



Faculté des Sciences et de Technologie

Département des Sciences de la Matière

Filière: Chimie

Mémoire Présenté par :

Hoceini Mahdjouba

Pour l'optention du diplôme de Master

Thème :

Etude phytochimique de Rosmarinuse Officinalis (L)

et Marrubium Vulgare (L) (Aspect qualitatif)

Soutenu publiquement devant le jury composé de:

M^r : Bensatal. A. MCB, UZAD

Co-encadreur

M^r : Bouaziz. O. MAA, UZAD

Encadreur

M^r : Rahmani. S. MAA, UZAD

Président de jury

M^r : Derdour. M. MAA, UZAD

Examineur

Année Universitaire/ 2014-2015

Remerciements

Avant tous je remercie Dieu le tous puissant pour m'avoir donnée la force et le courage pour de terminer ce modeste travail.

Je tiens particulièrement à remercier mes parent qu'ils n'ont pas hésité d'offrir toutes les possibilités quelque soit ses natures et dans toutes les conditions, pour, m'avoir encouragé et conseillé.

*Je suis très reconnaissante envers M^r **Bouaziz Omar** professeur à l'université ziane Achour de Djelfa pour avoir accepté de m'encadrer et de me diriger, pour son soutien, ses encouragements ainsi que pour la confiance*

*Je dis un grand merci à monsieur M^r **Ben Satal Ahmed** le co- encadreur de ce travail, je le remercie aussi pour ces information très uties.*

*Je remercie M^r.**Derdour meamar** d'avoir accepté d'être parmi les membres de jury de ce mémoire.*

*Je remercie Mr.**Rahmani Salah edine** d'avoir accepte d'être le président du jury.*

Je remercie mes collègues et mes amis pour les sympathiques moments qu'on a passé ensemble.

DEDICACES

*Je dédie ce modeste travail Aux deux être
le plus chers au monde, qui ont souffert nuit et jour pour
nous couvrir de leur amour, mes parents.*

A frères Said ,Mourad et Youcef.

*A sœurs et les enfants: Asmaa, Khadidja, Arwa , Idris , Ossama
et Ali*

A toute ma famille paternelle Hoceini.

A mes amies Surtout: Saliha, Aicha et Massouda.

Mahdjouba

-Liste des Tableaux-

Designation	Pag
Tableau (1) : Principales classes des flavonoïdes.	04
Tableau (2) : Différentes classes de terpenoïdes avec quelques exemples.	20
Tableau (3) : Préparation des dilutions pour mesurer l'indice de mousse.	25
Tableau (4) : Matériel utilisé.	46
Tableau (5) : Produits chimiques.	47
Tableau (6) : Résultats obtenus pour les alcaloïdes extrait de <i>Marrubium vulgare(L)</i> et de <i>Rosmarinus Officinalis(L)</i> .	48
Tableau (7) : Résultats correspondant à la recherche de polyphénols de l'extrait de <i>Marrubium vulgare (L)</i> et de <i>Rosmarinus Officinalis (L)</i> .	48
Tableau (8) : Résultats correspondant à la recherche des Tanins dans l'extrait de <i>Marrubium vulgare (L)</i> et de <i>Rosmarinus Officinalis (L)</i> .	49
Tableau (9) : Résultats et photos correspondant à la recherche des saponines dans l'extrait de <i>Marrubium vulgare (L)</i> et de <i>Rosmarinus Officinalis (L)</i> .	49
Tableau (10) : Résultat obtenu correspondant à l'indice de mousse.	50
Tableau (11) : Résultats correspondant à la recherche des huiles Volatiles de l'extrait de <i>Marrubium vulgare (L)</i> et de <i>Rosmarinus Officinalis (L)</i> .	50
Tableau(12) : Résultats correspondant à la recherche des coumarines dans l'extrait de <i>Marrubium vulgare (L)</i> et de <i>Rosmarinus officinalis (L)</i> .	51
Tableau(13) : Résultats correspondant à la recherche de l'amidon dans l'extrait de <i>Marrubium vulgare (L)</i> et de <i>Rosmarinus Officinalis (L)</i> .	51

Tableau(14) : Résultats de recherche des flavonoïdes dans l'extrait de <i>Marrubium vulgare (L)</i> et de <i>Rosmarinus Officinalis (L)</i> .	52
Tableau(15) : composition de <i>Marrubium vulgare (L)</i> .	53
Tableau(16) : composition de <i>Rosmarinus officinalis (L)</i> .	54

-Liste des abbreviations-

HE : huile essentielle .

HPLC: Chromatographie liquide à haute performance.

g:gramme.

GLU : glucose.

Kg: kilo gramme.

min: Minutes.

ml: Millilitre.

nm : nano mètre

TCs: tanins condensés.

THs: tanins hydrolysables.

UV: Ultra-violet.

-Liste des Figures-

Designation	Page
Figure .1: Structure de base des flavonoïdes.	03
Figure .2: Structure de base des coumarines avec quelques exemples.	06
Figure .3: Structure de coumarine.	07
Figure .4 : Psoraléne.	07
Figure .5 : Angélicine.	08
Figure .6: Structures de quelques pyranocoumarines.	08
Figure .7: Structures de quelques dicoumarines	09
Figure .8: Structure de triumbellatine type des tricoumarines.	09
Figure .9: Structure des Tanins hydrolysables.	11
Figure .10: Structure de tannin condense.	12
Figure .11: Structure d'Anthocyanosides.	13
Figure .12: L'hydroxyle lié à un sucre.	14
Figure .13: Structure générale des saponosides.	15
Figure .14: Structure des principaux squelettes des génines tri-terpéniques.	16
Figure .15: Structure des principaux squelettes des génines stéroïdiques.	16
Figure .16: Structure d'isoprène.	20
Figure .17: Structure des Stéroïdes.	21
Figure .18: Aspects morphologiques du Romarin.	32
Figure .19: terpenoïdes dans <i>R.officinalis (L)</i> .	35

Figure .20: flavonoïdes glucuronides.	37
Figure .21: squelettes polyphénoliques différents dans le <i>R. Officinalis(L).</i>	37
Figure .22: Aspects morphologiques du <i>Marrubium vulgare (L).</i>	41

-Liste des photos-

Designation	Page
photo 01 : Montage d'extraction par macération dans l'eau.	23
Photo 02 : Montage d'extraction par macération dans l'éthanol.	27

SOMMAIRE

Liste des tableaux.....	(i)
Liste des figures.....	(ii)
Liste des photos.....	(iii)
Liste des abréviations.....	(iiii)

INTRODUCTION GENERALE

Chapitre I: Rappel sur les métabolites secondaires

I.1. Définition des métabolites.	2
I.2.Métabolites secondaires.	2
I.3.Classification des métabolites secondaires.	2
I.3.1.Les composés phénoliques.	2
I .3.1.1.Les flavonoïdes.....	3
I.3.1.2. Les coumarines.	6
I .3.1.3.Tanins.....	10
I .3.1.4. Anthocyanosides.....	13
I .3.2. Les saponines	14
I .3.3. Huiles essentielles	17
I .3.4. Les alcaloïdes.	18
I .3.5. Les Terpénoïdes	19
I .3.6. Les stéroïds.....	21

Chapitre II:les méthodes d'extraction

II. Méthodes d'extraction	23
II.1. Détection des Alcaloïdes	23
II.2 Détection des polyphénols	23

II.3. Préparation des extraits éthanoliques et aqueux	23
II.3.1. Extraction par macération à l'eau:(solution aqueuse).....	23
II.3.1.2. Détection des Tanins	24
II.3.1.3. Détection des saponines.....	24
II.3.1.4. Détection des Huile volatiles.....	26
II.3.1.5. Détection des Coumarines.....	26
II.3.1.3. Détection de l'amidon.....	26
II.3.2.Extraction par l'éthanol.....	26
II.3.2.1.Détection des flavonoïdes.....	27
II.3.2.1.Détection des Tanins.....	28
II.3.2.1.Détection des composés réducteurs.....	28
II.3.2.1.Détection des Coumarines.....	28
II.3.2.1.Détection des Anthocyanosides.....	28
II.3.2.1.Détection des Alcaloïdes.....	29
II.3.2.1.Détection des stérols et tri-terpènes.....	29

Chapitre III: Les Plantes Médicinales.

III.1.Rosmarinus officinalis.....	31
III.1.1.Definition.....	31
III.1.2.La famille des Rosmarinus Officinalis (L).....	31
III.1.3.Genre.....	31
III.1.4.Etymologie.....	31
III.1.5.Caractéristiques botaniques.....	31
III.1.6.Habitat et culture.....	33
III.1.7.Propriétés du Romarin.....	33
III.1.7.1.Activité antibactérienne.....	33

III.1.7.2. Activité antifongique.....	33
III.1.7.3. Activité ovicide.....	33
III.1.7.4. Activité anti-oxydante.....	33
III.1.8. Utilisation.....	33
III.1.9. Composition chimique.....	33
III.1.9.1. Huile Essentielle.....	33
III.1.9.2. Les terpenoïde	34
III.1.9.3. flavonoïdes.....	35
III.1.9.4. Historique du romarin.....	38
III.2. Marrubium vulgare.....	39
III.2.1. Définition.....	39
III.2.2. La Famille des marrubium vulgare.....	39
III.2.3. Genre Marrubium.....	39
III.2.4. Espèce Marrubium vulgare.....	40
III.2.5. Description botanique.....	40
III.2.6. Utilisations de la plante.....	41
III.2.7. Localisation et repartition.....	42
III.2.8. Composition chimique.....	42
Chapitre IV: partie expérimentale	
IV.1. Matériel utilisé.....	45
IV.1.1. Matériel végétal.....	45
IV.1.1.1. <i>Marrubium vulgare</i>	45
IV.1.1.2. <i>Rosmarinus officinalis</i>	45
IV.1.2. Mode de préparation des échantillons.....	45
IV.1.3. Matériels.....	45

IV.1.4.Produits chimiques.....46

IV.1.5.Résultats des tests phytochimiques.....47

CONCLUSION GENERALE

BIBLIOGRAPHIE

Introduction générale

Introduction générale:

Depuis toujours, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies, ou dans d'autres utilisations telles qu'en cosmétologie.

Les plantes sont le réservoir de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique possédant d'éventuelles activités biologiques. C'est pourquoi, qu'elles demeurent une tâche très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuses études.

Le travail de ce mémoire est consacré essentiellement à l'étude phytochimique de deux plantes médicinales: *Marrubium vulgare*. L et *Rosmarinis officinalis*. L, deux plantes appartenant à la famille des Lamiacées .

Cette matière végétale contient un grand nombre de molécules dotées d'intérêts multiples dans divers domaines d'applications (industrie, cosmétologie etc.). Parmi ces composés on trouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes.

Le romarin (*Rosmarinus Officinalis* L). fait l'objet de récentes recherches dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et agro-alimentaires. C'est une herbe aromatique de la famille des Labiées, appréciée pour ses propriétés aromatiques, anti-oxydantes, antimicrobiennes, antispasmodiques et anti-tumorales, largement utilisée dans les produits pharmaceutiques et en médecine traditionnelle. Tandis que , La *Marrubium vulgare* est une plante utilisée en médecine traditionnelle dans le traitement du rhume et de la fièvre. Cette richesse nous a donnée une motivation sans égal pour la conduite de ce travail.

Le présent travail se répartit comme suit :

Une partie théorique qui comprend trois chapitres:

Chapitre I: Rappel sur les métabolites secondaires.

Chapitre II: Aperçu bibliographique sur les méthodes d'extraction.

Chapitre III: Rappel théorique sur la plante étudiée

La deuxième partie comprend un seul chapitre:

Chapitre (IV): partie expérimentale.

Nous terminerons ce travail par une conclusion générale.

Première partie

Etude bibliographique

Chapitre I:

Les Métabolites Secondaires

I.1. Définition des métabolites:

Ces produits, à structure chimique souvent complexe, sont très dispersés et très différents selon le type des espèces. Ils pourraient jouer un rôle dans la défense contre les herbivores, et dans les relations entre la plante et leur environnement. [1]

I.2. Métabolites secondaires :

Les plantes possèdent des métabolites dites « secondaires » par opposition aux métabolites primaires qui sont les protéines, les glucides et les lipides. Les métabolites secondaires sont classés en plusieurs groupes comme, les composés phénoliques, les terpènes et stéroïdes et les composés azotés (donc les alcaloïdes). Chacune de ces classes renferme une très grande diversité des composés aux activités biologiques multiples. [2]

Les métabolites secondaires sont définis comme des molécules qui interviennent dans l'adaptation de la plante à son environnement ainsi que la régulation des symbioses et d'autres interactions plantes-animaux, la défense contre les prédateurs et les pathogènes, comme agents allélopathiques ou pour attirer les agents chargés de la pollinisation ou de la dissémination des fruits. [3]

I.3. Classification des métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires sont des produits en très faible quantité, et présentent en plus de 200000 métabolites secondaires classés selon leur appartenance chimique en l'occurrence avec les terpènes, les alcaloïdes, les composés acétyléniques, les cires, et les composés phénoliques. [4 ; 5]

I.3.1. Les composés phénoliques :

Les polyphénols ou composés phénoliques forment une grande classe de composés chimiques qui se trouvent dans les plantes au niveau des tissus superficielles. Ce sont des composés photochimiques polyhydroxylés et comprenant au moins un noyau aromatique à 6 carbones.

On les subdivise généralement en sous classe principales ; en tant qu'acides phénoliques, flavonoïdes, lignines, tannins...etc. [6]

Ces molécules non seulement constituent la base des principes actifs chez les plantes, elles ont un rôle principale à la vie de la plante, à la défense contre les pathogènes ; principalement les moisissures et les bactéries phytopathogènes et ainsi à la protection contre les UV ; sachant que tous les composés phénoliques absorbent les rayonnements solaires. [6]

Les composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes simples et proanthocyanidines) forment le groupe le plus important des composés phytochimiques de la plante. [7]

I.3.1.1. Les flavonoïdes :

I.3.1.1.1. Définition : Le terme flavonoïde (de flavus, «jaune» en latin) représente une large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. [8] Ce sont des pigments responsables de la coloration jaune, orange et rouge dans les différents organes végétaux. [9;10; 11]

I.3.1.1.2. Structure :

Les flavonoïdes ont tous la même structure chimique de base, un squelette de quinze atomes de carbones constituant deux cycles aromatiques (A) et (B) ; qui sont reliés entre eux par une chaîne en C3 en formant ainsi l'hétérocycle (C). [12] Généralement, la structure des flavonoïdes est représentée selon le système C6-C3- C6 [13] qui forme une structure de type diphenyle propane. Sont ; des groupements hydroxyles, oxygènes, méthyles, ou des sucres peuvent être attachés sur les noyaux de cette molécule. [14 ; 15]

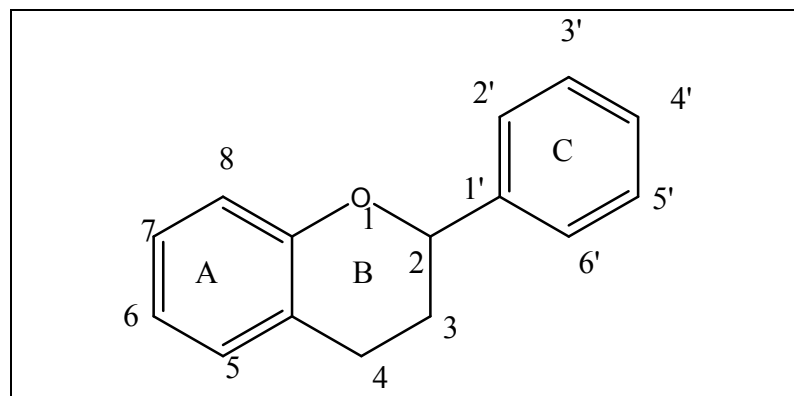


Figure .1 : Structure de base des flavonoïdes. [16]

I .3.1.1.3. Classification :

Nous résumons dans ce qui suit, les principales classes des flavonoïdes.

Tableau 1: Principales classes des flavonoïdes. [12 ; 14]

Classes	Structure chimique	R' ₃	R' ₄	R' ₅	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigenine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH ₃	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myricétine
Flavanols		OH	OH	OH	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflavones		R ₅	R ₇	R' ₄	
		OH	OH	OH	Genistéine

I .3.1.1.4. Propriétés Physico-Chimiques des flavonoïdes :

a-Solubilité et extraction :

Les génines sont pour la plupart, solubles dans les solvants organiques apolaires. Les hétérosides peuvent être extraits, le plus souvent à chaud, par l'acétone ou par les alcools additionnés à l'eau. Il est possible de procéder ensuite à une évaporation sous vide. Lorsque le milieu n'est pas aqueux, il est possible de procéder à une série d'extractions liquide-liquide par des solvants non miscibles à l'eau. [17] Si les aglycones sont les cibles, une hydrolyse chimique est habituellement effectuée avec de l'acide chlorhydrique ou l'acide formique à des températures élevées. L'hydrolyse enzymatique est également employée. Si l'intérêt des flavonoïdes-glycosylés intacts, l'hydrolyse devrait naturellement être empêchée. [18]

b-Dosage :

Les méthodes de dosage classiques sont le plus souvent, colorimétriques ou spectrophotométriques. L'HPLC offre maintenant la possibilité d'une estimation rapide et précise de tous les flavonoïdes. [17]

I .3.1.1.5. Distribution des flavonoïdes dans les plantes :

Les plantes ont la capacité de biosynthétiser des flavonoïdes. Dans la majorité des cas, les flavonoïdes sont présents sous forme glycosylée . Car, la glycosylation a pour effet de les rendre moins réactifs et plus hydrosolubles permettant alors leur stockage dans les vacuoles des cellules épidermiques des fleurs, de l'épiderme et du mésophylle des feuilles, des parenchymes des tiges et racines. Les génines seules sont présentes dans les exsudats farineux de certaines plantes, dans les cuticules des feuilles, écorces et bourgeons ou sous forme de cristaux dans les cellules de certaines Cactaceae et plantes de régions arides. [19] On les trouve en abondance dans les familles suivantes : Polygonacées; Apiacées; Rutacées; Astéracées; Légumineuses. [20]

Egalement, le règne animal peut générer les flavonoïdes. Par exemple, la chrysin, la quercétine et la galangine sont aussi issus à partir du monde des abeilles. [21] De plus, il est à noter que les flavanones et les flavones ont été isolés d'un corail marin et d'un petit nombre de champignons. [19]

I .3.1.1.6. Caractérisation :

De nombreuses réactions colorantes existent pour caractériser les flavonoïdes. En dehors de la coloration jaune donnée par les alcalin, il existe une coloration plus spécifique dite réaction de la cyanidine : les hétérosides flavoniques en solution alcoolique, mis en présence d'hydrogène, donnent des dérivés diversement colorés selon la structure chimique des flavonoïdes mis en jeu (orangée (flavones), rouge cerise (flavonols) et rouge violacé (flavonones)). Les flavonoïdes donnent généralement avec le Mg et en présence de HCl une coloration rose ou rouge après trois minutes. [22]

I .3.1.2. Les coumarines :

I.3.1.2. 1.Définition :

Les coumarines sont des composés phénoliques ayant un squelette de base en C6-C3,

généralement hydroxylés en position 7, en 6, 7 et en 6, 7, 8.

Elles ont des effets différents sur le développement des plantes suivant leur concentration et ainsi selon le type d'espèce. Dans la cellule végétale, elles sont principalement présentes sous forme glycosylée.[23] Cette glycosylation est une forme de stockage permettant d'éviter les effets toxiques de ces molécules. Elles sont considérées comme des phytoalexines, c'est-à-dire de métabolites que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries. Les coumarines peuvent également se trouver dans le règne animal (les glandes à sécrétion odoriférante du castor) et chez certains microorganismes.[24]

I .3.1.2.2. Structure des coumarines :

Le squelette de base des coumarines est constitué de deux cycles accolés avec neuf atomes de carbone.[25]

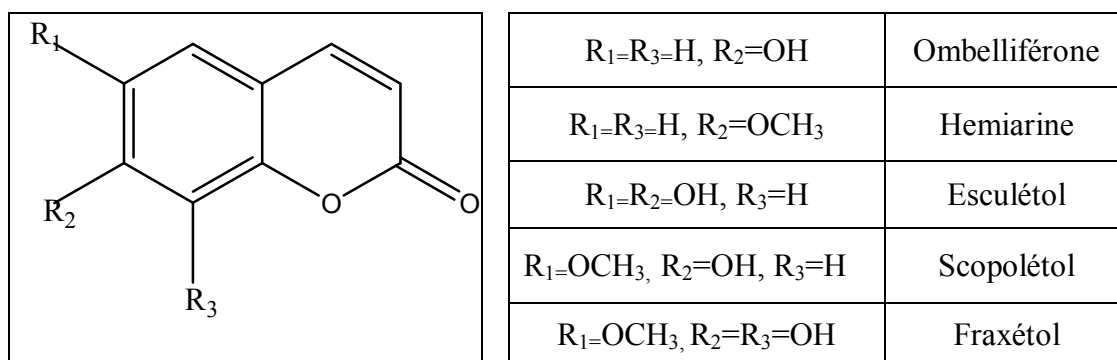


Figure.2 : Structure de base des coumarines avec quelques exemples. [25]

I .2.2.3. Classification des coumarines :

Les coumarines sont substituées par un hydroxyle ou plus sur les six positions disponibles. La majorité des coumarines sont substituées en C-7 par un hydroxyle. Selon la nature des substituant, on peut classer les coumarines en cinq catégories : [26; 27]

a-Coumarines Simples :

Les coumarines simples sont les plus répandues dans le règne végétal et possèdent des substitutions (OH ou OCH₃) en position 6 et 7. Cette classe comporte deux sous classes, les génines et les hétérosides. [28]

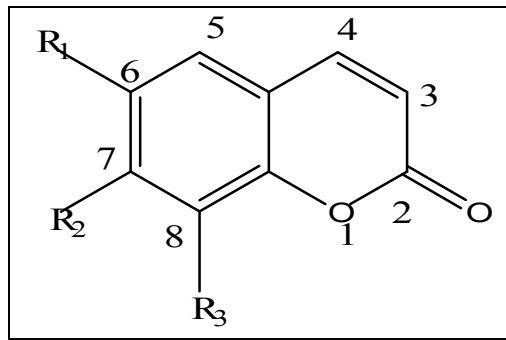


Figure.3 : Structure de coumarine. [28]

b-Furanocoumarines :

Les furanocoumarines (appelées encore furocoumarines) constituent une famille de composés synthétisés par certaines espèces végétales supérieures. Elles dérivent principalement de l'Ombelliféracée par condensation isopronoïdes en C5, sont souvent liposolubles, On désigne :

- **les Furanocoumarines lineaires** : dérivant de la molécule de psoralène

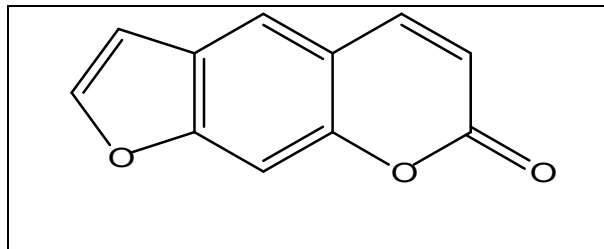


Figure.4 :Psoralène. [30]

- **les Furanocoumarines angulaires** : basées sur la structure de l'angélicine

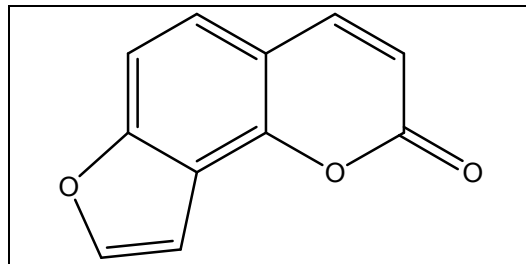


Figure.5 : Angélicine. [30]

c-Pyranocoumarines :

Les pyranocoumarines des composés formés par la fusion d'un hétérocycle pyrane avec la coumarine, soit dans le prolongement (forme linéaire) comme le xanthylétine ou latéralement (forme angulaire) comme les séseline, visnadine. [28]

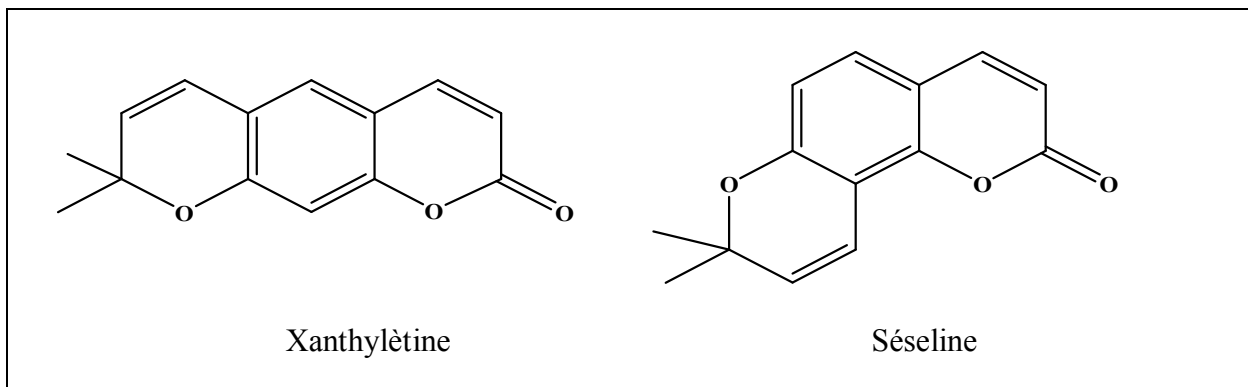


Figure.6 : Structures de quelques pyranocoumarines. [28]

d-Dicoumarines (coumarines dimériques) :

Les dicoumarines sont des composés formés par la liaison de deux unités coumariniques simples.

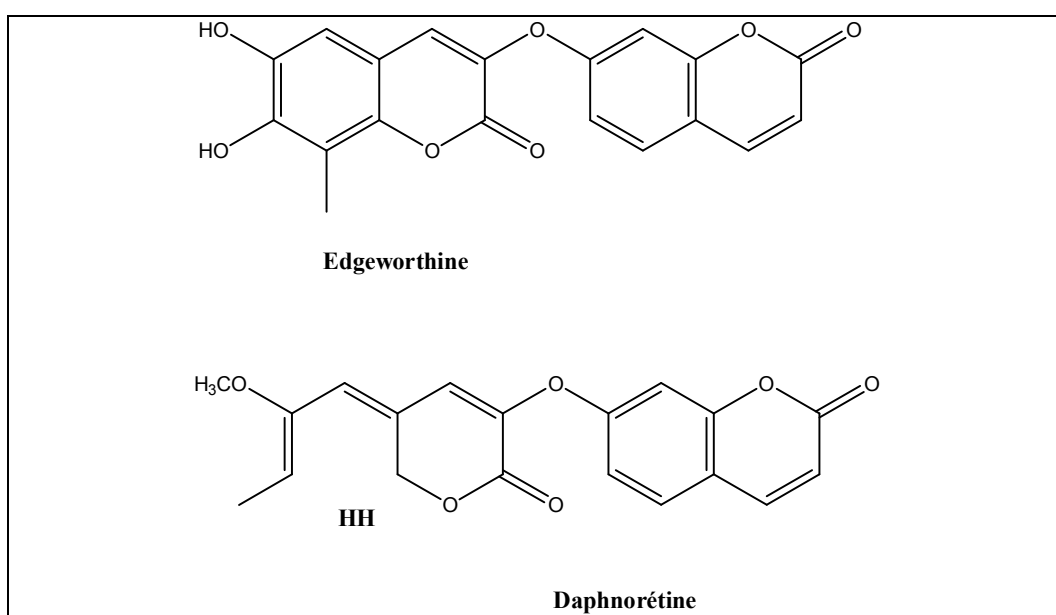


Figure.7 : Structures de quelques dicoumarines. [29]

e-Tricoumarines (coumarines trimériques) :

Les tricoumarines sont des composés issus de l'union de trois unités coumariniques, la figure 8 montre un type des tricoumarines, qui est la triumbéllatine. [31]

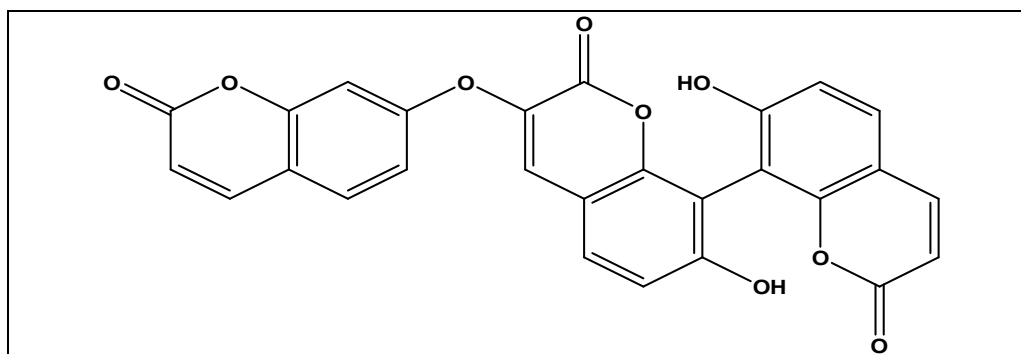


Figure.8 : Structure de triumbéllatine type des tricoumarines [30].

I .3.1.2.3. Propriétés physico-chimiques :

Les coumarines sont des solides cristallisés blancs ou jaunâtres de saveur généralement amère, certaines sont sublimables et entraînaient à la vapeur d'eau. Les hétérosides et les génines sont assez solubles dans l'eau et l'alcool. Les coumarines hydroxylées possèdent une intense fluorescence bleue en lumière ultraviolette. Leur spectre U.V est également caractéristique et sert à leur identification. [22]

Les propriétés chimiques sont principalement dues à la fonction lactone par son ouverture et sa solubilisation en milieu alcalin puis, par fermeture en milieu acide pour la régénérer. [22]

I .3.1.3. Tanins :

I .3.1.3.1 Définition:

Les tanins sont des substances polyphénoliques de structure variée, de saveur astringente ayant en commun la propriété de tanner la peau. Cette aptitude est liée à leur propriété de se combiner aux protéines. Leur poids moléculaire est compris entre 500 et 3000 g/mol. [32 ; 22]

Les tanins sont divisés en deux groupes . [22]

Les tanins forment avec les métaux lourds, notamment les sels de fer, des précipités de couleur très foncée : noires, brunes, bleues sombres, utilisés pour cette raison dans la fabrication de certaines encres. [33]

I .3.1.3.2. Structure et classification :

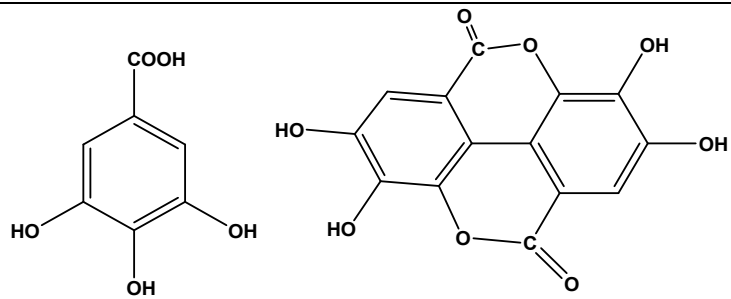
On distingue habituellement chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tanins différents par leur structure aussi bien que par leur origine biogénétiques: Les tanins hydrolysables et les tanins condensés. [17]

a-Tanins hydrolysables (THs) :

Ce sont des polyesters d'oses et d'acides phénols. Les oses trouvés dans ces tanins sont surtout représentés par le glucose, ces tanins sont de deux types :

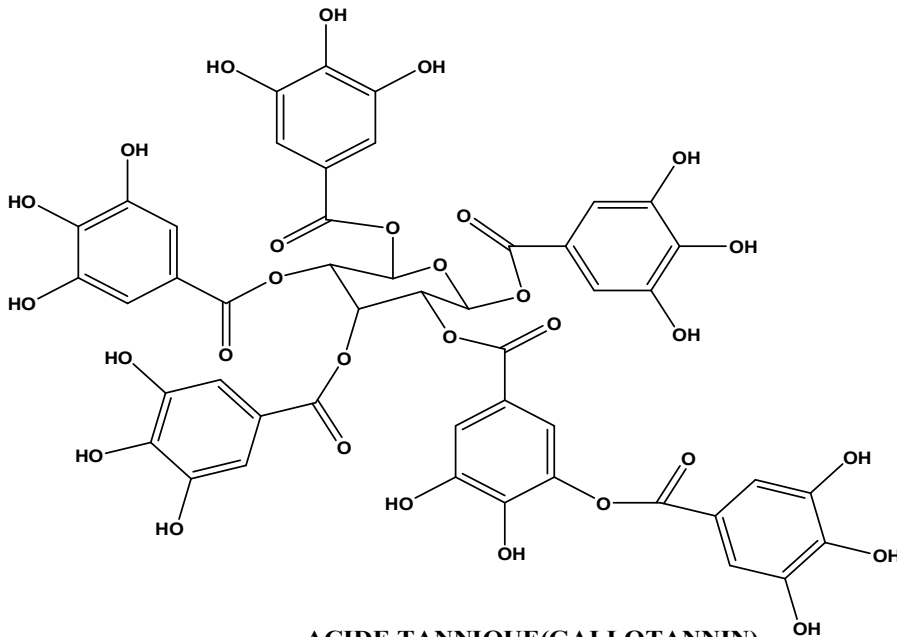
- Les tanins galliques qui sont des esters d'oses (glucose) et d'acides galliques.
- Les tanins ellagiques qui sont des esters d'oses et d'acide ellagique. [17]

Dans les deux cas, la fraction osidique est estérifiée par plusieurs molécules d'acide ellagique. [34]

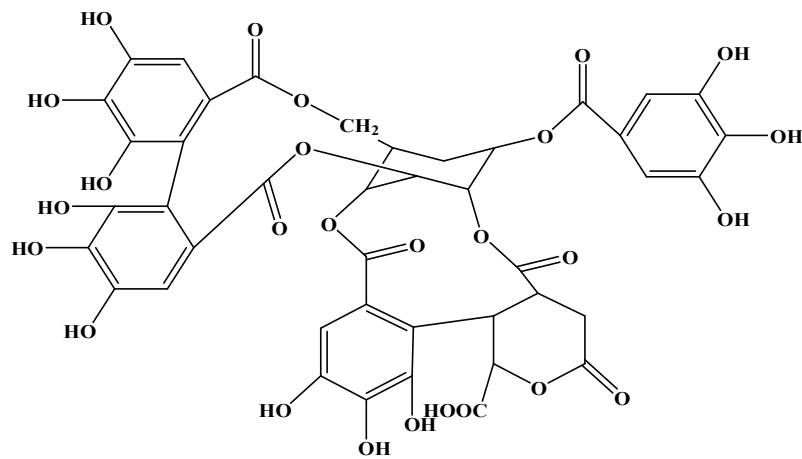


ACIDE GALLIQUÉ

ACIDE ELIAGIQUE



ACIDE TANNIQUE(GALLOTANNIN)



ACIDE TANNIQUE (ELLAGI TANNIN)

Figure.9 : Structure des Tanins hydrolysables. [22]

b-Tanins non hydrolysables ou tanins condensés (TCs) :

Des structures plus complexes, on les appelle également proanthocyanidines, largement présentes dans le règne végétal, et que l'on rencontre dans de nombreux produits alimentaires (fruit, légumes, boissons...). Ils ne renferment pas de sucres dans leur molécule ; ils ne sont hydrolysés ni par les acides, ni par les tannases mais en présence d'acides forts ou d'agents d'oxydation, ils se transforment en substances rouges : les phlobaphènes (exemple : rouge de cola). Ce sont des polymères de flavan-3 ols. Appelés aussi catéchines et de flavan-3,4-diols. appelés leucoanthocyanidines ou un mélange des deux. [34]

Le contenu des aliments en proanthocyanidines peut être affecté par plusieurs facteurs tels que le stockage et la cuisson. Puisque la teneur en proanthocyanidines est plus élevée généralement dans le fruit frais que le fruit séché ou cuit. [35]

Les polymères de tanins condensés sont formés généralement de 2 à plus de 50 sous unités monomériques. [35]

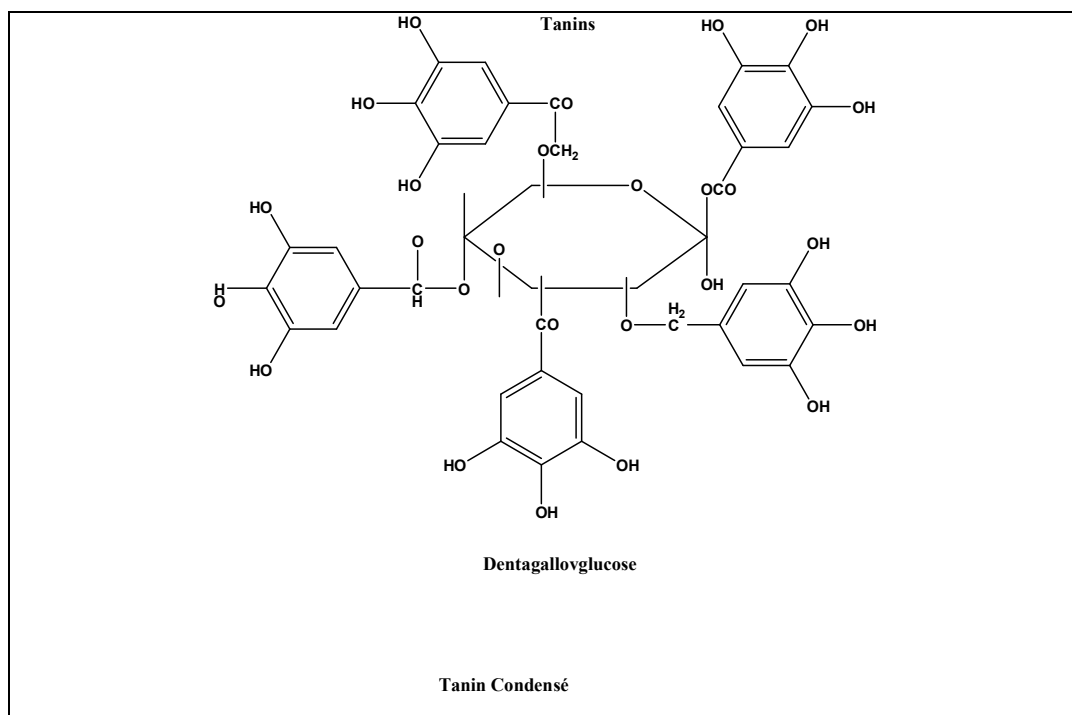


Figure.10 : structure de tannin condensé. [24]

I .3.1.3.3. Propriétés des tanins :

La structure chimique des tannins présente de nombreux groupements hydroxyles et phénoliques qui leur confèrent la propriété de former des complexes avec de nombreuses macromolécules telles que les protéines et les hydrates de carbones, ou encore avec des ions métalliques. [36]

I .3.1.3.4. Propriétés physico-chimique :

Les tanins étaient anciennement utilisés dans l'industrie du cuir (tannerie) car en se liant aux protéines constitutives des peaux d'animaux, les tanins rendent le cuir solide, imputrescible et résistant aux microorganismes. [1]

I .3.1.3.5. Caractérisation:

Avec les sels ferriques, on obtient des précipités colorés différemment selon la nature des tanins :

- bleu-noir avec les tanins hydrolysables.
- brun-verdâtre avec les tanins condensés.

Les tanins galliques donnent une coloration rose avec l'iodate de potassium (acide gallique libre est coloré en orange par ce réactif).

Les tanins ellagiques sont colorés en rose par HNO_2 en milieu acétique (rose, la couleur vive au pourpre puis au bleu).

Les tanins condensés sont colorés en rouge par la vanilline chlorhydrique. [22]

I .3.1.4. Anthocyanosides:

I .3.1.4.1. Définition:

Les anthocyanosides appelées aussi anthocyanines, sont des anthocyanes présentées sous forme d'hétérosides. Les génines des dérivés du cation 2 - phényl benzopyrylium plus communément appelé, cation flavylum (où l'oxygène est sous forme d'oxonium). En milieu acide l'anthocyanidols existent sous la forme cationique. Ils sont toujours hydroxylés en C3 et le plus souvent penta (3.5.7.3'.4') ou hexa substitué (3.5.7.3'.4'.5'). [22]

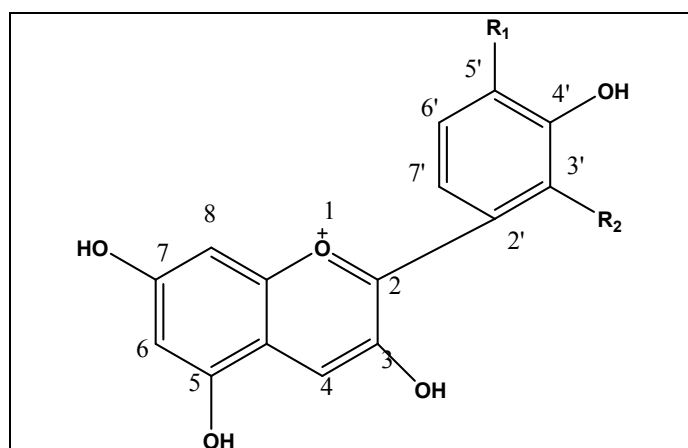


Figure.11 : structure d'Anthocyanosides. [22]

$R_1 = \text{OH}$, $R_2 = \text{H}$: Cyanidol de couleur orange-rouge

$R_1 = R_2 = \text{H}$: Pélargonnidol de couleur orange

$R_1 = R_2 = \text{OH}$: Delphinidol de couleur violette.

L'hydroxyle en position 3 est toujours lié à un sucre, le plus souvent, glucose et les plus fréquents sont 3-monosides et 3,5-diosides. [22]

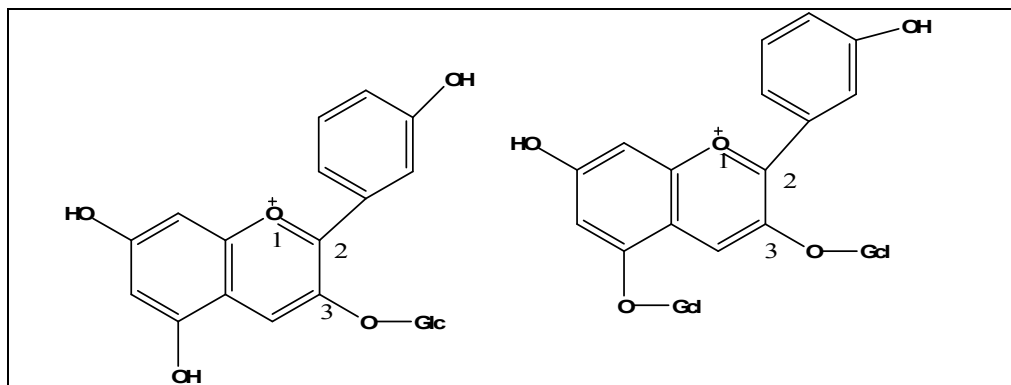


Figure.12 : L'hydroxyle lié à un sucre [22]

I .3.1.4.2. Propriétés physico-chimiques :

Les hétérosides sont solubles dans l'eau, insolubles dans les solvants organiques apolaires, contrairement aux génines. Les anthocyanosides ont une coloration qui varie en fonction du pH : Rouge stable en $\text{pH} < 3$, elle vire au bleu en milieu alcalin. Les anthocyanosides possèdent deux OH libres en ortho sur le phényle latéral et donnent des complexes avec les métaux comme le fer, l'aluminium et le magnésium. [22]

I .3.2. Les saponines :

I .3.2.1. Définition :

Les saponosides sont une classe d'hétérosides très répandue chez les plantes et les animaux marins. Ce sont des glycosides stéroïdiques ou triterpéniques qui ont la propriété de former des solutions moussantes en présence d'eau et de précipiter le cholestérol.

La plupart des saponosides présentent des propriétés hémolytiques, certains sont des matières premières pour l'hémi-synthèse de molécules médicamenteuses stéroïdiques. [22]

Selon la nature des génines, et structurellement, les saponosides sont classés en deux groupes :

- saponosides à génines stéroïdiques : Ils sont presque exclusivement présents chez les angiospermes monocotylédones et possèdent un squelette de 27 atomes de carbone qui comportant habituellement six cycles. Ce sont des dérivés du noyau spirostane utilisés pour l'hémisynthèse des corticoïdes. Ces sapogénines possèdent toujours une fonction alcool secondaire en 3, susceptible de former une liaison hémiacétalique avec un ose ou un oside. [22]

I .3.2.2. Constitution chimique et structure :

L'hydrolyse d'une saponine, par l'action d'un acide ou d'une enzyme, produit un sucre ou plusieurs (dont souvent le glucose) et un aglycone nommé sapogénine selon que cette dernière étant, soit un triterpène, soit un stéroïde. On distingue les saponines triterpènes et les saponines stéroïdiques.

Certains auteurs distinguent une troisième catégorie de saponines ; celles des amines stéroïdiques qui sont traitées par d'autres comme des alcaloïdes stéroïdiques. [37]

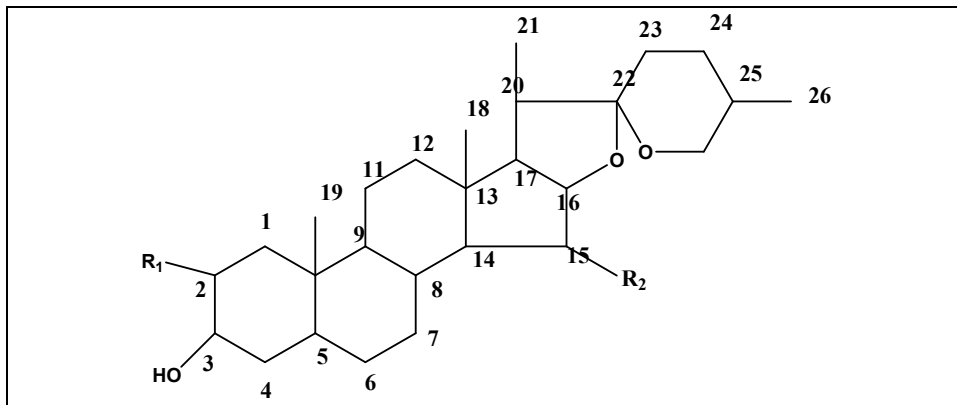


Figure.13 : Structure générale des saponosides. [22]

a-Saponines triterpènes :

La plupart des saponines végétales appartiennent à ce groupe (environ 120 composés), les plus nombreux existent chez les Angiospermes et pour l'essentiel chez les dicotylédones.

Leurs aglycones possèdent généralement une structure de base pentacyclique, plus rarement tétracyclique. Les aglycones (sapogénines) du type triterpènes sont l' α amyrine.-amyrine, l'acide ursolique et l'acide oléanolique, lupéol, etc. [17]

b-Saponines stéroïdiques :

Les composés de ce groupe sont présents presque et exclusivement chez les Angiospermes Monocotylédones, les genres *Dioscorea* ; *Smilax*, *Agave*, *Ruscus*, *Asparagus* et *Yucca*, sont particulièrement riches en saponines stéroïdiques. [17]

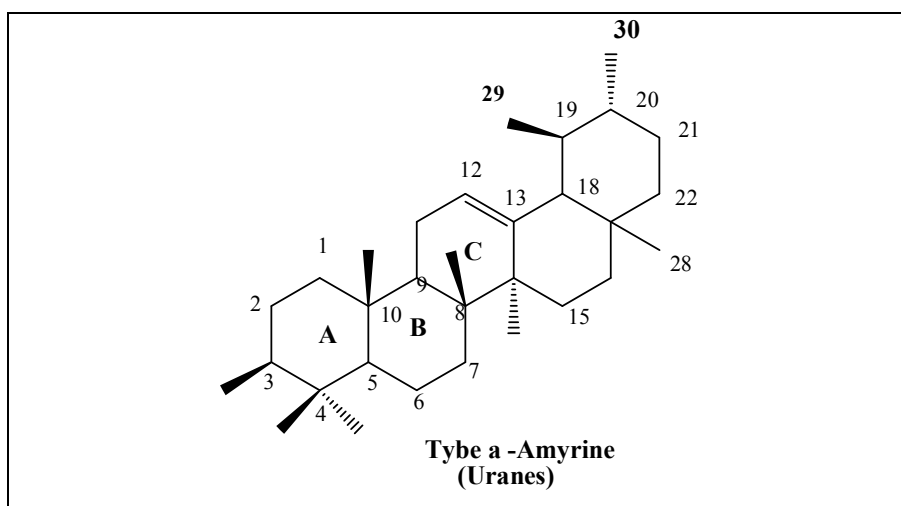


Figure.14 : Structure des principaux squelettes des génines tri-terpéniques. [38]

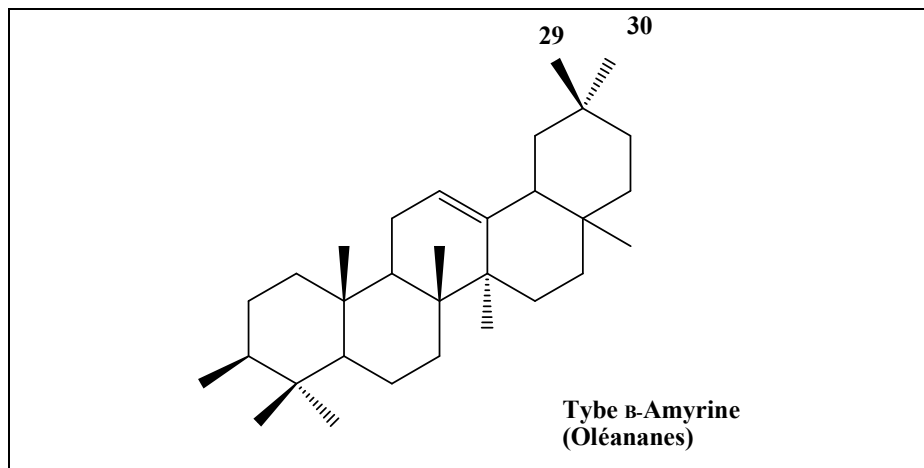


Figure.15 : Structure des principaux squelettes des génines stéroïdiques. [38]

I .3.2.3. Caractérisation :

Les saponosides donnent un certain nombre de réactions colorantes, non spécifiques, mais fort utilisées pour leur mise en évidence, signalons la réaction de Libermann Burchardt.

Les réactions générales de détection des saponosides les suivantes:

- l'acide sulfurique concentré dissout les saponosides et se colore successivement en jaune, rouge, bleu vert ou bleu violet. [22]
- l'examen sous lumière UV, révèle une fluorescence bleue pour les saponosides triterpéniques et jaune pour les stéroïdiques. [22]

Dans l'industrie, plusieurs méthodes de dosages sont utilisées, notamment, une gravimétrie réalisée par précipitation des sapogénines après hydrolyse et pesée du résidu. [22]

I .3.2.4. Propriétés physico-chimiques :

Les saponines se présentent comme des poudres blanches non cristallisées, ayant un goût et une odeur désagréable lorsqu'elles sont chauffées. Elles sont solubles dans les solvants polaires, et insolubles dans les solvants apolaires ou peu polaires. [37]

La propriété physique principale des saponines est de réduire fortement la tension superficielle de l'eau. Toutes les saponines sont fortement moussantes et constituent d'excellents émulsifiants. [38]

I .3.3. Huiles essentielles :

I .3.3.1. Définition:

Les huiles essentielles parfois appelées essences, sont des mélanges complexes de substances odorantes et volatiles. Elles sont obtenues par deux procédés, soit par distillation ou entraînement à la vapeur d'eau, ou plus rarement par expression des épicarpes de citron ou de l'orange. Pour améliorer la qualité aromatique des huiles essentielles, l'extraction se fait à basse température et pression. [22]

Les HE sont des liquides volatiles, réfringents, optiquement actifs, voisins des huiles, d'odeur tout a fait caractéristique. Elles se forment dans un grand nombre de plantes comme sous-produits du métabolisme secondaire. [39]

Ces produits odorants sont extraits par entraînement à la vapeur d'eau ou par pression (cas des agrumes). [40]

I .3.3.2.Classification:

Selon le pouvoir spécifique sur les germes microbiens et grâce à l'indice aromatique obtenu par des aromatogramme, les huiles essentielles sont classées en groupes : [41]

- Les huiles majeures.
- Les huiles médiums.
- Les huiles terrains.

I .3.3.3.Caractéristiques des huiles essentielles :

Les huiles essentielles aident à traiter les petites indispositions de la vie quotidienne. Outre leur action curative, elles opèrent de manière préventive en stimulant le système immunitaire afin que l'organisme lutte plus efficacement contre les infections bactériennes et virales. [42]

Parmi les propriétés les plus connues, on citera la propriété antiseptique. A l'heure où les germes microbiens deviennent de plus en plus résistants, ce qui implique pour l'industrie pharmaceutique de trouver des antibiotiques de plus en plus puissants (mais aussi de plus en plus destructeurs de la flore saprophyte responsable de notre immunité), les huiles essentielles offrent une véritable alternative. [42]

Leur efficacité se révèle en effet stable dans le temps et la preuve est faite tous les jours de leur grande efficacité, là où certains antibiotiques échouent désormais. [43]

I .3.3.4. Propriétés physiques :

Malgré leurs différences de constitution, les huiles essentielles possèdent en commun des propriétés physiques : [22]

- ce sont généralement des liquides à température ordinaire.
- leur volatilité les oppose aux 'huiles fixes.
- elles sont généralement incolores au jaune pâle, sauf quelque exception (huile d'Azulène, de couleur bleue).
- leur densité, le plus souvent est inférieure à celle de l'eau.
- elles possèdent un indice de réfraction souvent élevé et sont douées de pouvoir rotatoire.
- peu solubles dans l'eau, solubles dans les alcools de titre élevé, dans les huiles fixes (liposolubles) et dans les solvants organiques usuels.
- Elles sont altérables et très sensibles à l'oxydation. [44]

I .3.4. Les alcaloïdes :

I .3.4.1. Définition :

Les alcaloïdes sont produits dans les tissus en croissance : jeunes feuilles, jeunes racines. Puis, ils gagnent ensuite des lieux différents. Lors de ces transferts, ils peuvent subir des modifications. Ainsi, la nicotine, produite dans les racines, migre vers les feuilles où elle est diméthylée. Chez de nombreuses plantes, les alcaloïdes se localisent dans les pièces florales, les fruits ou les graines, ces substances sont trouvées concentrées dans les vacuoles. [45]

Les alcaloïdes constituent avec les hétérosides, la majorité des principes actifs des plantes médicinales. Leur extrême importance tient d'une part à leur activité et d'autre part à leur toxicité. Le terme Alcaloïde a été introduit en 1818 par W. Meissner ; il rappelle le caractère alcalin de ces substances, mettant à profit leur extraction et leur dosage. [22]

I .3.4.2. Structure des alcaloïdes :

La plupart des alcaloïdes sont dérivés d'acide aminés tels que le tryptophane, l'ornithine, la lysine, l'asparate, l'anthranilate, la phénylalanine et la tyrosine. Ces acides aminés sont décarboxylés en amines et couplées à d'autres squelettes carbonés. [46]

a-Les alcaloïdes vrais :

Les alcaloïdes vrais représentent le plus grand nombre d'alcaloïdes, sont toxiques et disposent d'un large spectre d'activités biologiques. Ils dérivent d'acides aminés et comportent un atome d'azote dans un système hétérocyclique. Ils sont présents dans les plantes, soit sous forme libre, soit sous forme de sel, soit comme N-Oxyde. [47]

b-Les pseudo-alcaloïdes :

Les pseudo-alcaloïdes présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés. [47]

Dans la majorité des cas connus, ce sont des dérivés d'isoprénoïdes (alcaloïdes terpéniques) et du métabolisme de l'acétate. [48]

c-Les proto-alcaloïdes :

Les proto-alcaloïdes sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un hétérocycle, ils ont un caractère basique et sont élaborés in vivo à partir d'acide aminé. Ils sont souvent appelés « amines biologiques » et sont soluble dans l'eau. [47]

En pratique, il est admis que ne sont pas des alcaloïdes : les amines simples, les bétalaïnes, les peptides, les acides aminés, les amino-sucres, les porphyrines, les alkylamines et les arylalkylamines. [48]

I .3.4.3. Propriétés des alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont caractérisés par une solubilité faible dans l'eau, facilement soluble dans l'alcool et peuvent donner des colorations spécifiques avec certains réactifs (réactifs de Mayer, de Dragendorff, de Wasicky, de Bouchardat). Ils exercent en générale de puissantes actions pharmacologiques.

Les alcaloïdes ayant des masses moléculaires très variables de 100 à 900 g/mol. La plupart des bases non oxygénées sont liquides à température ordinaire celles qui comportent dans leur formule de l'oxygène sont des solides cristallisables, rarement colorés. [48]

I .3.5. Les Terpénoïdes :

I .3.5.1. Définition : Le terme terpénoïde est attribué à tous les composés possédant une structure moléculaire construite d'un monomère à 5 carbones appelé isoprène, ces composés sont majoritairement d'origine végétale ou Synthétisés par les plantes, organismes marins, les champignons et même les animaux. [24]

Les isoprénoïdes sont des composés issus de la condensation d'unités de base à 5 carbones de type isoprène. On parle également de composés terpéniques ou monoterpène correspondant à des molécules à 10 carbones formées à partir de deux unités isoprènes. [49]

I .3.5.2. Structure des terpénoïdes[24] :

Les terpènes sont des composés 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 polyterpènes qui peut atteindre plus de 100 (le caoutchouc). La molécule de base des terpénoïdes est l'isoprène de formule C_5H_8 . Le terme terpénoïde désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, etc.).

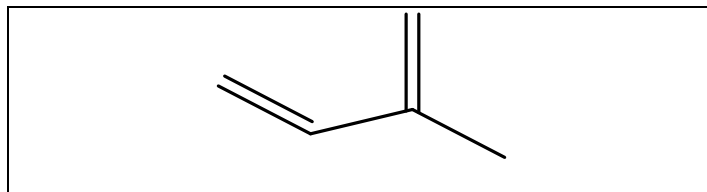


Figure.16 : structure d'isoprène.

I .3.5.3.Classification des terpenoïdes:

La classification des terpenoïdes est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène en donnant des hémiterpènes (C5), monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), sesterpènes (C25), triterpènes (C30), tetraterpènes (C40) et polyterpènes. [24]

Nom	N° unité 5xC	Exemple de molécule
HEMI -terpenes	1	Isoprène
MONO -terpenes	2	Aromes volatiles, parfums
SESQUI -terpenes	3	Phytoalexines
DI -terpenes	4	Phytole, giberellines, phytoalexines, molécules Avec action pharmacologique
TRI -terpenes	6	Brassinostéroïde, stéroïdes de membrane, certaines toxines
TETRA -terpenes	8	Caroténoïdes
POLY -terpenes	> 8	Plastoquinones, ubiquinones, polymère (latex)

Tableau .2: Différentes classes de terpenoïdes avec quelques exemples. [22]

I .2.6. Les stéroïds:

I .2.6.1. Définition :

Les stéroïdes ne sont pas des terpènes mais des composés de biodégradation de triterpènes. Ils constituent une classe de composés abondamment présents dans la nature (règne animal et végétal). [22]

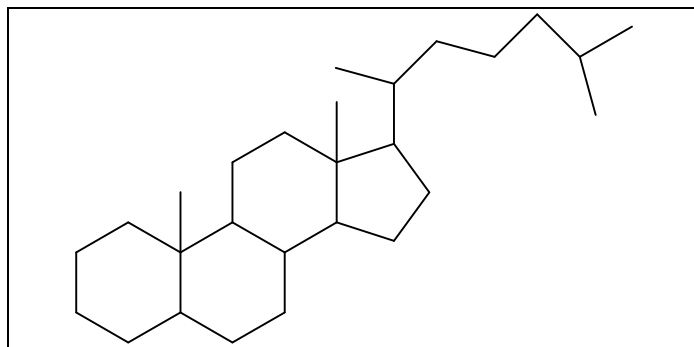


Figure .17: Structure des Stéroïdes.

Chapitre II:

Les Méthode D'extraction

II. Méthodes d'extraction:

II.1. Détection des Alcaloïdes:

A (0.1g) de la poudre végétale mise dans un erlenmeyer de 250 ml, on ajoute 10 ml de solution d'acide sulfurique dilué (10%).

Ce mélange est agité pendant 2 min. Après un filtrage sur papier filter du mélange, le filtrat est partagé dans des proportions égales dans deux tubes à essais étiquetés A, B.

L'un de tube A a esttraité par l'ajout de 2 gouttes du réactif de Dragendorff. L'apparition d'un précipité rouge indique la présence des alcaloïdes.

L'un de tube B a esttraité par l'ajout de 2 gouttes du réactif de Bouchard. L'apparition d'un précipité orange indique la présence des alcaloïdes. [1]

II.2 Détection des polyphénols:

A la poudre végétale (0. 2g) mise dans un tube à essai sont ajoutés 2 ml d'eau distillée et 6ml de l'acétone. Ce mélange est chauffé dans un bain-marie à température 60 C⁰, et macéré pendant 5 minutes et puis filtré. L'apparition d'un précipité noir-vert indique un test positif. [2]

II.3. Préparation des extraits éthanoliques et aqueux:

II.3.1. Extraction par macération à l'eau :(solution aqueuse)

Dans un Erlenmeyer de 250 ml sont introduits 25g de la poudre de matière végétale et 150 ml d'eau chaude (reflux pendant 1 h) [3]. (Photo 01)



Photo 01 : montage d'extraction par macération dans l'eau

II.3.1.1. Détection des Tanins :

Test n°1 :

Introduire de la poudre végétale (0.1 g) dans un erlenmeyer de 250 ml, et ajouter 4 à 5 ml de solution de réactif (BATE). Ce mélange est introduit dans un bain-marie, par la suite et macérer pendant 5 minutes à 65C⁰. L'apparition d'une couleur rouge indique un test positif. [4]

Test n°2 :

Dans un tube à essai sont introduits 1 ml de l'extrait, 2 ml d'eau et 2 à 3 gouttes de trichlorure de fer dilué (FeCl₃) (10%). L'apparition d'une couleur verte foncée ou bleue verte est un indicateur de présence des tanins. [5]

Test n°3 :

On ajoute de 0.1 ml d'une solution de chlorure ferrique (FeCl₃) (10%) sur 2 à 3 ml de l'extrait. L'obtention d'un surnageant de couleur verte-noire, indique la présence des tanins catéchiniques, et l'apparition d'une couleur bleue-noire, est caractéristique des tanins galliques.[6]

II.3.1.2. Détection des saponines :

Test n°1 :

Dans un Erlenmeyer de 250 ml introduire 0.4 g de poudre de la matière végétale et 200 ml de l'eau distillée. Ce mélange est chauffé et agité à 100 C⁰. Le mélange est filtré à chaud sur papier filtre et le filtrat est agité fortement 15 secondes. L'apparition d'une écume persistante 10 min ou d'une mousse indique l'existence des saponines.

Test n°2 :

Dans un tube à essai introduire 2 ml de l'extrait aqueu et 2 à 5 ml de l'eau distillée. Le mélange obtenu est agité fortement. L'observation d'une écume persistante 20 min ou d'une mousse indique qu'il y a des saponines dans l'extrait testé. [3]

Préparation de la poudre délipidée :

Dans un Erlenmeyer de 125 ml introduire 4 g de poudre de la matière végétale et 10 ml d'éther de pétrole. En suite, l'erlenmayer bien bouché est agité rigoureusement et puis laisser reposer quelques minutes. Le mélange ainsi obtenu est filtré sur Buchner. L'opération est reprise à nouveau avec 10 ml d'éther de pétrole, en suite, la poudre est filtrée et séchée complètement pour obtenir une poudre dite « délipidée ».

Solution à analyser : à 1,0 g de la poudre délipidée introduite dans un erlenmeyer de 250 ml ajouter 100 ml d'eau distillée. Le mélange ainsi obtenu est maintenu à ébullition pendant 30 mn. En fin, on filtre à chaud le décocté sur papier filtre plissé.

Caractérisation :

Dans une série de 11 tubes à essai numérotés de 1 à 11, introduire successivement 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5,..., 5 ml de décocté. Ajuster le volume de chaque tube sur 10 ml avec de l'eau distillée comme l'indique le tableau suivant :

Tableau 03: Préparation des dilutions pour mesurer l'indice de mousse

Tube N ^o	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Décocté (ml)	0	0.5	1	1.5	2	2.5	3	3.5	4	4.5	5
Eau (ml)	10	9.5	9	8.5	8	7.5	7	6.5	6	5.5	5

Boucher chaque tube à essai avec le doigt et agiter vigoureusement, de manière horizontale pendant 15 secondes environ et abandonner le tube sur son portoir.

Laisser reposer 10 min et mesurer la hauteur de la mousse.

- Si celle-ci est inférieure à 1 cm dans tous les tubes à essai, l'indice est moins de 100. La dilution dans le tube où la hauteur de la mousse est égale à 1 cm représente l'indice recherché.
- Si la hauteur de la mousse est supérieure à 1 cm dans les tubes à essai, dans ce cas il est nécessaire de préparer une nouvelle série de dilution de la décoction et recommencer le processus de détermination.

L'indice de mousse est calculé par la relation suivante : [7]

$$IM = \frac{1}{\frac{1}{100} \times \frac{VD}{10}}$$

Avec :

IM : Indice de Mousse ;

VD = Volume du décocté dans le tube qui a une hauteur de mousse égale à 1cm ;

1/100 : Concentration initiale du décocté.

10 : volume total dans chaque tube

Dans un tube à essai, nous avons introduit 1 ml du décocté (à 2 %) et 4 ml de l'eau distillée. Le mélange est agité ensuite, vigoureusement. L'observation s'il y a formation d'une mousse stable. [1]

II.3.1.3. Détection des Huile volatiles :

Test n°1 :

A 2 ml de l'extrait ajouter 0.1 ml d'une solution de la soude NaOH (10%) et quelques gouttes d'une solution de l'acide chlorhydrique (6N). Le mélange est agité par la suite. L'apparition d'un précipité blanc indique la présence des huiles volatiles. [8]

Test n°2 :

Placer 5 ml de l'extrait dans un tube à essai. Le couvrir avec un papier et le plonger dans un bain-marie pendant quelques minutes. Sécher dans l'étuve, Mettre les tâches sur un papier filtre et examiner sous la lumière ultraviolette 365 nm. La fluorescence des tâches grises confirme la présence des huiles volatiles. [9]

II.3.1.4. Détection des Coumarines :

Test :

Placer 5ml de l'extrait dans un tube à essai. Le couvrir par un papier imbibé d'une solution de NaOH (à 10 %), est chauffé les tube à essai au bain-marie jusqu'à ébullition. L'examiner sous la lumière ultraviolette a 365 nm. La fluorescence des tâches confirme la présence des coumarines. [10]

II.3.1.5. Détection de l'amidon :

Introduire 5 ml de l'extrait aqueu dans un tube à essai et ajouter 1 à 3 ml de réactif d'amidon. L'apparition d'une coloration bleue-violacée indique un test positif. [3]

II.3.2.Extraction par l'éthanol:

Protocole :

A une quantité de 25 g de la poudre de matière végétale prise dans un erlenmeyer, on ajoute 150 ml de méthanol. Après 1 heure de macération (reflux pendant 1h). Le mélange est filtré sur papier filtre. [3]



Photo 02 : montage d'extraction par macération dans l'éthanol

II.3.2.1. Détection des flavonoïdes :

Test n°1 :

A 5 ml de l'extrait pris dans un tube à essai, on ajoute 5ml de HCl (35-67%), 5ml de l'eau distillée et quelques copeaux de Mg. L'apparition d'une couleur rose-orange (flavones), rose -violacée (flavonones), ou rouge (flavonols) de la couche surnageant de l'alcool indique la présence de flavonoïde libres (génines), les colorations sont moins intenses pour les hétérosides flavoniques. La réaction est négative avec les chalcones, les dihydrochalcones, les catéchines et les isoflavones. [10]

Test n°2 :

A 1ml de l'extrait, on ajoute 2 grains de magnésium avec quelques gouttes de l'acide chlorhydrique (HCl 33%). L'apparition d'une couleur rouge-orangée indique la présence des flavonoïdes. [10]

Test n°3 :

Ajouter quelques gouttes d'une solution d'aluminium (à 1%) sur 1 ml de l'extrait. L'apparition d'une couleur

Test n°4 :

A 4 ml du filtrat on ajoute 1 ml de la solution d'ammoniaque diluée (1%). L'apparition d'une couleur jaune indique un test positif. [10]

Test n°5 :

A 2ml du filtrat on ajoute 0.5 ml de la solution NaOH diluée (1%) et 0.5 ml de la solution HCl diluée (10%). L'apparition d'une couleur jaune avec NaOH qui se décolore par l'addition de HCl diluée indique un test positif. [10]

Test n°6 :

Traiter 5 ml de l'extrait alcoolique avec quelques gouttes de HCl concentré et 0.5 g de magnésium (Mg). La présence des flavonoïdes est mise en évidence s'il y a apparition d'une coloration rose ou rouge qui se développe vers 3 minutes. [11]

II.3.2.2.Détection des Tanins :

A 1 ml de l'extrait, on ajoute 1 à 2 ml de l'eau distillée et 2 à 3 gouttes d'une solution diluée de l'éthanol de trichlorure de fer (FeCl_3). L'obtention d'un surnageant de couleur verte-noire indique qu'il s'agit des tanins catéchiques, et pour une couleur bleu-noire s'agira des tanins galliques. [3]

II.3.2.3.Détection des composés réducteurs :

Dans un tube à essai, ajouter 1ml de liqueur de Fehling (0,5 ml réactif A et 0,5 ml réactif B) à 1ml de l'extrait à analyser et incuber l'ensemble 8 min dans un bain-marie bouillant. L'apparition d'un précipité rouge-brique indique la présence des composés réducteurs. [12]

II.3.2.4.Détection des Coumarines :

A 25 ml de l'extrait, et ajouter 15 ml de HCl (10%). Porter à reflux pendant 30 min l'ensemble. Refroidir la solution obtenue et extraire 3 fois avec 15 ml de l'éther diéthylique. (Solution A)

Evaporer 5 ml de la solution(A), extractive étherique. Dissoudre le résidu dans 1 à 2 ml de l'eau chaude. Diviser le volume en deux parties. Prendre le demi-volume comme témoin et ajouter à l'autre 0.5 ml de NH_4OH (10%). Examiner sous la lumière UV. Une fluorescence intense indique la présence des coumarines. [3]

II.3.2.5.Détection des Anthocyanosides:

Doser la solution (A) avec une solution de NaOH (1%). La couleur du point de virage est fonction du pH :

- $\text{pH} < 3$, la solution prend une coloration rouge.
- $4 < \text{pH} < 6$, la solution prend une coloration bleue. [12]

La présence des anthocyanosides est confirmée.

II.3.2.6.Détection des Alcaloïdes :

A 20 ml de la solution alcoolique (l'extrait éthanoïque) ajouter 5 ml de HCl (10%) et chauffer dans un bain-marie. après le chauffage ajouter NaOH (10%) goutte à goutte jusqu'à PH=9, extraire avec l'éther diéthylique et concentrer à sec (solution B).

Les alcaloïdes sont caractérisés au moyen du réactif de Wagner. Dissoudre le résidu dans 0.5ml de HCl (2%), introduire 0.5 de cette solution et l'ajouter 2 à 3 gouttes du réactif de Wagner. L'apparition d'un précipité brun caractérise l'existence des alcaloïdes. [12]

II.3.2.7.Détection des stérols et tri-terpènes :(Réaction de Lieberman Burckhardt) :

Dans un bécher, introduire 5ml de l'extrait à analyser, l'ajouter 5ml de l'anhydride acétique, 5ml de chloroforme et 1 ml de l'acide sulfurique (H₂SO₄) concentré sur la paroi du bécher sans agiter. Laisser reposer 20 min. La formation d'un anneau rouge-brunâtre dans la zone du contact entre les deux liquides et une coloration violette de la couche surnageant révèlent la présence des stérols et de tri-terpènes. [12]

Chapitre III: Les Plantes Médicinales

III.1.Rosmarinus officinalis :

III.1.1.Définition :

Le Romarin est une plante aride et se trouve dans les 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. [1]

III.1.2.La famille des Rosmarinus Officinalis L :

Famille connue de puis l'oligocène, c'est l'une des familles les plus répandues dans le bassin méditerranéen, spécialement en Algérie. Elle comprend plus de 3300 espèces et environ 200 genres.[2]

La famille Labiacée est composée de plantes herbacées ou arbustes, très rarement arbres ou lianes. Elles ont des feuilles déguisées, sans stipules, les tiges souvent quadrangulaires inflorescences. Fleurs cinq mères en général hermaphrodite ; dite bilabiée. Fruits tétrachènères, rarement une drupe, presque toujours exalbuminée. [3]

III.1.3.Genre:

Le Romarin du latin *rosmarinus officinalis* «Rosée de la mère » Il comprends moins que la seule espèce lincène *rosmarinus officinalis linnaeus* même si celle-ci comprend un grand nombre de variétés [2,3], Le *rosmarinus. Lavendulaceus* est le plus reconnu en Algérie, en particulier. [4] Ses fleurs d'un bleu pâle, le plus souvent maculées intérieurement de violet, sont disposés en courtes grappes denses, à deux lèvres distinctes et deux étamines. [5]

III.1.4.Etymologie:

Le nom latin *rosmarinus* est habituellement interprété, comme dérivé "Ros" de la rosée et "Marinus" d'appartenir à la mer, bien qu'elle se développe habituellement loin de la mer. On a affirmé que cette interprétation est un produit d'étymologie traditionnelle, mais probablement le nom original est dérivé du grec "'Rhops" arbuste et "Myron" baume. [2]

.III.1.5.Caractéristiques botaniques:

Cette plante appartient à la famille des Labiées. Elle se présente sous forme d'arbuste, sous arbrisseau ou herbacée. [6]

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. [7,8]

- **Systématique de la plante [9] :**



Figure18 : Aspects morphologiques du *Rosmarinus Officinalis*.

Règne : Plantes

Embranchement : Spermaphytes

Classe : Dicotyledones

Ordre : Lamiales (Labiales)

Famille : Lamiaceae

Genre : *Rosmarinus*

Espèce : *Rosmarinus officinalis* L.

III.1.6.Habitat et culture :

Le romarin est cultivé en méditerranée ; dans des sols drainés, au soleil [10].

On le cultive du début du printemps, jusqu'à l'été [11], dans le monde entier à partir de semi ou de boutures au printemps. [12]

Originnaire des régions méditerranéennes, le romarin pousse spontanément dans le sud de l'Europe. Il apprécie les climats chauds ou modérément secs. Dans la région de Bechar, elle est assez répandue dans les montagnes Antar et Grouz. [12]

III.1.7. Propriétés du Romarin :

III.1.7.1. Activité antibactérienne :

Les effets des extraits aqueux et méthanoliques du Romarin, sur la croissance du *Streptococcus sobrinus* et sur l'activité extracellulaire de l'enzyme glucosyltransférase ont été étudiés par les résultats suggèrent que les extraits du Romarin peuvent empêcher la lésion de la carie en inhibant la croissance du *Streptococcus sobrinus* et peuvent aussi éliminer les plaques dentaires par suppression de l'activité de la glucosyltransférase. [13]

Les huiles essentielles de Romarin est riche en métabolites dotées d'activités diverses en tant qu'antifongiques [14-15], ovicides [16-17] et ainsi comme antioxydantes. [18-19]

III.1.8. Utilisation:

Le Romarin est souvent cultivé pour son l'huile essentielle. Dans la médecine traditionnelle ses parties aériennes sont utilisées par voie orale pour soulager la colique rénale, et comme antispasmodique. [20]

Egalement, Il est considéré utile pour contrôler l'érosion du sol. [21]

L'infusion des feuilles est tonique, antitussive, carminative, antiasthmatique, fébrifuge, et anti-paralytique. [22]

On le recommande dans les asthénies, les troubles du foie, contre les dyspepsies atoniques ainsi que contre les céphalées et les migraines d'origine nerveuse, les vertiges et les troubles de mémoire. [11]

III.1.9. Composition chimique:

III.1.9.1. HUILE ESSENTIELLE:

L'huile essentielle de Romarin est un liquide incolore ou jaunâtre dont l'odeur est fortement camphré, pénétrante de saveur très aromatique, Les sommités fleuries fournissent plus de 10 à 25 ml/Kg [23], Le type algérienne renferme plus que : [24]

- 0,74 % dans la plante sèche ;
- 0,1 % dans les feuilles ;
- 1,4 % dans les fleurs et rameaux.

Remarque : La teneur en huile essentielle dans le Romarin varie en fonction de l'origine géo-climatique de la plante. Plus de 50 composants mono-terpéniques rentrent dans la composition chimique d'huile essentielle de Romarin dont les constituants principaux sont. [24,25-27]

- Camphre (15-25 %)
- Pinène (19.6 %)
- Bornéol libre et estérifié (10.0 %)
- 8 Cinéol (15-50%)

- Limonène (3.6%)

Des chercheurs s'intéressent à l'étude de la composition structurale d'huile essentielle de Romarin ainsi que leur activité biologique (l'activité antimicrobienne et anti-oxydante), on cite: [10, 27, 28] L'écotype de Cevoli qui a été déterminé pour être le plus approprié à l'extraction de l'huile essentielle parce qu'il est caractérisé par une prépondérance de fleurs et de feuilles dans la partie apicale. L'écotype de Cevoli pourrait être classé comme chemotype de pinène, tandis que Lunigiana est un chemotype de 1.8 cinéole: [29]

III.1.9.2. Les terpénoïdes:

Le seco-Hinokiol (1), un nouveau diterpénoïde d'abietane, a été isolé à partir des feuilles du *R. Officinalis*. Sa structure a été élucidée sur la base de l'analyse spectroscopique étendue. C'est le quatrième rapport d'un seco-abietane (2) ayant été isolé. En outre, le carnosate méthylique (3) a été synthétisé de l'acide carnosique (4). [30]

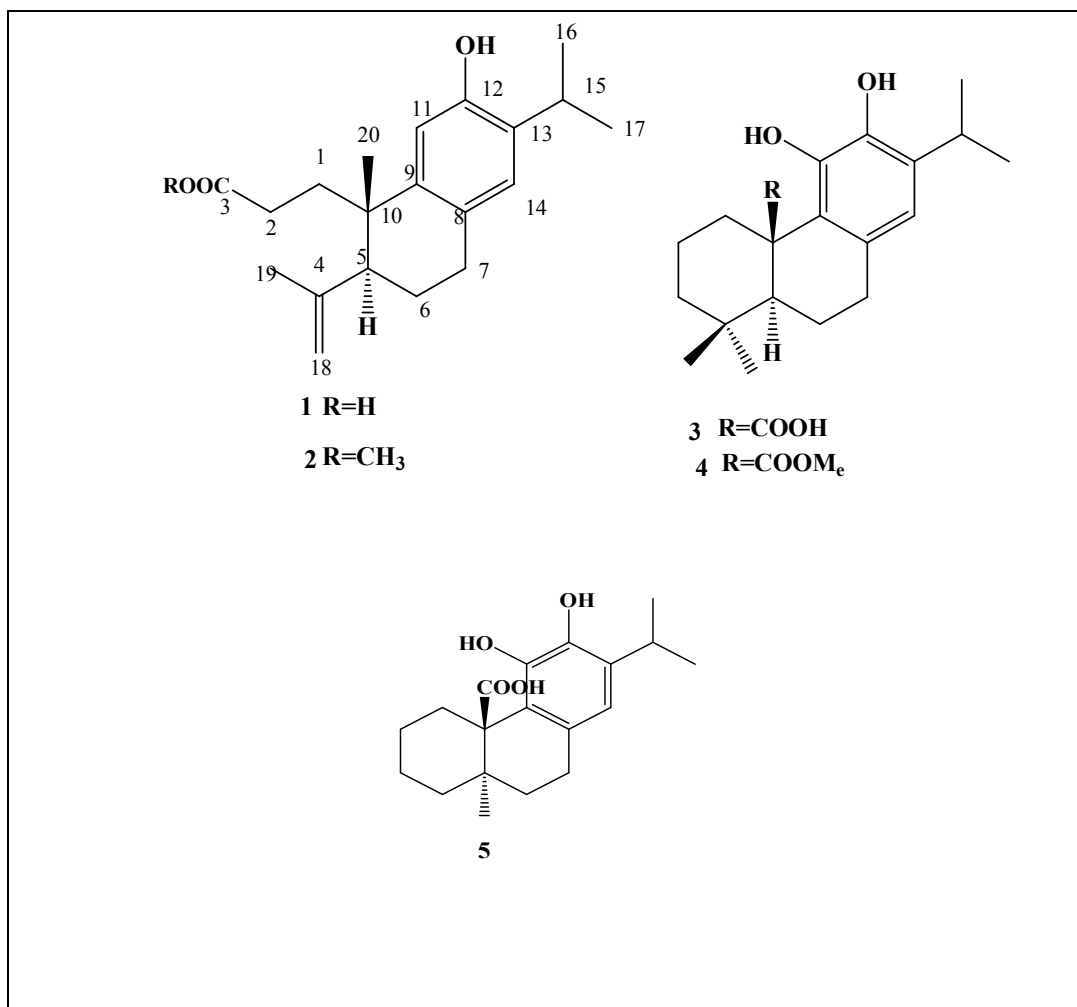


Figure 19: Les terpenoïdes dans *R.officinalis*

III.9.3.flavonoïdes:

Trois flavonoïdes glucuronides : lutéolin 3'-O-β-D-glucuronide (**6**), lutéolin 3'-O-(4''- O-acétyl)-β-D-glucuronide (**7**) et luteolin 3'-O-(3''-O-acétyl)-β-D-glucuronide (**8**) ont été isolées a partir de 50% de l'extrait aqueux méthanolique de *R.Officinalis*. [31] (fig.20)

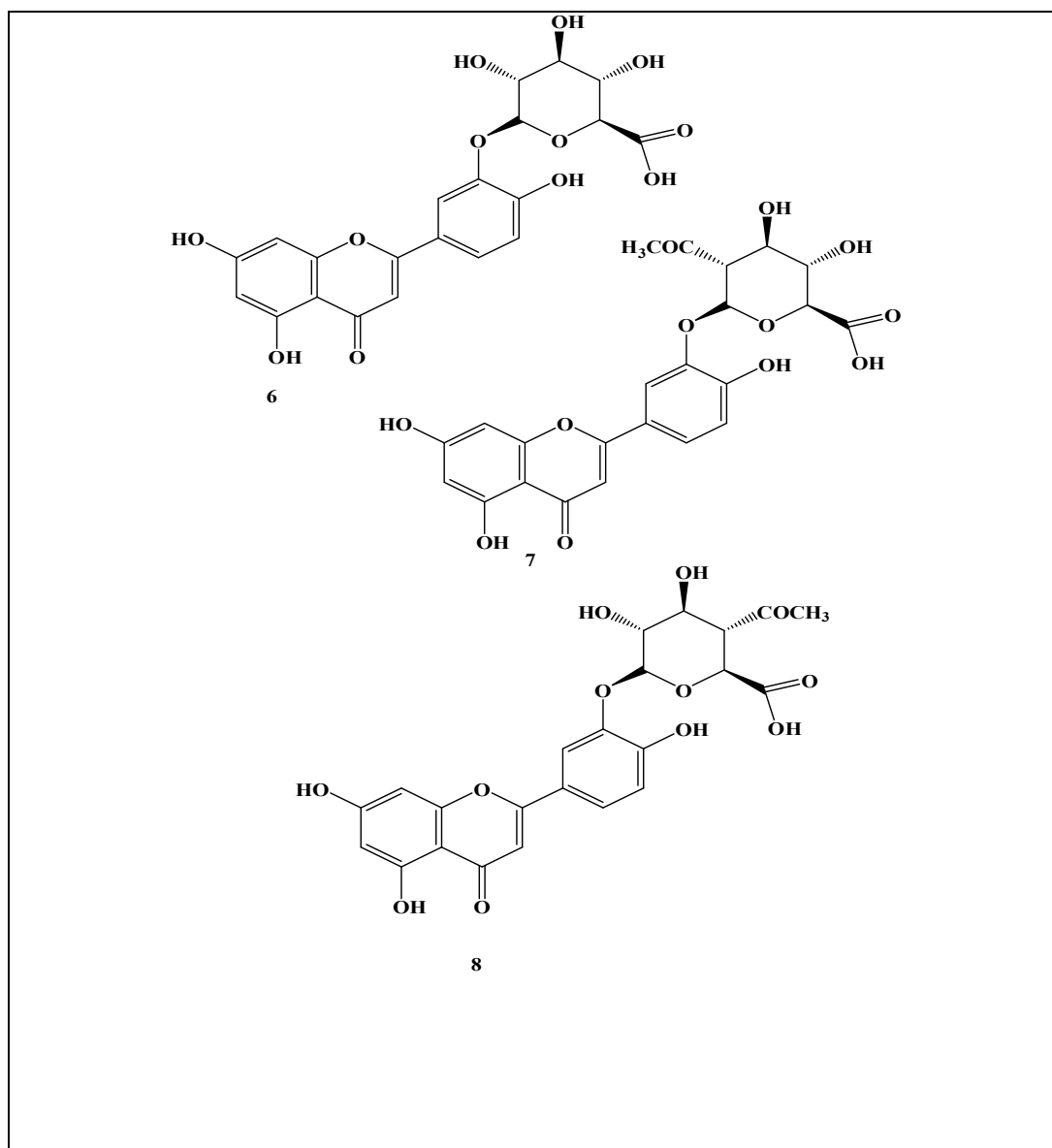


Figure 20: les flavonoïdes glucuronides

La distribution de six composés avec trois squelettes polyphénoliques différents ont été étudiés dans le *R. Officinalis*: diterpènes phénoliques (acide carnosique (**9**), carnosol (**10**) et acide 12-O-methylcarnosique (**11**), dérivés de cafféoyl (acide rosmarinique (**12**), et flavones (genkwanin (**13**) et isoscutellarein 7-O-glucoside (**14**), chacun montre un comportement caractéristique et une distribution pendant le cycle végétatif. L'acide rosmarinique a montré les concentrations les plus élevées de tous les polyphénols et dans tous les organes. La distribution de cet acide dans les

feuilles, les fleurs, et les tiges suggère que dans les premières phases de croissance de fleur, les niveaux sont dus à la biosynthèse in-situ, et aux dernières étapes, la contribution des phénomènes de transport a été augmentée. L'activité antioxydante de six extraits, avec une composition polyphénolique différente a été évaluée dans les systèmes aqueux et lipidique. Les résultats montrent que les extraits du *R. Officinalis* représentent une excellente activité antioxydante dans les deux systems. [32]

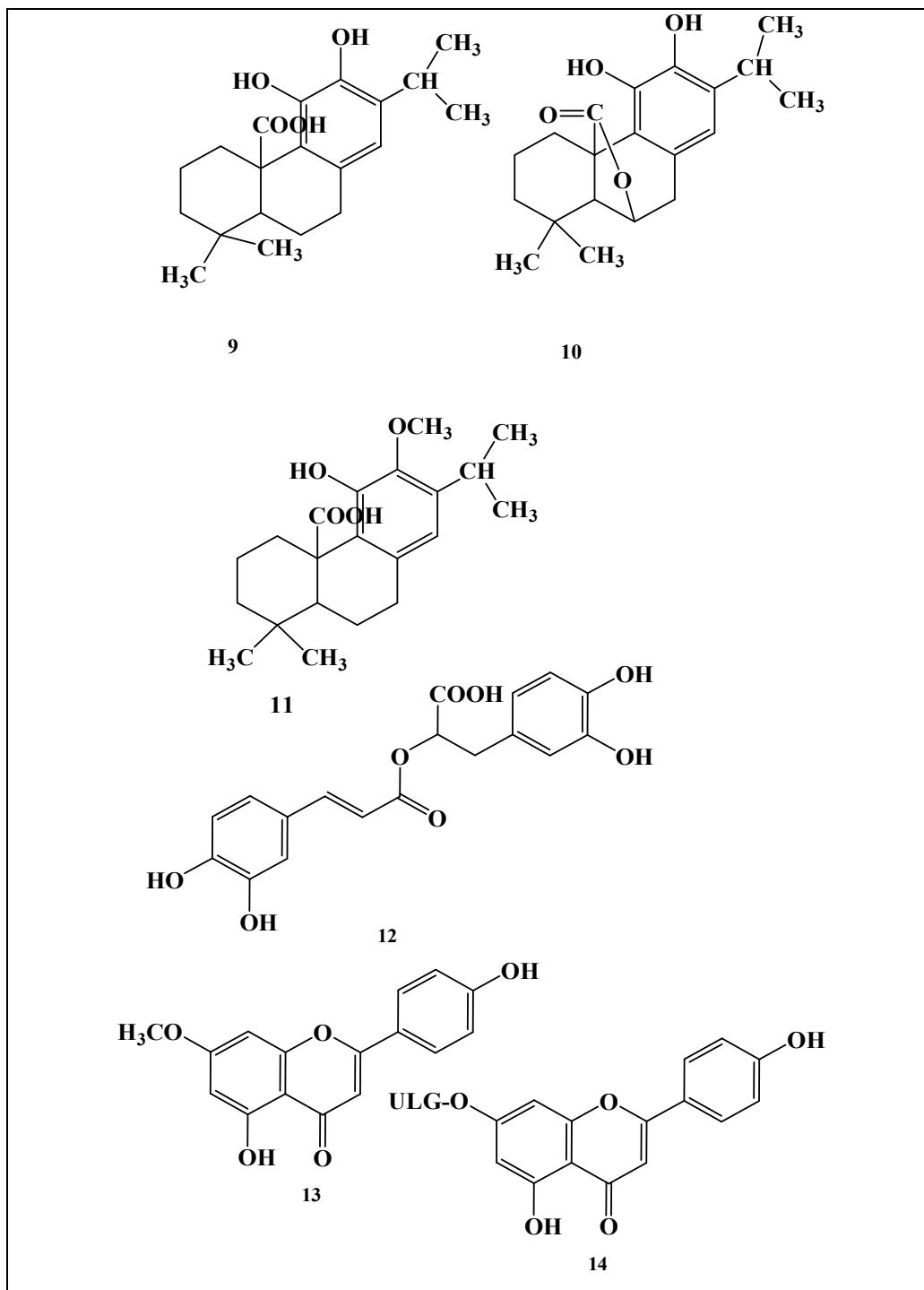


Figure 21: Squelettes polyphénoliques dans le *R. Officinalis*

III.1.9.4.Historique du romarin [33]:

Le romarin a fait l'objet de très nombreuses mentions historiques et légendaires. Les anciens lui vouaient une grande vénération. On s'en servait généralement dans toutes les fêtes, qu'il s'agisse de cérémonies nuptiales, funéraires ou de célébrations profanes. Les mariées portaient des couronnes de Romarin, symbole d'amour et de fidélité. Tandis que les invités recevaient des branches enjolivées de rubans de soie multicolores. On mettait aussi des brins de Romarin sous les oreillers pour chasser les mauvais esprits et les cauchemars.

Les Egyptiens plaçaient des rameaux de Romarin dans la tombe des pharaons afin de fortifier leur âme. Le Romarin est un symbole du souvenir et de l'amitié. Les étudiants grecs s'en confectionnaient des couronnes, qu'ils portaient durant les examens pour stimuler leur mémoire. Durant les épidémies de peste, le Romarin était très populaire : on en faisait brûler des rameaux pour purifier l'air et on portait des sachets sur soi, que l'on respirait lorsqu'on passait dans les endroits touchés par cette maladie. L'histoire veut aussi que la reine de Hongrie, qui souffrait de rhumatismes chroniques, ait été délivrée de ses problèmes grâce à un remède à base de Romarin lorsqu'elle était âgée de 72 ans. Dans certaines régions rurales, on fait tremper de Romarin dans du vin rouge pour obtenir une boisson fortifiante. On utilise aussi le romarin sous forme d'extrait à base d'alcool pour les plaies et sous forme d'onguent ou de baume pour soulager les rhumatismes et les névralgies, tant chez les humains que chez les animaux.

L'huile essentielle de romarin est largement utilisée comme composant aromatique dans l'industrie des cosmétiques (savons, parfums, crèmes, etc.), mais aussi dans l'industrie alimentaire (boissons alcoolisées, dessert, bonbons, conservation des lipides, etc.).

III.2.Marrubium vulgare:

III.2.1.Definition:

Le Marrubium vulgare est une plante herbacée du genre Marrubium, de la famille des Lamiaceae originaire d'Europe, d'Afrique du Nord et d'Asie, que l'on trouve surtout sur les bords de chemins, les prés secs et les terrains vagues, son odeur de thym la distinguant des autres plantes.

C'est une plante pérenne de couleur grisonnante ressemblant légèrement à la menthe, et qui peut atteindre 25 à 45 cm de hauteur. Ses feuilles duveteuses ont une longueur de 2 à 5 cm et un aspect froissé. Les fleurs sont blanches et comme beaucoup d'autres Lamiacées, le marrube a une tige carrée. [34]

III.2.2.La Famille des marrubiim vulgare:

La famille des marrubiim vulgare est composée de près de 258 genres et 6970 espèces d'herbes, d'arbustes et d'arbres, à tige quadrangulaire et à inflorescences verticillées. Les feuilles sont généralement opposées ou verticillées, simples ou très rarement pennatiséquées ; il n'y a pas de stipule. Les fleurs sont bisexuées et zygomorphes, les inflorescences sont en cymes bipares puis unipares (Par manque de place). Le calice est synsépale, typiquement 5-mère, parfois bilabié et porte 5 à 15 nervures protubérantes. La corolle est sympétale et typiquement bilabée, avec deux lobes formant une lèvre supérieure et trois lobes formant la lèvre inférieure. L'androcée peut consister soit en quatre étamines didynames, soit en seulement deux étamines soudées au tube de la corolle ou à la zone périgyne et alternant avec les lobes. [10,35]

III.2.3.Genre Marrubium:

III.2.3.1.Aspect botanique:

Le genre *Marrubium* comporte quelques 40 espèces, répandues principalement le long de la méditerranée, les zones tempérées du continent eurasiatique et quelques pays d'Amérique Latine. [36,37] Le genre *Marrubium* est muni d'un calice à 10 dents, dont les 5 commissurales plus courtes, toutes terminées en pointe épineuse. C'est un Arbuste à tiges et face inférieure des feuilles blanches tomenteuses. Les inflorescences sont en glomérules verticillés. Les bractées sont linéaires aigues. Les fleurs sont blanches. En Algérie, on retrouve 6 espèces différentes au sein de ce même genre : *Marrubium vulgare*, *Marrubium supinum*, *Marrubium peregrinum*, *Marrubium alysson*, *Marrubium alyssoides* Pomel et *Marrubium deserti* de Noé. [10]

III.2.3.2.Aspect phytochimique:

Les études phytochimiques effectuées sur le genre *Marrubium*. [38] Au regard des données bibliographiques ont permis d'isoler un grand nombre de métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les sesquiterpènes, les diterpènes, les triterpènes et les tanins.

III.2.4.Espèce Marrubium vulgare:

Le Marrube vulgaire [synonyme : *Marrubium album* (Cariot et Saintlorge)] est une plante, d'aspect blanchâtre à odeur forte et désagréable, de 30 à 80cm de hauteur. Ses fleurs blanches, relativement petites, apparaissent du mois de Mai jusqu'au mois de Septembre, et parfois encore en hiver. Les feuilles ont toutes un pétiole. [39,40] Ce dernier est très allongé chez les feuilles inférieures, au contraire très court et bordé par deux prolongements du limbe chez les feuilles supérieures. Le limbe est fortement ridé en réseau, irrégulièrement crénelé, à contour largement ovale ou arrondi, se rétrécissant en coin à sa base, velues cotonneux et blanchâtre sur la face inférieure, poilue mais verte (rarement blanchâtre) sur la face supérieure. L'inflorescence est allongée et formée de groupes successifs renfermant chacun de nombreuses fleurs. Les petites bractées qui accompagnent les

fleurs sont très étroites et crochues dans leurs parties supérieures. Le calice est velu-cotonneux, avec un anneau de poils vers l'intérieur en haut du tube du calice, il est terminé par 6 à 10 dents crochues. La corolle, couverte de petits poils à l'extérieur, présente un tube courbé, resserré, vers le milieu et ayant, à ce niveau, à l'intérieur, un anneau de poils, qui est disposé transversalement. La lèvre supérieure est dressée en deux lobes obtus à leur sommet. Le lobe médian de la lèvre inférieure est de contour arrondi et crénelé à son sommet. Les nectaires forment 4 lobes alternant avec les 4 parties de l'ovaire, qui sont aiguës à leur sommet dont l'antérieur est un peu plus large que les autres.

C'est une plante vivace, à tiges épaisses, cotonneuses, très feuillées, qui se perpétue et se multiplie par des bourgeons nés sur la tige souterraine. [39]

III.2.5. Description botanique:

Le marrube est une plante herbacée, couverte d'un duvet blanc, à tiges dressées, portant souvent de nombreuses pousses courtes et stériles, de 40 à 60 cm de long. Les feuilles sont ovales, arrondies, souvent un peu cordées à la base, feutrées à la face intérieure. Il possède de petites fleurs blanches de 12 à 15 mm de long, une corolle à deux lèvres dont l'inférieure est trilobée et la supérieure dilobée ainsi qu'un calice à 10 dents courtes et crochues. [40]

- **Systématique de la plante :**



Figure 22 : Aspects morphologiques du Marrubium vulgare.[41]

Règne : Plantes	Sous-règne : Tracheobionta
Division: Magnoliophyta	Classe : Magnoliopsida
Sous-classe : Asteridae	Ordre : Lamiales
Famille : Lamiaceae	Genre : Marrubium
Espèce : M. vulgare	Nom binomial : Marrubium vulgare
Nom vernaculaire algérien : Meriwet ; Français : Marrube blanc. [42]	

III.2.6.Utilisations de la plante:

Le marrube blanc est très utilisé en médecine traditionnelle comme expectorant, antispasmodique, diurétique et en cas d'infections respiratoires. Il est aussi employé pour combattre la cellulite et l'obésité. Plusieurs de ces utilisations traditionnelles ont été confirmés par des essais scientifiques ; le marrube blanc est également considéré comme antidiabétique. [42]

Selon les populations anciennes, le Marrube aurait une action hypoglycémiant.[43,44] Cependant, les résultats d'un essai conduit récemment au Mexique sur 43 sujets diabétiques qui résistaient au traitement classique révèlent que le Marrube n'a pas eu d'effet significatif sur la glycémie. [45]

La prudence s'impose tout de même pour l'heure. Il n'y a pas eu sur le Marrube d'essais cliniques en double aveugle. Ses usages sont des usages traditionnels bien établis et des études pharmacologiques sur l'animal.

Les feuilles sont utilisées dans des toniques, liqueurs, bières, bonbons expectorants et antiseptiques contre la toux. [46]

L'infusion, digestive, laxative, relâche les muscles, contribue à l'expulsion du mucus et combat bronchite, croup et asthme. Tonique du foie. Détruit les vers intestinaux.

En usage externe et interne contre eczéma et zona. Action sédative permettant de réguler tachycardie et arythmie cardiaque.

L'infusion chaude aide à faire tomber la fièvre, lorsque la quinine est inefficace, elle est proposée contre la malaria. [46]

III.2.7.Localisation et répartition:

Elle pousse dans toute l'Afrique du Nord et presque dans toute l'Europe, au centre et au Sud ouest de l'Asie et au Canaries. Elle est naturalisée dans l'Amérique du Nord et dans l'Amérique du Sud.[47]

III.2.8.Composition chimique:

On y trouve des diterpènes amers de la série des furanolabdanes et surtout des composés de lactones : marrubiine principalement et son précurseur préfuranique, la prémarrubiine, mais aussi du pérégrinol, du vulgarol, du marrubénol et du marrubiol.

Il y a également des Hétérosides flavoniques du quercétol, de la lurtéoline ou de l'apigénine, mais aussi des lactoylflavones, et quelques dérivés de l'acide ursolique.

En outre il y a des tanins spécifiques des Lamiacées et dérivés de l'acide hydroxycinnamique (juste à 7%) (Acide chlorogénique, caféique, caféylquinique, mais absence d'acide rosmarinique).

Toutefois la présence d'une faible quantité d'huiles essentielles comportant différents composés monoterpéniques (moins de 1% : α -pinène, camphène, limonène). [48]

Le Marrube contient aussi un certain taux de choline, un peu d'huile essentielle, des flavonoïdes, des diterpènes, du tanin, des mucilages, des résines, beaucoup de fer. Le principe actif est une substance amère, la marrubiine. [46]

- **Huile essentielle de Marrubium vulgare :**

Caractéristiques organoleptiques [46]:

Les parties utilisées pour extraire l'huile essentielle sont les sommités fleuries et les feuilles. L'huile essentielle de Marrubium vulgare est d'une odeur forte et fétide avec une saveur aromatique, amère et âcre . Connue depuis la plus haute antiquité, les égyptiens l'utilisèrent, comme principal ingrédient, dans un antidote des poisons végétaux. Elle était déjà considérée comme le spécifique des affections de l'appareil respiratoire dans l'Égypte et la Grèce anciennes. Le Moyen Âge, qui l'employait couramment dans le traitement des mêmes maux, l'a de surcroît reconnue tonique, c. Elle est considérée par J.-E. Gilibert (1798) comme ' l'une des meilleures plantes d'Europe ».

Deuxième partie

Partie expérimentale

Chapitre IV:

Partie Experimentale

IV.1. Matériel utilisé :

IV.1.1. Matériel végétal :

IV.1.1.1. Marrubium vulgare :

Le matériel végétal utilisé dans cette étude expérimentale est une espèce végétale appartenant à la famille des Lamiacées dite Marrubium Vulgare, sa taxonomie et toutes ses données correspondant ont été détaillées ci-dessus.

L'organe végétal choisi pour faire l'extraction, dans cette étude, est la feuille puisque c'est à son niveau que se trouve la majorité des principales substances actives, en d'autre terme, c'est le lieu de synthèse et de la mise en réserve temporaire des principaux composés du métabolisme primaire et secondaire

IV.1.1.2. Rosmarinus officinalis :

Les feuilles du romarin ont été cueillies en mois d'avril 2015 après séchage à température ambiante et à l'abri de la lumière solaire, afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules.

IV.1.2. Mode de préparation des échantillons :

Les plantes récoltées sont séchées à l'air libre, à l'ombre et à l'ambiante pendant plusieurs jours. La première étape dans la préparation des extraits végétaux est de broyer la matière végétale jusqu'à l'obtention de 50 g.

IV.1.3. Matériels :

Tableau (4): Les Matériel utilisé

Balance analytique (FA2004N)	Béchers
Spatule.	Pipettes
Erlenmeyer	Plaque chauffante
Fioles	Cristallisoir
Bain-marie	Papiers filtre
Réfrigérant.	Barreau magnétique
Ampoule à décanter	l'étuve
Tubes à essais	Verre de montre.
Eprouvette graduées	

IV.1.4.Produits chimiques :

Tableau (5) : Les Produits chimiques

Nom	Formule	Pureté
Acide hydrochlorique	HCl	33%
Chlorure d'aluminium	AlCl ₃	98%
TriChlorure de fer	FeCl ₃	98%
Magnésium	Mg	/
Hydroxyde de sodium	NaOH	99%
Acide sulfurique	H ₂ SO ₄	95-97%
Butanol	n-But	99%
Ethanol	EtOH	96%
Diode	I ₂	99.5%
Eau distillée	H ₂ O	100%
Réactif de Dragendorff	/	/
Fehling A	/	/
Fehling B	/	/
Iodure de potassium	KI	/
Acétate de plomb	(CH ₃ CO ₂) ₂ Pb	/
Ammoniaque	NH ₄ OH	/
Acétone	(CH ₃) ₂ CO	99%
Ether de pétrole.	CH ₃ -(CH ₂) _n -CH ₃	40- 60%

- AlCl₃ 1% : dissolution de 0.1g d'AlCl₃ dans 10 ml de l'éthanol.
- HCl Diluée : dissolution de 1ml de HCl dans 2 ml de l'eau distillée.
- NaOH Diluée : dissolution de 0.5 g de NaOH dans 5 ml de l'eau distillée.

IV.1.5.Résultats des tests phytochimiques:

IV.1.5.1.L'extraction par l'eau :

- **Test d'Alcaloïdes :**

Tableau (6) : Résultats obtenus pour les alcaloïdes extrait de Marrubium vulgare et de Rosmarinus Officinalis

Test	Type de l'extrait	
	Marrubium vulgare	Rosmarinus Officinalis
Test 01	-	++
	Aucun précipité	Précipité orange
Test 02	-	++
	Aucun précipité	Précipité brun

Réaction positive : + ; Réaction négative : - ; Réaction franchement positive : +++ ; Réaction moyennement positive: ++

D'après le tableau (6), on peut remarquer aisément que les alcaloïdes se retrouvent dans l'extrait de Rosmarinus Officinalis. Par contre, dans l'extrait de Marrubium vulgare il y'a plus rien d'alcaloïdes.

- **Test de polyphénols:**

Tableau (7) : Résultats correspondant à la recherche de polyphénols de l'extrait de Marrubium vulgare et de Rosmarinus Officinalis.

Test	Type de l'extrait	
	<i>Rosmarinus officinalis</i>	<i>Marrubium vulgare</i>
Résultat	+++	+++

Réaction positive : + ; Réaction négative : - ; Réaction franchement positive : +++ ; Réaction moyennement positive : ++

Les résultats correspondant à la recherche de polyphénols de l'extrait de Marrubium vulgare et de Rosmarinus Officinalis sont rassemblés dans le tableau (7). Ils révèlent bien la richesse des deux plantes étudiées en polyphénols.

- **Tests des Tanins :**

Tableau (8) : Résultats correspondant à la recherche des Tanins dans l'extrait de *Marrubium vulgare* et de *Rosmarinus Officinalis*.



Les Tests	Les extraits	
	<i>Marrubium vulgare</i>	<i>Rosmarinus officinalis</i>
Test 01	-	-
	vert	Vert
Test 02	-	+
	Jaune	Vert noire
Test 03	++	++
	Bleu noire	Vert noire



Réaction positive : + ; Réaction négative : - ; Réaction franchement positive : +++ ; Réaction moyennement positive: ++

Le tableau (8) montre clairement la présence des tanins dans les deux extraits à la fois de *Rosmarinus Officinalis* et de *Marrubium vulgare*. Bien que le taux de richesse est peu différent dans l'extrait de *Rosmarinus Officinalis*, le taux est un peu élevé par rapport à celui de l'extrait de *Marrubium vulgare* (taux des tanins n'est pas notable).

- **Test des saponines :**

Tableau (9) : Résultats et photos correspondant à la recherche des saponines dans l'extrait de *Marrubium vulgare* et de *Rosmarinus Officinalis*.

Test	Type de l'extrait	
	<i>Marrubium vulgare</i>	<i>Rosmarinus officinalis</i>
Test 01		
Résultat	+	+

Test 02		
Résultat	+++	+++

Vu les résultats figurants dans le tableau (9), on observe bien la présence simultanée des saponines dans les deux extraits.

Tableau (10) : Résultat obtenu correspondant à l'indice de mousse.

Plante	Tube n ^o	Hauteur de mousse après 5min (cm)	Indice de mousse
Rosmarinus Officinalis	9	1.2	250
Marrubium vulgare	10	1	222.22

Après 5 minutes on observe que pour:

- *Rosmarinus Officinalis*: hauteur de mousse est de 1.2 cm, c.à.d le test est positif.
- *Marrubium vulgare*: hauteur de mousse est de 1cm, c.à.d le test est positif.

• **Test des huiles volatiles :**

Dans le tableau suivant, sont rassemblés les résultats obtenus correspondant à la recherche des huiles volatiles.

Tableau (11) : Résultats correspondant à la recherche des huiles volatiles de l'extrait de Marrubium vulgar et de Rosmarinus Officinalis.

Test	Type de l'extrait	
	Marrubium vulgare	Rosmarinuse officinalis
Résultat Test n°1	Brun	Rouge
	-	-
Résultat Test n°2	Taches grises	Taches grises
	+	++

Réaction positive : + ; Réaction négative : - ; Réaction franchement positive : +++ ; Réaction moyennement positive: ++

A la recherche des huiles volatiles dans l'extrait de Marrubium vulgare par le test n°1 le résultat est négatif, et positif en utilisant le test n°2. Alors pour l'extrait de Rosmarinus officinalis le test n°1 donne un résultat négatif et très positif au moyen du test n°2.

Test de coumarines :

Dans le tableau qui suit, sont rassemblés les résultats obtenus correspondant à la recherche des coumarines.

(12): Résultats correspondant à la recherche des coumarines dans l'extrait de Marrubium vulgare et de Rosmarinus Officinalis.

	Type de l'extrait	
	<i>Marrubium vulgare</i>	<i>Rosmarinus officinalis</i>
Résultat	++	++

Réaction positive : + ; Réaction négative : - ; Réaction franchement positive : +++ ; Réaction moyennement positive: ++

Les résultats reportés dans le tableau (12) correspondant au test des coumarines. Il montre une richesse notable dans les deux l'extrait.

- **Test de l'amidon :**

Tableau (13): Résultats correspondant à la recherche de l'amidon dans l'extrait de Marrubium vulgare et de Rosmarinus Officinalis.

	Type de l'extrait	
	<i>Marrubium vulgare</i>	<i>Rosmarinus officinalis</i>
Résultat	rouge	rouge
	-	-

Réaction positive : + ; Réaction négative : - ; Réaction franchement positive : +++ ; Réaction moyennement positive: ++

La recherche de l'amidon est négative dans les deux extraits ; que ce soit du Marrubium vulgare ou du Rosmarinus Officinalis.

IV.1.5.2. L'extraction par l'éthanol :

- **Test de flavonoïdes :**

Les résultats correspondant à la recherche de flavonoïdes selon les tests susmentionnés sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau (14) : Résultats de recherche des flavonoïdes dans l'extrait de *Marrubium vulgare* et de *Rosmarinus Officinalis*.

Test	Type de l'extrait	
	<i>Marrubium vulgare</i>	<i>Rosmarinus Officinalis</i>
Test 01	-	+
	Vert foncée	Orange claire
Test02	+	-
	Orange clair	Jaune
Test 03	-	+++
	Vert foncée	Jaune
Test 04	-	+
	Vert claire	Jaune claire
Test 05	-	++
	Vert claire	Jaune
Test 06	-	+++
	Vert	Rouge

Réaction positive : + ; Réaction négative : - ; Réaction franchement positive : +++ ; Réaction moyennement positive: ++

D'après les tests phytochimiques effectués (tableau (14)), on peut conclure facilement que la présence de flavonoïdes est beaucoup plus remarquable dans l'extrait de *Rosmarinus Officinalis* que dans l'extrait de *Marrubium vulgare*. Nous résumons enfin les résultats comme suit :

- **l'extrait de *Marrubium vulgare*:**

Le résultat correspondant à la recherche des flavonoïdes avec les tests numérotés en 1, 3, 4, 5 et 6 est négatif ;

Le résultat correspondant à la recherche des flavonoïdes avec le test n°2 est positif.

- **l'extrait de *Rosmarinus Officinalis* :**

Le résultat correspondant à la recherche des flavonoïdes avec le test n°2 est négatif ;

Le résultat correspondant à la recherche des flavonoïdes avec les tests numérotés en 1, 4 et 5 est positif et avec le test 3,6 était très positif.

- **Composition de *Marrubium vulgare*:**

La composition de l'extrait de *Marrubium vulgare* d'après les tests réalisés est comme indiqué dans le tableau suivant :

Tableau(15) : composition de *Marrubium vulgare*.

Composition	Résultat
Tanins	-
Composés réducteurs	-
coumarines	+
Terpènes et stérols	+
Alcaloïde	-
Anthocyanosides	-

Réaction positive : + ; Réaction négative : - ; Réaction franchement positive : +++ ; Réaction moyennement positive: ++

Les tests correspondant à la recherche des Terpènes et de Stérols étaient positifs. Par contre, pour les Tanins, composés réducteurs, coumarines, alcaloïdes et Antho -cyanosides étaient négatifs.

La composition de l'extrait de *Rosmarinus officinalis* d'après les tests réalisés est comme indiqué dans le tableau suivant :

- **Composition de Rosmarinus officinalis:**

Tableau (16): composition de **Rosmarinus officinalis**.

composition	Résultat
tanins	+
Composés réducteurs	-
coumarines	-
Terpènes et stérols	+
Alcaloïdes	+
Anthocyanosides	-

Réaction positive : + ; Réaction négative : - ; Réaction franchement positive : +++; Réaction moyennement positive: ++

Les tests correspondant à la recherche des Terpènes, Stérols, Tanin, alcaloïdes, Anthocyanosides étaient positifs et négatifs pour les composés réducteurs, coumarines.

Conclusion générale

Conclusion générale :

L'objectif principal de notre travail dans ce mémoire est l'étude phytochimique donc l'analyse qualitative de deux espèces dites : *Marrubium Vulgare*. L. et *Rosmarinus Officinalis*. L.

Le screening phytochimique a été effectué dans le but d'identifier qualitativement quelques métabolites secondaires tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les terpénoïdes, les coumarines, les tanins galliques et catéchiques, les composés réducteurs ...etc.

L'extraction de ces métabolites a été réalisée dans un mélange de solvants composé du méthanol et d'eau, avec un rapport bien déterminé.

Les résultats obtenus sont résumés comme suit:

- La *Rosmarinus Officinalis* : est riche en polyphénols, alcaloïdes, saponines ainsi que l'huile volatile, les coumarines et les flavonoïdes. Alors qu'elle est moyennement riche en tanins, terpènes et en stérols. Mais, elle est pauvre en terpénoïdes, les composés réducteurs, les anthocyanosides et l'amidon.
- la *Marrubium Vulgare* : est riche en polyphénols, saponines et en coumarines. Alors que l'existence de l'huile volatile, les terpènes, les stérols et les flavonoïdes n'est pas notable. Par contre, on peut constater l'absence des alcaloïdes, l'amidon et les anthocyanosides et même les composés réducteurs.
- Bien que ces résultats restent indicatifs, il faudra dans l'avenir, élargir cette étude sur d'autres conditions perfectibles, telle l'utilisation des techniques récentes performantes et d'appareillage plus sophistiqué.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques :

Chapiter I :

[1] **S. Derouazi, K. Chaoui**; Etude phytoscreening chimique et activité biologique de l'espèce végétale *Aristolochia longa L.* (Aristolochiaceae), Université de ziane achour Djelfa (2013); p121.

[2] Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des baies *Pistacia lentiscus*.Thèse Magister;universté Farhat Abbas–Setif (2010);p23.

[3] **A .ATTOU**; Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Ruta chalepensis* (Fidjel) de la région d'Ain Témouchent;Thèse de Magister;Université Abou Bekr Belkaid tlemcen;P119.

[4] **CUENDET M**, Recherche de nouveaux composés capteurs de radicaux libres et antioxydants à partir d'une plante d'Indonésie: « *Fagraea blumei* » (Loganiaceae) et de trois plantes d'altitude: « *Bartsia alpina* » (Scrophulariaceae), « *Loiseleuria procumbens* » (Ericaceae) et Camp, Thèse de doctorat (1999); p 24.

[5] **VERMERRIS W**, Phenolic compound biochemistry, Springer, Dordrecht. ISBN-10 1-4020 5163-8 (HB); (2006).

[6] **SARNI-MANCHADO P, VERONIQUE C.**, Les polyphénols en agroalimentaires. Collection sciences et techniques agroalimentaires, édition TEC et DOC, Paris (France): 398; (2006).

[7] **Beta, T; Nam, S; Dexter, J.E; Sapirstein, H.D.**.Phenolic content and antioxidant activity of pearled ulreat and roller – milled fractions, *Creal Chem*: 390 - 393;(2005).

[8] **I. BOUAKAZ**; Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala*. Thèse de magister, Université de Batna ;(2006).

[9] **HAVSTEEN, B.H.** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. Therapeut*;(2002); p96, 67– 202.

[10] **MEDIC SANIC M; JASPRICA I; SMOLCIC BUBALO A; ET MORNAR A.** Optimization of chromatographic conditions in thin layer chromatography of flavonoides and phenolic acids, *Croatica Chemica Acta*;(2004);p 361-366 .

[11] **S.FIORUCCI**; Activités biologiques de composés de la famille de flavonoïdes: approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire. Thèse de doctorat. Nice ;(2008); p 211.

[12] **W –Erdman J., Balentine J. D., Arab L., Beecher G., Dwyer J. T., Folts J., Harnly., Hollman J. P; L –Keen C; Mazza G; Messina M; Scalbert A ;Vita J;**

- Williamson G. et Burrowes J.** Flavonoids and heart health : Proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop, may 31-june 1, Washington. Journal of Nutrition., 137 (3 supp 1) : 718 s-737 s;(2005).
- [13] **Emerenciano V. P., Barbosa K. O., Scotti M. T. et Ferriro M. J. P.** Self organising maps in chemotaxonomic studies of Asteraceae : a classification of tribes using flavonoid data. Journal of brazilian chemical society. 18 (5): 891-899;(2007).
- [14] **Narayana K. R., Reddy M. S., Chaluvadi M. R. et Krishna D. R.** Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. Indian journal of pharmacology., 33 : 2-16;(2001).
- [15] **Malešev D. et Kuntić V.** Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. Journal of the Serbian chemical society. 72 (10) : 921-939; (2007).
- [16] **Dacosta, E.** Les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta (Ed). Paris;(2003);317p.
- [17] **BRUNETON.,** Pharmacognosie, phytochimie Plantes médicinales, technique et documentation, 2 ème édition. Lavoisier. Paris;(1993), p.266- 275.
- [18] **De Rijke, E., Out P., Niessen, W. M.A., Ariese, F., Gooijer, C., Brinkman, U.A.T.** Analytical separation and detection methods for flavonoids. J Chromatography A.1112; 31-63;(2006).
- [19] **A.Lhuillier** Contribution a l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia* Hook.f ex Oliver, *Agauria polyphylla* Baker (Ericaceae), *Tambourissa trichophylla* Baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* Baker (Myrsinaceae); Thèse de doctorat; Toulouse; (2007).
- [20] **H.Milane.** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques; Thèse de doctorat; Strasbourg;(2004).
- [21] **A. Marfak** Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de Leur reactivite avec les radicaux issus des Alcools: formation de depsides;Thèse de doctorat; Limoges ;(2003).
- [22] **K.BOUHADJERA** Contribution à l'etude chimique et biologique deux plant médicinales *Oudneya africana* R.Br. et *Aristida pungens* L.Thèse Doctorat . Université Abou Bekr Belkaid.149 p.
- [23] **L.HOFFMAN;** Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes;Thèse de doctorat. Strasbourg (2003) ;245p.

- [24] **N. BOUKRI** Contribution à l'étude phytochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras-el-hanout; these de Mastere; Université Kasdi Merbah Ouargla (2014) ; 99p.
- [25] **FORD R.A; HAWKINS D.R; MAYO B.C; API A.M.**, The in vitro dermal absorption and metabolism of coumarin by rats and by human volunteers under simulated conditions of use in fragrances. Food and Chemical Toxicology (2001); 39 p 153.
- [26] **Guignard, J.L.** Abrégé de botanique. Masson (Ed). Paris (1998) ; 212p.
- [27] **Deina, M., Rosa, A., Casu, V., Cottiglia, F., Bonsignore, L.** Natural product: their chemistry and biological significance. Journal of the American Oil Chemistry Society. 80:65-70;(2003).
- [28] **B. Harkati** valorisation et identification structurale des principes actifs de la plante de la famille Asteraceae : ScorzoneraUndulata;Thèse de doctorat Université Mentouri Constantine (2011).
- [29] **D.Hadj Salem;** Extraction, Identification, Caractérisation des activités biologiques de flavonoïdes des Nitraria Retusa et synthèse de dérivés acyles de ces molécules par voie enzymatique. Thèse doctorat (2009) ; 217p.
- [30] **Djemoui, D.** Contribution à l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne de quelques coumarines synthétisées. Mémoire Master Academique, Spécialité : Chimie Appliquée; (2012) ; 53p.
- [31] **W. Bouzid** Etude de l'Activité Biologique des Extraits du Fruit de *Crataegus monogyna* Jacq. Thèse de Magister En Biologie; Université -El Hadj Lakhder –Batna (2009);88p.
- [32] **PARIS M et HURABIELLE. 1981.** Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. Ed Masson. Paris.pp: 102-103-104-107
- [33] **S.SIDHARAN** et al. Extraction isolation and characterisation of bioactive compounds from plants extracts Afr J Tradit Complement Altem Med (2011) ; 8(1): 1-10.
- [34] **S.D. ZOUGHLACHE.** Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de *Zizyphus lotus* L ; thèse de Magister ; Université El hadj Lakhder Batna (2009) ; 91p.
- [35] **S.AMIOUR.** Etude quantitative des composés phenoliques des extraits de trois variétés de dattes (*Phoenix dactylifera* L.) et évaluation in vitro de leur activité biologique; thèse de Magister ; Université El Hadj Lakhder Batna (2009);160p.
- [36] **S.BRUNET.** Analyse des mécanismes d'action antiparasitaire de plantes riches en substances polyphénoliques sur les nématodes du tube digestifs des ruminants ; thèse de Doctorat ; Université Paul Sabatier (2008) ; 246p.

- [37] **S. Asjel** ; Etude Phytochimique et Biologique d'*Ammodaucus leucotrichus*.Thèse de magister. Université D'Oran ES-Senia (2008);142 p.
- [38] **S.Razika** ; Etude phytochimique, Extraction des produits actifs de la plante *Artemisia campestris* de la région de Djelfa. Mise en évidence de l'activité biologique. Thèse de Magister.
- [39] **Volák, J., et Stdola, J.**, « Plantes médicinales ». GRÜND, Paris, 1983.
- [40] **R. Khadija**; «Etude du mécanisme de l'action bactéricide de HE sur *Mycobacterium Phlei* et *Mycobacterium fortuitum* », Thèse de Doctorat ; Fès (2002).
- [41] **Z.FROUHAT;B. LAHCINI** ;Lutte biologique par l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* ,Thèse Master , Université KasdiMerbah Ouargla(2013) ; p72.
- [42] **JEAN BOTTON A**, Pharmacognosie « Photochimie plante « médicinales 3^{ème} éd TEC.DOC Paris(1999) ; P484-p540.
- [43] **ZABEIROU ; HACHIMOU**, Étude comparative entre les Huiles essentielles de la Menthe Verte (*Mentha Spicta L*) et de la Poivree (*Mentha Piperita L*) dans la région d'Ouargla ;Université de Kasdi Merbbah Ouargla(2005) ; p16
- [44] **Jacques G. Paltz s.a.** « *Le fascinant pouvoir des huiles essentielles* ». Fascicule du laboratoire "Jacque Paltz"(1997).
- [45] **Krief, S.** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, Thèse doctorat, muséum national d'histoire naturelle (2003); 32p.
- [46] **T. Cyril**;étude des métabolismes primaires et secondaires de racines transformées de *Catharanthus Roseusen*, vue du développement d'un modèle cinétique, université de Montréal(2001); 28p.
- [47] **M.Badiaga**; Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia Smith* une plante médicinale africaine récoltée au Mali, thèse de doctorat, université de Bamako(2011) ; 10 p.
- [48] **M. Rakotonanahary**; thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie diplôme d'état;université Joseph Fourier (2012) ; p28.
- [49] **F.Z.TAHRAOUI** .Contribution à l'étude phytochimique et activités antioxydante d'extraits de *Pituranthos scoparius* (Guezzah) par la méthode de réduction du fer : FRAP.

Chapiter II:

[1] action pharmacologique des tanins ; BIAYE Mamadou ;Pak.J.Nutr.,9 (6) :527-530 (2010) ,;528p.

[2] **K.N'GUESSAN, B.KADJA, N. ZIRIHI, D.TRAORÉ** et Laurent AKÉ-ASSI .Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire) ,Sciences & Nature Vol. 6 N°1: 1 - 15 (2009).

[3] **A. Abdelaoui; N.Makhlouf.**Etude de l'effet inhibiteur des polyphenols de miel sur la cristallisation oxalo calcique;Thèse Master .Universitie –Ziane Achour - Djelfa.

[4] estratto da FITOTERAPIA - Vol. XLVI - N. 4 – 1975; Recherches chimique spréliminaires sur les plantes médicinales du Congo Brazzaville; A. BOUQUET et A.FOURE (1975) .

[5] **K.BOUHADJERA** Contribution A L'etude Chimique et Biologique de deux Plantes Medicinales Sahariennes Oudneya africana R.Br. et Aristida pungens L.Thèse Doctorat. Université Abou Bekr Belkaid,149p.

[6] **N.BELKACEM** ; Contribution à l'étude des proprietes antidiabétiques de Punica granatum L. (grenadier) chez le rat diabétique; Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen (2009) ; P140.

[7] Travaux pratiques de pharmacognosie, les substances naturelles dans la chaine du Médicament(2010) ; 28-29p.

[8] **S. Derouazi, K. Chaoui;** Etude phytoscreening chimique et activité biologique de l'espèce végétale Aristolochia longa L. (Aristolochiaceae), Université de ziane achour Djelfa ,2013, p121

[9] **A.AMINA;** Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante Ruta chalepensis (Fidjel) de la région d'Ain Témouchent;Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen (2011) ;P119.

[10] **K.BOUDJELLAL,** Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de l'elaeagnus angustifolia L (2008) ; p30.

[11] **Harborne, J. B.** «Phytochemical methods », 2nd ed. Clarendon Press, Oxford, 179 (1987).

[12] **M. GACEM;** Contribution à l'étude de l'activité antifongique et antimycotoxinogène des extraits méthanolique et aqueux des graines de Citrullus

colocynthis sur la croissance de quelque moisissure d'altération de blé tendre stocké;Thèse de magister ;149p.

Chapiter III:

- [1] **Boullard, B**,Plantes médicinales du monde réalités et croyances. ESTEM (Ed) Paris ,2001 ,660 p.
- [2] **Jeun Brineton** ,pharmacognosie ,phytopcimie-plant medicinal.1999,3^{ème} edition.
- [3] **RR. Paris, H. moyse**, Matières médicales, Tome II, 2dition Masson, 1971, P 277.
- [4] **O.P.U. NT. WS. Benston**, Fleurs algeriennes; P 54.
- [5] **MED- CHECLIST**. Edition W.Greuter. H. M. Burdet ,Volume: 3 (1986) ,P 2316.
- [6] **S,ATHAMENA** ;Etude quantative des flavonide des grains de Cuminum cyminum et les feuilles de Rosmarinus officinalis et l'evaluationde l'activite biologique; thèse :Magister;Université El Hadj Lakhdar Batna (2009) ; P126.
- [7] **GONZELEZ-TRUJANO, M E. et al**, Evaluation of antinociceptive effect of Romarin offcinalis L.using three différent experimental models in modents .J theopharmacol. 111:476-482 (2007).
- [8] **Atik bekkara, F.**, Bousmaha, L., Taleb bendiab, S.A., Boti, J.B., Casanova J,Composition chimique de l'huile essentielle de Rosmarinus officinalis L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. Biologie & Santé. 7: 6 11(2007).
- [9] **Quezel, P., Santa, S.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. C.N.R.S. (Ed). Paris (1963) ; 565p.
- [10] **Aruoma, O I**, Free radicals, antioxidants and international nutrition. Asia Pacific J Clin Nutr. 8: 53-63 (1999).
- [11] **Poletti, A**,Fleurs et plantes médicinales. 2ème Edition. Delachaux & Niestlé (Ed). Paris (1988) ;222p.
- [12] **MAKHLOUFI .A.** Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar(Matricaria pubescens et Rosmarinus officinalis(L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru;Thèse Doctorat ; Université Abou Baker Belkaid ; 166p.
- [13] **Tsai et al** ,In vitro inhibitory effects of rosemary extracts on growth and glucosyltransférase activity of streptococcus sodrinus .Food chem. (in press) (2007).
- [14] **Rasooli, I, Fakoor, M.H, Yadegarinia, D, Gachkar, L, Allameh, A, Rezaei, M.B**,Antimycotoxigenic characteristics of Rosmarinus officinalis and Trachyspermum copticum L. essential oils. International J of Food Microbiology.122:135-139 (2008).
- [15] **SACCHETTI, et ses Collaborateurs** ,Growing in Argentina.Bioresource Technology . (In press) (2005).

- [16] **Gill J et al** ,Mosquito repellent activity of essential oils of aromatic plants (2007).
- [17] **PRAJAPATI et al** ,Insecticide, repellent (2005) .
- [18] **Nassu, R.T.**, Guaraldo Goncalves, L.A., Azevedo Pereira da Silva, M.A., Beserra, F.J,Oxidative stability of fermented goat meat sausage with different levels of natural antioxidant. Meat Science. 63: 43-49 (2003).
- [19] **WANG et al.**Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L.essential oil compared to its main components.Food Chem.108:1019-1022 (2008).
- [20] **Gonzalez-Trujano, M.E.**, Pena, E.I., Martinez, A.L., Moreno, J., Guevara-Fefer, P., Deciga- Campos, M., Lopez-Munoz, F.J,Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents. J Ethnopharmacol. 111: 476-482 (2007).
- [21] **HENRICH, et al** ,Ethnobotany and Flavonoids-potent and versatile (2006).
- [22] **Arnold, N;Valentini, G.**, Bellomaria, B., Laouer, H,Comparative study of the essential oils from *Rosmarinus eriocalyx* Jordan & Fourr. from Algeria and *R. officinalis* L. from other countries. J.essent.Oil Res. 9: 167-175 (1997).
- [23] **Jeun Brineton;** pharmacologie, phytochimie-plante medicinale; 2^{ème} édition (1992).
- [24] **boukhalfa;** Apport des Couplages CPG/MS et CPG/IR dans l'Analyse des Mélanges Naturels Complexes, exemple l'Huile Essentiel de Romarin, USTHB (1995).
- [25] **Albert.Y. Leung, Steven Foster**, Encyclopedia of Common Natural Ingredients Used In Foods, Drugs, And Cosmetics, 2ème édition, Awrley- interscience publication (1996) ; P 445.
- [26] **Deans et al**, Chemical Composition, Antibacterial, and Antioxidative Activity of Laurel, Sage,rosmary, Oregano and Coriander Essential Oils.J. Essent. Oil Res, 10(1998) ; P 618.
- [27] **RS Farag et al**, Activity antioxidant of Spice essential oils, JAOCS, vol66, n°6 (1989) ; P 792
- [28] **M.T. Baratte et al**, Antimicrobial and Antioxidant Properties of Essential Oils, Flavor Fragr, J, 13(1998) ; P 235.
- [29] **G.Flamini,P.L.Cioni,I.Morelli,M.Macchia et L.ceccarini.**J.Agric.Food Chem.vol.50.3517(2002).
- [30] **C.L.Cantrell,S.L.Rich heimer,G.M.Nicholas,B.K.Schmidt,et D.T.Bailey.**J.Nat prod vol 68,98-100 (2005).

- [31] **N.Okamura**,H.Haraguchi,K.Hashimoto,A.yagi.J.Phytochem.vol37,Issue5.1463-1466 (1994).
- [32] **M.J.Del Bano**,J.Lovente,J.Gastillo,O,Benavent-Garcia,J.A.Del Rio,A.O.Kartwerner Ouirin et D.Gerard.J.Agric.Food.Chem.vol 51.4247-4253(2003).
- [33] **A. MOSTEFAI**;Contribution à une étude morphométrique de *Rosmarinus officinalis* L (Lamiacées) dans la région de Tlemcen;these Master; Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen (2012) ;122p.
- [34] **Zeid Zarai**, et al. c properties of *Marrubium vulgare* L.essential oil grown in Tunisia ; *Lipids in Health and Disease*, 10:161(2011).
- [35] **Guignard J.L**, *Botanique systématique moléculaire*. Ed: Masson. Paris (2001),290 p.
- [36] **Rigano D., Apostolides A. N., Bruno M., Formisano C., Grassia A., Piacente S., Piozzi F., Senatore F.**, Phenolic compounds of *Marrubium globosum* ssp. *libanoticum* from Lebanon. *Biochemical Systematics and Ecology*. 34: 256-260 (2006).
- [37] **Meyre S.C., Yunes R.A, Schlemper V, Campos-Buzzi F, Cechinel-Filho V**, Analgesic potential of marrubiin derivatives, a bioactive diterpene present in *Marrubium vulgare* (Lamiaceae). *II Farmaco*. 60: 321–326 (2005).
- [38] **Ashkenazy D, Friedman J, Kashman Y**, The furocoumarin composition of *Pituranthos triradiatus*. *Journal of Medicinal Plant Research*, 47: 218-220 (1983).
- [39] **Kaabeche, M.** Les Groupements Végétaux de la région de Bousaada, Thesis Université Paris Sud (1990).
- [40] **Bellakhdar, J.** *Médecine Arabe Ancienne et Savoirs Populaires La pharmacopée marocainetraditionnelle*, ibis Press (1997).
- [41] Site web : www.Wikipedia
- [42] **BOUDJELAL Amel** Extraction, identification et détermination des activités biologiques de quelques extraits actifs de plantes spontanées (*Ajuga iva*, *Artemisia herba alba* et *Marrubium vulgare*) de la région de M'Sila, Algérie. Thèse de Doctorat ; Université Badji Mokhtar Annaba (2013);P 95.
- [43] **Roman R.R.**, Alarcon-Aguilar F., et al., Hypoglycemic effect of plants used in Mexico as antidiabetics. *Archives of Medical Research*. 23(1): 59-64 (1992).
- [44] **Novaes A.P.**, Rossi C., et al., Preliminary evaluation of the hypoglycemic effect of some Brazilian medicinal plants. *Thérapie*. 56(4) : 427-30 (2001).

- [45] **Herrera A.A.**, Aguilar S.L., et al., Clinical trial of *Cecropia obtusifolia* and *Marrubium vulgare* leaf extracts on blood glucose and serum lipids in type 2 diabetics. *Phytomedicine*. 11(8): 561-6 (2004).
- [46] **BENDRISS.H.** volarisation des extraits de plantes aromatiques et médicinales de: *Ruta Chalepesin* et *Marrubium vulgare*, Thèse Magister, Université Hassiba Ben Bou Ali Chlef ;P186 .
- [47] **Bonnier G**, *La Végétation de la France, Flore Complète*. Tome 09. Ed : Suisse et Belgique. Paris, pp.25-26 (1909).
- [48] **Wichtl M, Anton R**, *Plantes thérapeutiques : Traditions, Pratique officinale, Sciences et Thérapeutique*. 2e Ed : TEC & DOC. Paris. pp. 1-364 (2003) .

ANNEXE

ANNEXE:

- **Reactif Bouchard:**

2g I₂+2g KI dans 100ml l'eau distillée

- **Réactif de Wagner:** Dans 75 ml d'eau distillée dissoudre 29 de KI et 1.27g de I₂ le volume obtenu est ajusté à 100ml avec l'eau distillée.

- **Réactif d'amidon:** Dissoudre 1.2 g d'iode dans 50 ml d'eau distillée contenant 2.5g d'iodure de potassium. chauffer, dans un bain mari 5ml de la solution à tester avec 10ml d'une solution de NaCl saturée jusqu'à ébullition. L'apparition d'une couleur bleue violacée révèle la présence d'amidon.

- **Réactif BATE** :40 ml de Butanol +10 ml de HCl .







Extraction par décantation (3×15ml de OEt₂)


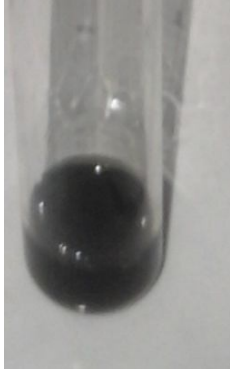


détection des anthocyanosides






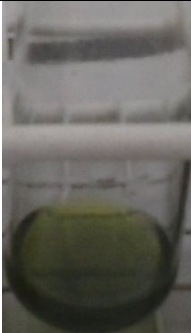
photos prises correspondant aux tests des alcaloïdes des extraits de Marrubium vulgare et de Rosmarinus Officinalis

Test	Extrait	
	<i>Marrubium vulgare</i>	<i>Rosmarinus Officinalis</i>
Test 01		
Test 02		

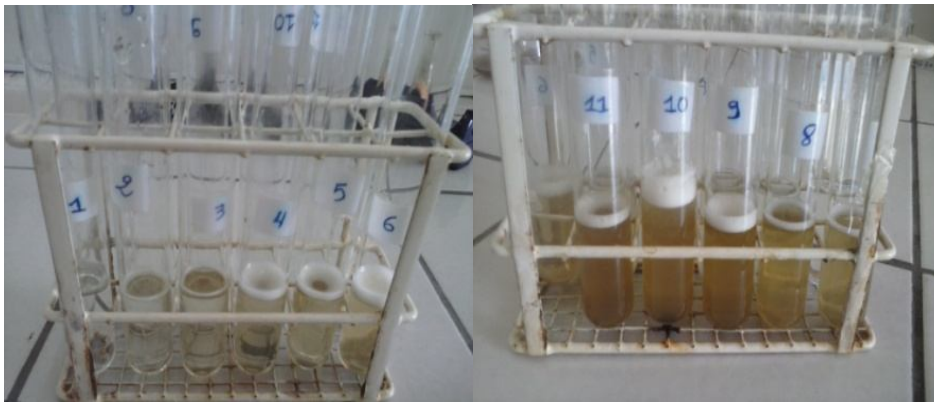
photos des résultats correspondant à la recherche de polyphénols de l'extrait de *Marrubium vulgare* et de *Rosmarinus Officinalis*

Test	Type de l'extrait	
	<i>Rosmarinus officinalis</i>	<i>Marrubium vulgare</i>
Test		

photos des résultats correspondant à la recherche des Tanins dans l'extrait de *Marrubium vulgare* et de *Rosmarinus Officinalis*.

Test	Type de l'extrait	
	<i>Marrubium vulgare</i>	<i>Rosmarinus officinalis</i>
Test 01		
Test 02		
Test 03		

Hauteurs correspondant à l'extrait de *Marrubium vulgare* après 5 min

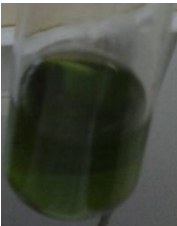









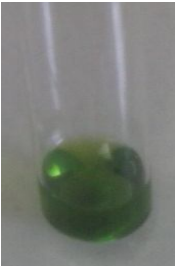



Hauteurs correspondant à l'extrait de *Marrubium vulgare* après 5 min



Hauteurs correspondant à l'extrait de *Rosmarinus Officinalis* après 5 min

photos des tests des flavonoïdes correspondant aux extraits de *Marrubium vulgare* et de *Rosmarinus Officinalis*.

Extrait	<i>Marrubium vulgare</i>	<i>Rosmarinus Officinalis</i>
Témoin		

<p>Test n°1</p>		
<p>Test n°2</p>		
<p>Test n°3</p>		
<p>Test n°4</p>		
<p>Test n°5</p>		
<p>Test n°6</p>	