Gravot, 2008 Introduction au métabolisme secondaire chez les végétaux. Equipe
pédagogique Physiologie Végétale, UMR 118 APBV. Université de Rennes 1 .P19

Hartmann 2007 Genetical metabolomics of flavonoid biosynthesis in Populus: a case study.
Plant J .P19

Hartmann, T. (2007). From waste products to ecochemicals: fifty years research of
Plant secondary metabolism. Phytochemistry. p68, 2831–2846.

Lhuillier, 2007 Structural variation in proanthocyanidins and their derivatives. In: Lplant
polyphenols: synthesis, proprieties, significande. Laks P.E, Hemingway R.W New York .P26

Milane, 2004 La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de
radicaux libres, études et applications thérapeutiques. Thèse en vue de l'obtention du grade de
docteur en science. Université Louis Pasteur. Strasbourg . P32

- **Merghem R, 2009**Elément de biochimie végétale.1èreEd : Baha eddine. P28

Macheix et al. ,2005Métabolisme des végétaux. Physiologie et biochimie, 526 pages,
Presses polytechniques et universitaires Romandes. Lausanne P23

Macheix, 2005 , métabolismes secondaires chez les végétaux. Equipe pédagogique
Physiologie Végétale, UMR 118 APBV. Université de Rennes 1 .P22

- **Ribereau, 1968** Production of plant secondary Metabolites: a historical perspective. Plant
Science. 1 P21

Thomas, 2009Plant phenolics and human health: Biochemistry, Nutrition, and Pharmacology.
John Wiley & Sons Edition. P19

Walton et Brown; 1999Chemical from Plants: Perspectives on plant secondary products; Ed:
WORLD SCIENTIFIC; .P20

Références électroniques

Site internet.Wikipedia,2018)

Résumé

Notre étude a porté sur un screening phytochimique visant à caractériser les différentes classes de métabolites secondaires chez les espèces *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiacées) des régions constantine, et *l' Helichrysum italicum* L. (Astéracées) de Sidi Amar. A révélé que ces espèces sont riches en flavonoïdes, anthocyanes, tanins, stérols et stéroïdes.

Le dosage des composés phénoliques totaux par la méthode du Folin-ciocalteu a montré une teneur élevée et remarquable dans l'extrait méthanolique des parties aériennes de *l' Helichrysum italicum* L. (940 ± 21.21 mg EAG/g MS), comparativement à l'extrait méthanolique de *Rosmarinus officinalis* L. ($857,5 \pm 81,31$ mg EAG/g MS).

L'étude de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques des parties aériennes de *Rosmarinus officinalis* L. et parties aériennes de *l' Helichrysum italicum* L. a révélé que ces espèces ont un pouvoir antioxydant puissant.

L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques ont été testés sur les extraits hydrométhanoliques des parties aériennes, des 2 espèces étudiées EMRO et EMHI ont un effet inhibiteur sur la croissance d'*E. Coli* et *Staphylococcus aureus*.

Mots clés : *Rosmarinus officinalis* L., *helichrysum italicum* L.

Activité anti bactérienne, Activité anti oxydante, polyphénols, tanin, Flavonoïdes

ABSTRACT:

Our study focused on a phytochemical screening aimed at characterizing the different classes of secondary metabolites in the species *Rosmarinus officinalis* L. (lamiaceés) from the Constantine regions, and *Helichrysum italicum* L. (Asteraceae) from Sidi Amar. Revealed that these species are rich in flavonoids, anthocyanins, tannins, sterols and steroids.

The determination of total phenolic compounds by the Folin-ciocalteu method showed a high and remarkable content in the methanolic extract of the aerial parts of *Helichrysum italicum* L. (940 ± 21.21 mg EAG / g MS), in comparison with the methanolic extract of *Rosmarinus officinalis* L. ($857.5 \pm 81, 31$ mg EAG / g MS).

The study of the antioxidante activity of the methanolic extracts of the aerial parts of *Rosmarinus officinalis* L. and aerial parts of *Helichrysum italicum* L. revealed that these species have a powerful antioxidant power.

The evaluation of the antibacterial activity of the methanolic extracts was tested on The hydromethanolic extracts of the aerial parts of the 2 species studied EMRO and EMHI have an inhibitory effect on the growth of *E. coli* and *Staphylococcus aureus*.

Key words: *Rosmarinus officinalis* L., *helichrysum italicum* L., antioxidant, antibacterial, polyphenols, tannins, flavonoids.

الملخص

ركزت دراستنا على الفحص الكيميائي النباتي الذي يهدف إلى تحديد فئات مختلفة من الأيضات الثانوية في الأنواع النباتية

Rosmarinus officinalis L لإكليل الجبل (العائلة الشفوية) من مناطق قسنطينة و ذهب الشمس

helichrysum italicum L., من مناطق سيدي عمار (نجميات)

كشفت أن هذه الأنواع غنية بالفلافونويد والأنثوسيانين والتانينات والستيرول والستيرويدات

تحديد مجموع المركبات الفينولية بالطريقة Folin-ciocalteu. أظهر محتوى عالي وملفت للنظر

أظهر محتوى عالي ومميز في المستخلص الميثانولي للأجزاء الهوائية من *Helichrysum italicum* L.

Rosmarinus officinalis L. بالمقارنة مع المستخلص الميثانولي من $(940 \pm 21.21 \text{ mg EAG/g MS})$

$(857.5 \pm 81, 31 \text{ mg EAG / g MS})$

دراسة نشاط مضادات الأكسدة للمستخلصات الميثانولية للأجزاء الهوائية *Rosmarinus officinalis* L...

والأجزاء الجوية من *Helichrysum italicum* L. كشفت أن هذه الأنواع لديها قوة مضادة للأكسدة قوية

تقييم النشاط المضاد للبكتيريا من المستخلصات الميثانولية وقد تم اختبارها على مستخلصات الميثانول المائية للأجزاء

من النوعين المدروسين لدى EMHI و EMRO الهوائية ، تأثير مثبط على نمو

E. coli و *Staphylococcus aureus*

كلمات مفتاحية: *Rosmarinus officinalis* L., *helichrysum italicum* L.

مضادة للأكسدة، مضادة للميكروبات ، بوليفينول، التانينات، الفلافونويدات.

Année universitaire : 2017/2018

Présenté par : Abderzak mehdi
Abdesamad alaa

Etude phytochimique et évaluations des activités antioxydante, antibactérienne des deux espèces : *Rosmarinus officinalis* L., et *Helichrysum italicum* L.

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie et physiologie végétale.

Résumé :

Notre étude a porté sur un screening phytochimique visant à caractériser les différentes classes de métabolites secondaires chez les espèces *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiacées) des régions constantine, et *Helichrysum italicum* L. (Asteracées) de Sidi Amar. A révélé que ces espèces sont riches en flavonoïdes, anthocyanes, tanins, stérols et stéroïdes.

Le dosage des composés phénoliques totaux par la méthode du Folin-Ciocalteu a montré une teneur élevée et remarquable dans l'extrait méthanolique des parties aériennes de *Helichrysum italicum* L. (940 ± 21.21 mg EAG/g MS), comparativement à l'extrait méthanolique de *Rosmarinus officinalis* L. ($857,5 \pm 81,31$ mg EAG/g MS).

L'étude de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques des parties aériennes de *Rosmarinus officinalis* L. et parties aériennes de *Helichrysum italicum* L. a révélé que ces espèces ont un pouvoir antioxydant puissant.

L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques ont été testés sur des germes bactériens pathogènes (*E. coli*, *Staphylococcus aureus*).

Les extraits hydrométhanoliques des parties aériennes, des 2 espèces étudiées EMRO et EMHI ont un effet inhibiteur sur la croissance d'*E. coli* et *Staphylococcus aureus*.

Mots clés : *Rosmarinus officinalis* L., *Helichrysum italicum* L., antioxydant, antibactérien, polyphénols, tanins, flavonoïdes.

Laboratoire de recherche : Laboratoire de biologie-écologie végétale

Jury d'évaluation :

Président du jury : KARA Karima (MCA - UFM Constantine),
Rapporteur : CHIBANI Salih (MCA - UFM Constantine).
Examineur : BOUCHOUKH (MAA - UFM Constantine).

Date de soutenance : 24/6/2018