

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE EL-HADJ LAKHDAR-BATNA-
FACULTE DE SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MAGISTER

En Biologie

Option : Biochimie Appliquée

Par : ATHAMENA Souad

THEME

**ETUDE QUANTITATIVE DES FLAVONOIDES
DES GRAINES DE *Cuminum cyminum* ET LES FEUILLES
DE *Rosmarinus officinalis* ET L'EVALUATION
DE L'ACTIVITE BIOLOGIQUE**

Devant le jury :

Président :	Mr YAHIA Mouloud	M.C à l'université de Batna
Rapporteur :	Mr LAROUI Salah	M.C à l'université de Batna
Examinatrice :	Mme HAMBABA Leila	M.C à l'université de Batna
Examineur :	Mr ZALLAGUI Amar	M.C à l'université d'Oum El Bouaghi

Année universitaire : 2008-2009

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier mon directeur de mémoire, Monsieur **Laroui Salah**.

Recevez ici mes sincères remerciements pour la confiance, les conseils que vous m'avez accordés tout le long de ce travail. Merci également pour votre encadrement, votre disponibilité et votre gentillesse. Je vous adresse ma profonde reconnaissance pour vos remarques et conseils en vue d'améliorer ce manuscrit.

Mes remerciements vont aussi aux membres de jury : Monsieur **Zallagui Amar** – de l'Université d'Oum El Bouaghi –, Monsieur **Yahia Mouloud**, Madame **Hambaba Leila** – tous deux de l'Université de Batna–. Recevez mes plus vifs remerciements pour avoir accepté de juger ce travail.

Ma profonde reconnaissance va à Madame **Hambaba Leila**, je n'oublie pas votre soutien moral qui m'a souvent aidé à remonter la pente dans les moments difficiles.

Je remercie également Messieurs **Kasseh Laouar Ahmed** et **Chalghem Ikbal** - C.H.U Batna- Veuillez trouver ici l'expression de ma gratitude pour m'avoir accueilli au sein de vos laboratoires. Soyez assuré de mon profond respect et de ma vive reconnaissance pour m'avoir fait bénéficier de vos expériences et de vos rigueurs scientifiques et professionnelles.

A vrai dire, je ne sais pas comment vous remercier Messieurs **Akkal Salah** et **Benkiniwar Rachid** -Université Constantine- pour tout ce que vous m'avez apporté, transmis et appris lors de ce travail. Merci pour l'énorme contribution que m'avez apportée afin de mener à bien ce travail.

Je tenais à te remercier chaleureusement Monsieur **Abddaim Mohamed** pour ton soutien moral, pour ton aide technique et scientifique.

Une pensée particulière pour Louaer Souhila, Segni Nariman, Harkat Hassina, Boudiaf Kawthar, Meziti Asma, Khebri Souad, vous étiez toujours à mes côtés et vous m'avais toujours apporté le soutien. Pour cela, je vous remercie chaleureusement.

Je remercie tous les membres des laboratoires de bactériologie et de parasitologie pour leur aide précieuse.

A tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation et au bon déroulement de ce travail.

Enfin, pour leur soutien sans faille et permanent, je tiens à remercier de tout cœur mon père, mes frères et mes sœurs.

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN :	Acide désoxyribonucléique
AlCl₃ :	Trichlorure d'Aluminium
ATCC :	American type culture collection
AZA :	Azathioprine
BHA :	Butyle hydroxytoluène
BHT :	Butyle hydroxytoluène
BLSE :	Bétalactamase à spectre élargi
CAT :	Catalase
CCM :	Chromatographie sur couche mince
CHN :	Céphalosporinase à haut niveau
DPPH :	1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl
DMH :	1,2-dimethyl hydrazine
DMSO :	Dimethyl sulfoxyde
EAcOEt :	La fraction de l'acétate d'éthyle
EBr :	L'extrait brut (hydro-méthanolique)
En-BuOH :	La fraction du n-butanol
ERO :	Espèces réactives de l'oxygène
GSH :	Glutathion
HCl :	Acide chlorhydrique
IgAs :	Immunoglobuline A sécrétoire
HPLC :	Chromatographie liquide à haute performance
SOD :	Superoxyde dismutase
sp :	Species (Espèce)
UV-Vis :	Ultraviolet/Visible
UFC :	Unités formant des colonies
VIH :	Virus de l'Immunodéficience Humaine

GLOSSAIRE

Aflatoxine : est une mycotoxine produite par des champignons proliférant sur des graines en atmosphère chaude et humide.

Alcaloïdes : Substances azotées basiques très actives, mais souvent trop toxiques pour être utilisées en phytothérapie.

Aleurone : une protéine présente sous de grains dans l'albumen de nombreuses graines.

Analgésique : apaise ou supprime la douleur.

Anthocyane : composé hétérocyclique oxygéné lié à deux noyaux benzéniques.

Antispasmodique : cesse les spasmes, contractions involontaires des muscles et des organes, d'origine nerveuse.

Appétitif : provoque l'appétit en agissant sur les organes digestifs et les glandes.

Arbrisseau : plante ligneuse haute de 3 à 5 mètres.

Arbuste : plante ligneuse haute de 1 à 3 mètres.

Asthénie : dépression de l'état général.

Astringent : qui diminue les sécrétions et favorise les cicatrifications.

Carminatif : qui provoque l'expulsion des gaz intestinaux.

Cataplasme : ancienne forme pharmaceutique pâteuse, appliquée sur la peau pour combattre une inflammation.

Cholagogue : facilite l'évacuation des voies biliaires, action bénéfique pour le foie et le tube digestif.

Cholérétique : augmente la sécrétion biliaire.

Choline : base quaternaire de structure amino-alcool.

Coumarine : composé hétérocyclique oxygéné insaturé comportant une fonction cétone et un noyau benzénique.

Diterpène : composé formé de vingt atomes de carbone.

Diurétique : qui augmente le volume urinaire et l'élimination des chlorures, du sodium, du potassium, de l'urée et de l'acide urique dans les urines.

Dyspepsie : un ensemble de symptômes de douleur ou de malaise épigastrique.

Emménagogue : qui provoque, facilite ou augmente les règles.

Fébrifuge : prévient les accès de fièvre et permet de combattre celle-ci.

Lactones : ester interne (perte d'une molécule d'eau intramoléculaire) d'un acide-alcool ou d'un acide -phénol.

Mésophylle : la plus grande partie de l'intérieur d'une feuille.

Monoterpènes : se sont une classe de terpènes constitués de deux molécules d'isoprène C_5H_8

Mucilage : substance glucidique qui se gonfle au contact de l'eau en donnant une solution visqueuse.

Ombelle : type d'inflorescence dans laquelle les pédoncules sont attachés au même point et s'arrêtent à la même hauteur.

Phénols : carbure aromatique (cycle benzénique) portant un ou plusieurs groupements Hydroxyles

Phytase : enzyme naturelle qui, en hydrolysant les phytates, joue un rôle essentiel dans le métabolisme du phosphore.

Saponine : substance hétérosidique moussante agissant sur la perméabilité des membranes.

Sédatif : qui calme une activité exagérée (cardiosédatif, neurosédatif).

Sesquiterpène : constituant à quinze atomes de carbones.

Sous-arbrisseau : plante ligneuse ne dépassant pas 1 mètre.

Spasmolytique : qui empêche les contractions musculaires involontaires.

Stérol : alcool secondaire de structure tétracyclique caractéristique formé à partir du cyclopentane et du phénanthrène hydrogéné.

Stomachique : facilite le travail de l'estomac et le fortifie.

Tanins : substance polyphénolique non azotée.

Triterpènes : constituant végétal composé de trente atomes de carbone et dont la structure chimique possède quatre ou cinq cycles.

Vermifuge : expulse les vers de l'intestin.

Vulnéraire : en application externe, elle contribue à la guérison des plaies, mais elle peut aussi être administrée oralement pour réanimer les personnes ayant subi une chute ou une blessure.

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I. LES PLANTES MEDICINALES SELECTIONNEES

I.1. La plante <i>Cuminum cyminum</i>	1
I.1.1. Caractéristiques botaniques	1
I.1.2. Habitat et culture	2
I.1.3. Composition biochimique du cumin	2
I.1.4. Utilisation du cumin	3
I.1.5 Propriétés du cumin	3
I.2. La plante <i>Rosmarinus officinalis</i>	7
I.2.1. Etymologie	7
I.2.2. Caractéristiques botaniques	7
I.2.3. Habitat et culture	8
I.2.4. Composition biochimique du romarin	8
I.2.5. Utilisation	10
I.2.6. Propriétés du romarin	10

Chapitre II. LES FLAVONOIDES

II.1. Les polyphénols	17
II.1.1 Classification	17
II.1.2. Biosynthèse	17
II.1.3. Effets biologiques des polyphénols	18
II.2. Les Flavonoïdes	19
II.2.1. Etymologie	19
II.2.2. Découverte des flavonoïdes	19
II.2.3. Structure chimique	19
II.2.4. Classification	20
II.2.5. La substitution du squelette flavonique.....	21
II.2.5.1. O- substitution	21
II.2.5.2. C- substitution	22
II.2.6. Origine biosynthétique	23
II.2.7. Propriétés Physico-Chimiques	25
II.2.7.1. Solubilité et l'extraction	25

II.2.7.2. Dosage	25
II.2.8. Biodisponibilité des flavonoïdes	25
II.2.9. Consommation des flavonoïdes	26
II.2.10. Distribution dans les plantes	26
II.2.11. Propriétés biologiques	26
II.2.12. Rôles des flavonoïdes chez les plantes	29
II.2.13. Emplois thérapeutiques	30

Chapitre III. LE STRESS OXYDANT

III.1. Historique	31
III.2. Définition d'un radical libre	31
III.2.3. Principaux radicaux libres et leurs origines	32
III.4. Rôles des radicaux libres	33
III.5. Définition du stress oxydant	34
III.6. Origine du stress oxydant	34
III.7. Les conséquences du stress oxydant	35
III.8. Les maladies liées au stress oxydant	35
III.9. Définition d'un antioxydant	36
III.10. Principaux antioxydants	36
III.10.1 Les antioxydants endogènes	36
III.10.2. Les antioxydants exogènes	36
III.11. Mécanismes d'actions des antioxydants	37

Chapitre VI. LES SOUCHES MICROBIENNES UTILISEES

VI.1. Effet antibactérien	38
VI.2. Mécanisme d'effet antimicrobien des polyphénols	38
VI.3. Caractéristiques des souches bactériennes utilisées	39
VI.4. Caractéristiques des souches fongiques utilisées	40
VI.5. Antibiotiques β - lactamines	42
VI.6. Mécanismes de résistances aux β -lactamines	42

ETUDE EXPERIMENTALE

Chapitre I. MATERIEL ET METHODES

I.1. Matériel végétal	43
I.2. Etude chimique	43
I.2.1. Détermination de la teneur en eau	43

I.2.2. Détermination des taux de cendres	43
I.2.3. Extraction	44
I.2.3.1 Préparation de l'extrait brut	44
I.2.3.2. Fractionnement de l'extrait brut.....	44
I.2.4. Dosage des polyphénols.....	47
I.2.5. Dosage des flavonoïdes	47
I.2.5.1. Test préliminaire	47
I.2.5.2. Dosage colorimétrique.....	48
I.2.6 Analyse qualitative par HPLC.....	48
I.3. Activité biologique.....	49
I.3.1. Activité anti-oxydante	49
I.3.1.1. Test de blanchissement du β - Carotène	49
I.3.1.2. Test au DPPH	50
I.3.2. Activité antimicrobienne	51
I.3.2.1. Activité antibactérienne	51
I.3.2.1.2. Milieux de culture	52
I.3.2.1.3. Préparation des solutions	53
I.3.2.1.4. Méthode de diffusion en milieu gélosé.....	53
I.3.2.2 Activité antifongique	54
I.3.2.2.1 Souches fongiques	54
I.3.2.2.2. Milieux de culture	54
I.3.2.2.3. Préparation des solutions	54
I.3.2.2.4. Méthode de diffusion en milieu gélosé.....	54
I.4. Etude statistique	55
Chapitre II. RESULTATS ET DISCUSSION	
II.1. Teneur en eau et taux de cendres.....	56
II.2. Teneur en polyphénols	57
II.3. Teneur en flavonoïdes	60
II.3.1. Test préliminaire.....	60
II.3.2. Dosage colorimétrique	60
II.4. Analyse qualitative par HPLC.....	63
II.5. Activité anti-oydante	68
II.5.1. Test de blanchissement du β -Carotène.....	68

II.5.2. Test au DPPH.....	73
II.6 . Activité antimicrobienne	77
II.6.1. Activité antibactérienne	77
II.6.2. Activité antifongique	88

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

LISTE DES TABLEAUX

Tableau.1. Caractéristiques des bactéries utilisées.....	52
Tableau.2. Teneur en eau et taux de cendres	56
Tableau.3. Teneur en polyphénols des extraits de cumin.....	58
Tableau.4. Teneur en polyphénols des extraits de romarin	58
Tableau.5. Virement de la couleur des extraits de cumin.....	60
Tableau.6. Virement de la couleur des extraits de romarin.....	60
Tableau.7. Teneur en flavonoïdes des extraits de cumin.....	61
Tableau.8. Teneur en flavonoïdes des extraits de romarin.....	62
Tableau.9. Temps de rétention des flavonoïdes standards.....	66
Tableau.10. Temps de rétention des flavonoïdes présents dans les extraits de cumin....	66
Tableau.11. Temps de rétention des flavonoïdes présents dans les extraits de romarin.....	67
Tableau.12. Diamètre de la zone d'inhibition de l'EBr de cumin.....	78
Tableau.13. Diamètre de la zone d'inhibition de l'EBr de romarin.....	78
Tableau.14. Diamètre de la zone d'inhibition de l'EAcOEt de romarin.....	79
Tableau.15. Diamètre de la zone d'inhibition de l'En-BuOH de romarin.....	79
Tableau.16. La sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis les extraits de cumin.....	82
Tableau.17. La sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis les extraits de romarin....	82
Tableau.18. Diamètre de la zone d'inhibition de L'EBr du cumin + l'EBr de romarin.....	87

LISTE DES TABLEAUX

Tableau.1. Caractéristiques des bactéries utilisées.....	52
Tableau.2. Teneur en eau et taux de cendres	56
Tableau.3. Teneur en polyphénols des extraits de cumin.....	58
Tableau.4. Teneur en polyphénols des extraits de romarin	58
Tableau.5. Virement de la couleur des extraits de cumin.....	60
Tableau.6. Virement de la couleur des extraits de romarin.....	60
Tableau.7. Teneur en flavonoïdes des extraits de cumin.....	61
Tableau.8. Teneur en flavonoïdes des extraits de romarin.....	62
Tableau.9. Temps de rétention des flavonoïdes standards.....	66
Tableau.10. Temps de rétention des flavonoïdes présents dans les extraits de cumin....	66
Tableau.11. Temps de rétention des flavonoïdes présents dans les extraits de romarin.....	67
Tableau.12. Diamètre de la zone d'inhibition de l'EBr de cumin.....	78
Tableau.13. Diamètre de la zone d'inhibition de l'EBr de romarin.....	78
Tableau.14. Diamètre de la zone d'inhibition de l'EAcOEt de romarin.....	79
Tableau.15. Diamètre de la zone d'inhibition de l'En-BuOH de romarin.....	79
Tableau.16. La sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis les extraits de cumin.....	82
Tableau.17. La sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis les extraits de romarin....	82
Tableau.18. Diamètre de la zone d'inhibition de L'EBr du cumin + l'EBr de romarin.....	87

INTRODUCTION GENERALE

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses ressources trouvées dans son environnement afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies. Actuellement, l'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 80% des habitants de la terre ont recours aux préparations traditionnelles à base de plantes en tant que soins de santé primaire **(Lhuillier, 2007)**.

Plus de 120 composés provenant de plantes sont aujourd'hui utilisés en médecine moderne et près de 75% d'entre eux sont utilisés selon leur usage traditionnel.

Parmi, les 25 composés pharmaceutiques les plus vendus au monde, 12 d'entre eux sont issus de produits naturels. Cela signifie que le nombre de médicaments issus de produits naturels est supérieur à celui issus de la chimie combinatoire où plus de 10 000 molécules doivent être synthétisées puis testées afin de mener au développement d'un seul médicament.

Par conséquent, les quelques 250 à 300 000 espèces inventoriées de plantes que l'on trouve sur terre, dont seulement 5 à 15% ont fait l'objet de recherches de molécules bioactives, représentent un réservoir immense de nouveaux composés médicinaux potentiels.

Selon certains auteurs, les composés d'origine naturelle présentent l'avantage d'une très grande diversité de structures chimiques et ils possèdent aussi un très large éventail d'activités biologiques **(Bérubé-Gagnon, 2006)**.

Les propriétés antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20^{ème} siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser **(Yano et al., 2006)**.

Récemment, l'attention s'est portée sur les herbes et les épices comme source d'antioxydants, qui peuvent être employés pour se protéger contre les effets du stress oxydant **(Mata et al., 2007)**.

L'étude de la chimie des plantes est toujours d'une brûlante actualité malgré son ancienneté. Cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante d'une immense variété de molécules bioactives **(Ferrari, 2002)**.

Cette matière végétale contient un grand nombre de molécules qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie, en alimentation, en cosmétologie et en dermatopharmacie, Parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les lignanes, les terpènes et les flavonoïdes **(Bahorun, 1997)**.

Les flavonoïdes constituent un groupe de produits naturels appartenant à la famille des polyphénols, largement représentés dans la quasi-totalité des plantes, faisant partie intégrante

de notre nourriture quotidienne. Ils possèdent potentiellement des activités biologiques, anti-inflammatoires, anti-cancérigènes, antimicrobiennes et anti-oxydantes.

Les épices et les herbes aromatiques sont considérés comme des sources importantes de flavonoïdes (**Marfak, 2003**). Le cumin (*Cuminum Cyminum* L.) occupe un endroit proéminent, c'est une plante annuelle appartenant à la famille *Ombellifères*, utilisée généralement comme additif (**Saiedirad et al., 2008**), mais également il a une variété de propriétés médicinales connue depuis l'antiquité telles qu'anti-oxydantes, diurétiques, astringentes, hypoglycémiantes, cholagogues et stomachiques (**Dhandapani et al., 2002**).

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, emménagogues et anti-tumorales, largement utilisée dans les produits pharmaceutiques et en médecine traditionnelle (**Atik bekkara et al., 2007**).

Une grande partie des recherches actuelles porte sur l'étude de molécules anti-oxydantes et antimicrobiennes comme les vitamines, les caroténoïdes et les polyphénols.

Il nous a semblé donc, intéressant d'inscrire notre travail dans ce contexte de recherche.

Le but de cette étude est d'évaluer l'activité anti-oxydante par le test de blanchissement du β -Carotène, anti-radicalaire par le test au DPPH et antimicrobienne par la méthode de diffusion en milieu gélosé des extraits bruts et leurs fractions de deux plantes médicinales le cumin et le romarin. Cette évaluation est relié au contenu phénolique des ces extraits.

Dans la première partie, nous aborderons les différentes connaissances bibliographiques sur les deux plantes, les flavonoïdes, le stress oxydant ainsi que sur les souches microbiennes testées.

Dans la partie expérimentale, nous développerons dans le premier chapitre le matériel et les méthodes analytiques utilisées pour l'extraction, le dosage colorimétrique des polyphénols et des flavonoïdes, l'analyse par HPLC des flavonoïdes, l'activité anti-oxydante et finalement l'activité antimicrobienne. Le deuxième chapitre sera consacré aux résultats obtenus dans notre étude.

A la lumière des résultats obtenus, différentes perspectives de recherche seront évoquées.

Première partie

Etude bibliographique

Première partie
Etude bibliographique

I. LES PLANTES MEDICINALES SELECTIONNEES :

I.1. La plante *Cuminum cyminum* :

Le cumin est une petite plante annuelle, originaire du Turkestan, d'où elle fut rapidement propagée dans l'ensemble des pays méditerranéens puis jusqu'en Amérique latine (Boullard, 2001). Epice et plante médicinale très populaire dans l'Égypte ancienne, le cumin était prescrit contre les affections digestives et respiratoires, ainsi que pour soigner les caries dentaires. Le cumin est largement employé au moyen Âge (Vican, 2001).

Le fruit du cumin est un ingrédient essentiel dans de nombreux mélanges d'épices : baharat arabe, poudre de curry Indienne, pâte de curry Thaïlandaise et condiment cajun (Bremness, 2002).

I.1.1. Caractéristiques botaniques :

Le cumin est une petite plante herbacée de la famille *Ombellifères* (Bézanger-beauquesne *et al.*, 1986), d'une hauteur de 30 cm (Vican, 2001), à feuilles parfumées, finement divisées, ombelles de petites fleurs blanches ou roses en été (Bremness, 2002).

Le fruit est fusiforme, d'une couleur jaune clair, qui devient plus foncé au contact de l'air (Singh et Goswami, 1996), velu (Bézanger-beauquesne *et al.*, 1986), strié variant du vert au gris-brun (Bremness, 2002), d'une odeur aromatique et un goût épicé et amer (Behera *et al.*, 2004).



Règne : Plantes
Embranchement : Spermaphytes
Classe : Dicotyledones
Ordre : Apiales
Famille : Apiaceae
Genre : *Cuminum*
Espèce : *Cuminum cyminum* L.
(Quezel et Santa, 1963)

Figure.1. Aspects morphologiques du cumin (Site web : www.Wikipedia).

I.1.2. Habitat et culture :

Le cumin est cultivé en Afrique du Nord et au Sud-ouest de l'Asie ; dans des sols légers, bien drainés, au soleil (**Bremness, 2002**). On cueille ses graines à la fin de l'été, lorsqu'elles sont mûres (**Vican, 2001**).

I.1.3. Composition biochimique du cumin :

Les graines de cumin contiennent environ 15% d'huile fixe (**Saiedirad et al., 2008**), constituées essentiellement de triglycérides (55%), d'esters de stérol (25%) et d'acides gras libres (10%) (**Shahnaz et al., 2004**). Elles contiennent aussi 2,5 à 10 % d'huile essentielle, constituée de 25 à 35% d'aldéhyde cuminique (ou cuminal), de l'aldéhyde hydrocuminique, de l'alcool cuminique, de terpinéol, du ρ -cymène, du dipentène et du pinène.

En outre, elles renferment 13% de résine, 7% de pentosanes, des tanins, de l'aleurone (**Bellakhdar, 1997**), 59% de fibres diététiques (dont 48.5% sont des fibres diététiques insolubles et 10.5% sont des fibres diététiques solubles), 8,3% d'amidon (**Sowbhagya et al., 2007**), des protéines, de la cellulose, des sucres (**Behera et al., 2004**), des flavonoïdes (**Vican, 2001**), des coumarines, des acides phénoliques (**Surveswaran et al., 2007**), et des caroténoïdes (**Kandlakunta et al., 2008**).

L'étude de la fraction protéique a révélé que le cumin contient 18.25% de protéines, qui incluent 18 acides aminés avec les pourcentages suivants :

2.99% d'acide glutamique, 1.41% d'acide aspartique, 0.74% d'arginine, 0.58% de lysine, 0.67% de leucine, 0.46% d'isoleucine, 0.38% de thréonine, 0.52% de valine, 0.05% de cystéine, 0.04% de méthionine, 0.50% de sérine, 0.91% de glycine, 0.53% d'alanine, 0.26% de tyrosine, 0.54% de phénylalanine, 0.28% d'histidine, 0.01% de tryptophane, et 0.65% de proline (**Komy, 2004**).

L'analyse par la Chromatographie en phase gazeuse (CPG) a montré que les graines de cumin contiennent 56.54% de monoterpènes, 0.10% de sesquiterpènes, 43.2% d'aldéhydes, et 0.3% d'alcools (**Behera et al., 2004**).

Selon (**Harrorne et Williams, 1972**) le cumin contient : de l'apigénine et de la lutéoline 7- glucoside, de l'apigénine et de la lutéoline-glucuronosylglucoside, ainsi que les glycosides de la quercétine et du kaempferol (**Hinneburg et al., 2006**).

En utilisant la spectrométrie de fluorescence des rayons X (XRF), le cumin s'est avéré contenir les 12 éléments suivants : Al : 105 mg/kg, Si : 396 mg/kg, P : 384 mg/kg, S : 700 mg/kg, Mn : 15 mg/kg, Fe : 210 mg/kg, Cu : 56 mg/kg, Zn : 34 mg/kg, Sr : 7mg/kg, Cl : 0.14%, K : 0.66%, et Ca : 0.37% (**Al-Bataina et al., 2003**).

I.1.4. Utilisation du cumin :

Partout au Maroc, les graines de cumin en poudre ou en décoction, sont très utilisées dans le traitement des troubles gastro-intestinaux. Il est en effet recommandé comme stomachique, carminatif, antispasmodique et vermifuge. On emploie aussi sa décoction comme emménagogue. En usage externe, le cumin est utilisé en cataplasmes sur la nuque contre les oreillons **(Bellakhdar, 1997)**.

Les phytothérapeutes Indiens prescrivent le cumin contre les insomnies, les coups de froid et pour abaisser la fièvre. Mélangé au jus d'oignon, il forme une pâte que l'on applique sur les piqûres de scorpion **(Vican, 2001)**.

Dans la médecine Iranienne ancienne, les fruits de la plante ont été utilisés pour le traitement du mal de dents et l'épilepsie **(Janahmadi et al., 2006)**.

Le cumin est utilisé largement dans la médecine Ayurvédique (l'ancienne médecine Indienne), pour le traitement de la dyspepsie, la diarrhée et de l'ictère. En outre, il est connu pour avoir des propriétés anti-oxydantes, diurétiques, astringentes et hypoglycémiantes **(Dhandapani et al., 2002)**.

Les fruits toniques et stimulants, facilitent la digestion et soulagent la flatulence colique ou diarrhées **(Bremness, 2002)**. Il est supposé augmenter la lactation et réduire les nausées pendant la grossesse. Utilisé dans une compresse pour soulager le gonflement du sein et des testicules **(Jalali-Heravi et al., 2007)**.

L'huile essentielle du cumin est meilleure que les antioxydants synthétiques conventionnels, montre une activité fongitoxique, ovicide **(Behera et al., 2004)** et antimicrobienne **(El-Sawi et Mohamed, 2002)**. De plus elle utilisée dans la préparation des parfums et les compositions vétérinaires **(Bremness, 2002)**.

I.1.5. Propriétés du cumin :

Les épices sont intensivement employées en médecine, pharmacie, parfumerie, et les produits de beauté. Le cumin est l'une des épices populaires largement répandue qui a incité les chercheurs à mettre en évidence certaines de ses propriétés.

I.1.5.1. Activité antibactérienne :

En 1994 Shetty, Singhal et Kulkarni ont rapporté que l'huile des graines de cumin a des propriétés antimicrobiennes **(El-Sawi et Mohamed, 2002)**.

Sagdic et Ozcan, (2003) ont testé *in vitro*, sur quinze bactéries l'activité antibactérienne des hydrosols de seize épices. Les hydrosols du cumin ont été actifs, seulement sur *Bacillus brevis*, *Entérobacter aerogenes* et *Escherichia coli O157 :H7*.

L'huile essentielle du cumin a montré un effet antibactérien, plus fort que celui du romarin contre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Listeria monocytogenes* (**Gachkar et al., 2007**).

I.1.5.2. Activité antifongique :

L'étude *in vitro*, a montré une activité antifongique des hydrosols du cumin contre quelques mycètes de microbes pathogènes de plantes (**Boyras et Ozcan, 2005**).

O'Riordan et Wilkinson (2008) ont constaté l'absence de la contamination par l'aflatoxine, dans les échantillons commerciaux du cumin.

I.1.5.3. Activité ovicide :

Les vapeurs d'huiles essentielles de 5 plantes, ont été examinées contre les œufs de deux insectes de produits stockés (*Tribolium confusum*, *Ephestia kuehniella*). Les vapeurs ont montré une toxicité variable vis-à-vis les œufs. Celles du cumin étaient plus actives contre les œufs d'*Ephestia kuehniella* dont le taux de mortalité a atteint 100%.

Cependant, celles du romarin ont été moins actives et ont provoqué une mortalité allant jusqu'à 65% pour le *Tribolium confusum* et 24% pour l'*Ephestia kuehniella* (**Tunc et al., 2000**).

I.1.5.4. Activité anti-oxydante :

Les huiles essentielles du romarin et du cumin ont montré des activités anti-radicalaires et anti-oxydantes. Les résultats de l'essai de blanchissement du β -carotène ont été meilleurs que ceux de l'essai du balayage du radical libre 2-2diphénylpicrylhydrazyl (DPPH) (**Gachkar et al., 2007**).

En présence des extraits du cumin obtenus par de l'eau chaude et par le chlorure de sodium (NaCl), **Muthamma Milan et al., (2008)** ont constaté des augmentations maximales dans les activités enzymatiques de l'amylase, la lipase et la phytase. D'autre part ces deux extraits ont montré une activité anti-radicalaire très élevée par rapport à l'huile essentielle.

I.1.5.5. Effet hypolipimiant :

L'administration orale de l'extrait aqueux du cumin pendant 6 semaines aux rats diabétiques d'alloxane, a eu comme conséquence une réduction considérable du glucose, de l'hémoglobine glycosylée et l'empêchement de la diminution du poids corporel. Le traitement a provoqué aussi une réduction du cholestérol, des phospholipides, des acides gras libres et des triglycérides dans le plasma et les tissus (**Dhandapani et al., 2002**).

I.1.5.6. Effet anti-carcinogène :

En présence d'un carcinogène du colon le 1,2-diméthyl hydrazine (DMH), l'activité des mucinases et des β -glucuronidases est sensiblement augmentée. Cette augmentation a comme conséquence une hydrolyse des mucines protectrices du colon et des glucuronides conjugués. L'hydrolyse des glucuronides libère des toxines, ce qui peut engendrer le risque d'un cancer du colon. Des travaux sur des rats, ont montré que le cumin peut protéger le colon en diminuant l'activité des mucinases et des β -glucuronidases en présence ou en absence du DMH (**Nalini et al., 1998**).

I.1.5.7. Effet anti -hyperglycémiant :

L'effet anti-hyperglycémiant a été étudié sur 27 lapins sains après administration gastrique de l'eau, de tolbutamide et des préparations traditionnelle de 12 plantes comestibles.

Pour ce but une solution de dextrose a été infusée en sous-cutanée. le cumin a montré des diminutions significatives pour chaque point de tolérance du glucose (**Roman-Ramos et al., 1995**).

Une autre étude élaborée par **willatgamuwa et ses collaborateurs (1998)**, sur des rats diabétiques induits par la streptozotocine a montré une diminution de l'hyperglycémie et de la glucosurie, après un régime diététique contenant 1.25% de la poudre de cumin.

Cette influence était évidente autour de la troisième semaine de l'alimentation et l'effet était de plus en plus prononcé vers la fin de la 8^{ème} semaine. Ceci a été également accompagné par une amélioration des poids corporels, des changements métaboliques comme la diminution de l'urée sanguine ainsi que les excrétions de l'urée et de la créatinine chez les animaux diabétiques.

I.1.5.8. Autres effets :

Les extraits méthanoliques du cumin et du romarin ont exercé un certain degré de protection, contre les formes de dommage biomoléculaire qui touchent les protéines, les lipides et l'ADN causés la peroxy-nitrite (**Ho et al., 2008**).

Platel et Srinivasan ont étudié l'influence du cumin et d'autres épices sur le taux de la sécrétion de la bile, ainsi que sa teneur en acides biliaires. Les épices sont administrées soit par le biais d'une ingestion diététique soit sous forme d'une dose orale simple.

L'ingestion diététique a influencé significativement la sécrétion de la bile et sa teneur en acides biliaires, tandis que l'ingestion par dose simple a influencé seulement la teneur en acides biliaires (**Platel et Srinivasan 2000**).

Les résultats de **Janahmadi et ses collaborateurs, (2006)** ont démontré que l'application extracellulaire d'huile essentielle du cumin (1% et 3%) chez les mollusques, a nettement diminué la fréquence de l'activité spontanée induite par le Pentylentetrazol, d'une façon dépendante de la concentration et du temps. Selon ces auteurs ceci est probablement due à un effet sur les canaux calciques (Ca^{+2}) et potassiques (K^{+}).

Selon **Frage et Abozeid (1997)** cité par **Al-Bataina et al., (2003)** le cumin contient le safrole, un composé mutagénique qui s'est avéré dégradé par cuisson et/ou irradiation.

Les études mutagéniques sur différentes souches de *Salmonella typhimurum* (TA97a, TA98, TA100, et TA102) ont montré une action mutagénique oxydante très faible provoquée par le cumin (**Al-Bataina et al., 2003**).

I.2. La plante *Rosmarinus officinalis* :

Le romarin est une plante des coteaux arides, garrigues et lieux rocheux de la région méditerranéenne et même un peu plus au sud jusqu'aux confins sahariens (**Boullard, 2001**).

Depuis l'antiquité, il est employé pour améliorer et stimuler la mémoire. Encore aujourd'hui en Grèce, les étudiants en font brûler dans leurs chambres en période d'examens.

Les anthropologues et les archéologues ont découvert que le romarin a été employé comme vertus médicinales, culinaires et cosmétiques en Egypte, Mesopotamia, Chine et en Inde antiques (**Stefanovits-Banyai et al., 2003**).

I.2.1. 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. (**Heinrich et al., 2006**).

I.2.2. Caractéristiques botaniques :

Cette plante appartient à la famille des *Labiées*. Elle se présente sous forme d'arbuste, sous arbrisseau ou herbacée (**Atik bekkara et al., 2007**), mesurant environ de 0.8 à 2m de hauteur (**Gonzalez-Trujano et al., 2007**).

Les feuilles sont étroitement lancéolées linéaires, friables et coriaces, les fleurs d'un bleu pâle, maculées intérieurement de violet sont disposées en courtes grappes denses s'épanouissent presque tout au long de l'année (**Atik bekkara et al., 2007**).



Règne : Plantes
Embranchement : Spermaphytes
Classe : Dicotyledones
Ordre : Lamiales (Labiales)
Famille : Lamiaceae
Genre : *Rosmarinus*
Espèce : *Rosmarinus officinalis* L.
(Quezel et Santa, 1963)

Figure.2. Aspects morphologiques du romarin (Site web : www.Wikipedia).

I.2.3. Habitat et culture :

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

I.2.4. Composition biochimique du romarin :

L'huile essentielle du romarin (1 à 2% dans la plante) contient : de l' α -pinène (7 à 80%), de la verbénone (1 à 37%), du camphre (1 à 38%), de l'eucalyptol (1 à 35%), du bornéol (4 à 19%), de l'acétate de bornyle (jusqu'à 10%) et du camphène.

En plus de l'huile essentielle on trouve dans le romarin : 2 à 4% de dérivés triterpéniques tels que : l'acide ursolique, l'acide oléanolique, l'acétate de germanicol ; des lactones diterpéniques : picrosalvine, dérivés de l'acide carnosolique, rosmanol, rosmadial , des acides phénoliques , des acides gras hydroxylés surtout des dérivés de l'acide décanoïque , des acides gras organiques : l'acide citrique, glycolique et glycérique , des stérols, de la choline, du mucilage (**Bellakhdar, 1997**) et de la résine (**Beloued, 1998**).

Le criblage phytochimique de l'extrait éthanolique des parties aériennes du romarin a indiqué la présence des flavonoïdes, des tannins et des saponines, et l'absence des alcaloïdes détecté dans l'extrait aqueux. Les flavonoïdes détectés par la chromatographie sur couche mince (CCM) sont la quercétine et le kaempférol (**Gonzalez-Trujano et al., 2007**).

Okamura *et al.*, (1994) ont pu isoler de l'extrait hydro-méthanolique des feuilles du romarin trois flavonoïdes glycosylés (lutéoline 3'-O-β-D-glucuronide, lutéoline 3'-O-(4''-O-acétyl)-β-D-glucuronide, et lutéoline 3'-O-(3''-O-acétyl)-β-D-glucuronide), ainsi que l'hespéridine.

La première application du système d'électrophorèse capillaire à détection électrochimique a permis la détection de : l'hespéretine, l'acacétine, la diosmétine, l'apigénine, la lutéoline, l'acide férulique, l'acide rosmarinique et l'acide caféique dans les extraits ethanologiques du romarin (**Peng *et al.*, 2005**).

En **2006 Almela et ses collaborateurs** ont identifié par chromatographie liquide à haute performance (HPLC), dans les extraits méthanoliques du romarin issus de différentes matières (romarin sauvage et distillé) des composés classés en trois groupes : les diterpènes, les flavonoïdes et les acides phénoliques. Les structures des diterpènes ont été reliées à l'acide carnosique. Les flavonoïdes dérivent de deux flavones apigénine et la lutéoline : genkwanine ; méthoxytecto-chrysin ; homoplantagine ; scutellareine ; cirsimaritine et 6-hydroxylutéoline-7-glucoside. L'acide rosmarinique était le seul acide phénolique identifié.

Les résultats de l'analyse d'HPLC élaborée par (**Kosar *et al.*, 2005**) et (**Luis *et al.*, 2007**) ont montré respectivement la composition suivante : lutéoline-glucoside : 2.90 mg/g ; naringine-glucoside : 7.16 mg/g ; lutéoline : 2.45 mg/g ; apigénine : 1.80 mg/g.

L'acide vanillique 0.004 mg/g ; l'acide caféique 0.012 mg/g ; naringine 0.570 mg/g ; l'acide rosmarinique 2.080 mg/g ; hispiduline 0.020 mg/g ; cirsimaritine 0.080 mg/g ; carnosol 0.580 mg/g ; acide carnosique 12.180 mg/g.

La Chromatographie liquide à détection par spectrométrie de masse (LC×LC - MS) a montrée la composition suivante en acides phénoliques de l'extrait ethanologique du romarin : l'acide gallique < 50 µg/g, l'acide chlorogénique 120 µg/g, l'acide syringique < 50 µg/g, l'acide p- coumarique < 50 µg/g, l'acide férulique < 50 µg/g, (**Kivilompolo et Hyotylainen, 2007**).

18 éléments minéraux ont été identifiés par la spectrométrie d'émission atomique, les plus abondants sont : Al : 146.48 mg/kg ; Ca : 7791.80 mg/kg ; Fe : 330.16 mg/kg ; K : 14916.23 mg/kg ; Mg : 1634.55 mg/kg ; Na : 2711.87 mg/kg ; P : 1474.60 mg/kg ; Cr : 97.36 mg/kg ; Sr : 74.65 mg/kg (**Arslan *et al.*, 2007**).

I.2.5. Utilisation :

Le romarin est souvent cultivé pour son huile aromatique et considérée utile pour contrôler l'érosion du sol. Dans la médecine traditionnelle ses parties aériennes sont utilisées par voie orale pour soulager la colique rénale, les dysménorrhées et comme antispasmodique (**Gonzalez-Trujano et al., 2007**).

Dans le Mexique et le Guatemala, il est employé principalement comme remède de post-partum et traite également les problèmes respiratoires et les infections de la peau.

En Espagne, l'huile du romarin est très populaire pour beaucoup de genres de douleur, y compris les douleurs musculaires rhumatismales et traumatiques (**Heinrich et al., 2006**).

Au Maroc, l'infusion des feuilles est utilisée comme apéritif, cholagogue, stomachique et emménagogue. En usage externe, les cataplasmes faits avec les compresses de la décoction concentrée sont appliqués comme vulnéraires. La poudre des feuilles est saupoudrée comme cicatrisant et antiseptique. La fumigation du romarin est indiquée pour calmer les maux de dents. Depuis quelques décennies, l'huile essentielle du romarin est utilisée en massage sédatif dans les rhumatismes et la sciatique. Les feuilles séchées servent à conserver la laine de l'attaque des mites (**Bellakhdar, 1997**).

En Turquie, la décoction de feuilles du romarin a été traditionnellement employée pour traiter les diabétiques (**Bakirel et al., 2008**).

L'infusion des feuilles est tonique, antitussive, carminative, antiasthmatique, fébrifuge, et anti-paralytique (**Arnold et al., 1997**). 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 (**Poletti, 1988**).

Il a été également employé en tant qu'analgésique, antiépileptique, diurétique, (**Soyal et al., 2007**), ainsi que pour traiter l'ictère et sa fumée a été employée contre la peste (**Heinrich et al., 2006**).

L'huile du romarin a été largement répandue pendant des siècles, comme un des ingrédients en produits de beauté, savons, parfums, désodorisants, aussi bien pour l'assaisonnement et la conservation des produits alimentaires (**Arnold et al., 1997**).

I.2.6. Propriétés du romarin :

Le romarin est une herbe médicinale bien connue et considérablement évaluée, largement répandue dans les produits pharmaceutiques et la médecine traditionnelle.

Elle est très appréciée pour ses propriétés aromatiques, anti-oxydantes, antimicrobiennes et anti-tumorales.

1.2.6.1. Activité antibactérienne :

Plusieurs auteurs ont rapporté que certains composés présents dans les extraits du romarin possèdent des propriétés antibactériennes (**Georgantelis et al., 2007**).

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 **Tsai et al., (2007)**. Les résultats ont suggéré que les extraits du romarin peuvent empêcher les lésions de la carie en inhibant la croissance du *Streptococcus sobrinus* et peuvent aussi éliminer la plaque dentaire par la suppression de l'activité de la glucosyltransférase.

Afin de chercher des nouveaux antiseptiques et des agents antimicrobiens, une autre étude a été élaborée pour examiner les effets antimicrobiens des extraits et des composés isolés de certaines plantes, sur l'ensemble de 29 bactéries et levures avec pertinence dermatologique. L'extrait obtenu par le dioxyde de carbone (CO₂) supercritique du romarin, a présenté un large spectre antimicrobien. La croissance de 28 sur 29 germes a été empêchée par cet extrait. L'examination du Carnosol, acide carnosique, acide ursolique, a montré que seule l'acide carnosique a une activité antibactérienne (**Weckesser et al., in press**).

Celiktas et al., (2007a) ont testé l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et des extraits méthanoliques du romarin, rassemblé de trois différentes régions et pendant quatre intervalles de l'année. Leurs résultats ont indiqué que les bactéries testées étaient sensibles aux huiles essentielles, partiellement aux extraits méthanoliques et que l'activité antimicrobienne des huiles essentielles diffèrent selon les variations régionales et saisonnières.

Les 2 souches de la levure *Saccharomyces* et la bactérie *Escherichia coli* se sont montrées sensibles vis-à-vis l'huile essentielle du romarin, tandis que la bactérie *Staphylococcus epidermis* est résistante. L'huile a empêché également la répllication du plasmide métabolique (F'lac) d'*Escherichia coli* (**Schelz et al., 2006**).

Une autre étude a révélée que les quatre souches d'*Escherichia coli* O157:H7 sont sensibles à la totalité des huiles essentielles testées. L'activité d'huile essentielle du romarin était appréciable (**Moreira et al., 2005**).

Les 3 extraits commerciaux du romarin étaient actifs contre onze bactéries portées par les aliments (**Fernandez-Lopez et al., 2005**). Le *vibrio parahaemolyticus* porté par les fruits de mer infectés est inhibé par la suspension du romarin à 30 C° (**Yano et al., 2006**).

La germination et la multiplication des cellules végétatives des spores bactériennes de *Clostridium botulinum* 62A et *Bacillus cereus* T est empêchée par l'ensemble des huiles essentielles testées, y compris celle du romarin (**Chaibi et al., 1997**).

Les résultats d'**Abutbul** viennent suggérer l'utilisation du romarin comme traitement contre les maladies causées par le *Streptocoque iniae*, la bactérie qui cause des pertes économiques significatives dans l'industrie d'aquaculture dans le monde entier (**Abutbul et al., 2004**).

I.2.6.2. Activité antifongique :

La biosynthèse de l'aflatoxine a été inhibée totalement par l'huile essentielle du romarin, à une concentration de 450 ppm. Selon les auteurs les résultats indiquent le potentiel de cette huile essentielle en tant que préservatif naturel contre *l'Aspergillus parasiticus* (**Rasooli et al., 2008**).

En utilisant la technique standard de diffusion sur gélose **Sacchetti, et ses collaborateurs (2005)** ont évalué l'activité biologique de 11 huiles essentielles y compris celle du romarin, les résultats ont montré que la plupart de ces huiles ont une activité inhibitrice modérée contre les cinq levures (*Candida albicans*, *Rhodotorula glutinis*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Yarrowia lypolitica*) examinées.

I.2.6.3. Activité antivirale :

L'évaluation de l'activité antivirale de l'extrait commercial du romarin, a indiqué qu'il ya une inhibition de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (HIV) aux concentrations très basses, qui ont été également cytotoxiques. Cependant, le carnosol a montré une activité anti-HIV à une concentration de 8µM qui n'était pas cytotoxique (**Aruoma et al., 1996**).

I.2.6.4. Activité ovicide :

L'huile essentielle du romarin s'est avérée un agent ovicide contre trois espèces de moustique (*Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* et *Culex quinquefasciatus*) (**Prajapati et al., 2005**). De même **Gillij et al.**, ont trouvé que cette huile présente une activité répulsive contre le moustique *Aedes aegypti* (**Gillij et al., 2007**).

Dans le cadre de la protection des produits stockés **Papachristos et Stamopoulos (2002), (2004)** ont trouvé que les œufs, les larves et les pupes d'*Acanthoscelides obtectus* sont sensibles aux vapeurs des huiles essentielles du romarin.

1.2.6. 5. Activité anti-oxydante :

L'activité anti-oxydante du romarin est connue depuis environ 30 années (**Nassu et al., 2003**). En raison de ses propriétés anti-oxydantes, le romarin est largement accepté en tant qu'une des épices qui a l'activité anti-oxydante la plus élevée (**Wang et al., 2008**).

22 volontaires ont inhalé l'arôme des huiles essentielles de la lavande et du romarin pendant 5 minutes, par la suite les salives ont été rassemblées pour mesurer l'activité anti-radicalaire salivaire en utilisant le test au DPPH, ainsi que les variations dans les taux des substances actifs salivaires (cortisol, immunoglobuline A sécrétoire (IgAs), et α -amylase).

Les valeurs de l'activité anti-radicalaire salivaire ont été augmentées, tandis que les taux du cortisol se sont diminués et aucun changement crucial n'a été noté pour les IgAs et l' α -amylase. Les résultats ont montré une corrélation inverse significative entre les valeurs de l'activité anti-radicalaire et les taux de cortisol pour chaque concentration de stimulation du romarin (**Atsumi et al., 2007**).

Dans une autre étude les propriétés anti-oxydantes et anti-radicalaires de 11 huiles essentielles, ont été examinées au moyen du test de blanchissement du β -carotène, le test au DPPH et l'analyse photochimiluminescence (PCL). Les résultats ont montré que l'huile essentielle du romarin était parmi les huiles qui ont une activité importante (**Sacchetti et al., 2005**).

La comparaison *in vitro* de l'activité anti-oxydante d'huile essentielle du romarin avec celles de ses principaux composants (1,8-cinéole, α -pinène et β -pinène) au moyen de l'essai au DPPH et l'essai de blanchissement du β -carotène, a montré que l'huile essentielle était plus active que ses composants dans les deux modèles d'essai (**Wang et al., 2008**).

Sur la base des observations **Gladine et ses collaborateurs** ont conclu que les extraits des plantes riches en polyphénols choisis pour l'expérience, en particulier le romarin pourraient être des nouvelles sources d'antioxydants chez les animaux rendus extrêmement sensibles à la lipoperoxydation, par le biais d'un régime alimentaire riche en acides gras n-3 polyinsaturés et qu'aucune corrélation entre la capacité anti-oxydante *in vitro* et *in vivo* de ces extraits (**Gladine et al., 2007**).

Divers modèles d'essai expérimentaux ont été employé pour la caractérisation des propriétés anti-oxydantes des extraits aqueux, de quatre herbes appartenant à la famille de *Lamiacée* : *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* et *Thymus vulgaris*. Les extraits ont montré des degrés variables d'activité dans tous les essais utilisés (**Dorman et al., 2003**).

Plusieurs auteurs ont étudié l'utilisation des extraits du romarin comme antioxydants pour conserver les produits à base de viande : **(Nassu et al., 2003)** ; **(Balentine et al., 2006)** ; **(Fernandez-Lopez et al., 2005)** ; **(Sebranek et al., 2005)** et les huiles végétales : **(Nogala-Kalucka et al., 2005)** ; **(Samotyja et al., 2007)**. Les résultats obtenus font toujours l'objet de l'intéressante activité anti-oxydante de cette plante.

I.2.6. 6. Effet anti-carcinogène :

Grâce à certains composants (carnosol, rosmaridiphénol, rosmanol et l'acide rosmarinique), le romarin est considéré comme une thérapie contre le cancer **(Atik bekkara et al., 2007)**.

L'étude élaborée par **(Singletary, 1996 a)** a démontré que l'extrait commercial du romarin et le carnosol sont des inhibiteurs des tumeurs mammaires, provoquées par le dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) chez les rats.

Slamenova et al., (2002) ont mentionné que l'exposition des cellules traitées par deux types d'oxydants (le bleu de Méthylène excité par la lumière visible, et le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)), aux différentes concentrations de l'extrait ethanologique du romarin dilué dans le milieu de culture, a comme résultat une réduction de l'activité génotoxique de ces oxydants.

De même l'effet anti-carcinogène été étudié par **Visanji et ses collaborateurs (2006)**. Ces auteurs ont constaté que le traitement des cellules de Caco-2 (des cellules issues d'un cancer du colon), par le carnosol et l'acide carnosique a empêché l'incorporation de la thymidine-H³ d'une manière dépendante de la dose. Cet effet a été associé par l'accumulation des cellules traitées dans la phase G2 / M du cycle cellulaire.

Le carnosol s'est avéré exercer son effet après pro-métaphase, tandis que l'acide carnosique a arrêté la multiplication des cellules avant la pro-métaphase.

I.2.6.7. Effet anti-acétylcholinestérase :

Des extraits aqueux et méthanologiques de 11 plantes utilisés dans la médecine traditionnelle Danoise pour l'amélioration de la mémoire, ont été examinés pour évaluer leur activité inhibitrice d'acétylcholinestérase en utilisant la méthode colorimétrique d'Ellman.

L'extrait méthanologique du romarin a montré une inhibition modérée (17 %) de l'enzyme à une concentration de 0.1 mg/ml **(Adsersen et al., 2006)**.

L'activité anti-radicalaire, anti-oxydante et anti-acétylcholinestérase des huiles essentielles, des extraits d'éthanol et de l'eau bouillante de cinq plantes aromatiques sont

évaluées. Toutes les plantes ont montré une activité anti-acétylcholinestérase modérée et la meilleure activité inhibitrice a été montrée par l'huile essentielle du romarin (**Mata et al., 2007**).

L'huile essentielle, les extraits de : l'éther de pétrole ; acétate d'éthyle ; chloroforme ; méthanol du romarin et l'acide rosmarinique ont été examinés *in vitro* à des concentrations de 0.2, 0.5, et 1 mg/ml pour évaluer leurs activités inhibitrices de l'acétylcholinestérase et la butyrylcholinestérase. L'inhibition des deux enzymes était non significative aux concentrations 0.2 et 0.5 mg/ml. A la concentration 1 mg/ml la butyrylcholinestérase a été inhibée respectivement par l'acide rosmarinique, l'extrait méthanolique, l'huile essentielle et l'extrait d'éther de pétrole, tandis que l'acétylcholinestérase a été inhibée seulement par l'huile essentielle du romarin (**Orhan et al., 2007**).

I.2.6.8. Effet anti-hyperglycémiant :

Les observations après l'administration orale de différentes doses de l'extrait éthanolique du romarin, à 3 groupes de lapins (lapins ayant une glycémie normale, lapins ayant une hyperglycémie provoquée par l'administration orale du glucose, lapins diabétiques d'alloxane) ont clairement montré que cet extrait exerce une activité hypoglycémiant et anti-hyperglycémiant remarquable à une dose de 200 mg /kg (**Bakirel et al., 2008**).

I.2.6.9. Effet anti-hépatotoxique :

De nombreuses études ont été réalisées pour étudier l'effet anti-hépatotoxique du romarin. Le travail de **Sotelo-Felix et al., (2002)** a été concentré pour l'évaluation de l'efficacité de l'extrait méthanolique du romarin pour normaliser certains paramètres histologiques et biochimiques du foie, après l'ingestion d'un hépatotoxine le tétrachlorure de carbone (CCl₄). Les résultats ont indiqué que cet extrait a empêché la peroxydation lipidique, l'inflammation, la nécrose, normalisé les taux de la bilirubine, le glycogène et l'activité de l'alanine aminotransférase et enfin il a augmenté l'activité du glutathion S-transférase (GST).

De même, l'hépatotoxicité induite par l'Azathioprine (AZA) chez les rats, a été évaluée en surveillant la fonction du foie après l'administration orale des extraits aqueux de 3 plantes (*Hibiscus sabdariffa*, *Rosmarinus officinalis* et *Salvia officinalis*).

Les résultats ont montré une réduction des taux de l'alanine aminotransférase, de l'aspartate aminotransférase, du malonaldehyde et la disparition de l'effet inhibiteur d'AZA sur les activités de la catalase (CAT), du glutathion (GSH) et du superoxyde dismutase (SOD) (**Amin et Hamza, 2005**).

Des souris sont soumises à des rayonnements (γ) pour étudier l'effet radioprotecteur de l'extrait aqueux du romarin. Chez le groupe expérimental ils ont constaté une diminution de la peroxydation des lipides, accompagné d'une augmentation de la concentration de l'GSH et que les variations des paramètres biochimiques (taux du glycogène, des protéines, de la phosphatase acide et alcaline, du Cholestérol) ont été peu significatives. Certaines valeurs ont regagné presque la normale vers le 30^{ème} jour, tandis que chez le groupe témoin les valeurs normales n'ont été jamais atteintes (**Soyal *et al.*, 2007**).

Les résultats de l'étude élaborée par (**Singleton, 1996b**), a montré le potentiel de l'extrait diététique du romarin et du carnosol de stimuler *in vivo* les activités des enzymes du foie, la quinone réductase(QR) et le GST.

I.2.6.10. Autres effets :

Les effets anti-nociceptifs de l'extrait éthanolique des pièces aériennes du romarin, ont été étudiés par **Gonzalez-Trujano *et al.*, (2007)** en employant différents modèles expérimentaux de la douleur. La comparaison des résultats obtenus avec ceux du tramadol et de l'acide acétylsalicylique a montré que, les extraits possèdent une activité anti-nociceptive et anti-inflammatoire très importante, ce qui renforce l'utilisation médicinale traditionnelle de cette plante.

L'extrait hydro-éthanolique du romarin a diminué les lésions ulcéraives produit par, l'indométhacine, l'éthanol et la réserpine chez les rats (**Correa Dias *et al.*, 2000**).

Haloui *et al.*, (2000) ont indiqué que les extraits aqueux du romarin ont une activité diurétique et un effet considérable sur l'excrétion urinaire d'eau et des électrolytes (Na^+ , K^+ et Cl^-), à une dose de 8%.

II. LES FLAVONOÏDES :

II.1. Les polyphénols :

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, largement distribués possédant plusieurs groupements phénoliques, avec ou non d'autres fonctions et comportant au moins 8000 structures connues différentes (**Bahorun, 1997**), allant de molécules phénoliques simples de bas poids moléculaire tels que, les acides phénoliques à des composés hautement polymérisés comme les tannins. Ils font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale (**Martin et Andriantsitohaina, 2002**).

II.1.1. Classification :

Les polyphénols sont répartis en plusieurs classes :

- Les flavonoïdes
- Les tanins
- Les stilbènes
- Les lignanes et les coumestanes
- Autres phytoestrogènes
- Les saponines (triterpénoïdes)
- Les phytostérols et les phytostanols

Bien qu'ils ne soient pas des polyphénols, on ajoute ordinairement à cette liste les isothiocyanates, qui dérivent de l'hydrolyse des glucosinolates (**Dacosta, 2003**).

II.1.2. Biosynthèse :

Les polyphénols sont synthétisés par de deux voies biosynthétiques :

- celle de l'acide shikimique
- celle issue de l'acétate

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

II.1.3. Effets biologiques des polyphénols :

Les polyphénols sont associés à de nombreux processus physiologiques interviennent dans la qualité alimentaire, impliqués lorsque la plante est soumise à des blessures mécaniques. La capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des micro-organismes est souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques (**Bahorun, 1997**).

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

Les composés polyphénoliques sont d'ailleurs de plus en plus utilisés en thérapeutique. Ils sont regroupés dans la catégorie des veinotoniques et des vasculo-protecteurs. Parmi les veinotoniques, nous citerons le Relvenet ou le Cirkant renfermant du ruténoside, le Daflont ou le Diosmilt renfermant de la diosmine. Un certain nombre de molécules polyphénoliques sont également en étude clinique comme des anti-agrégant plaquettaire, ou hypotenseur sans résultats probants (**Martin et Andriantsitohaina, 2002**).

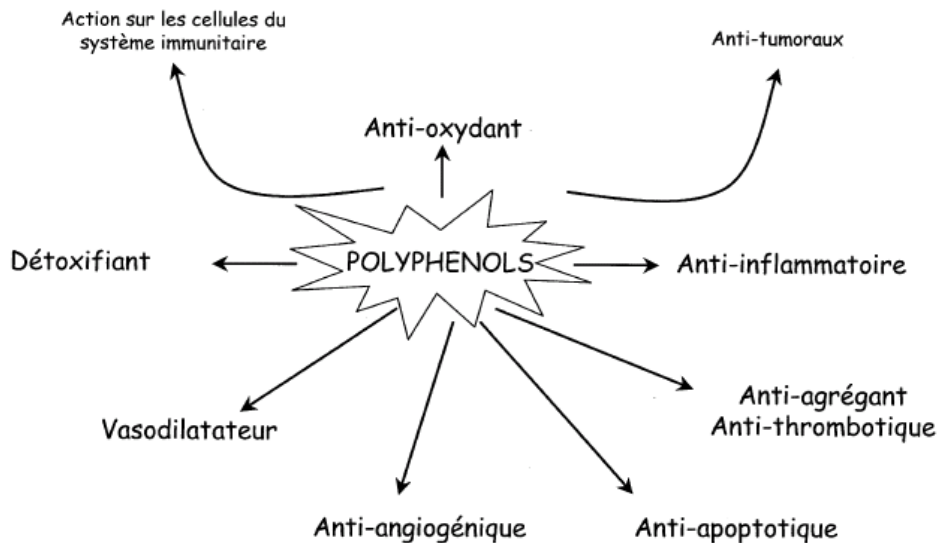


Figure.3. Effets biologiques des polyphénols
(**Martin et Andriantsitohaina, 2002**).

II.2. Les flavonoïdes :

Occupant une place prépondérante dans le groupe des phénols, les flavonoïdes sont des métabolites secondaires ubiquistes des plantes. On estime que 2 % environ du carbone organique photo-synthétisé par les plantes, soit quelques 10^9 tonnes par an, est converti en flavonoïdes (**Lhuillier, 2007**).

II.2.1. Etymologie:

L'expression flavonoïde a été introduite en 1952 par Geissman et Hinreiner pour désigner les pigments ayant un squelette ($C_6-C_3-C_6$), provenant du mot latin flavus qui signifie jaune (**Bouakaz, 2006**).

II.2.2. Découverte des flavonoïdes :

L'intérêt nutritionnel pour les flavonoïdes date de la découverte de la vitamine C, à la suite des travaux de Szent Gyorgyi en 1938. Le scorbut expérimental cède à l'ingestion de jus d'agrumes mais résiste à la seule administration d'acide ascorbique. Plus pratiquement, les symptômes hémorragiques du scorbut liés à la fragilité des vaisseaux sont guéris par des extraits de Paprika et du jus de citron alors que l'acide ascorbique seul est inefficace.

Les analyses chimiques ont montré que la fraction active était de nature flavonoïque. Cette action des flavonoïdes sur la perméabilité vasculaire a été appelée propriété vitaminique P (P étant la première lettre du mot perméabilité). Cette notion de vitamine P n'existe plus à l'heure actuelle puisqu'elle ne correspond pas à la définition classique des vitamines.

Les flavonoïdes sont considérés comme des micronutriments importants puisqu'ils peuvent jouer des rôles antioxydants ou posséder des propriétés biologiques diverses (**Milane, 2004**).

II.2.3. Structure chimique :

Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau flavone ou 2-phényl chromone (**Milane, 2004**) à 15 atomes de carbone ($C_6-C_3-C_6$), constitué de deux noyaux aromatiques, que désignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné, que désigne la lettre C (**Dacosta, 2003**), portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides (**Milane, 2004**).

On signale que le noyau flavone est lui même un dérivé du noyau flavane de base (**Milane, 2004**).

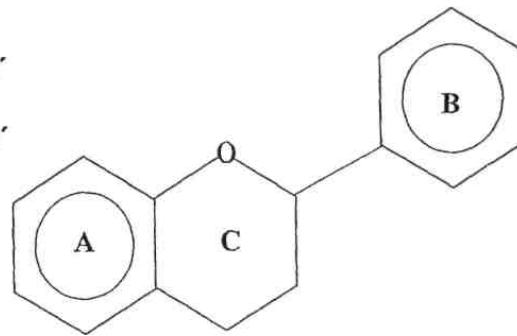
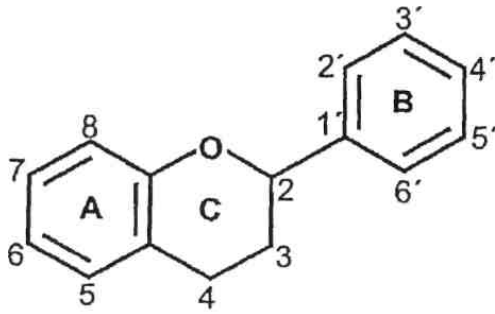


Figure.4. Structure de base des flavonoïdes

Figure.5. Schéma simplifié des flavonoïdes

(Dacosta, 2003).

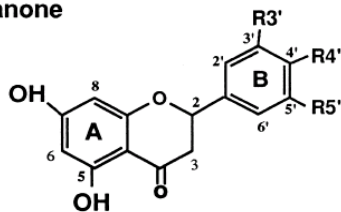
II.2.4. Classification :

Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et de ce fait possèdent le même élément structural de base. Ils peuvent être regroupés en différentes classes selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central, le noyau B relié à l'hétérocycle C dans les positions 2, 3 (Figure.6).

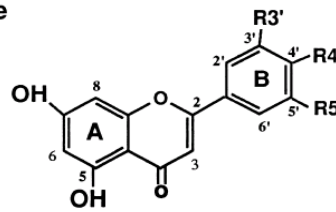
- Dans la position 2 : le flavonoïde est appelé Flavane.
- Si la position 4 de la flavane porte un groupement carbonyle la flavane est appelé Flavanone.
- Si la liaison C₂-C₃ dans le squelette de la flavanone est insaturée le composé est nommé Flavone.
- Si le squelette est substitué en position 3 par un groupement hydroxyle il est désigné par le nom de Flavonol.

Dans la position 3 : le flavonoïde est désigné par le terme Isoflavane (**Bouakaz, 2006**).

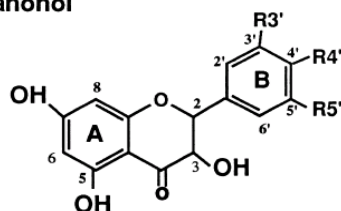
flavanone



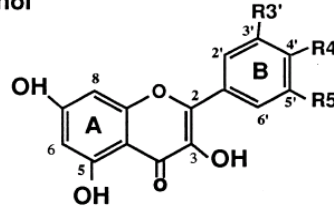
flavone



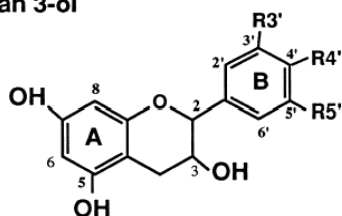
flavanonol



flavonol



flavan 3-ol



isoflavone

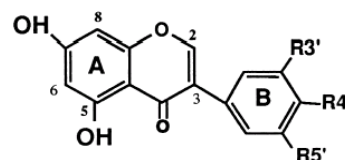


Figure.6. Structures des différentes classes de flavonoïdes
(Gamet-Payraastre *et al.*, 1999).

II.2.5. La substitution du squelette flavonique :

IL existe différents processus de substitution du squelette flavonique et qui sont à l'origine de l'extraordinaire diversité des structures flavoniques.

II.2.5.1. O-substitution :

II.2.5.1.1. Hydroxylation :

Les hydroxyles 5 et 7 viennent s'introduire avant la formation du noyau A. Pour ce fait, ils sont considérés comme hydroxyles originels. Il est de même pour l'hydroxyle en 4' du noyau B, tous les autres seront des extra-hydroxyles (Benakacha, 2001).

L'hydroxylation du noyau B dans la position 3' se fera après la fermeture de l'hétérocycle C. La position 2' et 6' du cycle B sont rarement hydroxylées (Bouakaz, 2006).

II.2.5.1.2. Méthoxylation :

C'est la méthylation des hydroxyles aussi bien originels que les extra-hydroxyles (**Bouakaz, 2006**).

II.2.5.1.3. O-glycosylation :

Les flavonoïdes sont souvent présentés comme O- ou C glycosides ; La liaison O dans les flavonoïdes se produit fréquemment plus que la liaison C.

Le D-glucose est de loin le monosaccharide le plus courant, d'autres hexoses, ainsi que des pentoses, et le D-apiose sont fréquents avec le L-rhamnose (seul désoxyhexose) et des acides uroniques. On trouve également des disaccharides, des trisaccharides et quelques rares tétrasaccharides. Les sucres peuvent à leur tour être substitués par des groupements acyles tels que le malonate ou l'acétate (**Lhuillier, 2007**).

Pas moins de 90% de flavonoïdes isolés des plantes sont glycosylés (**Le et al., 2007**), La plupart des flavonoïdes sont glycosylés excepte la catéchine (**Rice-Evans, 2001**).

La liaison s'établit entre un hydroxyle phénolique et un autre hydroxyle alcoolique d'un sucre. Un deuxième sucre peut se rattacher à la structure flavonique soit avec un autre OH phénolique soit avec un OH alcoolique du sucre déjà fixé.

L'O-glycosylation se fait préférentiellement avec l'hydroxyle de la position 7 qui constitue le site préférentiel de la glycosylation dans le cas des flavones et les flavanones et en position 3 chez les flavonols (**Bouakaz, 2006**).

II.2.5.2. C-substitution :

II.2.5.2.1. C-méthylation :

Le méthyle est directement lié au cycle benzénique par une liaison carbone-carbone, cette liaison est rencontrée en position 6 ou en position 8, ou encore en position 6 et 8 (**Bouakaz, 2006**).

II.2.5.2.2. C- glycosylation :

Le sucre est lié directement au cycle benzénique par une liaison carbone-carbone. Dans cette glycosylation la liaison s'établit entre le carbone du sucre et celui en position 6 ou 8 de la génine. (**Benakacha, 2001**).

La rupture de la liaison génine-ose est plus difficile dans le cas des C-hétérosides que dans celui des O-hétérosides (**Milane, 2004**). Dans certains composés les deux modes de glycosylation coexistent (**Benakacha, 2001**).

II.2.6. Origine biosynthétique :

Les flavonoïdes possèdent tous le même élément structural de base, car ils dérivent d'une origine biosynthétique commune. Le cycle A est formé à partir de trois molécules de malonyl-coenzyme A (malonyl-CoA), issues du métabolisme du glucose. Les cycles B et C proviennent eux aussi du métabolisme du glucose, mais par la voie du shikimate via la phénylalanine qui est convertie en ρ -coumarate puis en ρ -coumaroyl-CoA.

Le ρ -coumaroyl-CoA et les 3 malonyl-CoA se condensent en une seule étape enzymatique pour former une chalcone, la 4, 2',4', 6'-tétrahydroxychalcone (réaction catalysée par la chalcone synthétase). Le cycle C se forme par cyclisation de la chalcone, réaction catalysée par la chalcone-isomérase qui induit une fermeture stéréospécifique du cycle conduisant à une seule 2(S)-flavanone : la naringénine. Ce cycle s'hydrate ensuite pour former les différentes classes de flavonoïdes (**Lhuillier ,2007**).

Des étapes ultérieures surtout de glycosylation et acylation amènent les flavonoïdes à la forme définitive dans laquelle elles se trouvent *in vivo* (**Bouakaz, 2006**).

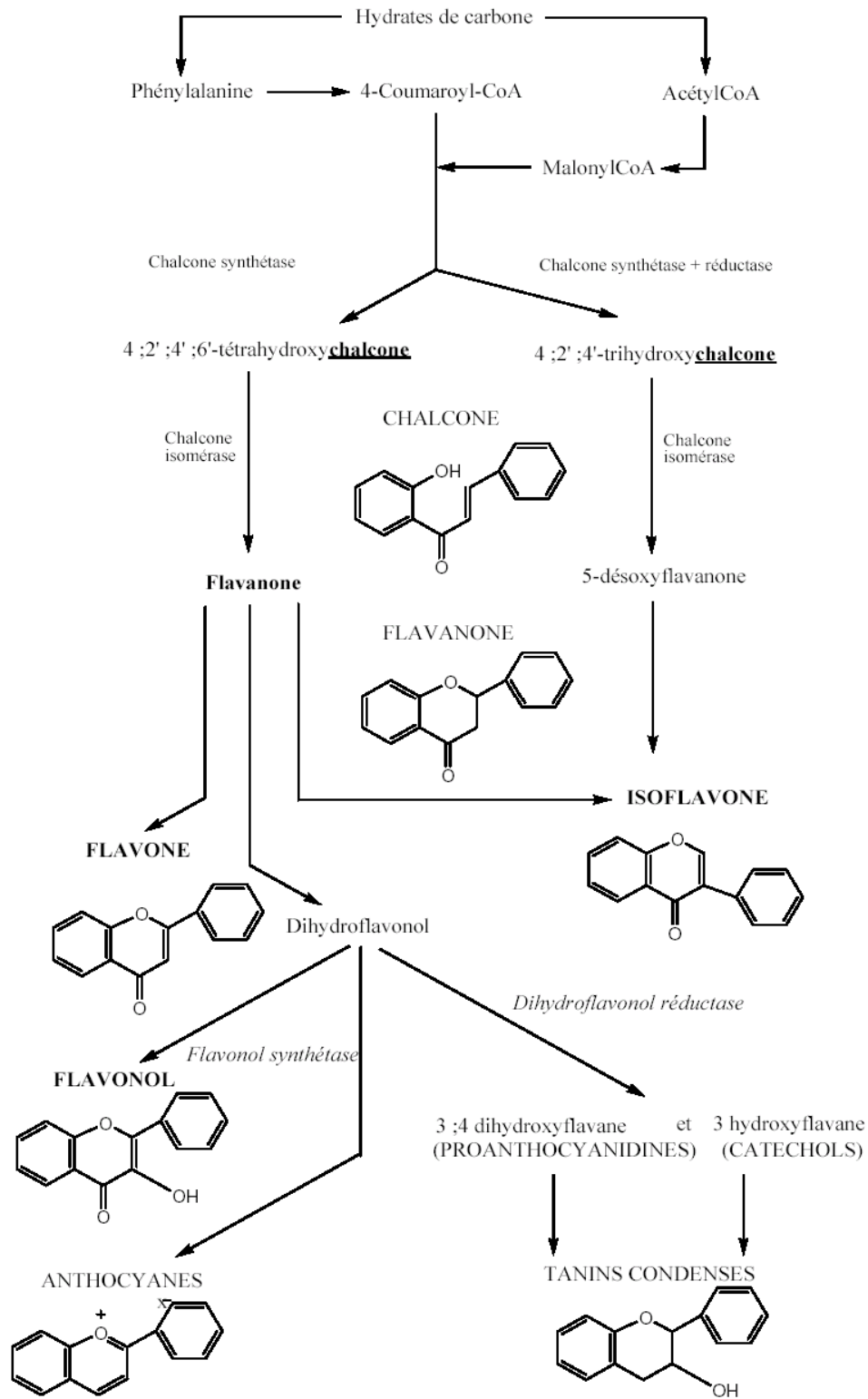


Figure.7. Voie de biosynthèse des flavonoïdes (Milane, 2004).

II.2.7. Propriétés Physico-Chimiques des flavonoïdes :

II.2.7.1. Solubilité et l'extraction :

Les génines sont pour la plupart, solubles dans les solvants organiques apolaires.

Les hétérosides peuvent être extraits, le plus souvent à chaud, par de l'acétone ou par des alcools additionnés d'eau. Il est possible de procéder ensuite à une évaporation sous vide et lorsque le milieu ne contient plus que de l'eau, de mettre en œuvre une série d'extractions liquide-liquide par des solvants non miscibles à l'eau (**Bruneton, 1999**). 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 (**De Rijke et al., 2006**).

II.2.7.2. 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 (**Bruneton, 1999**).

II.2.8. Biodisponibilité des flavonoïdes :

Les flavonoïdes présentent ainsi des propriétés bénéfiques biologiques et anti-oxydantes. Cependant la qualité nutritionnelle et les effets systémiques des flavonoïdes dépendent de leur absorption au niveau du tractus digestif.

Peu d'études systématiques ont été menées sur la pharmacocinétique des flavonoïdes chez l'homme. Toutefois, d'après des expériences menées sur des flavonoïdes provenant de l'alimentation, il apparaît que leur absorption est faible et implique des mécanismes encore mal connus. Seuls les aglycones sont supposées être absorbables, alors que les glycosides, doivent subir l'hydrolyse de leur liaison osidique par l'action de la microflore intestinale pour leur permettre d'être absorbés au niveau du côlon. Les principaux sites de métabolisme sont la flore intestinale et le foie. Les métabolites glucuro- et sulfoconjugués des flavonoïdes absorbés sont éliminés principalement par la bile, l'excrétion urinaire ne représentant que 3 à 6 % de l'élimination totale (**Milane, 2004**).

II.2.9. Consommation des flavonoïdes :

La prise moyenne quotidienne des flavonoïdes est 14.4 mg dont (35.2%) viennent des fruits, (19.1%) des légumes, (16.9%) du vin et (16.0%) du thé (**Ramassamy, 2006**). La quercétine est régulièrement consommée par l'homme car c'est le flavonoïde principal trouvé dans le régime alimentaire (**Tieppo et al., 2007**).

Leur ingestion diététique est tout à fait haute, comparé à d'autres antioxydants diététiques comme les vitamines C et E (**Fiorentino et al., 2007**).

II.2.10. Distribution des flavonoïdes dans les plantes :

A de rares exceptions près, seules les plantes ont la capacité de biosynthétiser des flavonoïdes. Les flavonoïdes peuvent être présents dans toutes les parties des plantes. Dans la majorité des cas, les flavonoïdes sont présents sous forme glycosylée dans les plantes 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 (**Lhuillier, 2007**). On les trouve en abondance dans les familles suivantes : *Polygonacées*; *Apiacées*; *Rutacées*; *Astéracées*; *Légumineuses* (**Milane, 2004**).

Le monde animal est lui aussi concerné par les flavonoïdes. On trouve par exemple de la chrysin, la quercétine, et de la galangine dans la propolis des abeilles (**Marfak, 2003**).

Il est à noter que les flavanones et les flavones ont été isolés d'un corail marin et d'un petit nombre de champignons (**Lhuillier, 2007**).

II.2.11. Propriétés biologiques :

La principale propriété initialement reconnue aux flavonoïdes est d'être "veino-actifs", c'est-à-dire capables de diminuer la perméabilité des capillaires sanguins et de renforcer leur résistance (**Bruneton, 1999**).

II.2.11.1. Activité anti-oxydante :

Les flavonoïdes ont été découverts dans les années 30 par Albert Szent-Gyorgyi, lauréat prix Nobel, en tant que des composés avec l'activité anti-oxydante prononcée (**Hodek et al., 2002**). Les flavonoïdes expriment les propriétés anti-oxydantes par : Le piégeage direct des espèces réactives de l'oxygène (ERO), La suppression de la formation des ERO par

l'inhibition de quelques enzymes ou par chélation des ions métalliques, impliqués dans leur production, La protection des systèmes de défense antioxydants de l'organisme (**Boudiaf, 2006**).

II.2.11.2. Propriétés pro-oxydantes :

Nous avons décrit précédemment les propriétés anti-oxydantes des flavonoïdes mais il ne faut pas négliger leurs propriétés pro-oxydantes. Parfois les flavonoïdes jouent un rôle de pro-oxydants. En effet, plusieurs d'entre eux ont été décrits comme responsables d'auto-oxydation et de la génération de radicaux oxygénés actifs, comme le peroxyde d'hydrogène.

En définitive, certains flavonoïdes pourraient accélérer la survenue de l'atteinte oxydative de l'ADN, des protéines et des glucides *in vitro*. Alors, le potentiel pro-oxydant de ces composés ne doit pas être négligé dans le mécanisme d'action des flavonoïdes (**Milane, 2004**).

II.2.11.3. Inhibition enzymatique :

En règle générale, les flavonoïdes sont *in vitro*, des inhibiteurs enzymatiques de l'histidine-décarboxylase par le quercétol ou la naringénine; l'élastase; l'hyaluronidase, par les flavones et surtout par les proantho-cyanidols; la phosphodiésterase de l'AMPc; l'aldose-réductase par le quercétiroside, ainsi que par des méthoxyflavones; la protéine-kinase, notamment par le lutéolol; plusieurs flavonoïdes (cirsiolol, hypolaetine, etc.) sont de puissants inhibiteurs de la 5-lipoxygénase. Quant à (lutéolol, apigénol, chrysine, etc.) inhibent la cyclo-oxygénase (**Bruneton, 1999**).

Quelques flavonoïdes sont des inhibiteurs efficaces de la biosynthèse des prostaglandines. Cet effet est dû à l'inhibition de certains enzymes (lipoxygénase, phospholipase, cyclo-oxygénase) impliquées dans leur biosynthèse.

L'activité anti-tumorale de plusieurs flavonoïdes (pinostrobine, quercétine, morine myricétine,) est attribuée à leurs efficacité d'inhiber la topoisomérase I et II (**Hodek et al., 2002**).

Beaucoup d'efforts ont été fait pour la recherche des inhibiteurs efficaces de la tyrosinase, l'enzyme clef dans la biosynthèse de la mélanine. Les flavonoïdes présentent le groupe le plus étudié des polyphénols. Les résultats des travaux de **Gao, et ses collaborateurs (2007)** ont montré que les 5, 6,7-trihydroxy-flavones sont utiles en tant qu'agents de dépigmentation.

Plus rarement, les flavonoïdes peuvent stimuler une activité enzymatique : c'est le cas de la proline-hydroxylase (**Bruneton, 1999**).

II.2.11.4. Activité anti-tumorale :

La plupart des flavonoïdes sont *in vitro*, antimutagènes ; *a contrario*, quelques flavonols sont sur les mêmes modèles mutagènes et un petit nombre d'entre eux sont anticancéreogènes et inhibiteurs de la croissance des cellules tumorales *in vitro* (**Bruneton, 1999**).

Les effets anti-carcinogènes de la quercétine et d'autres flavonoïdes deviennent de plus en plus évidents (**Hollman et al., 1996**).

Tieppo et al., (2007) ont démontré que la quercétine n'était pas génotoxique et en revanche, elle a augmenté la stabilité génomique chez les rats ayant une cirrhose biliaire induit par la ligature cholagogue.

En plus de l'activité anti-oxydante (**Li et Jiang, 2007**) ont observé une activité anticancéreuse, pour l'épicatéchine, procyanidine B2, procyanidine B4 de la fraction d'acétate d'éthyle des extraits du *litchi*.

II.2.11.5. Effets cardiovasculaires :

Récemment, beaucoup d'études se sont concentrées sur les effets cardiovasculaires des flavonoïdes. Les rapports épidémiologiques ont démontré que les gens peuvent avoir une incidence plus limitée en maladies du cœur, s'ils ont une ingestion diététique élevée en flavonoïdes (**Xu et al., 2007**).

Parmi les 17 flavonoïdes examinés par **Xu et ses collaborateurs (2007)**, les agents de relaxation vasculaires les plus efficaces sont l'apigénine, lutéoline, kaempferol et la génistéine. Cette relaxation est attribuée à l'action directe des flavonoïdes sur le muscle lisse vasculaire.

II.2.11.6. Autres propriétés :

Des flavonoïdes ayant une activité antivirale ont été identifiés depuis 1940, mais des tentatives ont été faites récemment, pour faire des modifications synthétiques pour améliorer leur activité antivirale.

D'après **Middleton et al., (2000)** la quercétine, morine, rutine, dihydroquercétine, dihydrofisetine, leucocyanidine, apigénine, catéchine, hespéridine et la naringine possèdent une activité antivirale contre 11 types de virus. L'activité antivirale semble être associée aux

composés non glycosylés et l'hydroxylation en position 3 est apparemment nécessaire à cette activité.

La myricétine empêche la croissance de *Burkholderia cepacia* multi-résistante, *enterococci* vancomycine-résistante, *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus epidermidis* (Hodek *et al.*, 2002). Les Flavanones et quelques dihydroflavonols empêchent la croissance du *Streptococcus mutans* et *Streptococcus sobrinus*.

Lahouel et ses collaborateurs, (2004) ont évalué l'effet des flavonoïdes donnés par voie orale pendant 14 jours, vis-à-vis la toxicité hématologique et hépatique du cyclophosphamide et de la vinblastine, ainsi que la toxicité hépatique du paracétamol. Chez les rats prétraités par les flavonoïdes il apparaît une nette amélioration dans les effets toxiques.

La quercétine et la rutine une fois administré oralement aux souris hyper-uricémique induits par l'oxonate de potassium, réduisent les niveaux d'acide urique dans le sérum, mais avec un profil pharmacologique partiellement différent de celui de l'allopurinol. Ces effets hypo-uricémiques sont partiellement dus à l'inhibition des activités de la xanthine déshydrogénase et la xanthine oxydase XDH/XO (Zhu *et al.*, 2004).

Selon (Tieppo *et al.*, 2007) la quercétine et les flavonoïdes protègent contre les cataractes diabétiques, empêchent l'agrégation plaquettaire et l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL).

Les Flavonoïdes peuvent être des : antispasmodiques, hypocholestérolémiants, diurétiques, (Bruneton, 1999), analgésiques (Gonzalez-Trujano *et al.*, 2007).

Leurs effets bénéfiques ont été décrits pour le diabète mellitus, le mal de tête et l'ulcère de l'estomac et du duodénum (Van Ackher *et al.*, 1998).

Quelques flavonoïdes montrent également une variété d'effets biologiques tels qu'anti-inflammatoire, antiallergique, ainsi que la capacité de stimuler le système immunitaire (Merken et Beecher, 2000).

Cependant, tous les flavonoïdes n'ont pas des activités nécessairement intéressantes. Quelques flavonoïdes ont des effets mutagènes et / ou pro-oxydant (Hodek *et al.*, 2002).

II.2.12. Rôles des flavonoïdes chez les plantes :

Les flavonoïdes sont des pigments quasiment universels des végétaux. Ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois feuilles. Quand ils ne sont pas directement visibles, ils contribuent à la coloration par leur rôle de co-pigments.

Dans certains cas, la zone d'absorption de la molécule est située dans le proche ultraviolet : la coloration n'est alors perçue que par les insectes qui sont ainsi efficacement attirés et guidés vers le nectar et donc contraints à assurer le transport du pollen (**Bruneton, 1994**). On peut également noter que les flavonoïdes, en repoussant certains insectes par leur goût désagréable, peuvent jouer un rôle dans la protection des plantes.

Les flavonoïdes montrent d'autres propriétés intéressantes dans le contrôle de la croissance et du développement des plantes en interagissant d'une manière complexe avec diverses hormones végétales de croissance. Certains d'entre eux jouent également un rôle de phytoalexines, c'est-à-dire des métabolites que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries (**Marfak, 2003**).

De plus ils sont impliqués dans la photosensibilisation, la morphogénèse, la détermination sexuelle, la photosynthèse et la régulation des hormones de croissance des plantes (**Lhuillier, 2007**).

II.2.13. Emplois thérapeutiques des flavonoïdes :

L'utilité thérapeutique de ces composés a été démontrée dans les hémorragie gastro-intestinale, avortement habituel, ménorragie, cystite saignante, tuberculose hémoptysie, la maladie de Meniere, épistaxis, rétinopathie, hémorroïdes et syndrome de Raynaud.

Ils ont été fréquemment combinés avec la vitamine K et l'acide ascorbique.

Récemment, Les rutosides hydroxyéthylés s'ont avérés efficaces dans l'allègement des symptômes provoqués par l'insuffisance veineuse chronique des membres inférieurs, varicosis de grossesse et d'autres maladies veineuses. Le (+)-cyanidanol-3 a été de plus en plus employé dans le traitement de l'hépatite virale aiguë et diverses autres maladies du foie (**Parmar et Ghosh, 1980**).

Une étude clinique a permis de montrer une activité anticancéreuse de la quercétine, administrée par voie intraveineuse chez des patients atteints du cancer. Le resveratrol est actuellement en phase I, d'étude clinique pour son utilisation dans le traitement du sida. Il est également en phase d'études préclinique et clinique pour son utilisation dans le traitement de divers cancers (**Martin et Andriantsitohaina, 2002**).

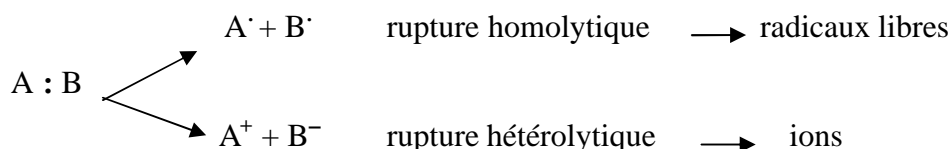
III. LE STRESS OXYDANT :

III.1. Historique :

Radicaux libres, les espèces réactives d'oxygène (ERO), le stress oxydant et antioxydants deviennent des termes de plus en plus familiers pour les professionnels de la santé et même pour le grand public. Ces notions ne sont toutefois pas nouvelles puisqu'il faut rappeler que dans le milieu des années 50, R. Gerschman puis D. Hartman évoquaient déjà la toxicité de l'oxygène et la « free radical theory » pour expliquer le processus du vieillissement. En 1969, les Américains McCord et Fridovich isolent à partir de globules rouges humains un système enzymatique antioxydant la SOD, démontrant ainsi pour la première fois que notre organisme produit bel et bien des ERO dont il doit se protéger. Cette découverte sera le point de départ d'une intense recherche scientifique dans le monde entier sur le stress oxydant et les antioxydants (**Favier, 2003**).

III.2. Définition d'un radical libre :

La majeure partie de la toxicité de l'oxygène provient de la formation de radicaux libres, c'est-à-dire, selon la définition proposée par Halliwell et Gutteridge, d'espèces capables d'existence indépendante, contenant un ou plusieurs électrons non appariés dits électrons célibataires, ces radicaux peuvent se former par transferts mono-électroniques ou par scission homolytique de liaison covalente selon le schéma suivant : (**Bonnefont-rousselot et al., 2003**).



Après une rupture homolytique, chacun des deux électrons intervenant dans la liaison entre les atomes A et B gagne l'orbitale externe de ces atomes, qui deviennent alors des radicaux libres (**Bonnefont-rousselot et al., 2003**).

Du fait de leur instabilité énergétique, les radicaux libres ont tendance à revenir immédiatement à un état stable en donnant un électron ou en prenant un à une autre molécule : ils peuvent donc être réducteurs ou oxydants. En jouant le rôle d'accepteur ou donneur d'électrons, les radicaux libres ont donc la propriété d'être extrêmement réactifs vis-à-vis des autres molécules, possédant un temps de demi-vie extrêmement court (de la nano- à la milliseconde) (**Koehlin-Ramonatxo, 2006**). Bien que le terme de radical libre ait souvent

été assimilé à une espèce réactive ou à un oxydant, il est important de signaler que tous les radicaux libres ne sont pas forcément des oxydants. De même que, tous les oxydants ne sont pas des radicaux libres (**Diallo, 2005**).

III.3. Principaux radicaux libres et leurs origines :

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux primaires. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires, se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (**Favier, 2003**).

Du point de vue de la terminologie, il est souvent fait mention d'espèces réactives de l'oxygène. Ces espèces incluent non seulement des radicaux libres dérivés de l'oxygène : anion superoxyde (O_2^-), radical hydroxyle (OH^\bullet), radical hydroperoxyde (HO_2^\bullet), radical peroxyde (RO_2^\bullet), radical alcoxyde (RO^\bullet), mais d'autres espèces non radicalaires dérivées de l'oxygène : peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), acide hypochloreux (HOCl), Ozone (O_3), Oxygène singulet ($^1\text{O}_2$), peroxydinitrite (ONOO^-) (**Bonnefont-rousselet et al., 2003**), qui ne sont pas réactives mais peuvent être des précurseurs de radicaux (**Favier, 2003**).

Par ailleurs, tous les radicaux libres ne sont pas des dérivés de l'oxygène, par exemple le monoxyde d'azote (NO) est un radical libre dérivé de l'azote (**Bonnefont-rousselet et al., 2003**).

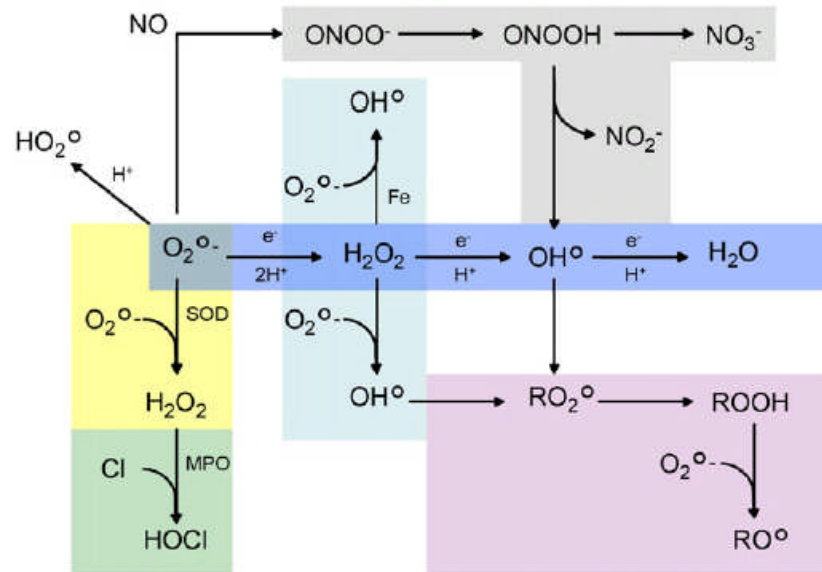


Figure.8. Formation en cascade des différentes espèces oxygénées réactives à partir du radical superoxyde (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**).

Il ne faut pas penser que tous les radicaux d'oxygène sont extrêmement réactifs, cette réactivité étant très variable selon la nature du radical. Ainsi parmi les radicaux formés chez les êtres vivants, l'anion radicalaire superoxyde comme le monoxyde d'azote ne sont pas très réactifs, mais constituent des précurseurs d'autres espèces plus réactives (**Favier, 2003**).

III.4. Rôles des radicaux libres :

Le paradoxe des radicaux libres en biologie est qu'ils constituent des espèces extrêmement dangereuses, susceptibles d'engendrer un nombre considérable de maladies, tout en étant des espèces indispensables à la vie. Ils remplissent en effet de très nombreuses fonctions utiles qui à part la phagocytose, ont été découvertes récemment.

Les radicaux libres participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à la destruction par apoptose des cellules tumorales, à la régulation de la dilatation capillaire, au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire, à la fécondation de l'ovule, à la régulation des gènes (**Favier, 2003**), à la production énergétique, au règlement de la croissance des cellules et à la signalisation intracellulaire (**Ardestani et Yazdanparast 2007**).

III.5. Définition du stress oxydant :

Dans les circonstances quotidiennes normales, des radicaux libres sont produits en permanence et en faible quantité et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents.

Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/pro-oxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé stress oxydant (**Favier, 2003**).

Chaque individu ne possède pas le même potentiel antioxydant selon ses habitudes alimentaires, son mode de vie, ses caractéristiques génétiques ou l'environnement dans lequel il vit (**Diallo, 2005**). L'importance des dommages du stress oxydant dépend de la cible moléculaire, de la sévérité de l'effort et du mécanisme par lequel l'effort oxydant est imposé (**Aruoma, 1999**).

III.6. Origine du stress oxydant:

Cette rupture d'équilibre, lourde de conséquence, peut avoir de multiples origines. L'organisme peut avoir à faire face à une production beaucoup trop forte pour être maîtrisée, qui sera observée dans les intoxications aux métaux lourds, les ischémies/reperfusions suivant des thromboses (**Favier, 2003**), le dysfonctionnement de la chaîne mitochondriale ; l'activation de systèmes enzymatiques ; la libération de fer libre à partir des protéines chélatrices ou d'une oxydation de certaines molécules (**Pincemail, 2002**).

Les radicaux libres sont produits pendant l'irradiation, par la lumière UV, par rayons X et par les rayons γ , sont des produits des réactions métal-catalysées ; sont présent comme des polluants dans l'atmosphère ; sont produits par des neutrophiles et des macrophages pendant l'inflammation ; sont des sous-produits des réactions mitochondrie-catalysées de transport d'électron et d'autres mécanismes (**Valko et al., 2006**).

L'ingestion d'alcool est suivie par la formation de radicaux libres, également des antibiotiques, des anticancéreux. L'infection au VIH a pour effet d'accroître la production de radicaux libres dans l'organisme (**Mohammedi, 2006**). Enfin, une mauvaise alimentation pauvre en antioxydants contribuera également à l'apparition d'un stress oxydant (**Pincemail, 2002**).

Généralement, le stress oxydant sera la résultante de plusieurs de ces facteurs et se produira dans un tissu et un type cellulaire bien précis, objet de la défaillance et non pas dans tout l'organisme (**Favier, 2003**).

III.7. Les conséquences du stress oxydant :

L'attaque des radicaux libres au sein des doubles liaisons lipidiques membranaires, induit des processus de peroxydations en cascade aboutissant à la désorganisation complète de la membrane, altérant de ce fait ses fonctions d'échange, de barrière et d'information .

(Koechlin-Ramonatxo, 2006)

La toxicité des EOR s'exerce également sur les protéines. Les EOR sont en effet capables de réagir avec différents acides aminés des chaînes de protéines, altérant également leur fonction. Les plus sensibles à leur action sont le tryptophane, la tyrosine, l'histidine, la cystéine et la méthionine. Les EOR sont aussi capables de couper des liaisons peptidiques et de former ainsi des fragments protéiques.

L'ADN, qu'il soit nucléaire ou mitochondrial, est également une cible majeure des EOR. Ceux-ci peuvent en effet interagir avec les désoxyriboses de l'ADN, mais aussi avec ses bases puriques et pyrimidiques. Ces altérations structurales lorsqu'elles ne sont « réparées » entraînent à long terme des altérations géniques **(Koechlin-Ramonatxo, 2006)**.

Si la chimie de l'attaque radicalaire des polysaccharides a été beaucoup moins étudiée que celle des autres macromolécules, il n'en demeure pas moins que les EOR attaquent les mucopolysaccharides et notamment les protéoglycanes du cartilage.

Les conséquences biologiques du stress oxydant seront extrêmement variables selon la dose et le type cellulaire. De légers stress augmenteront la prolifération cellulaire et l'expression de protéines d'adhésion, des stress moyens faciliteront l'apoptose, alors que de forts stress provoqueront une nécrose et des stress violents désorganiseront la membrane cellulaire, entraînant des lyses immédiates. De nombreuses autres anomalies biologiques sont induites par le stress oxydant : mutation, carcinogenèse, malformation des fœtus, dépôt de protéines anormales, fibrose, formation d'auto-anticorps, dépôt de lipides oxydés, immunosuppression **(Favier, 2003)**.

III.8. Les maladies liées au stress oxydant :

La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge, car le vieillissement diminue les défenses anti-oxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux.

En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et en sur-exprimant certains gènes, le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, oedème pulmonaire, vieillissement accéléré.

Le stress oxydant est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tel que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (**Favier, 2003**).

III.9. Définition d'un antioxydant :

On désigne par antioxydant toute substance qui, lorsqu'elle est présente en faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat (**Diallo, 2005**).

III.10. Principaux antioxydants :

III.10.1. Les antioxydants endogènes :

La production physiologique d'ERO, est régulée par des systèmes de défense composés d'enzymes (SOD, CAT, hème oxygénase, peroxyrédoxine...), de molécules anti-oxydantes de petite taille (glutathion, acide urique, bilirubine, ubiquinone, ...) et de protéines (transferrine, ferritine, ...).

Enfin, un système secondaire de défense composé de phospholipases, d'ADN endonucléases, de ligases et de macroxyprotéinases empêche l'accumulation dans la cellule de lipides, d'ADN et de protéines oxydés et participe à l'élimination de leurs fragments toxiques (**Pincemail, 2002**).

III.10.2 Les antioxydants exogènes :

Toutes ces défenses peuvent être renforcées par des apports exogènes en :

➤ Médicaments :

Ils constituent une source importante d'antioxydants. Actuellement, les classes thérapeutiques comme les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les anti-hyperlipoprotéïnémiques, les bêta-bloquants et autres antihypertenseurs ont été évalués pour leurs propriétés anti-oxydantes.

➤ Antioxydants naturels :

La vitamine C ou acide ascorbique :

C'est un puissant réducteur. Il joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E.

La vitamine E ou tocophérol :

Prévient la peroxydation des lipides membranaires *in vivo* en capturant les radicaux peroxy.

Le sélénium :

Les effets bénéfiques de cet oligo-élément sur l'organisme ne sont connus que depuis un quart de siècle. Il neutralise les métaux toxiques (plomb, mercure). Il aurait aussi une action préventive sur certains cancers.

Le β -carotène :

Outre l'activité pro vitaminique A, possède la capacité de capter l'oxygène singulet.

Les flavonoïdes :

Les relations structure-activités anti-oxydantes des flavonoïdes et des composés phénoliques ont montré que l'activité anti-oxydante était déterminée par la position et le degré d'hydroxylation.

Les tanins :

Ces tanins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation.

Les coumarines :

Ils sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes.

Les phénols :

Les acides phénoliques, comme l'acide rosmarinique, sont fortement antioxydants et anti-inflammatoires et peuvent avoir des propriétés antivirales (**Diallo, 2005**).

III.11. Mécanismes d'actions des antioxydants :

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

VI. LES SOUCHES MICROBIENNES UTILISEES :

VI.1.Effet antimicrobien :

Ces dernières années, il y a eu un grand intérêt pour la découverte de nouveaux agents antimicrobiens, due à une augmentation alarmante du taux des infections avec les micro-organismes résistant aux antibiotiques.

Une des approches courantes pour la recherche des substances biologiquement actives est le criblage systématique des micro-organismes ou les plantes, qui sont des sources de beaucoup d'agents thérapeutiques utiles.

En particulier, l'activité antimicrobienne d'huiles et des extraits de plantes ont formé la base de beaucoup d'applications, y compris, pharmaceutiques, médecine, thérapie naturelle et la conservation des aliments (**Sagdic et al., 2002**).

Le premier rapport des propriétés antimicrobiennes des épices est apparu en 1880 dont lequel les activités de la moutarde, clou de girofle et de la cannelle et leurs huiles ont été décrites (**Prasad et Seenayya, 2000**).

VI.2. Mécanisme d'effet antimicrobien des polyphénols :

Il est sans doute très complexe, peut impliquer multiples modes d'actions tels que : l'inhibition des enzymes extracellulaires microbiennes, la séquestration de substrat nécessaire à la croissance microbienne ou la chélation de métaux tels que le fer, l'inhibition du métabolisme microbien (**Milane, 2004**), dégradation de la paroi cellulaire, perturbation de la membrane cytoplasmique, se qui cause une fuite des composants cellulaires, l'influence de la synthèse de l'ADN et l'ARN (**Zhang et al., 2009**), des protéines des lipides, et la fonction mitochondriale (**Balentine et al.,2006**), ainsi que la formation des complexes avec la paroi (**Gangoué piéboji, 2007**).

Ces mécanismes ne sont pas des cibles séparées, certains peuvent être comme conséquence d'un autre mécanisme. Le mode d'action des agents antimicrobiens dépend également du type de micro-organismes et à l'arrangement de la membrane externe (**Shan et al., 2007**).

VI.3 .Caractéristiques des souches bactériennes utilisées :

***Staphylococcus aureus* :**

Les *staphylocoques* sont des cocci à gram positif qui tendent à se grouper en amas (Nauciel, 2000) irrégulier à la façon d'une grappe de raisin (Avril, 2000).

Staphylococcus aureus est un germe aérobic - anaérobic facultatif (Avril, 2000), doit son nom d'espèce à l'aspect pigmenté de ses colonies. Il tient une place très importante dans les infections communautaires et nosocomiales, possède une coagulase, ce qui le distingue de la plupart des autres espèces de *staphylocoques*.

La bactérie est très répandue chez l'homme et dans de nombreuses espèces animales. Chez l'homme, environ un tiers des sujets sont des porteurs sains qui hébergent la bactérie au niveau des muqueuses et des zones cutanées humides.

Il développe rapidement des résistances aux antibiotiques et les souches hospitalières ne sont souvent sensibles qu'aux glycopeptides (Nauciel, 2000).

***Pseudomona aeruginosa* :**

Le genre *pseudomonas* est fait de bacilles mobiles aérobies stricts, se cultive facilement sur les milieux usuels. *Pseudomona aeruginosa* (ou bacille pyocyanique) se caractérise par la pigmentation bleu-vert de ses colonies. (Nauciel, 2000).

C'est une bactérie ubiquiste qui vit normalement à l'état de saprophyte dans l'eau et le sol humide ou sur les végétaux. Cette bactérie peut vivre en commensale dans le tube digestif de l'homme et des divers animaux.

Considéré comme une bactérie pathogène opportuniste c'est le germe-type des infections hospitalières ou nosocomiales (Avril, 2000).

***Entérobactéries* :**

Constituent une famille de bactéries très importante comportant de nombreux genres subdivisés eux-mêmes en espèces. Ce sont des bacilles à gram négatif dont la plupart sont mobiles, grâce à des flagelles. Ils cultivent facilement sur les milieux usuels et sont aéro-anaérobies facultatifs.

Comme leur nom l'indique, les entérobactéries sont pour la plupart des bactéries qui colonisent l'intestin. En dehors du tube digestif, elles peuvent être transitoirement présents sur différentes parties du revêtement cutané-muqueux.

Les espèces les plus fréquemment rencontrées en pathologie humaine, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella* et *Yersinia*. Les autres bactéries de la famille des entérobactéries se comportent généralement comme des bactéries opportunistes souvent impliquées dans les infections nosocomiales, en particulier urinaires. Parmi elles, on peut mentionner les genres *Proteus*, *Klebsiella*, *Entérobacter*, *Serratia*, *Providencia*, *Morganella*, *Citrobacter*. La plupart de ces bactéries produisent des β -lactamases et sont résistantes à de nombreux antibiotiques.

***Escherichia coli* :**

C'est l'espèce dominante de la flore aérobie du tube digestif. *Escherichia coli* est habituellement une bactérie commensale. Elle peut devenir pathogène si les défenses de l'hôte se trouvent affaiblies ou si elle acquiert des facteurs de virulence particuliers (Nauciel, 2000). Le groupe *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, dit K.E.S, sont rassemblés des *enterobacteriaceae* qui ont en commun les caractères suivants :

- La réaction de Voges-Proskauer (VP) est généralement positive
- Ce sont des bactéries pathogènes
- Ces espèces sont souvent multi-résistantes aux antibiotiques (Avril, 2000).

***Streptococcus* :**

Les bactéries appartenant au genre *Streptococcus* sont des cocci à gram positif se disposant en chainettes plus ou moins longues, elles ont un métabolisme anaérobie, mais peuvent se cultiver en présence de l'air. Leur culture nécessite habituellement des milieux riches (Nauciel, 2000).

Les *Streptococcus* vivent à l'état commensal au niveau des téguments ou des muqueuses de l'homme ou des animaux (Avril, 2000).

Le genre *Streptococcus* comprend de nombreuses espèces dont l'habitat et le pouvoir pathogène peuvent différer considérablement. Plusieurs espèces tiennent une place très importante dans la pathologie infectieuse communautaire (Nauciel, 2000).

VI.4. Caractéristiques des souches fongiques utilisées :

Les champignons ou « mycètes » ou « fongiques » sont des organismes eucaryotes qui n'ont pas d'organisation tissulaire et la masse cytoplasmique est enfermée dans une structure pariétale rigide qui constitue le thalle ou mycélium.

Le thalle se présente plus souvent sous forme d'un système tubulaire, de filaments ramifiés et parfois anastomotiques, appelés « hyphes » on parle alors de champignons filamenteux.

Le thalle est parfois réduit à une structure simplifiée, unicellulaire, sphérique ou subshérique, uninucléée. Il n'y a pas formation d'un véritable mycélium, mais parfois d'un pseudomycélium par étirement des éléments cellulaires. Il s'agit dans ce cas d'un thalle dissocié on parle alors de champignons levuriformes ou levures.

Les champignons évoluent le plus souvent :

A l'humidité, en aérobiose, à une température optimale de 20 à 28 °C, certains sont dit thermophiles.

Certains champignons peuvent être :

Des agents de fermentations (ex : *Saccharomyces cerevisiae*), des producteurs de substances bénéfiques (ex : antibiotiques), de substances cancérigènes (ex : aflatoxine d'*aspergillus flavus*), de substances toxiques (ex : champignons macroscopiques vénéneux), utilisés en génie génétique pour la fabrication (vaccins Hépatite B) ou la synthèse (Insuline) de produits biologiques.

Candidose :

Les plus fréquentes des levures provoquent des affections cosmopolites atteignant la peau, les ongles, les cavités naturelles et les divers viscères par hémodyssémination **(Moulinier, 2003)**.

Selon la littérature, la recherche des produits naturels actifs contre les espèces de *Candida* a accrue sensiblement en 10 dernières années, approximativement la recherche était sur 258 espèces de plantes, appartenant à 94 familles **(Duarte et al., 2005)**.

***Candida albicans* :**

Levure non pigmentée, non capsulée, à bourgeonnement multiple et formant un pseudo-mycélium et du mycélium vrai. Saprophyte endogène de la lumière intestinale humaine et des cavités génitales par contiguïté (femme).

***Aspergillus* sp :**

Ils sont saprophytes de matières organiques en décomposition. Ce sont des contaminateurs fréquents. En effet, les spores sont véhiculées dans l'espace aérien avec les poussières. Certains d'entre eux sont thermotolérants **(Moulinier, 2003)**.

VI.5. Antibiotiques β - lactamines :

Les β -lactamines représentent la principale famille des antibiotiques la plus développée et la plus utilisée dans le monde entier. Cette large utilisation est due à leur large spectre d'action, leur faible toxicité, leur efficacité et leur faible coût (**Gangoué piéboji, 2007**).

Il existe de nombreuses variétés de β - lactamines qui se distinguent par leur spectre d'activité et leurs propriétés pharmacologiques

- Penicillines
- Céphalosporines
- Autres β - lactamines (monobactames, carbapénème)

Les céphalosporines de la 1^{ère} génération ont un niveau d'activité assez limité vis-à-vis des bacilles à gram négatif, en raison de leur sensibilité aux céphalosporinases.

Les céphalosporines de 2^{ème} et 3^{ème} génération sont beaucoup plus actives. Les céphalosporines les plus récentes dites parfois de 4^{ème} génération se montrent plus actives vis-à-vis des souches productrices de céphalosporinases (**Avril, 2000**).

VI.6. Mécanismes de résistances aux β -lactamines :

Les bactéries ont développé différents mécanismes pour contrecarrer l'action des β -lactamines :

- entre autre la modification de la cible (protéines liants les pénicillines) qui les rend moins sensibles au β -lactamines ;
- la synthèse des enzymes qui inactivent les β - lactamines ;
- l'acquisition ou la surproduction des pompes efflux qui peuvent expulser l'antibiotique hors de la cellule même contre le gradient de concentration ;
- La modification des porines chez les bactéries gram négatif, ayant pour résultat une diffusion lente des β - lactamines à travers la membrane externe (**Gangoué piéboji, 2007**).

Deuxième partie
Etude expérimentale

Deuxième partie
Etude expérimentale

Chapitre I

Matériel et méthodes

I.1. Matériel végétal :

Le matériel végétal est constitué de feuilles sèches de romarin et des graines de cumin, obtenus à partir des phytothérapeutes de la wilaya de Batna.

I.2. Etude chimique :

I.2.1. Détermination de la teneur en eau :

La méthode utilisée est la méthode de dessiccation par évaporation (**Audigie et al., 1978**).

✓ **Principe :**

Selon (**Audigie et al., 1978**) on procède à une dessiccation du produit à une température de $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ dans une étuve jusqu'à masse constante. La teneur en eau est définie comme la perte de masse subie dans les conditions de la mesure.

✓ **Expression des résultats :**

La détermination de la teneur en eau se fait par le calcul de la différence de poids selon la formule suivante :

$$\text{Teneur en eau (H\%)} = ((M_i - M_f) / P) * 100$$

Où :

H% : Teneur en eau ou humidité ;

M_i : Masse initiale (avant dessiccation) ;

M_f : Masse finale (après dessiccation) ;

P : Masse de la prise d'essai ;

La teneur en matière sèche est calculée selon la relation suivante :

$$\text{Matière sèche (MS\%)} = 100 - \text{H\%}$$

I.2.2. Détermination des taux de cendres :

La méthode utilisée est la méthode de minéralisation par calcination (**Laurent, 1991**).

✓ **Principe :**

C'est la méthode la plus simple, elle consiste à un passage au four à une température de 400 à 600 °C jusqu'à destruction totale de toute particule carbonneuse (**Laurent, 1991**).

✓ **Expression des résultats :**

La détermination de la teneur en matière organique se fait par le calcul de la différence de poids selon la formule suivante :

$$\text{Teneur en matière organique (MO\%)} = ((M_i - M_f) / P) * 100$$

Où :

MO% : Teneur en matière organique ;

M_i : Masse initiale (avant calcination) ;

M_f : Masse finale (après calcination) ;

P : Masse de la prise d'essai ;

Le taux des cendres est calculé selon la relation suivante :

$$\text{Taux de cendres (C\%)} = 100 - \text{MO\%}$$

I.2.3. Extraction :

L'extraction a été réalisée au niveau des laboratoires de chimie de l'université Mentouri « Constantine ».

L'extraction des flavonoïdes est réalisée selon le schéma présenté par Lebreton (1967) modifié par Boutard (1972), Gonnet (1973) et Jay (1975) cité par (Elâgoun, 2003).

I.2.3.1 Préparation de l'extrait brut :

Les feuilles du romarin ainsi que les graines de cumin sont mises à macérer pendant une nuit à température ambiante, dans un mélange méthanol-eau (7:3 V/V) qui est porté à ébullition, le tout par la suite est filtré sur papier Whatman, l'extraction est refaite plusieurs fois avec renouvellement du solvant. Le solvant est éliminé du filtrat par évaporation rotative dans un rotavapor (BÜCHI).

I.2.3.2. Fractionnement de l'extrait brut :

L'extrait brut est mélangé avec de l'eau distillée bouillante et laissé à température ambiante pendant 24 heures. Après filtration, l'extrait brut est épuisé successivement par 2 solvants (l'acétate d'éthyle et le n- butanol).

L'extrait brut est initialement mélangé avec l'acétate d'éthyle, le mélange est laissé décanter et la phase organique supérieure est récupérée. L'extraction est refaite plusieurs fois jusqu'à ce que le solvant devient transparent. L'acétate d'éthyle est par la suite évaporé et l'extrait résultant est considéré comme étant la fraction d'acétate d'éthyle.

La phase aqueuse résiduelle est soumise à une autre extraction liquide-liquide par le n-butanol, en suivant les mêmes étapes que la première extraction. La Figure 9, résume les étapes de fractionnement de l'extrait brut.

La série d'extraction permet d'obtenir quatre fractions ; l'extrait brut hydro-méthanolique (EBr), la fraction d'acétate d'éthyle (EAcOEt), la fraction du n-butanol (En-BuOH), et la fraction aqueuse (EAq) résiduelle. Les extraits sont conservés jusqu'à utilisation.

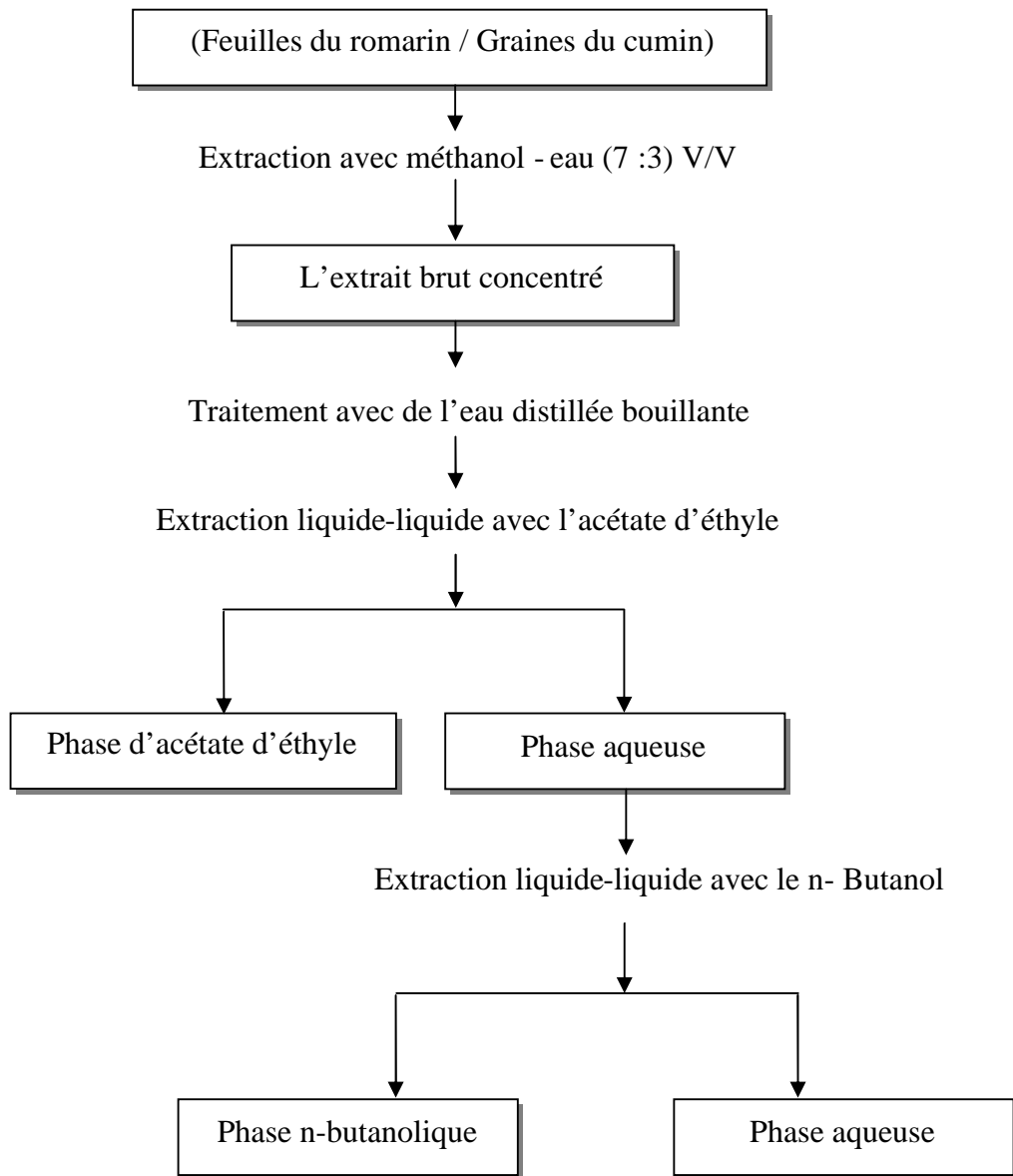


Figure.9. Les étapes d'extraction
(Elâgoun, 2003).

I.2.4. Dosage des polyphénols :

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique Folin-Ciocalteu selon la méthode citée par (Wong *et al.*, 2006).

✓ **Principe :**

La teneur phénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec le spectrophotomètre UV-Vis en utilisant l'essai de Folin-Denis ou généralement Folin-Ciocalteu. Ces essais sont basés principalement sur la réduction du réactif acide phosphotungstique phosphomolybdique (réactif de Folin) dans une solution alcaline (Vuorela, 2005).

Brièvement 200µl de chaque extrait (dissous dans le méthanol) ont été ajoutés à 1ml de réactif de Folin-Ciocalteu 10 fois dilué. Les solutions ont été mélangées et incubées pendant 4 minutes.

Après l'incubation 800 µl de la solution de carbonate de sodium Na_2CO_3 (75g /l) a été ajoutée. Le mélange final a été secoué et puis incubé pendant 2 heures dans l'obscurité à température ambiante. L'absorbance de tous les extraits a été mesurée par un spectrophotomètre (VIS BECKMAN Modèle 34) à 765 nm.

✓ **Expression des résultats :**

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, établie avec le standard étalon l'acide gallique (5-200 µg/ml) et exprimée en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg).

I.2.5. Dosage des flavonoïdes :

I.2.5.1. Test préliminaire :(La réaction de Shibata)

➤ **Principe :**

La présence ou l'absence des flavonoïdes dans un extrait peut être mise en évidence par un test simple et rapide au magnésium.

Ce test consiste à mettre 2 ml de chaque extrait dans un tube, d'ajouter quelques fragments de magnésium et quelques gouttes d'HCl.

➤ **Expression des résultats :**

La présence des flavonoïdes aglycones dans les extraits est indiquée par le virement de la couleur vers l'orange ou le rouge brique (Ciulei, 1982).

I.2.5.2. Dosage colorimétrique :

La méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) citée par (Djeridane *et al.*, 2006) et (Boudiaf, 2006) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits.

➤ **Principe :**

1 ml de chaque extrait et du standard (dissous dans le méthanol) avec les dilutions convenables a été ajouté à un volume égal d'une solution d' AlCl_3 (2% dans le méthanol).

Le mélange a été vigoureusement agité et l'absorbance à 430 nm a été lue après 10 minutes d'incubation.

➤ **Expression des résultats :**

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = a x + b$) réalisée par un standard étalon "la quercétine" à différentes concentrations (1.75-40 $\mu\text{g/ml}$) dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EQ/mg}$).

I.2.6. Analyse qualitative par HPLC :

L'analyse est réalisée par un HPLC (VP SHIMADZU LIQUID CHROMATOGRAPH) au niveau du laboratoire de la faculté de sciences - Université El Hadj lakhdar - « Batna ».

Le besoin de savoir les profils et d'identifier les composés individuels dans les échantillons exige le remplacement des méthodes traditionnelles par des techniques séparatives. L'HPLC est sans doute la technique analytique la plus utile pour caractériser les composés polyphénoliques (Gomez-Caravaca *et al.*, 2006).

✓ **Principe :**

20 μl de chaque extrait ont été injectés sur une colonne de type phase inverse C18, de dimensions égales à 125 x 4.6 mm. La phase mobile est constituée de trois éluants : l'eau distillée, méthanol, acide acétique (50 : 47 : 2.5) (V / V / V). Le gradient d'éluant appliqué est de type isocratique étalé sur 10 min. Le débit est de 1 ml / min (Amarowicz *et al.*, 2005).

La détection a été effectuée par un détecteur UV-Vis à une longueur d'onde égale 254 nm.

✓ **Expression des résultats :**

Les flavonoïdes contenus dans chaque extrait analysé ont été identifiés par la comparaison des temps de rétention obtenus par ceux des témoins.

I.3. Activité biologique :

I.3.1. Activité anti-oxydante :

I.3.1.1. Test de blanchissement du β - Carotène :

Dans cette analyse la capacité anti-oxydante est déterminée par la mesure de l'inhibition des composés organiques volatils et les hydroperoxydes conjugués diène résultant de l'oxydation de l'acide linoléique (**Tepe et al., 2006**), qui attaquent simultanément le β -carotène et ayant comme résultat le blanchissement du β -carotène et la disparition de sa couleur jaune (**Deba, 2008**).

➤ **Principe :**

Premièrement 2 mg de β - carotène ont été dissous dans 1 ml de chloroforme. La solution du β -carotène-chloroforme a été introduite dans un ballon contenant 2 mg d'acide linoléique et 200 mg de Tween 40. Le chloroforme a été éliminé en utilisant un bain marie.

Ensuite 100 ml de l'eau distillée saturée en oxygène ont été ajoutées lentement avec agitation vigoureuse. 2.5 ml de cette nouvelle solution sont transférées dans des tubes et 350 μ l de chaque extrait (2g/l dans le méthanol) et du témoin BHT sont ajoutées.

L'absorbance a été immédiatement mesuré seulement pour le BHT à 490 nm. Autres lectures sont mesurées à différents intervalles de temps (2h, 4h, 6h, 12h, et 48h) (**Kartal et al., 2007**), (**Tepe et al., 2006**).

➤ **Expressions des résultats :**

L'activité anti-oxydante des extraits est comparée avec celles du témoin et du control négatif.

L'activité anti-oxydante relative après 48 heures est calculée selon la relation suivante :

$$\text{AAR} = (\text{Abs}_{\text{Echantillon}} / \text{Abs}_{\text{BHT}}) \times 100$$

Où :

AAR : Activité anti-oxydante relative ;

Abs_{Echantillon} : Absorbance de l'échantillon après 48 heures ;

Abs_{BHT} : Absorbance du BHT après 48 heures ;

I.3.1.2. Test au DPPH :

L'activité du balayage des radicaux libres a été mesurée en employant le radical libre stable DPPH (C₁₈H₁₂N₅O₆) qui est l'un des essais principaux employés pour explorer l'utilisation des extraits d'herbes comme antioxydants (Markowicz Bastos *et al.*, 2007).

➤ Principe :

En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH (2,2 diphenyl 1 picryl hydrazyl) (Fig.10) de couleur violette se réduit en 2,2 diphenyl 1 picryl hydrazine de couleur jaune. (Maataoui *et al.*, 2006).

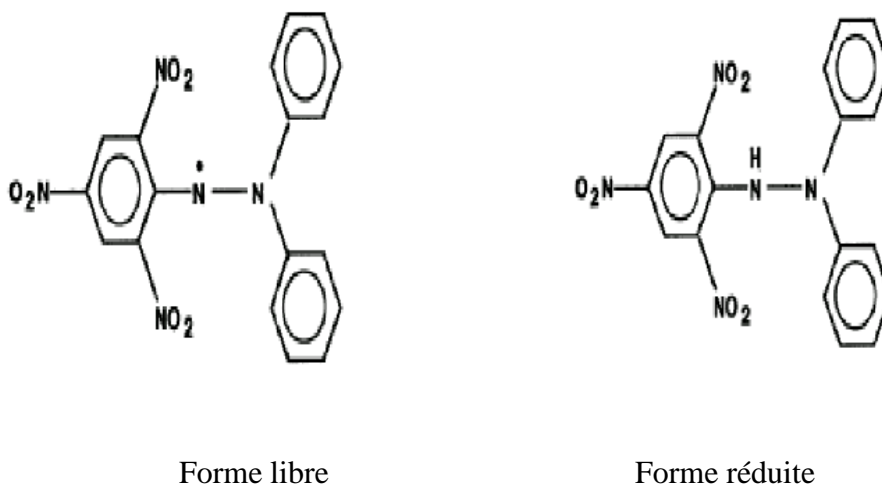
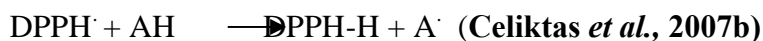


Figure.10. Forme libre et réduite du DPPH (Mohammedi, 2006)

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



L'Activité du balayage du radical DPPH a été mesurée selon le protocole décrit par (Lopes-Lutz *et al.*, 2008).

Le DPPH est solubilisé dans le méthanol pour avoir une solution de 0,3 mM. Dans des tubes on introduit 2,5 ml de chaque extrait (0.1mg/ml dans le méthanol) et on ajoute 1ml de la solution méthanolique au DPPH. Après agitation par un vortex, les tubes sont placés à l'obscurité à température ambiante pendant 30 minutes. La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm.

Le contrôle négatif est composé de 1 ml de la solution méthanolique au DPPH et de 2.5 ml de méthanol. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard le BHT.

➤ **L'expression des résultats :**

En présence d'un antioxydant la force d'absorption est diminuée et la décoloration résultante est stœchiométrique en ce qui concerne le nombre d'électrons captés (**Markowicz Bastos et al., 2007**).

Les résultats peuvent être exprimés en tant que l'activité anti-radicalaire où l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (I %) en utilisant la formule suivante :

$$\% = [1 - (\text{Abs}_{\text{Echantillon}} - \text{Abs}_{\text{Control négatif}})] \times 100$$

Où

% : Pourcentage de l'activité anti-radicalaire ;

Abs_{Echantillon} : Absorbance de l'échantillon ;

Abs_{Control négatif} : Absorbance du control négatif ;

I.3.2. Activité antimicrobienne :

I.3.2.1. Activité antibactérienne :

Ce test est réalisé au niveau du laboratoire de microbiologie « C.H.U Batna ».

L'activité antibactérienne des extraits a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé standardisée par (NCLLS) cité par (**Celiktas et al., 2007a**).

NCCLS :(National committee for clinical laboratory standards)

I.3.2.1.1. Souches bactériennes :

8 souches bactériennes ont été testées :

- 3 souches de références : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- 5 souches issues à partir des prélèvements (pus) de malades :

2 souches d'*Enterobacter* sp, *Serratia* sp, *Klebsiella pneumoniae* et *Streptocoque* sp.

Le tableau.1 résume les caractéristiques les plus importantes des bactéries utilisées et leur profil de sensibilité (Rahal, 2005)

Tableau .1. Caractéristiques des bactéries utilisées

Les bactéries utilisées	Caractéristiques des bactéries		
	Selon l'exigence	Selon Gram	Selon le profil de sensibilité vis-à-vis les antibiotiques
<i>Escherichia coli</i> ATCC	Bactéries non exigeantes	Gram -	Souches de références
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC		Gram -	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC		Gram +	
<i>Entérobacter</i> sp		Gram -	Souches BLSE+CHN
<i>Klebseila pneumoniae</i>		Gram -	Souches BLSE
<i>Entérobacter</i> sp		Gram -	Souche d'une résistance sensible vis-à-vis la Cefotaxime
<i>Serratia</i> sp		Gram -	Souche d'une résistance intermédiaire vis-à-vis la Cefotaxime
<i>Streptocoque</i> sp	Bactéries exigeantes	Gram +	Souche d'une résistance intermédiaire vis-à-vis la Vancomycine

ATCC : American type culture collection ;

BLSE : Béta lactamases à spectre élargi ;

CHN : Céphalosporinases à haut niveau ;

I.3.2.1.2. Milieux de culture :

Selon les souches, nous avons utilisé comme milieux de culture les milieux suivants :

- ✓ Gélose Nutritive et Gélose Mueller Hinton pour les bactéries non exigeantes ;
- ✓ Gélose Mueller Hinton qui contient 5% sang du cheval pour les bactéries exigeantes ;

I.3.2.1.3. Préparation des solutions :

Les extraits ont été repris avec le Dimethyl sulfoxyde (DMSO). Des dilutions en série de 1/2 à 1/16 ont été ensuite réalisées pour obtenir des concentrations de 500 à 62.5mg/ ml.

I.3.2.1.4. Méthode de diffusion en milieu gélosé :

✓ Principe :

Préparation de l'inoculum bactérien :

Chaque souche a été ensemencée en stries sur une gélose non inhibitrice (gélose nutritive et gélose Mueller Hinton au sang) pour obtenir des colonies isolées. Après incubation de 24 heures à 37 °C, on a choisi 4 à 5 colonies bien isolées avec une anse de platine et les transférer dans un tube de solution d'eau distillée stérile afin d'avoir une densité cellulaire initiale ou une turbidité voisine à celle de McFarland 0,5 (10^6 UFC/ml). Cette comparaison est mesurée à l'aide d'un densitomètre.

Ensemencement :

Dans les 15minutes suivant l'ajustement de la turbidité de la suspension servant d'inoculum, on a trempé un écouvillon dans la suspension et on a étalé la surface entière de la gélose (Gélose Mueller Hinton et gélose Mueller Hinton au sang) à trois reprises , en tournant la boîte à environ 60° après chaque application dont le but d'avoir une distribution égale de l'inoculum . Enfin, on a écouvillonné partout autour du bord de la surface de la gélose.

Incubation :

Les disques stériles imprégnés des concentrations croissantes d'extraits à raison de 10 µl par disque (**Ngameni *et al.*, 2009**), ont été déposés stérilement à l'aide d'une pince sur la surface de la gélose.

Des témoins imbibés seulement par le DMSO ont été réalisés. Les boîtes ont été incubées 24 h à 37 °C en atmosphère normale pour les bactéries non exigeantes et dans une atmosphère contenant 5% de CO₂ pour les bactéries exigeantes pour le développement du germe en question.

✓ Expression des résultats :

L'activité antibactérienne a été déterminée en mesurant à l'aide d'une règle le diamètre de la zone d'inhibition, déterminé par les différentes concentrations des différents extraits autour des disques.

I.3.2.2. Activité antifongique :

Ce test est réalisé au niveau du laboratoire de parasitologie et de mycologie « C.H.U Batna ».

L'activité antifongique des extraits a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé cité par (Sacchetti *et al.*, 2005) et (Rasooli *et al.*, 2008).

I.3.2.2.1. Souches fongiques :

Les souches fongiques sont issues à partir des prélèvements de malades (selles, langue, oreille).

Levures : 2 souches : *Candida albicans* et *Candida Kefyr*.

Champignon : *Aspergillus niger*.

I.3.2.2.2. Milieux de culture :

Selon les souches, nous avons utilisé les milieux de culture suivants :

- ✓ Gélose Sabouraud avec Chloramphénicol + Actidione.
- ✓ Gélose Sabouraud.

I.3.2.2.3. Préparation des solutions :

Les extraits ont été repris avec le DMSO. Des dilutions en série de 1/2 à 1/16 ont été ensuite réalisées pour obtenir des concentrations de 500 à 62.5 mg/ml.

I.3.2.2.4. Méthode de diffusion en milieu gélosé :

✓ Principe :

Les cultures-mère ont été développées sur une gélose approprié (Sabouraud avec chloramphénicol et l'actidione), afin d'inhiber la croissance des éléments de la flore bactérienne contaminante et d'atteindre la phase stationnaire de la croissance.

Les disques stériles imprégnés de différentes concentrations d'extraits à raison de 10 µl par disque, ont été déposés stérilement sur la gélose Sabouraud, ensemencé au préalable par la suspension microbienne (10^6 spores/ml).

Pour le champignon la gélose sabouraud est inoculée par cette suspension.

Les levures ont été incubées 48 h à 37 °C, tandis que le champignon a été incubé 10 jours à 27 °C en atmosphère normale.

Des témoins imbibés par le DMSO ont été réalisés :

✓ **Expression des résultats :**

L'activité antifongique a été déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition, déterminé par les différentes concentrations des différents extraits.

I.4. Etude statistique:

L'étude statistique a été réalisée par le logiciel statistique GraphPad Prism.

Toutes les expériences ont été réalisées en triple, Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SD. Les résultats sont analysés par le test Anova univariée suivie du test Dunnet /Tukey pour les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification. Les valeurs de $p \leq 0.05$ sont considérées statistiquement significatives.

Chapitre II

Résultats et discussion

II.1. Teneur en eau et taux de cendres :

Les résultats obtenus suite à une dessiccation et à une calcination sont représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau.2. Teneur en eau et taux de cendres.

Plantes	Teneur en eau (%)	Taux de cendres (%)
Les graines du cumin	10.83 ± 0.40	3.67 ± 0.26
Les feuilles fraîches du romarin	67.00 ± 0.89	4.00 ± 0.00

Les valeurs sont les moyennes ± SD de six mesures.

La teneur en eau de nos échantillons est de l'ordre de : 10.83% pour le cumin et 67.00 % pour le romarin.

La teneur en eau du cumin est rapprochée de celle obtenu par **Banerjee et Sarkar en 2003** ($9.46 \pm 0.96\%$) et **Kandlakunta et al., en 2008** (11.6%).

Une différence est constatée avec les résultats de (**Shahnaz et al., 2004**) qui ont trouvé 4.87%.

Albu et ses collaborateurs, (2004) ont trouvé une teneur en eau de 40% dans les feuilles fraîches du romarin, cette teneur diffère de façon remarquable avec nos résultats.

Nous remarquerons, toute fois que les deux plantes ont présenté relativement le même taux de cendres.

Le taux de cendres des graines du cumin est similaire à celui trouvé par (**Shahnaz et al., 2004**) (3.98%) et représente presque la moitié par rapport à celui trouvé par (**Sowbhagya et al., 2007**) 6 %. Selon (**Laurant, 1991**) cette différence pourrait s'expliquer par la présence de la silice, ce qui gêne la calcination engendrant un taux de cendres élevé.

Les travaux élaborés par (**Arslan et al., 2007**) et (**Al-Bataina et al., 2003**) indiquent que ces deux plantes sont un potentiel d'éléments minéraux.

Les variations rencontrées dans la teneur en eau et le taux de cendres de nos échantillons comparés à certains travaux antérieurs, peuvent être dues à certains facteurs écologiques, l'âge de la plante, la période du cycle végétatif, ou même à des facteurs génétiques.

II.2. Teneur en polyphénols :

La méthode d'extraction doit permettre l'extraction complète des composés d'intérêt et doit éviter leur modification chimique. L'eau, les mélanges aqueux de l'éthanol, du méthanol et de l'acétone sont généralement utilisés pour l'extraction (Turkmen *et al.*, 2007).

La solubilité des composés phénoliques est en fonction de leur degré de polymérisation, l'interaction avec les autres constituants et le type de solvant utilisé.

Le méthanol a été recommandé et fréquemment employé pour l'extraction des composés phénoliques (Falleh *et al.*, 2008). Le méthanol aqueux 70% est deux fois plus efficace que le méthanol pur, pour l'extraction des composés phénoliques de graine de colza (Vuorela, 2005).

La teneur en polyphénols a été estimée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu. C'est l'une des méthodes les plus anciennes conçue pour déterminer la teneur en polyphénols, des plantes médicinales et les nourritures (Abdel-Hameed, 2009).

L'acide gallique est le standard (Figure.11) le plus souvent employé dans la méthode de Folin-Ciocalteu (Maisuthisakul *et al.*, 2008).

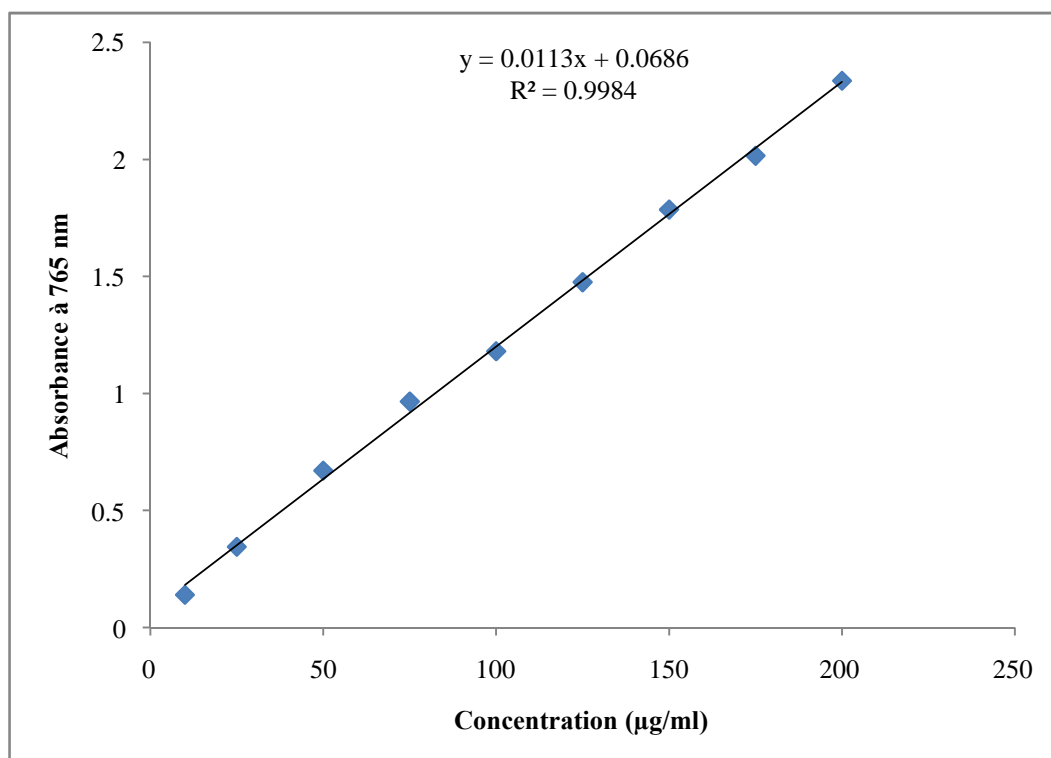


Figure.11. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (moyenne \pm SD de trois mesures).

Généralement, toutes les plantes de la famille des *Lamiacée* sont connues pour leurs composés phénoliques (**Gortzi et al., 2007, Fecka et al., 2008**)

Toutes les plantes de la famille *Ombellifères* étudiées par (**Wojdylo et al., 2007**) présentent une teneur très basse en polyphénols.

Ceci est en accordance avec nos résultats présentés dans le tableau.3 et 4.

Tableau.3. Teneur en polyphénols des extraits du cumin.

Extrait	Teneur en polyphénols ^(a)
EBr	28.99 ± 1.67
EAcOEt	19.39 ± 1.89
En-BuOH	595.45 ± 4.54

(a) mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait.
Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ± SD.

Tableau.4. Teneur en polyphénols des extraits du romarin.

Extrait	Teneur en polyphénols ^(a)
EBr	195.45 ± 4.16
EAcOEt	541.82 ± 3.15
En-BuOH	539.39 ± 5.25

(a) mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait.
Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ± SD.

Les teneurs en polyphénols montrent que l'extrait brut du romarin (EBr) contient 195.45 ± 4.16 mg EAG/g et que les deux autres fractions présentent presque la même quantité, une teneur de 541.82 ± 3.15 mg EAG/g pour la fraction AcOEt et une teneur de 539.39 ± 5.25 mg EAG/g pour la fraction n-BuOH.

Concernant le cumin les résultats révèlent que l'extrait brut contient 28.99 ± 1.67 mg EAG/g et que la fraction n-BuOH était plus riche en polyphénols avec une teneur de 595.45 ± 4.54 mg EAG/g par rapport à la fraction AcOEt qui contient 19.39 ± 1.89 mg EAG/g.

La teneur d'EBr du romarin est si proche à celle de **Erkan et al., (2008)** : 162 mg GAE/g et **Ho et al., (2008)** : 127 ± 3 mg GAE /g, mais assez loin à celle de **Tsai et al., (2007)** : 58.1 ± 0.9 mg GAE/g et **Tawaha et al., (2007)** : 39.1 ± 3.6 mg GAE/g.

Pour le cumin la teneur d'EBr ne présente pas une similitude avec celle de **Ho et al., (2008)** : 75 ± 1 mg GAE /g.

Les résultats décalés résultent vraisemblablement de:

La faible spécificité du réactif de Folin-Ciocalteu est l'inconvénient principal du dosage colorimétrique. Le réactif est extrêmement sensible à la réduction de tout les groupes d'hydroxyles non seulement celles des composés phénoliques, mais également de certains sucres et de protéines etc. (**Vuorela, 2005 ; Gomez-Caravaca et al., 2006**).

Le solvant d'extraction emporte des substances non phénoliques comme les sucres, les protéines et les colorants qui peuvent interférer pendant toute évaluation phénolique (**Djeridane et al., 2006**). Le dosage par ce réactif donne donc une évaluation brute de tous les composés phénoliques d'un extrait. Il n'est pas spécifique aux polyphénols, mais beaucoup de composés peuvent réagir avec le réactif, donnant un taux phénolique apparent élevé (**Tawaha et al., 2007**).

La distribution des métabolites secondaires peut changer pendant le développement de la plante. Ceci peut être lié aux conditions climatiques dures (la température élevée, exposition solaire, sécheresse, salinité), qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols (**Falleh et al., 2008**).

En effet, la teneur phénolique d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (conditions climatiques, les pratiques culturelles, la maturité à la récolte et les conditions de stockage) (**Falleh et al., 2008 ; Podsedek, 2007**).

Perez et ses collaborateurs, (2007) ont montré l'effet du traitement de pré-extraction (irradiation ionisante) et du solvant d'extraction, sur la concentration des composés phénoliques totaux dans les extraits du romarin

Les résultats de (**Celiktas et al., 2007a**) s'étend de 34.1 à 119 mg GAE/g confirment que cette teneur montre des différences considérables, au cours des différents intervalles de l'année et même avec les conditions géographiques.

II.3. Teneur en flavonoïdes :

II.3.1. Test préliminaire :

On trouvera dans les tableaux ci-après les résultats du dosage préliminaire des flavonoïdes :

Tableau.5. Virement de la couleur des extraits du cumin.

Extrait	Couleur
EBr	Rouge brique clair
EAcOEt	Rouge brique très foncé
En-BuOH	Rouge brique foncé

Tableau.6. Virement de la couleur des extraits du romarin.

Extrait	Couleur
EBr	Rouge brique très clair
EAcOEt	Rouge brique clair
En-BuOH	Rouge brique très clair

Le test préliminaire a indiqué la présence des flavonoïdes aglycones dans les extraits des deux plantes.

Au Préalable, l'intensité de la couleur observée indique la richesse du cumin en flavonoïdes.

II.3.2. Dosage colorimétrique :

La raison principale pour la quelle on a choisi cette classe de polyphénols, réside dans le fait que les flavonoïdes constituent la classe polyphénolique la plus importante, avec plus de 5000 composés déjà décrits (**Gomez-Caravaca et al., 2006**).

Selon (**Elâgoun, 2003**) l'acétate d'éthyle est utilisé pour l'extraction des flavonoïdes aglycones ou flavonoïdes mono O- glycosides et partiellement di-O-glycosides, tandis que le n-butanol est utilisé pour l'extraction des flavonoïdes di-O-glycosides et tri-glycosides et C-glycosides.

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode d' AlCl_3 en utilisant comme standard la quercétine (Figure.12), les teneurs en flavonoïdes sont exprimées en $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait.

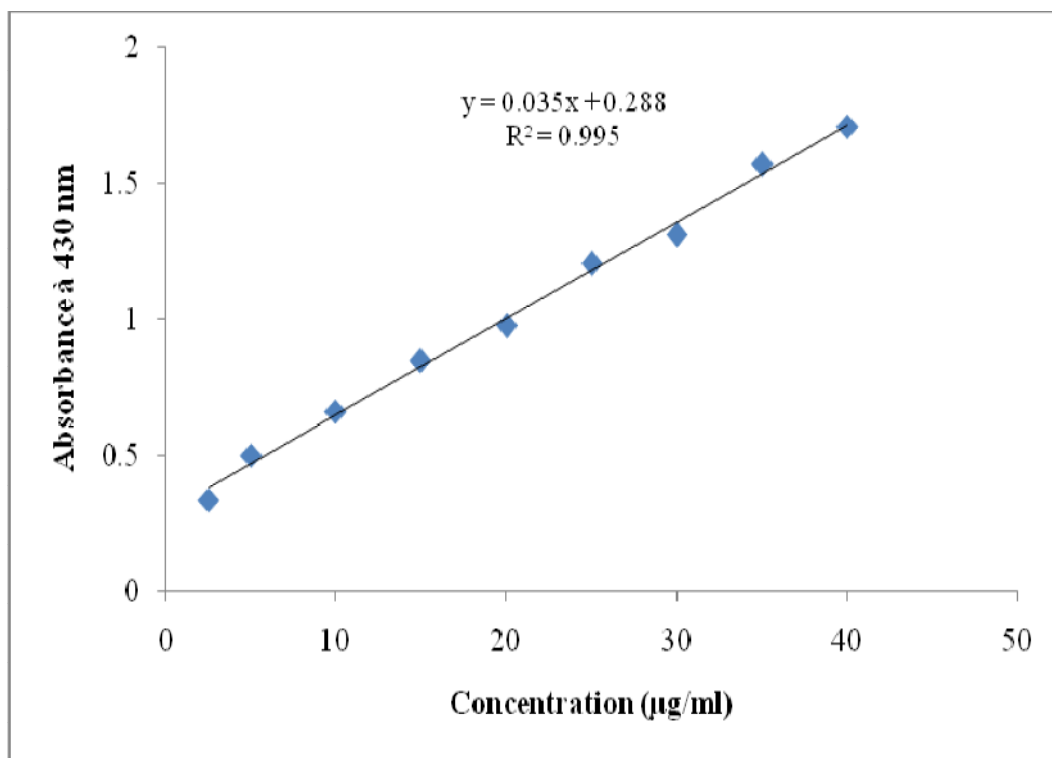


Figure.12. Courbe d'étalonnage de la quercétine (moyenne \pm SD de trois mesures).

Les résultats du dosage quantitatif des flavonoïdes (Tableau.7 et 8) révèlent que : L'EBr du romarin contient 2.06 ± 1.14 mg EQ/g, ses deux fractions représentent presque la même quantité avec une teneur de 21.39 ± 0.72 mg EQ/g pour la fraction AcOEt et 19.58 ± 2.75 mg EQ/g pour la fraction n-BuOH.

Par conséquent l'EBr du cumin contient 17.39 ± 2.71 mg EQ/g et la fraction AcOEt est plus riche avec une teneur de 54.21 ± 2.82 mg EQ/g par rapport à la fraction n -BuOH qui ne contient que 20.11 ± 5.80 mg EQ/g.

Tableau.7. Teneur en flavonoïdes des extraits du cumin.

Extrait	Teneur en flavonoïdes ^(b)
EBr	17.39 ± 2.71
EAcOEt	54.21 ± 2.82
En-BuOH	20.11 ± 5.80

(b) mg d'équivalent de la quercétine par gramme d'extrait.

Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures \pm SD.

Tableau.8. Teneur en flavonoïdes des extraits du romarin.

Extrait	Teneur en flavonoïdes ^(b)
EBr	2.06 ± 1.14
EAcOEt	21.39 ± 0.72
En-BuOH	19.58 ± 2.75

(b) mg d'équivalent de la quercétine par gramme d'extrait.
Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ± SD.

En tenant compte, de la sélectivité de chaque solvant utilisé pour le fractionnement on admet que le cumin est riche en aglycones et que le romarin contient la même quantité des flavonoïdes glycosylés et les aglycones.

D'après les résultats de **Ho et ses collaborateurs, (2008)** l'extrait méthanolique du cumin est riche en flavonoïdes (243.1 ± 0.00 mg EC/g (équivalent de la catéchine par gramme d'extrait)) et pauvre en polyphénols (75 ± 1 mg EAG/g), tandis que l'extrait du romarin est riche en polyphénols (127 ± 3 mg EAG/g) et pauvre en flavonoïdes (20.1 ± 1.30 mg EC/g).

Nous pouvons dire que nos résultats viennent corroborer ceux de **Ho**.

En outre, **Tsai et al., (2007)** ont également trouvé que l'extrait méthanolique du romarin contient 60.7 ± 1.1 mg EC/g. Les teneurs rapportées par **Ho** et **Tsai** sont très élevées par rapport à nos résultats, cette différence trouve probablement son explication dans la différence du standard utilisé pour le dosage des flavonoïdes.

Maisuthisakul et al., (2008) ont constaté que la teneur totale des flavonoïdes des extraits ethanoliqes de 28 plantes, est liée à la teneur des composés phénoliques totaux. De même nous avons trouvé que la teneur des flavonoïdes des extraits du romarin s'est corrélé significativement avec la teneur des polyphénols ($R^2 = 0.969$).

D'un autre coté, **Bilusic Vundac et ses collaborateurs, 2007** ont démontré une corrélation négative ($R = -0.26$) entre la teneur des polyphénols totaux de 7 espèces de *Stachys taxa* et celle des flavonoïdes.

Un coefficient de corrélation ($R^2 = 0.197$) exprime l'absence d'une corrélation entre la teneur des polyphénols et des flavonoïdes des extraits du cumin.

II.4. Analyse qualitative par HPLC :

Le méthanol utilisé pour l'extraction a un rôle protecteur. Il peut empêcher les composés phénoliques d'être oxydés par des enzymes, telles que des phénoloxydases.

La colonne utilisée pour séparer les composés phénoliques est exclusivement à phase inverse. Ce système est une haute technique de résolution chromatographique largement répandue, pour la séparation et la quantification simultanée des substances phénoliques (Proestos *et al.*, 2006).

Les chromatogrammes d'HPLC des standards et des différents extraits sont représentés ci-dessous.

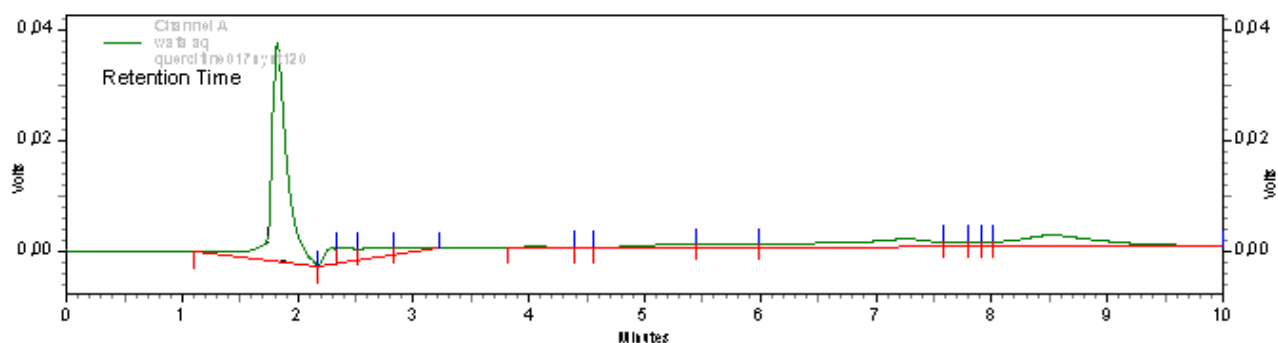


Figure.13. Chromatogramme d'HPLC de la quercétine enregistré à 254 nm.

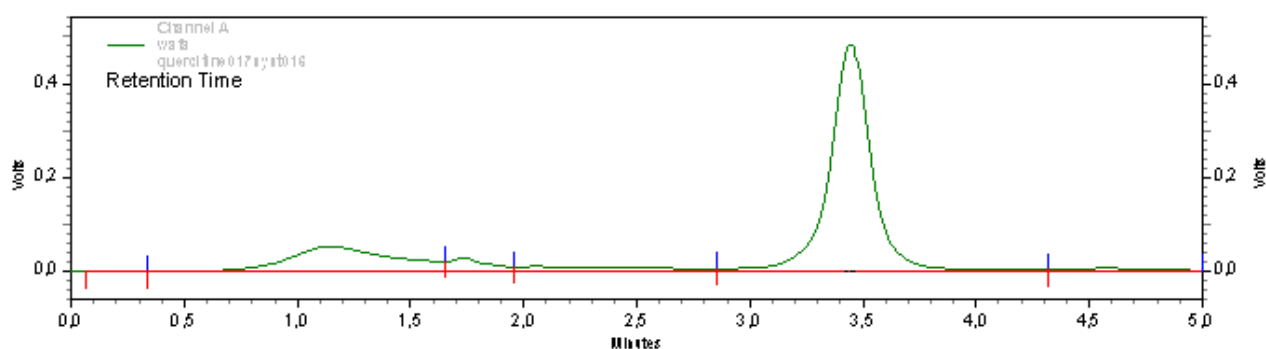


Figure.14. Chromatogramme d'HPLC de la rutine enregistré à 254 nm.

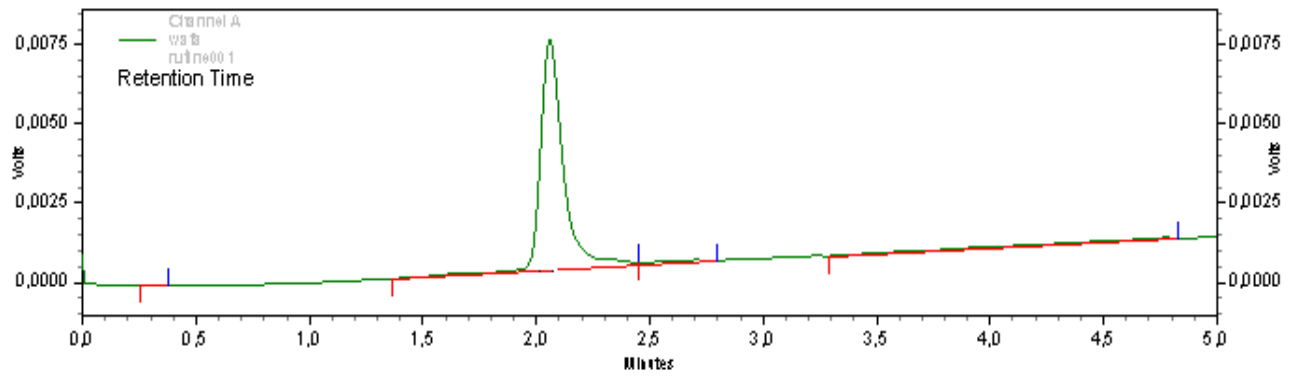


Figure.15. Chromatogramme d'HPLC de la catéchine enregistré à 254 nm.

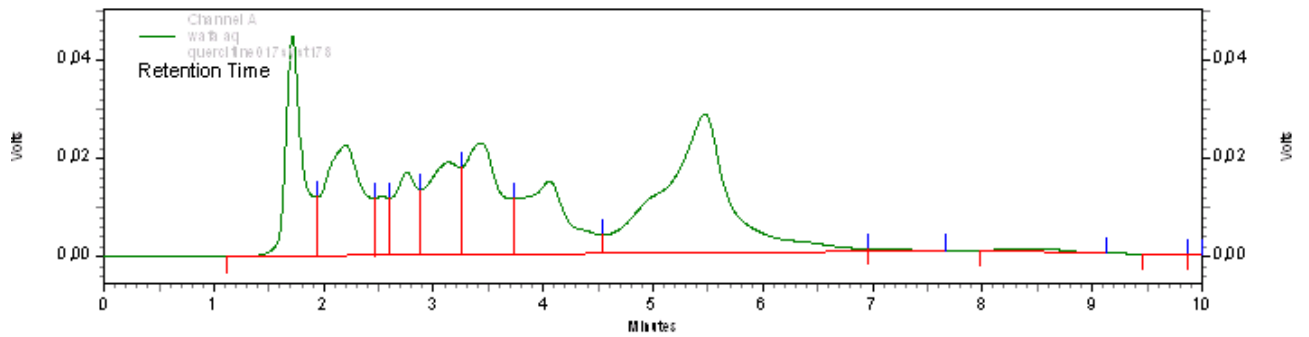


Figure.16. Chromatogramme d'HPLC d'EBr du cumin enregistré à 254 nm.

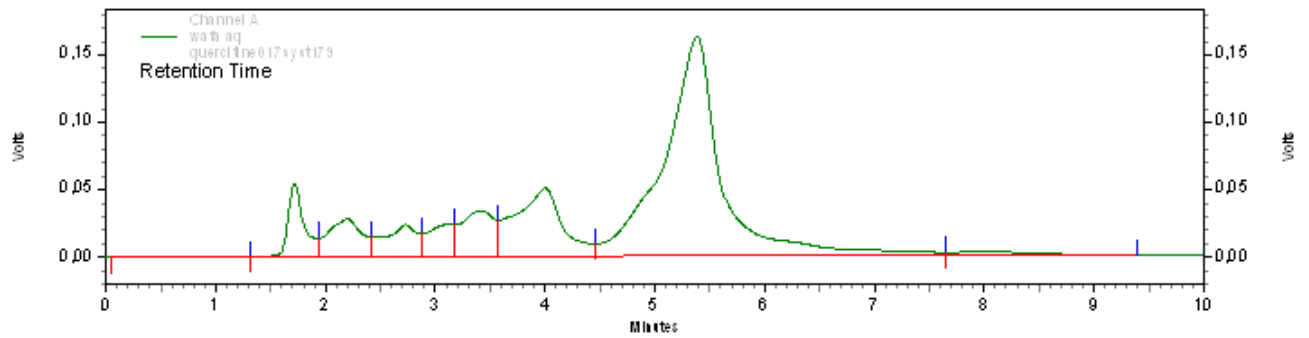


Figure.17. Chromatogramme d'HPLC d'EAcOEt du cumin enregistré à 254 nm.

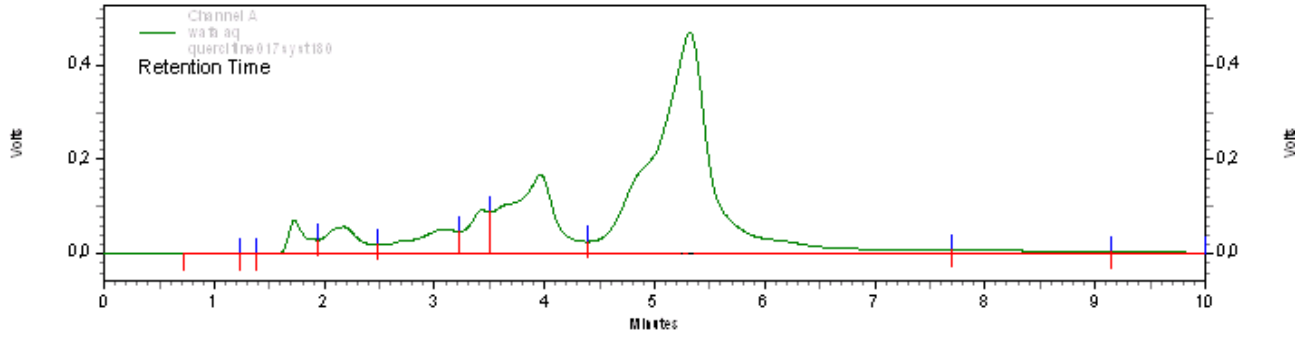


Figure.18. Chromatogramme d'HPLC d'En-BuOH du cumin enregistré à 254 nm.

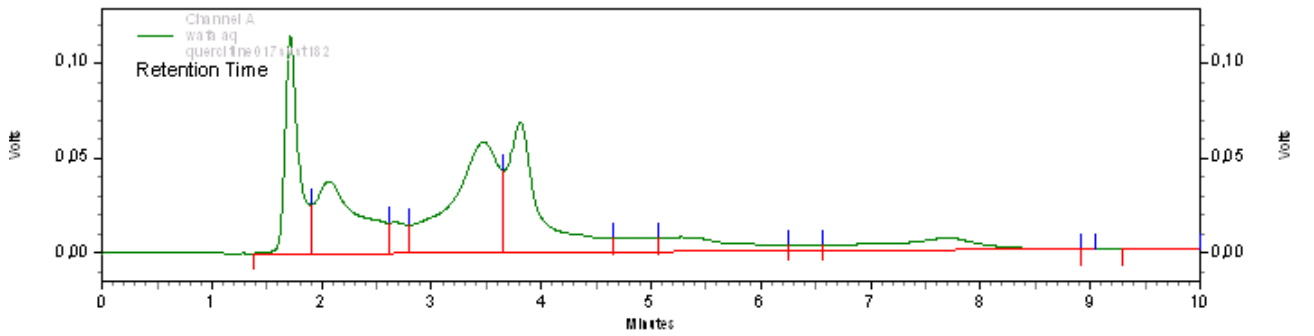


Figure.19. Chromatogramme d'HPLC d'EBr du romarin enregistré à 254 nm.

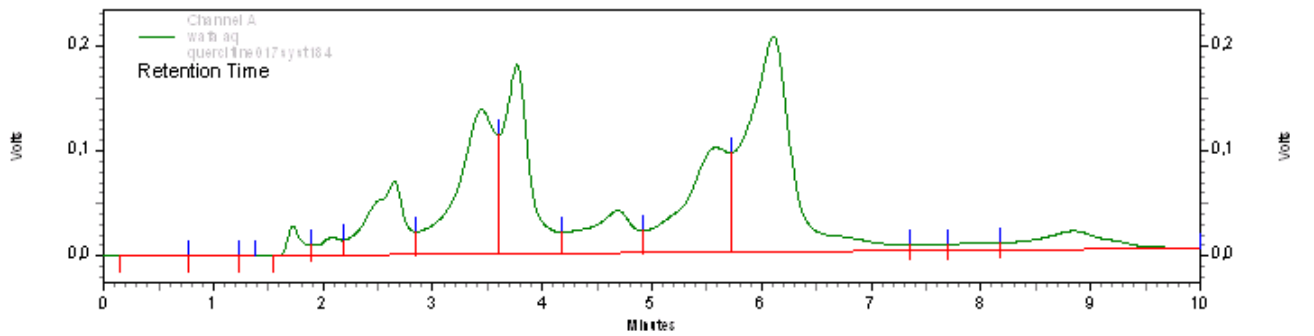


Figure.20. Chromatogramme d'HPLC d'EAcOEt du romarin enregistré à 254 nm.

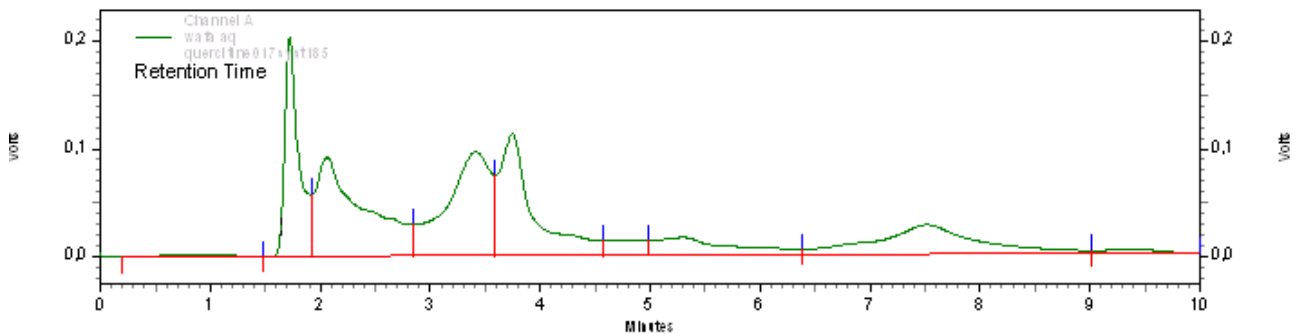


Figure.21. Chromatogramme d'HPLC d'En-BuOH du romarin enregistré à 254 nm.

La comparaison des temps de rétention (Tableau.9) des standards avec ceux enregistrés dans les différents chromatogrammes (Tableau.10 et 11), permet l'identification probable de certains flavonoïdes dans nos extraits (**Merken *et al.*, 2000**).

Tableau.9. Temps de rétention des flavonoïdes standards.

Temps de rétention (min)	Le flavonoïde Standard
1.8	Quercétine
3.4	Rutine
2.0	Catéchine

Tableau.10. Temps de rétention des flavonoïdes présents dans les extraits du cumin.

Temps de rétention (min)			Le flavonoïde probable
EBr	EAcOEt	En-BuOH	
1,7	0,8	0,9	-
2,2	1,7	1,3	-
2,5	2,2	1,7	-
2,7	2,7	2,1	-
3,1	3,1	3,0	-
3,4	3,4	3,4	Présence de la rutine dans les trois extraits
4,0	4,0	3,9	-
5,4	5,3	5,3	-
6,9	8,0	7,9	-
8,5		9,4	
9,5			
9,8			

Tableau.11. Temps de rétention des flavonoïdes présents dans les extraits du romarin.

Temps de rétention (min)			Le flavonoïde probable
EBr	EAcOEt	En-BuOH	
1,7	0,5	0,8	-
2,0	0,8	1,7	Présence de la catéchine dans l'EBr
2,6	1,2	2,0	Présence de la catéchine En-BuOH
3,4	1,7	3,4	Présence de la rutine dans l'EBr et En-BuOH
3,8	2,0	3,7	Présence de la catéchine dans l'EAcOEt
4,7	2,6	4,7	-
5,2	3,4	5,3	Présence de la rutine dans l'EAcOEt
6,3	3,7	7,5	-
7,6	4,6	9,4	-
8,9	5,5		
9,6	6,1		
	7,5		
	8,0		
	8,8		

Les résultats montrent la présence de la catéchine dans les extraits du romarin et la présence de la rutine dans les extraits des deux plantes.

On constate l'absence de la quercétine dans l'ensemble des extraits.

De même (**Justesen *et al.*, 2001**) et (**Wojdylo *et al.*, 2007**) qui ont utilisé comme phase mobile un système gradient ont révélé l'absence de la quercétine dans les extraits méthanoliques du romarin.

II.5. Activité anti-oxydante :

Les extraits sont des mélanges de plusieurs composés, avec différents groupements fonctionnels, polarités et comportements chimiques. Cette complexité chimique des extraits pourrait mener à des résultats dispersés selon l'essai utilisé. Par conséquent, une approche avec des analyses multiples pour évaluer le potentiel antioxydant des extraits serait plus instructif et même nécessaire (Ozturk *et al.*, 2007).

Dans ce travail, deux méthodes sont utilisées : méthode de blanchissement de β -carotène et le balayage du radical libre DPPH.

II.5.1. Test de blanchissement du β -Carotène :

La décomposition des acides gras est une des causes principales de la détérioration de la nourriture. L'inhibition de l'oxydation des acides gras par l'utilisation des conservateurs naturels, est une question importante dans l'industrie alimentaire (Kartal *et al.*, 2007).

Dans ce test l'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique est mesurée en présence du β -carotène, qui est employé comme marqueur.

Le changement d'absorbance à différents intervalles de temps (Figure.22 et 23) du β -carotène a montré que l'EAcOEt du romarin semble a être le meilleur inhibiteur d'oxydation de l'acide linoléique.

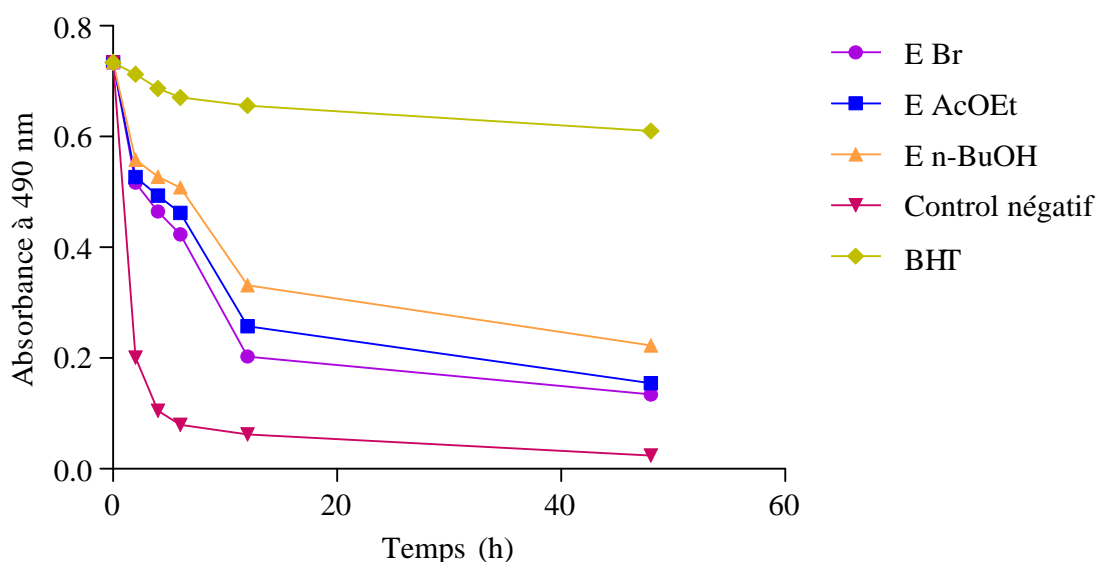


Figure.22. Changement d'absorbance du β - carotène à 490 nm en présence des extraits du cumin, BHT et le control négatif (moyenne \pm SD de trois mesures).

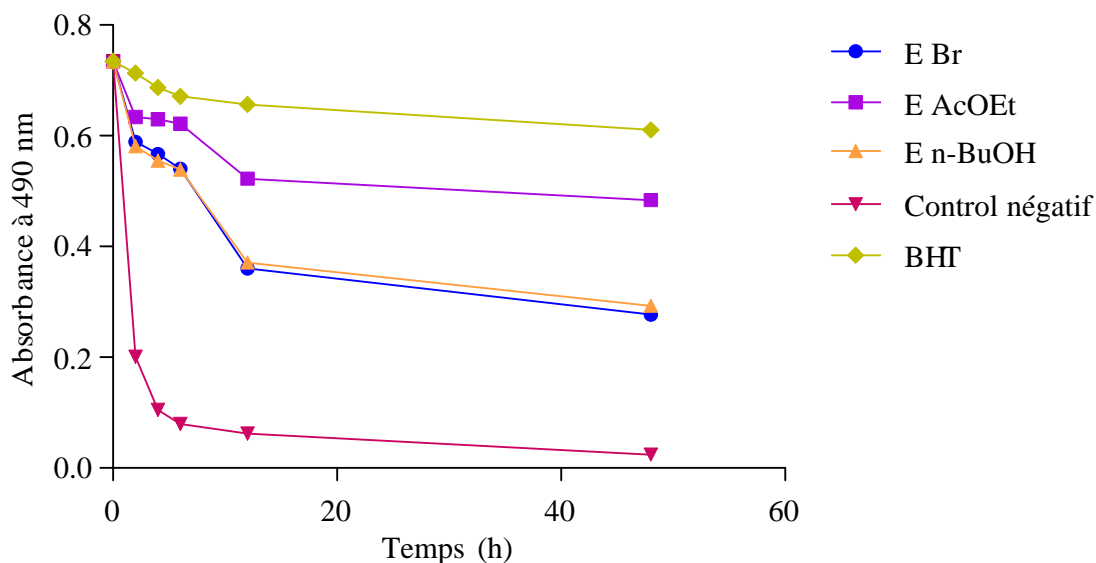


Figure.23. Changement d'absorbance du β - carotène à 490 nm en présence des extraits du romarin, BHT et le control négatif (moyenne \pm SD de trois mesures).

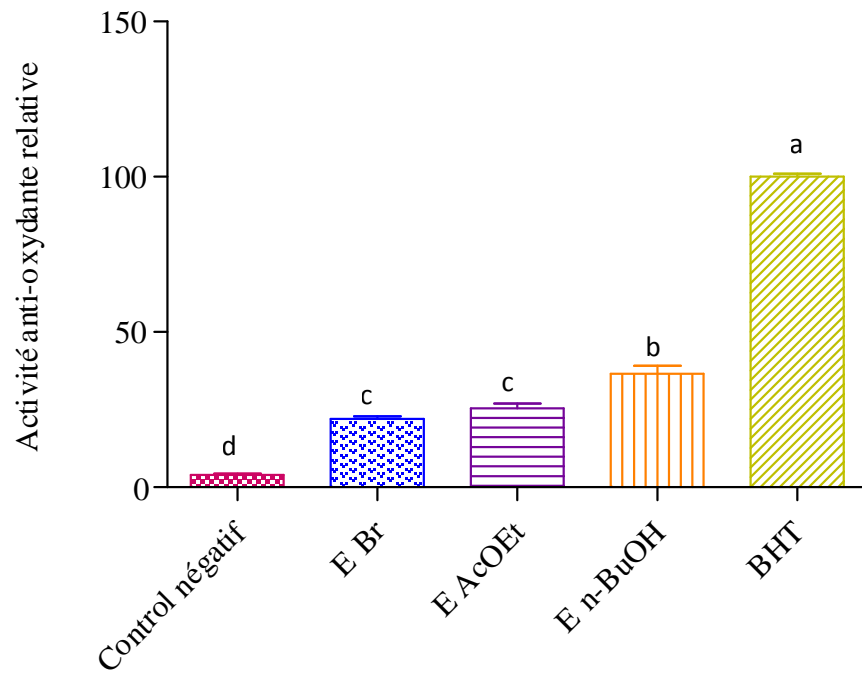
Les résultats (Figure.24 et 25) ont indiqué que les extraits du cumin et du romarin ainsi que le BHT inhibe d'une manière significative ($P < 0.001$) l'oxydation couplé de l'acide linoléique β -carotène par rapport au control négatif.

Pour les extraits du cumin l'inhibition la plus élevée a été fournie par l'En-BuOH (36.56%) suivie par l'EAcOEt (25.41%) et en dernier l'EBr (21.97%). Ces deux derniers ne présentent pas une différence significative dans leur activité ($P < 0.05$).

Malgré cette inhibition l'activité des trois extraits du cumin reste inférieure significativement ($P < 0.001$), par rapport au control positif BHT.

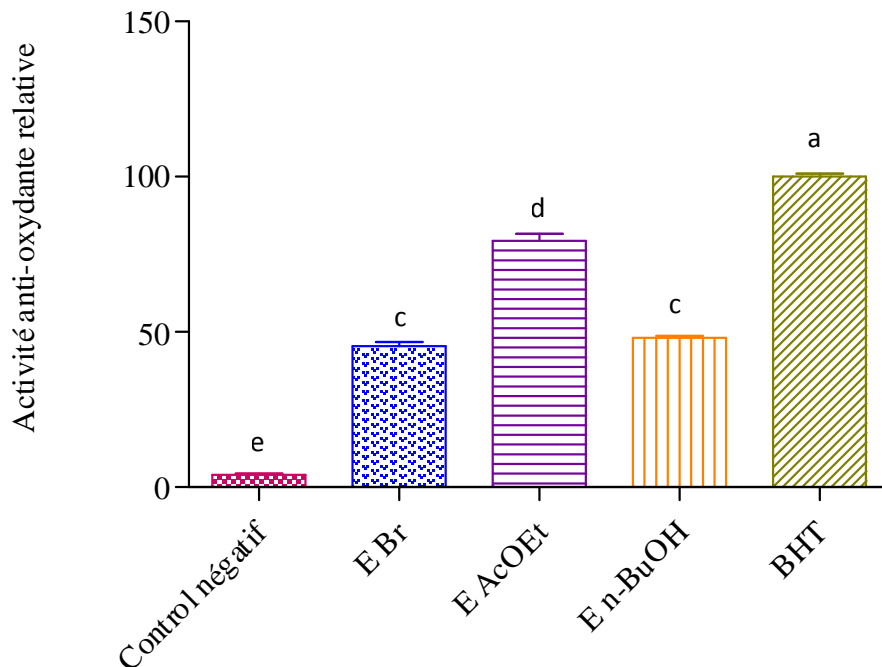
L'inhibition de l'oxydation était plus importante pour le romarin 79.34% pour l'E AcOEt suivie respectivement par l'En-BuOH (48.03%) et l'EBr (45.41%), qui n'ont pas aussi présenté une différence significative ($P < 0.05$).

Nous constatons que les extraits du romarin ont montré une inhibition plus importante que celle des extraits du cumin, mais reste significativement inférieure par rapport au BHT ($P < 0.001$).



Les barres avec des lettres différentes indiquent des activités significativement différentes ($P<0.05$).

Figure.24. Activité anti-oxydante relative des extraits du cumin, BHT et le control négatif.



Les barres avec des lettres différentes indiquent des activités significativement différentes ($P<0.05$).

Figure.25. Activité anti-oxydante relative des extraits du romarin, BHT et le control négatif.

Nous remarquons que l'activité la plus élevée est celle de l'une des fractions, ce qui a été aussi constaté par **(Abdel-Hameed, 2009)**. Les fractions d'acétate d'éthyle et le n-butanol de 11 espèces de *Ficus* ont montré une activité anti-radicalaire plus importante que celles des fractions d'Ether de pétrole, du Chloroforme et de l'extrait méthanolique **(Abdel-Hameed, 2009)**.

Les deux fractions AcOEt et n-BuOH sont riche en flavonoïdes, ceci suggère un lien entre l'activité anti-oxydante des deux fractions et ces composants.

Ce lien reste conditionné par la structure des flavonoïdes, particulièrement la substitution hydroxy pour les anneaux aromatiques A et B et le modèle de substitution de l'anneau C, les flavonoïdes les plus actifs possèdent de 3 à 6 groupes d'hydroxyle **(Tsimogiannis et al., 2007 ; Le et al., 2007)**, tandis que l'hydroxylation en position C₃ semble être nuisible pour leur pouvoir antioxydant et pour l'activité de chélation du fer. En revanche la glycosylation des flavonoïdes réduit leurs capacités de piéger les radicaux libres **(Ramassamy, 2006)**. A titre d'exemple, le pouvoir antioxydant augmente du kaempferol, quercétine à la myricétine, qui coïncide avec l'augmentation du modèle d'hydroxylation **(Le et al., 2007)**.

Nous constatons aussi que les extraits de deux plantes se sont avérés des antioxydants modestes, par rapport aux données de la littérature, ce résultat est probablement due à la haute spécificité de l'essai du blanchissement du β - carotène pour les composés lipophiles **(Gachkar et al., 2007)**.

Le coefficient de corrélation entre la teneur des extraits du cumin en polyphénols et l'activité anti-oxydante était fortement significatif ($R^2 = 0.816$), indiquant que 81% de la capacité anti-oxydante d'extraits, soit dû à la contribution des composés phénoliques et qu'ils sont les antioxydants dominants dans ces extraits.

Ces résultats sont conformes aux résultats de beaucoup de groupes de recherche, qui ont rapporté une telle corrélation positive entre le contenu phénolique total et l'activité anti-oxydante **(Wong et al., 2006 ; Tawaha et al., 2007 ; Perez et al., 2007 ; Hayouni et al., 2007 ; Turkmen et al., 2007 ; Wojdylo et al., 2007 ; Surveswaran et al., 2007 ; Djeridane et al., 2006)**.

Cependant, il n'ya pas une corrélation significative ($R^2 = 0.313$) entre la teneur des polyphénols et l'activité anti-oxydante des extraits du romarin. Ceci peut s'expliquer par se qui à été constaté par **(Dorman et al., 2003)**. Ces derniers ont montré que la capacité anti-oxydante des extraits des plantes examinés (origan, romarin, sauge et le thym) n'est pas

nécessairement liée à un contenu élevé de composés phénoliques, mais vraisemblablement dépend fortement de l'acide rosmarinique, le composant phénolique principal actuel dans ce type d'extrait de *Lamiaceae*.

Le niveau de corrélation entre le contenu phénolique et l'activité anti-oxydante est un aspect intéressant, mais il faut prendre en considération que les composés phénoliques répondent différemment dans l'analyse, selon le nombre de groupes phénoliques et que les composés phénoliques totaux n'incorporent pas nécessairement tous les antioxydants qui peuvent être présents dans un extrait (**Tawaha et al., 2007**).

L'attribution exacte de la capacité anti-oxydante à un composé, ou un petit groupe de composants dans un extrait de plante est une tâche difficile, puisque l'activité efficace dépend de plusieurs facteurs, tels que la concentration, les formes isomériques et l'interaction synergique avec d'autres composants (**Almela et al., 2006**).

De même les résultats de **Celiktas et ses collaborateurs (2007a)** confirment aussi, que l'activité anti-oxydante de divers extraits du romarin de différentes périodes de récolte change également sensiblement.

D'autre part (**Kosar et al., 2005**) ont montré que le traitement acide (1.2 N HCl dans l'éthanol 50%) des extraits d'une sélection de *Lamiaceae*, a augmenté d'une manière générale l'activité anti-oxydante et que la prolongation du temps d'extraction (2-18 h) a eu comme conséquence l'augmentation de la teneur en polyphénols, ainsi que l'activité anti-oxydante des différents extraits de *Camellia sinensis* et *Ilex paraguariensis* (**Turkmen et al., 2007**).

Après irradiation, (**Perez et al., 2007**) ont constaté une augmentation de 22% dans l'activité anti-radicalaire des extraits éthanoliques et aqueux du romarin.

Les extraits obtenus en utilisant des solvants de haute polarité étaient considérablement plus efficace que ceux obtenus en utilisant des solvants de basse polarité. La polarité des solvants change la capacité de dissoudre un groupe choisi de composés antioxydants, ce qui influe l'évaluation de l'activité anti-oxydante (**Hayouni et al., 2007 ; Turkmen et al., 2007**).

II.5.2. Test au DPPH :

Le radical DPPH est un radical libre organique stable, avec une bande maximum d'absorption entre 515-528 nm.

Dans cet essai les antioxydants réduit et décolore le radical DPPH, à un composé jaune le diphenyl picryl hydrazine, l'ampleur de la réaction dépendra de la capacité des antioxydants de donner l'hydrogènes (**Ardestani et Yazdanparast, 2007**).

Les résultats peuvent être exprimés en tant que : pourcentage de l'activité anti-radicalaire ou en pourcentage de DPPH restant ou peuvent également être exprimés en utilisant le paramètre IC50, qui est défini comme la concentration du substrat qui cause une perte de 50% de l'activité de DPPH (**Markowicz Bastos et al., 2007**).

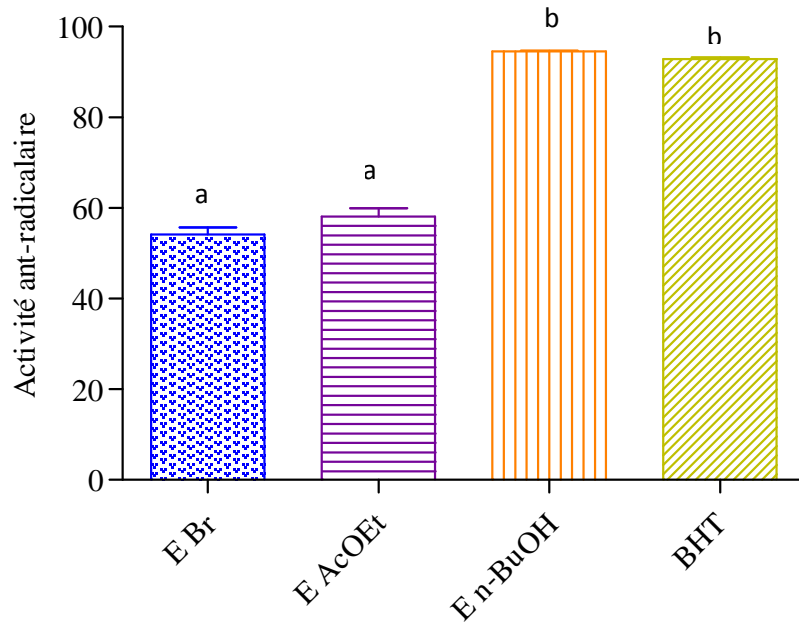
Nos résultats exprimés en tant que pourcentage de l'activité anti-radicalaire (Figure.26 et 27), révèlent que tous les extraits testés ainsi que le BHT pris comme référence sont des anti-radicalaires.

L'En-BuOH du cumin a présenté l'activité anti-radicalaire la plus élevée (94.55%), suivie par l'EAcOEt (58.11%) et en dernier l'EBr (54.16%). Ces deux derniers ne présentent pas une différence significative dans leur activité ($P < 0.05$).

L'activité anti-radicalaire de l'EAcOEt et l'EBr du cumin reste inférieure significativement ($P < 0.001$), par rapport au control positif BHT (92.91%).

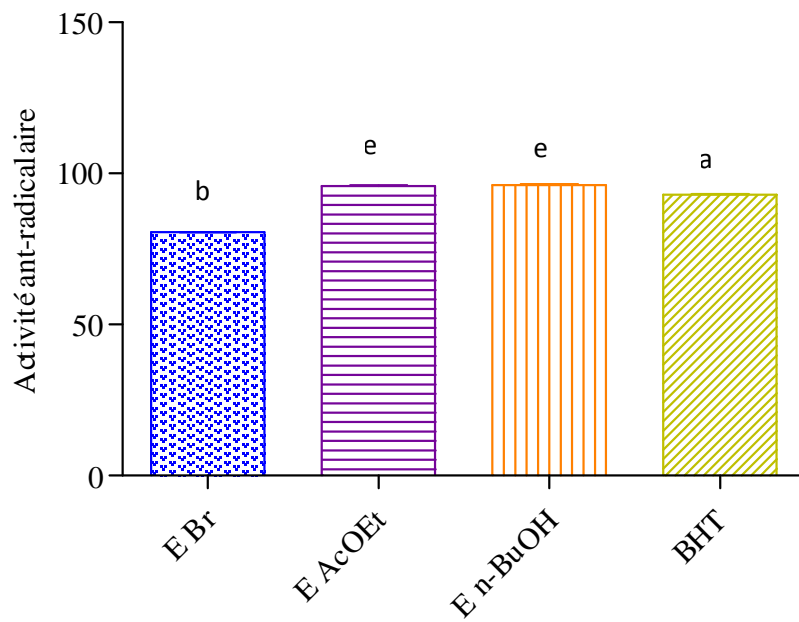
L'activité anti-radicalaire des extraits du romarin était plus importante (96.18%) pour l'En-BuOH suivie respectivement par l'E AcOEt (95.81%) et l'EBr (80.50%).

Nous constatons qu'il n'y a pas de différence significative ($P < 0.05$) entre l'activité de l'En-BuOH et l'E AcOEt du romarin.



Les barres avec des lettres différentes indiquent des activités significativement différentes ($P < 0.05$).

Figure.26. Activité anti-radicalaire des extraits du cumin et le BHT.



Les barres avec des lettres différentes indiquent des activités significativement différentes ($P < 0.05$).

Figure.27. Activité anti-radicalaire des extraits du romarin et le BHT.

Les résultats de l'activité anti-radicalaire des extraits du romarin sont en accord avec ceux obtenus par (Almela *et al.*, 2006). Ces derniers ont constaté que les extraits méthanoliques du romarin issus de différentes matières (plantes sauvages, plantes égouttement-irriguées, sous-produit résultant de la distillation d'huile essentielle) ont montré une activité anti-radicalaire, dont celle des extraits issus des plantes sauvages est presque identique à celle du δ - tocophérol et plus haute que celle du BHT.

Nous constatons aussi que L'En-BuOH du cumin et l'En-BuOH, l'E AcOEt du romarin ont présenté une activité plus élevée que celle du control positif (BHT). Cette activité pourrait être liée à leur richesse en polyphénols.

La teneur des polyphénols totaux des extraits du cumin s'est corrélée significativement ($R^2 = 0.977$) avec leurs activité anti-radicalaire. De même pour les extraits du romarin avec un coefficient de corrélation égale à 0.997. Ces résultats se corroborent aux résultats déjà mentionnés auparavant (Wong *et al.*, 2006 ; Tawaha *et al.*, 2007 ; Perez *et al.*, 2007 ; Hayouni *et al.*, 2007 ; Turkmen *et al.*, 2007 ; Wojdylo *et al.*, 2007 ; Surveswaran *et al.*, 2007 ; Djeridane *et al.*, 2006).

Selon (Turkmen *et al.*, 2007) les polyphénols semble être des donateurs efficaces d'hydrogène au radical DPPH, en raison de leur chimie structurale idéale.

(Turkmen *et al.*, 2007) ont constaté que les extraits du thé noir ayant une activité anti-oxydante très élevée, ont également un contenu plus élevé en polyphénols.

Les autres composés phénoliques mineurs ne devraient pas être négligés, par ce que la synergie entre les différents produits chimiques l'un avec l'autre devrait être pris en considération dans l'activité biologique (Bourgou *et al.*, 2008).

D'un autre coté, la fraction phénolique n'incorpore pas tous les antioxydants et les interactions synergiques entre les antioxydants dans un mélange fait que l'activité anti-oxydante dépend non seulement de la concentration, mais également de la structure et la nature des antioxydants (Falleh *et al.*, 2008).

Les résultats de Fella et ses collaborateurs, (2008) ont montré que l'activité anti-radicalaire des extraits méthanolique de *Cynara cardunculus* était organo-dépendante, les extraits de graines ont montré la meilleure activité inhibitrice du DPPH, suivi des feuilles et des fleurs.

Hinneburg *et al.*, (2006) ont constaté que l' hydrodistillat du cumin a une activité anti-oxydante, qui varie selon le type d'essai utilisé. De même (Gachkar *et al.*, 2007) ont

constaté aussi que l'activité anti-oxydante diffère selon le test utilisé, l'huile essentielle du romarin était meilleure que celle du cumin dans le balayage du radical libre DPPH, tandis que celle du cumin était meilleure dans l'essai de blanchissement du β - carotène et que l'activité était meilleure pour les deux types d'huiles dans le test de blanchissement du β - carotène.

Cette hiérarchie observée dans l'activité anti-oxydante a été également constatée dans nos résultats, qui révèlent une meilleure activité anti-oxydante de tous les extraits dans le test au DPPH que le test de blanchissement du β - carotène. Le test au DPPH est simple, très rapide et indépendant de la polarité des échantillons (**Kartal et al., 2007**) ce qui peut expliquer cette hiérarchie.

En conclusion, les résultats des deux tests sont en accord avec ceux décrits dans la littérature. En effet le romarin est une plante qui appartient à la famille des *Lamiaceae*, qui inclut un grand nombre de plantes qui sont bien connu pour leurs propriétés anti-oxydantes et que la plupart de leurs composants antioxydants ont été identifiés (**Tepe et al., 2006 ; Kivilompolo et al., 2007**). Le romarin fait partie des antioxydants naturels accepté en tant qu'une des épices avec l'activité anti-oxydante la plus élevée (**Peng et al., 2005**), cette dernière est due principalement aux composés phénoliques, appartenant à trois groupes : les diterpènes phénoliques, les acides phénoliques et les flavonoïdes (**Almela et al., 2006**).

Pendant les 10 dernières années, le romarin et ses constituants (le carnosol, l'acide carnosique, l'acide ursolique, l'acide rosmarinique, l'acide caféique) sont intensivement étudiés (**Slamenova et al., 2002**). L'acide carnosique et le carnosol, sont responsables de 90% de l'activité anti-oxydante du romarin et représentent ensemble environ 5% du poids sec de ses feuilles (**Wei et Ho, 2006**) (**Visanji et al., 2006**).

D'autres composés, tels que la genkwanine, la cirsimaritrine (**Ramirez et al., 2007**), l'acide chlorogénique, l'acide caféique (**Peng et al., 2005**), les caroténoïdes et α - tocophérol sont également associés à l'activité anti-oxydante du romarin (**Amin et Hamza, 2005**). Des études ont montré que certains composés, comme le rosmanol, rosmariquinone, rosmaridiphénol et le carnosol, sont jusqu'à quatre fois effective que le BHA et égale au BHT (**Fernandez-Lopez et al., 2005**).

Quelques chercheurs ont précédemment rapporté que les épices de la famille *ombellifères* ont exhibé un effet antioxydant fort (**Wojdylo et al., 2007**) et que le cumin est connu pour avoir des propriétés anti-oxydantes, en réduisant la susceptibilité de l'oxydation des lipides (**Dhandapani et al., 2002**).

II.6. Activité antimicrobienne :

II.6.1. Activité antibactérienne :

Pour l'évaluation du potentiel antibactérien de nos extraits, nous avons préféré de les tester contre plusieurs cibles, car chacune d'elles possède des structures cellulaires et un métabolisme particulier.

Les résultats présentés dans les tableaux et les figures ci-dessous montrent que :

L'EAcOEt et l'En-BuOH du cumin se sont avérés inactif contre l'ensemble des souches testées, l'EBr est actif seulement contre *Staphylococcus aureus* ATCC.

Les extraits du romarin présentent des activités importantes, qui s'étendent sur la totalité des souches de la collection, dont L'EAcOEt est le plus actif.

Les souches *Escherichia coli* ATCC et *Klebsiella pneumoniae* possèdent un potentiel de résistance très élevé contre l'action antibactérienne des 3 extraits du romarin.

Quelques zones d'inhibition modérées avec l'EAcOEt ont été enregistrées avec *Pseudomonas aeruginosa* ATCC ($11.33 \pm 1.15\text{mm}$), les deux souches d'*Entérobacter* sp (13.00 ± 0.00 ; 15.67 ± 0.58) et *Serratia* sp ($12.33 \pm 1.53\text{mm}$).

La bactérie *Entérobacter* sp (BLSE+CHN) est une bactérie hautement résistante aux antibiotiques, mais s'est révélée très sensible à l'EAcOEt du romarin que la bactérie *Entérobacter* sp sensible à la Cefotaxime.

Une activité la plus élevée avec les 3 extraits du romarin, a été remarquée chez *Staphylococcus aureus* ATCC, qui est sensibilisée aux faibles concentrations d'extraits.

Sterptocoque sp une bactérie Gram (+), s'est révélée résistante aux extraits testés.

Les effets inhibiteurs augmentent considérablement avec la concentration des extraits. La majorité des extraits peuvent conserver une activité décelable, après des dilutions faibles.

L'EAcOEt du romarin a persisté actif aussi après la dilution 1/16 pour les souches *Pseudomona aeruginosa* ATCC, *Staphylococcus aureus* ATCC et les 2 souches d'*Entérobacter* sp.

Tableau.12. Diamètre de la zone d'inhibition de l'EBr du cumin.

Les souches bactériennes	Diamètre de la zone d'inhibition *(mm)			
	les dilutions de l'EBr du cumin			
	1/4	1/8	1/16	1/32
<i>Escherichia coli</i> ATCC	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC	16.33 ± 0.58	14.33 ± 0.58	12.67 ± 0.58	9.67 ± 1.53
<i>Entérobacter</i> sp	-	-	-	-
<i>Entérobacter</i> sp BLSE+CHN	-	-	-	-
<i>Klebseila pneumoniae</i> BLSE	-	-	-	-
<i>Serratia</i> sp	-	-	-	-
<i>Sterptocoque</i> sp	-	-	-	-

(*) Diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques par l'ajout de 10 µL d'extrait.

(Diamètre du disque est inclus) les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ±SD.

Tableau.13. Diamètre de la zone d'inhibition de l'EBr du romarin.

Souches bactériennes	Diamètre de la zone d'inhibition *(mm)			
	les dilutions de l'EBr du romarin			
	1/2	1/4	1/8	1/16
<i>Escherichia coli</i> ATCC	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC	10.00 ± 1.73	8.67 ± 1.15	7.33 ± 1.15	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC	25.33 ± 1.15	23.67 ± 0.58	17.67 ± 0.58	17.33 ± 0.58
<i>Entérobacter</i> sp	9.00 ± 1.00	8.00 ± 0.00	-	-
<i>Entérobacter</i> sp BLSE+CHN	12.33 ± 1.15	9.66 ± 0.58	9.33 ± 0.58	-
<i>Klebseila pneumoniae</i> BLSE	7.67 ± 0.58	-	-	-
<i>Serratia</i> sp	7.00 ± 0.00	-	-	-
<i>Sterptocoque</i> sp	7.67 ± 0.58	-	-	-

(*) Diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques par l'ajout de 10 µL d'extrait.

(Diamètre du disque est inclus) les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ±SD.

Tableau.14. Diamètre de la zone d'inhibition de l'EAcOEt du romarin.

Souches bactériennes	Diamètre de la zone d'inhibition *(mm)			
	les dilutions de l'EAcOEt du romarin			
	1/2	1/4	1/8	1/16
<i>Escherichia coli</i> ATCC	8.00 ± 0 .00	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC	11.33 ± 1.15	11.33 ± 1.15	9.33 ± 0.58	8.67 ± 0.58
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC	28.33 ± 0.58	27.67 ± 0.58	24.67 ± 1.53	23.33 ± 0.58
<i>Entérobacter</i> sp	13.00 ± 0 .00	12.33 ± 0.58	9.33 ± 2.31	9.33 ± 0.58
<i>Entérobacter</i> sp BLSE+CHN	15.67 ± 0.58	16 ± 2.00	13.67 ± 0.58	11.00 ± 2.64
<i>Klebseila pneumoniae</i> BLSE	-	-	-	-
<i>Serratia</i> sp	12.33 ± 1.53	12.33 ± 0.58	9.67 ± 1.53	7.33 ± 1.15
<i>Sterptocoque</i> sp	8.67 ± 1.15	8.00 ± 0 .00	-	-

(*) Diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques par l'ajout de 10 µL d'extrait.

(Diamètre du disque est inclus) les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ±SD.

Tableau.15. Diamètre de la zone d'inhibition de l'En-BuOH du romarin.

Souches bactériennes	Diamètre de la zone d'inhibition *(mm)			
	les dilutions de l'En-BuOH du romarin			
	1/2	1/4	1/8	1/16
<i>Escherichia coli</i> ATCC	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC	24.00 ± 1.00	24.00 ± 1.00	19.67 ± 0.58	18.33 ± 0.58
<i>Entérobacter</i> sp	-	-	-	-
<i>Entérobacter</i> sp BLSE+CHN	8.33 ± 0.58	-	-	-
<i>Klebseila pneumoniae</i> BLSE	-	-	-	-
<i>Serratia</i> sp	-	-	-	-

<i>Sterptocoque</i> sp	9.67 ± 0.58	-	-	-
------------------------	-------------	---	---	---

(*) Diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques par l'ajout de 10 µL d'extrait.

(Diamètre du disque est inclus) les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ±SD.

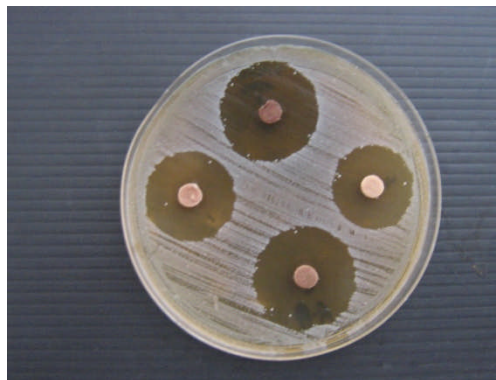


Figure.28. L'effet de l'EAcOEt du romarin sur *Staphylococcus aureus* ATCC.



Figure.29. L'effet de l'EAcOEt du romarin sur *Sterptocoque* sp.

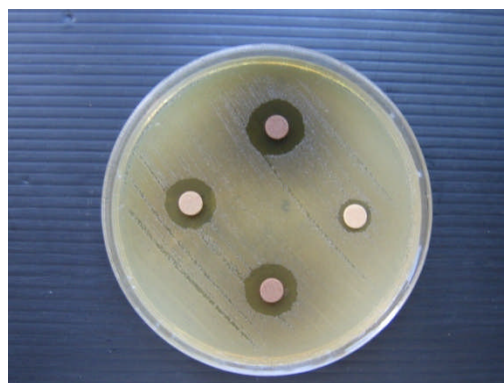


Figure.30. L'effet de l'EAcOEt du romarin sur l'*Entérobacter* sp BLSE+CHN.

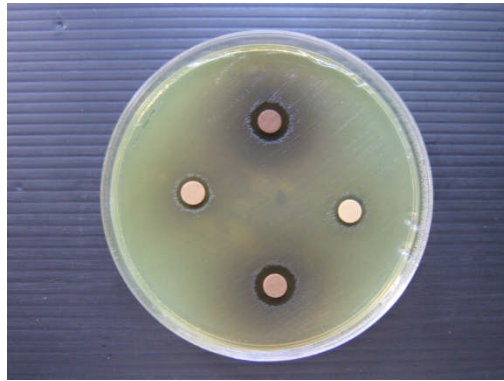


Figure.31. L'effet de l'EBr du romarin sur *Pseudomonas aeruginosa* ATCC.

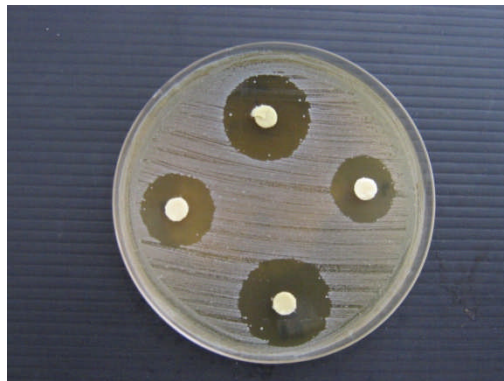


Figure.32. L'effet de l'En-BuOH du romarin *Staphylococcus aureus* ATCC.

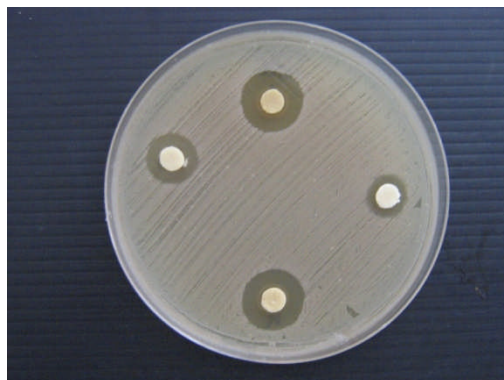


Figure.33. L'effet de l'EBr du cumin sur *Staphylococcus aureus* ATCC.

La sensibilité aux différentes huiles est classifiée selon le diamètre des zones d'inhibition comme suit : non sensible (-) pour le diamètre moins de 8 mm ; sensible (+) pour un diamètre entre 9-14 mm ; très sensible (+ +) pour un diamètre entre 15-19 mm et extrêmement sensible (+++) pour le diamètre plus que 20 mm (Moreira *et al.*, 2005).

Les tableaux.16 et17 montrent la sensibilité des souches testées vis-à-vis les six extraits.

Tableau.16. La sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis les extraits du cumin.

Souches bactériennes	Sensibilité		
	EBr	EAcOEt	En-BuOH
<i>Escherichia coli</i> ATCC	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC	++	-	-
<i>Entérobacter</i> sp	-	-	-
<i>Entérobacter</i> sp BLSE+CHN	-	-	-
<i>Klebseila pneumoniae</i> BLSE	-	-	-
<i>Serratia</i> sp	-	-	-
<i>Sterptocoque</i> sp	-	-	-
Non sensible (-), Sensible (+), Très sensible (+ +), Extrêmement sensible (+++)			

Tableau.17. La sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis les extraits du romarin.

Souches bactériennes	Sensibilité		
	EBr	EAcOEt	En-BuOH
<i>Escherichia coli</i> ATCC	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC	+	+	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC	+++	+++	+++
<i>Entérobacter</i> sp	+	+	-
<i>Entérobacter</i> sp BLSE+CHN	+	++	-
<i>Klebseila pneumoniae</i> BLSE	-	-	-
<i>Serratia</i> sp	-	+	-

<i>Sterptocoque</i> sp	-	-	+
Non sensible (-), Sensible (+), Très sensible (+ +), Extrêmement sensible (+++)			

Les résultats révèlent des réponses variables en fonction des souches, de la concentration, type de l'extrait testé et que la sensibilité ou la résistance aux antibiotiques n'a aucun rapport avec celle des extraits.

Plusieurs travaux ont mis en évidence la grande sensibilité des bactéries Gram (+) par rapport aux Gram (-) (Falleh *et al.*, 2008 ; Hayouni *et al.*, 2007 ; Turkmen *et al.*, 2007 ; Shan *et al.*, 2007 ; Koné *et al.*, 2004), Ceci peut s'attribuer à la différence dans les couches externes des bactéries Gram (-) et Gram (+). Les bactéries Gram (-), indépendamment de la membrane des cellules, possèdent une couche additionnelle la membrane externe, qui se compose des phospholipides, des protéines et des lipopolysaccharides, cette membrane est imperméable à la plupart des molécules. Néanmoins, la présence des porines dans cette couche permettra la diffusion libre des molécules avec une masse moléculaire en-dessous de 600 Da. Cependant, l'inhibition de la croissance des bactéries Gram (-) a été rapportée, particulièrement en combinaison avec les facteurs qui peuvent déranger l'intégrité de la cellule et/ou la perméabilité de la membrane, telle que les basses valeurs du pH et concentrations accrues en NaCl (Georgantelis *et al.*, 2007).

L'hypersensibilité de la souche *Staphylococcus aureus* ATCC peut s'expliquer par la probabilité de sensibilité des bactéries Gram (+) aux changements environnementaux externes, tels que la température, le pH et les extraits naturels dus à l'absence de la membrane externe (Balentine *et al.*, 2006).

Certaines études ne révèlent aucune activité antimicrobienne sélective vis-à-vis les bactéries Gram (+) ou Gram (-) (Guesmi Et Boudabous, 2006). La résistance de la souche *Sterptocoque* sp peut être attribuée à la capacité de l'agent antibactérien de diffusé uniformément dans l'agar (Hayouni *et al.*, 2007).

La zone d'inhibition augmente considérablement avec la concentration des extraits, ce qui a été constaté aussi par Dordevic et ses collaborateurs, (2007). Les auteurs ont révélé des zones d'inhibition de l'ordre de (20.5 ± 1.8 mm), (12.8 ± 0.5 mm), (16.3 ± 0.5 mm) respectivement pour les souches *Staphylococcus aureus* ATCC, *Escherichia coli* ATCC, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC pour une dilution au 2% d'huile essentielle de *Carlina acanthifolia*, ces zones sont augmentées de l'ordre de : (21.8 ± 0.9 mm), (13.5 ± 0.5 mm), (19.3 ± 0.5 mm) pour une dilution au 4%.

La charge du disque influe l'activité antimicrobienne, **Rasooli et ses collaborateurs, (2008)** ont remarqué que l'inhibition de la croissance d'*Aspergillus parasiticus* est forte lorsque le disque est plus chargé en huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* et *Trachyspermum Copticum*.

Nous avons employé une quantité moyenne de 10µl d'extrait par disque, par rapport à **Gachkar et al., (2007)** qui ont employé des fractions minimales de 5µl d'huile, tandis que **(Dimitrijevic et al., 2007)**, **(Abutbul et al., 2004)** ont employé des fractions plus riches : 20 µl et 15 µl par disque.

La méthode utilisée pour l'évaluation de l'activité antibactérienne influe aussi les résultats **(Natarajan et al., 2005)** et **(Fazeli et al., 2007)** ont constaté que la méthode de diffusion à partir des puits sur gélose est plus adaptée pour étudier l'activité des extraits aqueux et organiques de l'*Euphorbia fusiformis* et Hydro-ethanoliques de *Rhus coriaria* et *Zataria multiflora*, que la méthode de diffusion en milieu gélosé .

Plusieurs classes de polyphénols telles que les acides phénoliques, flavonoïdes et les tannins servent de mécanisme de défense des plantes contre les micro-organismes, les insectes, et les herbivores pathogènes (**Falleh et al., 2008**). Les Polyphénols, tels que les tannins et les flavonoïdes comme l'epigallocatechine, la catéchine, la myricétine, la quercétine, **(Shan et al., 2007)** et lutéoline **(Askun et al., 2009)** sont des substances antibactériennes importantes.

L'HPLC a révélé la présence de la catéchine dans tous les extraits du romarin, ce qui peut expliquer l'activité antibactérienne des extraits de cette plante.

Nous avons constaté qu'il n'y a pas une corrélation entre le contenu phénolique des extraits du romarin et l'activité antibactérienne. Les valeurs du coefficient de corrélation R^2 calculées étaient entre $R^2 = 0.442$ et $R^2 = 0.001$ et diminuent dans l'ordre suivant : *Sterptocoque* sp ; *Escherichia coli* ATCC ; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC ; *Staphylococcus aureus* ATCC, *Entérobacter* sp et *Entérobacter* sp BLSE+CHN.

De même pour l'EBr du cumin n'a pas présenté cette corrélation ($R^2 = 0.323$).

Des résultats similaires ($R^2 = 0.00$) ont été obtenus par **(Turkmen et al., 2007)** lors de l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de thé.

Seule l'inhibition de la souche *Klebseila pneumoniae* qui a présenté une corrélation très significative, entre le taux des polyphénols de l'EBr du romarin et l'activité antibactérienne avec un coefficient $R^2 = 0.992$.

Ce résultat est conforme avec la première étude systématique élaborée par **(Shan et al., 2007)**, en effet cette étude montre un rapport fortement positif entre l'activité

antibactérienne et le taux des polyphénols d'un grand nombre d'extraits (46) d'épices et d'herbes, les valeurs des coefficients de corrélation R^2 étaient compris entre 0.93 et 0.73.

L'activité antimicrobienne ne dépend pas seulement de la présence des composés phénoliques, mais également de la présence de divers métabolites secondaires (Kil *et al.*, 2009), de l'emplacement et le nombre des groupes d'hydroxyles (Falleh *et al.*, 2008).

La richesse du cumin en flavonoïdes n'a pas amélioré son effet antibactérien, ces derniers théoriquement pourraient exercer des effets antibactériens puisqu'ils sont des puissants inhibiteurs *in vitro* de l'ADN gyrase (Milane, 2004).

L'absence des flavonoïdes doués de l'activité antibactérienne dans les extraits du cumin, comme les flavanones qui ont montré un effet bactéricide sur un *Staphylococcus aureus* pourrait expliquer les résultats obtenus (Milane, 2004).

Généralement, toutes les plantes de la famille *Lamiaceae* connues pour ses composés phénoliques, ont été prouvé actif contre une variété de micro-organismes (Gortzi *et al.*, 2007). L'activité antimicrobienne du romarin a été également attribuée à l'acide rosmarinique, l'acide chlorogénique et l'acide caféique (Tsai *et al.*, 2007), l'acide carnosique et à quelques composés de l'huile essentielle, principalement le bornéol et le camphre (Ramirez *et al.*, 2007).

Bien que, l'éthanol et le méthanol fussent les meilleurs solvants que d'autres en extrayant les composés phénoliques, en raison de leur polarité et de leur bonne solubilité pour ces composés, les résultats ont prouvé que l'éthanol était le meilleur solvant pour extraire les composés phénoliques, suivi du méthanol et finalement par de l'eau (Mohsen et Ammar, 2009) ce qui pourrait expliquer la différence mentionnée ci-après.

Nous avons constaté une différence en comparant la zone d'inhibition d'*Escherichia Coli* ATCC (0.00 mm) obtenue par l'EBr du romarin avec celle (16.62 mm) obtenue par l'extrait éthanolique testé par (Zhang *et al.*, 2009).

Les résultats de (Ertürk, 2006) révèlent que l'extrait éthanolique du cumin est actif contre *Escherichia coli* ATCC, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC, par rapport à l'EBr du cumin.

Les différences trouvées peuvent être attribuées aux plusieurs facteurs tels que les facteurs inhérents (variété, conditions ambiantes, facteurs écologiques, variations saisonnières), les méthodes d'extraction (Moreira *et al.*, 2005 ; Sagdic et Ozcan 2003 ; Celiktas *et al.*, 2007a, Turkmen *et al.*, 2007), préparation de l'extrait, solvant utilisé, la sensibilité des bactéries (Loziene *et al.*, 2007), et finalement l'organe de la plante utilisé (Natarajan *et al.*, 2005).

Nos résultats n'indiquent pas que le cumin est une plante qui ne nécessite pas une importance dans ce domaine, parce que l'huile essentielle de cette plante a montré une activité forte contre *Escherichia coli* ATCC (13.00 mm), *Staphylococcus aureus* ATCC (10.00 mm), *Lesteria monocytogenes* PTCC (17.67mm), par rapport à celle du romarin : 16.67 mm ; 8.33 mm ; 16 mm (**Gachkar et al., 2007**).

En contre partie, nos résultats viennent confortés ceux de (**Shan et al., 2003**) qui ont trouvé que l'extrait méthanolique du cumin n'a aucune activité contre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, tandis que celui du romarin s'est révélé actif contre le *Staphylococcus aureus* avec une zone d'inhibition égale à 8.9 mm (y compris 4.6 mm diamètre du puits) et inactif contre *Escherichia coli*.

D'un autre côté, elles sont en accord avec ceux de (**Celiktas et al., 2007a**) qui ont indiqué que les bactéries testées étaient sensibles aux huiles essentielles et partiellement aux extraits méthanoliques du romarin.

Il est important, de préciser qu'un résultat observé lors de l'évaluation d'un extrait brut ou d'une fraction enrichie est la composante de deux paramètres : l'activité intrinsèque des produits actifs et leur quantité relative dans l'extrait. Par exemple, une activité avérée d'un extrait peut aussi bien être le reflet d'une faible quantité de constituants très actifs que d'une grande quantité de constituants peu actifs (**Ferrari, 2002**), ou à certains constituants tels que les hydrocarbures et les alcools qui démontrent un synergisme (**Chaibi et al., 1997**).

Il ne faut pas oublier que le produit actif qui se présente dans la plante peut être : soit actif sans être métabolisé et aura ainsi une activité *in vitro* et *in vivo* ; soit actif après métabolisation et dans ce cas il sera inactif *in vitro* et actif *in vivo*.

Pour de nombreuses plantes, en fonction de la date de la récolte il aura des variations très importantes dans la composition chimique et de l'activité. L'exemple du latex obtenu par incision du tronc d'*Alafia multiflora* utilisé pour le traitement des plaies en Afrique tropicale. Selon la période de récolte le taux d'acide vanillique varie de 5 % à 16 % et l'activité parallèlement d'un facteur 3 (**Balansard, 2007**).

Il a été rapporté que les composés responsables de l'action antibactérienne semblent vraisemblablement être les diterpénoïdes phénoliques, qui sont les composés principaux de la fraction apolaire des extraits des plantes (**Fernandez-Lopez et al., 2005**), Ceci pourrait expliquer la modeste activité de nos extraits polaires.

Néanmoins, il est toujours possible que l'ajout de DMSO à un extrait végétal diminue son activité intrinsèque de telle manière que dans ce cas le résultat n'a qu'une valeur relative (**Balansard, 2007**).

Finalement, il s'agit d'extraits, contenant un grand nombre de composés différents. Il est donc probable qu'ils contiennent des composés qui, une fois purifié, aient une activité comparable à celle d'un agent chimique.

Les résultats du test de synergie sont indiqués dans le tableau.18

Tableau.18. Diamètre de la zone d'inhibition de L'EBr du cumin + l'EBr du romarin.

Souches bactériennes	Diamètre de la zone d'inhibition *(mm)	
	L'EBr du cumin + l'EBr du romarin à la dilution 1/4	
<i>Escherichia coli</i> ATCC	-	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC	9.67 ±0 .58	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC	18.50 ±2 .12	
<i>Entérobacter sp</i>	9.00 ±0 .00	
<i>Entérobacter sp</i>	11.67 ±0 .58	
<i>Klebseila pneumoniae</i>	-	
<i>Serratia sp</i>	-	
<i>Sterptocoque sp</i>	-	

(*) Diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques par l'ajout de 10 µL d'extrait.

(Diamètre du disque est inclus) les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ±SD.

Les présents résultats n'ont pas révélé une synergie d'action, entre les extraits méthanoliques des deux plantes, par contre (**Zhang et al., 2009**) ont observé un effet antimicrobien fort d'un mélange d'extrait éthanolique du romarin et celui de la réglisse qui peut être un résultat des effets synergiques des composés spécifiques dans ce mélange d'extraits.

En conclusion, la différence de l'activité anti-oxydante et antimicrobienne des extraits des deux plantes semble être directement lié la diversité quantitative et/ou qualitative des composés qui présents dans ces extraits.

II.6.2. Activité antifongique :

Aucune zone d'inhibition n'a été constatée autour des disques imprégnés des différents extraits.

Les résultats de (Ertürk, 2006), ont démontré des zones d'inhibition de 15 à 14 mm de l'extrait éthanolique du cumin respectivement vis-à-vis d'*Aspergillus niger* et *Candida albicans*. Ce qui indique que l'activité antifongique dépend aussi de plusieurs facteurs tels que le type du solvant utilisé pour l'extraction.

A la lumière de ces résultats ont dit que les extraits des deux plantes ne contiennent pas d'agent antifongique.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Ces dernières années, il y a eu un intérêt croissant pour l'utilisation des antioxydants et des antimicrobiens naturels. De nombreux chercheurs ont été intéressés par les composés biologiquement actifs isolés des extraits de plantes.

Ce travail avait pour objectifs d'évaluer l'activité anti-oxydante et antimicrobienne des extraits (EBr, EAcOEt et En-BuOH) du cumin et du romarin, relativement à leur teneur polyphénolique.

Le dosage quantitatif des polyphénols totaux, par le réactif de Folin-Ciocalteu a révélé que le romarin est plus riche en polyphénols que le cumin.

Le dosage quantitatif des flavonoïdes par la méthode d'AlCl₃ a révélé que le cumin est plus riche en flavonoïdes que le romarin.

Le coefficient de corrélation ($R^2 = 0.197$) indique l'absence d'une corrélation significative entre la teneur des flavonoïdes et des polyphénols des extraits du cumin.

Une corrélation très significative est trouvée entre la teneur des flavonoïdes et des polyphénols des extraits du romarin ($R^2 = 0.969$).

L'analyse qualitative par HPLC a montré la présence de la rutine dans tous les extraits, la catéchine dans les extraits du romarin et l'absence de la quercétine dans l'ensemble des extraits.

Les résultats du test de décoloration du β -carotène ont montré une activité inhibitrice d'oxydation de l'acide linoléique pour l'ensemble des extraits, cette dernière reste significativement inférieure à celle du control positif BHT ($P < 0.001$). L'EAcOEt du romarin a montré l'activité la plus importante avec un taux d'inhibition égale à 79.34%.

Le coefficient de corrélation ($R^2 = 0.816$) entre la teneur en polyphénols des extraits du cumin et l'activité anti-oxydante a indiqué que les composés phénoliques interviennent dans l'activité anti-oxydante des ces extraits, tandis qu'il n'y a pas une corrélation significative ($R^2 = 0.313$) entre la teneur en polyphénols et l'activité anti-oxydante des extraits du romarin.

Les résultats du test au DPPH ont montré que les extraits : En-BuOH du cumin, En-BuOH et EAcOEt du romarin ont présenté des activités anti-radicalaires égales à 94.55%, 96.18%, 95.81% respectivement. On peut noter que ces activités étaient même plus élevées que celle du BHT (92.91%)

La teneur en polyphénols totaux des extraits du cumin et du romarin s'est corrélée significativement ($R^2 = 0.977$, $R^2 = 0.997$) avec leurs activités anti-radicalaires.

L'activité antimicrobienne a été évaluée sur 8 souches bactériennes et 4 souches fongiques, par la méthode de diffusion sur milieu gélosé. Les résultats biologiques obtenus tout au long de ce test ont montré que : les extraits du romarin ont présenté une activité antibactérienne contre un certain nombre de bactéries et l'EAcOEt s'est révélé le plus actif, alors que seul l'EBr du cumin qui était actif contre *Staphylococcus aureus* ATCC.

Les extraits du romarin ont témoigné d'une activité antibactérienne intéressante surtout contre la bactérie multi-résistante *Entérobacter* sp (BLSE+CHN).

Seule l'inhibition de la souche *Klebsiella pneumoniae* a présenté une corrélation très significative entre le taux des polyphénols de l'EBr du romarin et l'activité antibactérienne avec un coefficient $R^2 = 0.992$.

Les extraits des deux plantes se sont révélés inactifs vis-à-vis les souches fongiques et aucune synergie n'a été révélée pendant l'évaluation de l'activité antimicrobienne.

Les résultats présentés ici peuvent contribuer à la connaissance des potentiels antioxydants et antimicrobiens de ces espèces.

Une prolongation de ce travail à l'avenir est souhaitable pour étudier les composants présents dans l'EAcOEt du romarin et pour évaluer leur activité antibactérienne et anti-oxydante.

Ces résultats préliminaires montrent que l'EAcOEt du romarin témoigne d'une activité antibactérienne et anti-oxydante *in vitro*, Il serait également intéressant de réaliser d'autres études pour évaluer le potentiel *in vivo* sur des modèles animales. Une recherche de l'agent antibactérien responsable de l'inhibition de l'*Entérobacter* sp (BLSE+CHN) est aussi nécessaire et semble d'une grande importance.

Les mécanismes de l'action de chaque composé phénolique contre diverses bactéries sont très compliqués, il serait donc nécessaire d'étudier plus loin et de comprendre le rapport entre l'activité antibactérienne et anti-oxydante et la structure chimique du composé phénolique dans les extraits examinés.

Nous pensons montrer à travers ce travail que les plantes constituent un réservoir très intéressant pour la recherche dans le futur.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

- Adersen, A., Gauguin, B., Gudiksen, L., Jager, A K. (2006) Screening of plants used in Danish folk medicine to treat memory dysfunction for acetylcholinesterase inhibitory activity. *J Ethnopharmacol.* **104**: 418-422.
- Abdel-Hameed, E.S., (2009) Total phenolic contents and free radical scavenging activity of certain Egyptian *Ficus* species leaf samples. *Food Chem.* **114**:1271-1277.
- Abutbul, S., Golan-Goldhirsh, A., Barazani, O., Zilberg, D. (2004) Use of *Rosmarinus officinalis* as a treatment against *Streptococcus iniae* in tilapia (*Oreochromis sp.*). *Aquaculture.* **238**: 97-105.
- Al-Bataina, B.A., Maslat, A.O., AL-Kofahi, M.M. (2003) Element analysis and biological studies on ten oriental spices using XRF and Ames test. *J Trace Elem. Med. Biol.* **17**: 85-90.
- Albu, S., Joyce, E., Paniwnyk, L., Lorimer, J.P., Mason, T.J. (2004) Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. *Ultrasonics Sonochemistry.* **11**: 261-265.
- Almela, L., Sanchez-Munoz, B., Fernandez-Lopez, J A., Roca, M.J, Rabe, V. (2006) Liquid chromatographic- mass spectrometric analysis of phenolics and free radical scavenging activity of rosemary extract from different raw material. *J Chromatography A.* **1120**: 221-229.
- Amarowicz, R., Troszynska, A., Shahidi, F. (2005) Antioxidant activity of almond seed extract and its fractions. *J food lipids.* **12**: 344-358.
- Amin, A., Hamza, A.A. (2005) Hepatoprotective effects of *Hibiscus*, *Rosmarinus* and *Salvia* on azathioprine-induced toxicity in rats. *Life Sciences.* **77**: 266-278.
- Ardestani, A., Yazdanparast, R. (2007) Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. *Food Chem.* **104**: 21-29.
- Arnold, N., Valentini, G., Bellomaria, B., Laouer, H. (1997) Comparative study of the essential oils from *Rosmarinus eriocalyx* Jordan & Fourr. from Algeria and *R. officinallis* L. from other countries. *J.essent.Oil Res.* **9**: 167-175.
- Arslan, D, Musa ozcan, M. (2007) Evaluation of drying methods with respect to drying kinetics, mineral content and colour characteristics of rosemary leaves. *Energy Conversion and Management.* (in press)

- Aruoma, O. I., Spencer, J. P. E., Rossi, R., Aeschbach, R., Khan, A., Mahmood, N., Munoz, A., Murcia, A., Butler, J., Halliwell, B. (1996). An Evaluation of the Antioxidant and Antiviral Action of Extracts of Rosemary and Provençal Herbs. *Food and Chemical Toxicology*. **34**: 449-456.
- Aruoma, O I. (1999) Free radicals, antioxidants and international nutrition. *Asia Pacific J Clin Nutr*. **8**: 53-63.
- Askun, T., Tumen, G., Satil, F., Ates, M. (2009) *In vitro* activity of methanol extracts of plants used as spices against *Mycobacterium tuberculosis* and other bacteria. *Food Chem*. **116**: 289-294.
- Atik bekkara, F., Bousmaha, L., Taleb bendiab, S.A., Boti, J.B., Casanova J. (2007) Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Biologie & Santé*. **7**: 6-11.
- Atsumi, T., Tonosaki, K. (2007) Smelling lavender and rosemary increases free radical scavenging activity and decreases cortisol level in saliva. *Psychiatry Research*. **150**: 89-96.
- Audigie, Cl., Figurearella, J., Zonszain, F. (1978) Manipulations d'analyses biochimiques. Doin (Ed). Paris, 274 p.
- Avril, J.L., Dabernat, H., Denis, F., Monteil, H. (2000) Bactériologie clinique. 3^{ème} édition Ellipses (Ed) Paris, 602 p.

B

- Babar Ali, M., Hahn, E.J., Paek, K.Y. (2007) Methyl Jasmonate and Salicylic Acid Induced Oxidative Stress and Accumulation of Phenolics in *Panax ginseng* Bioreactor Root Suspension Cultures. *Molecules*. **12**: 607-621.
- Bahorun, T. (1997) Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. *Food and agricultural resarch council, Réduit, Mauritius*. 83-94.
- Bakirel, T., Bakirel, U., Ustuner Keles, O., Gunes Ulgen, S., Yardibi, H. (2008) *In vivo* assessment of antidiabetic and antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in alloxan-diabetic rabbits. *J Ethnopharmacol*. **116**: 64-73.
- Balansard G., (2007) Analyse critique des protocoles pharmacologiques utilisés pour la recherche d'extraits et de substances pures d'origine végétale à propriétés Antibactérienne ou antiparasitaire. *Revue ethnopharmacologie*.**42**

- Balentine, C.W., Crandall, P.G., O'Bryan, C.A., Duong, D.Q., Pohlman, F.W. (2006) The pre- and post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. *Meat Science*. **73**: 413-421.
- Banerjee, M., Sarkar, P.K. (2004) Growth and enterotoxin production by sporeforming bacterial pathogens from spices. *Food Control*. **15**: 49-496.
- Behera, S., Nagarajan, S., Rao, L.J.M. (2004) Microwave heating and conventional roasting of cumin seeds (*Cuminum cyminum* L.) and effect on chemical composition of volatiles. *Food Chem*. **87**: 25-29.
- Bellakhdar, J. (1997) La pharmacopée marocaine traditionnelle. Ibis Press (Ed). Paris, 764 p.
- Beloued, A. (1998) Plantes médicinales d'Algérie. 2^{ème} Edition. Office des publications universitaires (Ed). Alger, 274p.
- Benakcha, R. (2001) Etude phytochimique de deux plantes algériennes : *Centaurea pungens* et *Salsola vermiculata*, activité biologique. Mémoire de magister. Batna.
- Bérubé-Gagnon, J. (2006) Isolation et identification de composés antibiotiques des écorces de *Picea mariana*. Mémoire comme exigence partielle de la maîtrise en ressources renouvelables. Quebec.
- Bézanger-Beauquesne, L., Pinkas, M., Torck, M. (1986) Les plantes dans la thérapeutique moderne ; 2^{ème} Edition. Maloine (Ed). Paris, 469 p.
- Bilusic Vundac, V., Brantner, A.H., Plazibat, M. (2007) Content of polyphenolic constituents and antioxidant activity of some *Stachys* taxa. *Food Chem*. (in press).
- Bonnefont-Rousselot, D., Thérond, P., Delattre, J. (2003) Radicaux libres et anti-oxydants. In : Biochimie pathologique : aspects moléculaires et cellulaires. Médecine-sciences. Flammarion (Ed). Paris, pp 59-81.
- Bouakaz, I., 2006. Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala*. Mémoire de magister. Batna.
- Boudiaf, K., (2006) Etude des effets anti-xanthine oxydoreductase et anti-radicalaires des extraits des graines de *Nigella sativa*. Mémoire de magister .Setif.
- Boullard, B. (2001) Plantes médicinales du monde réalités et croyances. ESTEM (Ed) Paris .660 p.
- Boyras, N., Ozcan, M. (2005) Antifungal effect of some spice hydrosols. *Fitoterapia*. **76**: 661- 665.
- Bremness, L. (2002) Plantes aromatiques et médicinales. Bordas (Ed). Paris, 303 p.
- Bruneton, J. (1999) Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} Edition. Tec & Doc (Ed). Paris, 575p.

C

- Celiktas, O.Y., Hames Kocabas, E.E., Bedir, E., Vardar Sukan, F., Ozek, T., Baser, K.H.C. (2007a) Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chem.* **100**: 553-559.
- Celiktas, O.Y, Bedir, E., Vardar Sukan, F. (2007b) In vitro antioxidant activities of *Rosmarinus officinalis* extracts treated with supercritical carbon dioxide. *Food Chem.* **101**: 1457-1464
- Chaibi, A., Ababouch, L.H., Belasri, K., Boucetta, S., Busta, F.F. (1997) Inhibition of germination and vegetative growth of *Bacillus cereus* and *Clostridium botulinum* 62A spores by essential oils. *Food Microbiology.* **14**:161-174.
- Ciulei, I. (1982) Methodology for analysis of vegetable drugs. 67p.
- Correa Dias, P.C., Foglio, M.A., Possenti, A., De Carvalho, J.E. (2000) Antiulcerogenic activity of crude hydroalcoholic extract of *Rosmarinus officinalis* L. *J Ethnopharmacol.* **69**: 57-62.

D

- Dacosta, E. (2003) Les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta (Ed). Paris, 317p.
- Deba, F., Dang Xuan, T., Yasuda, M., Tawata, S. (2008) Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* Linn. var. *Radiata*. *Food Control.* **19**: 346-352 .
- De Rijke, E., Out P., Niessen, W. M.A., Ariese, F., Gooijer, C., Brinkman, U.A.T. (2006) Analytical separation and detection methods for flavonoids. *J Chromatography A.***1112**: 31-63.
- Dhandapani, S., Subramanian, V. R., Rajagopal, S., Namasivayam, N. (2002) hypolipidemic effect of *cuminum cyminum* L. on alloxan-induced diabetic rats. *Pharmacological research.* **46**: 251-255.
- Diallo A., 2005. Etude de la phytochimie et des activites biologiques de *Syzygium guineense* willd. (*MYRTACEAE*). Thèse de Doctorat. Mali.
- Dimitrijevic, S.I., Mihajlovski, K.R., Antonovic, D.G., Milanovic-Stevanovic, M.R., Mijin, D.Z. (2007) A study of the synergistic antilisterial effects of a sub-lethal dose of lactic acid and essential oils from *Thymus vulgaris* L., *Rosmarinus officinalis* L. and *Origanum vulgare* L. *Food Chem.* **104**: 774-782.
- Djeridane, A., Yous, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N. (2006) Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem.* **97**: 654-660.

- Dordevic, S., Petrovic, S., Dobric, S., Milenkovic, M., Vucicevic, D., Zizic, S., Kukic, J. (2007) Antimicrobial, anti-inflammatory, anti-ulcer and antioxidant activities of *Carlina acanthifolia* root essential oil. *J Ethnopharmacol.* **109**: 458-463 .
- Dorman, H.J.D., Peltoketo, A., Hiltunen, R., Tikkanen, M.J. (2003) Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. *Food Chem.* **83**: 255-262.
- Duarte, M. C.T., Figureueira, G.M., Sartoratto, A., Rehder, V.L.G, Delarmelina, C. (2005) Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. *J Ethnopharmacology.* **97** : 305–311.

E

- Elâgoun, S. (2003) (LAMIACEAE) العائلة الشفوية إلى العائلة الشفوية (LAMIACEAE) فصل وتحديد منتوج الأيض الثانوي الفلافونيدي لنبذة طبية تنتمي إلى العائلة الشفوية (LAMIACEAE) ودراسة التأثير المضاد للبكتيريا. شهادة ماجستير. قسنطينة.
- El-Sawi, S.A., Mohamed, M.A. (2002) Cumin herb as a new source of essential oils and its response to foliar spray with some micro-elements. *Food Chem.* **77**: 75-80.
- Erkan, N., Ayranci, G., Ayranci, E. (2008) Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.) extract, blackseed (*Nigella sativa* L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. *Food Chem.* **110**: 76-82.
- Ertürk, Ö. (2006) Antibacterial and antifungal activity of ethanolic extracts from eleven spice plants. *Biologia, Bratislava.* **61**: 275-278.

F

- Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C. (2008) Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *C. R. Biologies.* **331**: 372-379.
- Favier, A. (2003) Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique.* 108-115.
- Fazeli, M. R., Amin, G., Ahmadian-Attari, M. M., Ashtiani, H., Jamalifar, H., Samadi, N. (2007) Antimicrobial activities of Iranian sumac and avishan-e shirazi (*Zataria multiflora*) against some food-borne bacteria. *Food Control* **18**: 646-649.
- Fecka, I., Turek, S. (2008) Determination of polyphenolic compounds in commercial herbal drugs and spices from Lamiaceae: thyme, wild thyme and sweet marjoram by chromatographic techniques. *Food Chem.* **108**: 1039-1053.
- Ferrari, J. (2002) Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des Thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elles: *Gnidia involuocrata* Steud. ex A. Rich. Thèse de doctorat. Lausanne.

Fernandez-Lopez, J., Zhi, N., Aleson-Carbonell, L., Perez-Alvarez, J.A., Kuri, V. (2005) Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs.

Meat Science. **69**: 371-380.

Fiorentino, A., D'Abrosca, B., Pacifico, S., Golino, A., Mastellone, C., Oriano, P., Monaco, P. (2007) Reactive Oxygen Species Scavenging Activity of Flavone Glycosides from *Melilotus neapolitana*. *Molecules*. **12**: 263-270.

G

Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M.B., Taghizadeh, M., Astaneh S.A., Rasooli, I. (2007) Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chem*. **102**: 898-904.

Gamet-Payrastre, L., Manenti, S., Gratacap, M.P., Tulliez, J., Chap, H., Payrastre, B. (1999) Flavonoids and the inhibition of PKC and PI 3-kinase. *General Pharmacology*. **32**: 279-286.

Gangoué piéboji, J. (2007) caractérisation des beta-lactamases et leur inhibition par les extraits de plantes médicinales. Thèse de doctorat. Liège.

Gao, H., Nishida, J., Saito, S., Kawabata, J. (2007) Inhibitory Effects of 5, 6, 7-Trihydroxyflavones on Tyrosinase. *Molecules*. **12**: 86-97.

Georgantelis, D., Ambrosiadis, I., Katikou, P., Blekas, G., Georgakis, S A. (2007) Effect of rosemary extract, chitosan and α -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4 °C. *Meat Science*. **76**: 172-181.

Gillij, Y.G., Gleiser, R.M., Zygadlo, J.A. (2007) Mosquito repellent activity of essential oils of aromatic plants growing in Argentina. *Bioresource Technology*. (in press).

Gladine, C., Morand, C., Rock, E., Bauchart, D., Durand, D. (2007) Plant extracts rich in polyphenols (PERP) are efficient antioxidants to prevent lipoperoxidation in plasma lipids from animals fed *n*-3 PUFA supplemented diets. *Animal Feed Science and Technology*. **136**: 281-296.

Gomez-Caravaca, A.M., Gomez-Romero, M., Arraez-Roman, D., Segura-Carretero, A., Fernandez-Gutierrez, A. (2006) Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *J Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. **41**: 1220-1234.

Gonzalez-Trujano, M.E., Pena, E.I., Martinez, A.L., Moreno, J., Guevara-Fefer, P., Deciga-Campos, M., Lopez-Munoz, F.J. (2007) Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents. *J Ethnopharmacol*. **111**: 476-482.

Gortzi, O., Lalas, S., Chinou, I., Tsaknis, J. (2007) Evaluation of the Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Origanum dictamnus* Extracts before and after Encapsulation in Liposomes. *Molecules*. **12**: 932-945.

Guesmi, A., Boudabous, A. (2006) Activité antimicrobienne de cinq huiles essentielles associées dans les produits de thalassothérapie. *Revue des Régions Arides*. Numéro spécial : 224-230.

H

Haloui, M., Louedec, L., Michel, J.B, Lyoussi, B. (2000) Experimental diuretic effects of *Rosmarinus officinalis* and *Centaurium erythraea*. *J Ethnopharmacology*. **71**: 465-472.

Harrorne, J.B., Williams, C.A. (1972) Flavonoid patterns in the fruits of The Umbelliferae. *Phytochemistry*. **11**: 1741-1750

Hayouni, E.A, Abedrabba, M., Bouix, M., Hamdi, M., (2007)The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities *in vitro* of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chem.* (in press).

Heinrich, M., Kufer, J., Leonti, M., Pardo-de-Santayana, M. (2006) Ethnobotany and ethnopharmacology-Interdisciplinary links with the historical sciences. *J Ethnopharmacol.* **107**: 157-160.

Hinneburg, I., Dorman, H.J. D., Hiltunen, R. (2006) Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. *Food Chem.* **97**: 122-129.

Ho, S.C., Tsai, T.H., Tsai, P.J., Lin, C.C. (2008) Protective capacities of certain spices against peroxynitrite-mediated biomolecular damage. *Food and Chemical Toxicology*. **46**: 920-928.

Hodek, P., Trefil, P., Stiborova, M. (2002) Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chemico-Biological Interactions*. **139**: 1-21.

Hollman, P.C.H., Hertog, M.G.L., Katanc, M.B. (1996) Analysis and health effects of flavonoids. *Food chem.* **51**: 43-46.

J

Jalali-Heravi, M.J., Zekavat, B., Sereshti, H. (2007) Use of gas chromatography- mass spectrometry combined with resolution methods to characterize the essential oil components of Iranian *cumin* and *caraway*. *J Chromatography A*. **1143**: 215-226.

Janahmadi, M., Niazi, F., Danyali, S., Kamalinejad, M. (2006) Effects of the fruit essential oil of *Cuminum cyminum* Linn. (Apiaceae) on pentylenetetrazol-induced epileptiform activity in F1 neurones of *Helix aspersa*. *J Ethnopharmacol.* **104**: 278-282.

Justesen, U., Knuthsen, P. (2001) Composition of flavonoids in fresh herbs and calculation of flavonoid intake by use of herbs in traditional Danish dishes. *Food Chemistry.* **73**: 245-250.

K

Kandlakunta, B., Rajendran, A., Thingnganing, L. (2008) Carotene content of some common (cereals, pulses, vegetables, spices and condiments) and unconventional sources of plant origin. *Food Chem.* **106**: 85-89.

Kartal, N., Sokmen, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., Sokmen, A. (2007) Investigation of the antioxidant properties of *Ferula orientalis* L. using a suitable extraction procedure. *Food Chem.* **100**: 584-589.

Kivilompolo, M., Hyotylainen, T. (2007) Comprehensive two-dimensional liquid chromatography in analysis of Lamiaceae herbs: Characterisation and quantification of antioxidant phenolic acids. *J Chromatography A.* **1145**: 155-164.

Kil, H.Y., Seong, E.S., Ghimire, B.K., Chung, I.M., Kwon, S.S., Goh, E.J., Heo, K., Kim, M.J., Lim, J.D., Lee, D., Yu, C.Y. (2009) Antioxidant and antimicrobial activities of crude sorghum extract. *Food Chem.* **115**: 1234-1239.

Komy, Z.R. (2004) Determination of acidic sites and binding toxic metal ions on cumin surface using nonideal competitive adsorption model. *J Colloid and Interface Science.* **270** : 281-287.

Koné, W.M., Kamanzi Atindehou, K., Terreaux, C., Hostettmann, K., Traoré, D., Dosso, M. (2004) Traditional medicine in North Côte-d'Ivoire: screening of 50 medicinal plants for antibacterial activity. *J Ethnopharmacol.* **93**: 43-49.

Kosar, M., Dorman, H.J.D., Hiltunen, R. (2005) Effect of an acid treatment on the phytochemical and antioxidant characteristics of extracts from selected Lamiaceae species. *Food Chem.* **91**: 525-533.

Koechlin-Ramonatxo, C. (2006) Oxygène, stress oxydant et suppléments anti-oxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme.* **20**: 165-177.

L

Lahouel, M., Boulkour, S., Segueni, N., Fillastre, J.P. (2004) The flavonoids effect against vinblastine, cyclophosphamide and paracetamol toxicity by inhibition of lipid-

peroxydation and increasing liver glutathione concentration. *Pathologie Biologie*. **52** : 314-322.

Laurent, L. (1991) Eléments minéraux. In : Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agroalimentaires. Volume 4. Lavoisier (Ed). Paris, pp78-98.

Le, K., Chiu, F., Ng, K. (2007) Identification and quantification of antioxidants in *Fructus lycii*. *Food Chem.* (in press).

Lhuillier, A. (2007) 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.

Li, J., Jiang, Y. (2007) Litchi Flavonoids: Isolation, Identification and Biological Activity. *Molecules*. **12**: 745-758.

Lopes-Lutz, D., S. Alviano, D., S. Alviano, C., P. Kolodziejczyk, P. (2008) Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils *Phytochemistry*. **69** :1732-1738.

Loziene, K., Venskutonis, P. R., Sipailiené, A., Labokas, J. (2007) Radical scavenging and antibacterial properties of the extracts from different *Thymus pulegioides* L. chemotypes. *Food Chem.* **103**: 546-559.

Luis, J.C., Martin Perez, R., Valdes Gonzalez, F. (2007) UV-B radiation effects on foliar concentrations of rosmarinic and carnosic acids in rosemary plants. *Food Chem.* **101**: 1211-1215.

M

Maataoui, B. S., Hmyene, A., Hilali, S. (2006) Activites anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (*opuntia ficus indica*). *Lebanese Science Journal*. **7**: 3-8.

Maisuthisakul, P., Pasuk, S., Ritthiruangdej, P. (2008) Relationship between antioxidant properties and chemical composition of some Thai plants. *J Food Composition and Analysis*. **21**: 229-240.

Marfak, A. (2003) Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de Leur reactivite avec les radicaux issus des Alcools: formation de depsides. Thèse de doctorat. Limoges.

Markowicz Bastos, D. H., Saldanha, L. A., Catharino, R. R., Sawaya, A.C.H. F., Cunha, I B. S., Carvalho, P. O. Eberlin, M. N. (2007) Phenolic Antioxidants Identified by ESI-MS from Yerba Maté (*Ilex paraguariensis*) and Green Tea (*Camelia sinensis*) Extracts. *Molecules*. **12**: 423-432.

- Martin S., Andriantsitohaina R. (2002) Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*. **51**: 304-315.
- Mata, A.T., Proenc, C., Ferreira, A.R., Serralheiro, M.L.M., Nogueira, J.M.F., Araujo, M.E.M. (2007) Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. *Food Chem.* **103**: 778-786.
- Merken, H.M., Beecher, G.R. (2000) Liquid chromatographic method for the separation and quantification of prominent flavonoid aglycones. *J Chromatography A*. **897**: 177-184.
- Middleton, E., Kandaswami, C., Theoharides, T.C. (2000) The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. *Pharmacol Rev.* **52**: 673-751.
- Milane, H., (2004) La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat. Strasbourg.
- Mohammedi, Z. (2006) Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de magister .Tlemcen.
- Mohsen, S. M., Ammar, A.S.M. (2009) Total phenolic contents and antioxidant activity of corn tassel extracts. *Food Chem.***112**: 595-598.
- Moreira, M.R., Ponce, A.G., Del Valle, C.E., Roura, S.I. (2005) Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT*. **38**: 565-570.
- Moulinier, C., (2003) Parasitologie et mycologie médicales Eléments de morphologie et de biologie. E M inter (Ed), 796p.
- Muthamma Milan, K.S., Dholakia, H., Kaul Tikku, P., Vishveshwaraiah, P. (2008) Enhancement of digestive enzymatic activity by cumin (*Cuminum cyminum* L.) and role of spent cumin as a bionutrient. *Food Chem.***110**: 678-683.

N

- Nalini, N., Sabitha, K., Viswanathan, P., Menon, V.P. (1998) Influence of spices on the bacterial (enzyme) activity in experimental colon cancer. *J Ethnopharmacol.* **62**: 15-24.
- Nassu, R.T., Guaraldo Goncalves, L.A., Azevedo Pereira da Silva, M.A., Beserra, F.J.(2003) Oxidative stability of fermented goat meat sausage with different levels of natural antioxidant. *Meat Science.* **63**: 43-49.

- Natarajan D., John Britto S., Srinivasan K., Nagamurugan N., Mohanasundari C., Perumal G. (2005) Anti-bacterial activity of *Euphorbia fusiformis*-A rare medicinal herb. *J Ethnopharmacol.* **102**: 123-126.
- Nauciel, C. (2000) Bactériologie médicale. Masson (Ed).Paris, 276p.
- Ngameni, B., Kuete, V., Simo I.K., Mbaveng, A.T., Awoussong, P.K., Patnam, R., Roy, R., Ngadjui, B.T. (2009) Antibacterial and antifungal activities of the crude extract and compounds from *Dorstenia turbinata* (Moraceae). *South African J Botany.* **75** : 256-261.
- Nogala-Kalucka, M., Korczak, J., Dratwia, M., Lampart-Szczapa, E., Siger, A., Buchowski, M.(2005) Changes in antioxidant activity and free radical scavenging potential of rosemary extract and tocopherols in isolated rapeseed oil triacylglycerols during accelerated tests. *Food Chem.* **93**: 227-235.

O

- Okamura, N., Haraguchi, H., Hashimoto, K., Yagi, A. (1994) Flavonoids in *Rosmarinus officinalis* leaves. *Phytochemistry.* **37**: 1463-1466.
- Orhan, I., Aslan, S., Kartal, M., Sener, B., Husnu Can Baser, K. (2008) Inhibitory effect of Turkish *Rosmarinus officinalis*L. on acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase enzymes. *Food Chem.***108**: 663-668.
- O'Riordan, M.J., Wilkinson, M.G. (2008) A survey of the incidence and level of aflatoxin contamination in a range of imported spice preparations on the Irish retail market. *Food Chem.***107**:1429-1435.
- Ozturk, M., Aydogmus-Ozturk, F., Duru, M-E., Topcu, G. (2007) Antioxidant activity of stem and root extracts of Rhubarb (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant. *Food Chem.* **103**: 623-630.

P

- Papachristos, D.P., Stamopoulos, D.C. (2002) Toxicity of vapours of three essential oils to the immature stages of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *J Stored Products Research.* **38**: 365-373.
- Papachristos, D.P., Stamopoulos, D.C. (2004) Fumigant toxicity of three essential oils on the eggs of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *J Stored Products Research.* **40**: 517-525.
- Parmar, N.S., Ghosh, M. N. (1980) Current trends in flavonoid research. *Ind. J. Pharmac.***12**: 213-228.

- Peng, Y., Yuan, J., Liu, F., Ye, J. (2005) Determination of active components in rosemary by capillary electrophoresis with electrochemical detection. *J Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. **39**: 431-437.
- Perez, M.B., Calderon, N.L., Croci C.A. (2007) Radiation-induced enhancement of antioxidant activity in extracts of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Food Chem*. **104**: 585-592.
- Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., Defraigne, J.O. (2002) Mécanismes physiologiques de la défense anti-oxydante Physiological action of antioxidant defences. *Nutrition clinique et métabolisme*. **16**: 233-239.
- Platel, K., Srinivasan, K. (2000) Stimulatory influence of select spices on bile secretion in rats. *Nutrition Research*. **20**: 1493-1503.
- Podsedek, A. (2007) Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT*. **40**:1-11.
- Poletti, A. (1988) Fleurs et plantes médicinales. 2^{ème} Edition. Delachaux & Niestlé (Ed). Paris, 222p.
- Prajapati, V., Tripathi, A.K., Aggarwal, K.K., Khanuja, S.P.S. (2005) Insecticidal, repellent and oviposition-deterrent activity of selected essential oils against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *Bioresource Technology*. **96**: 1749-1757.
- Prasad, M.M., Seenayya, G. (2000) Effect of spices on the growth of red halophilic cocci isolated from salt cured fish and solar salt. *Food Research International*. **33**: 793-798.
- Proestos, C., Sereli, D., Komaitis, M. (2006) Determination of phenolic compounds in aromatic plants by RP-HPLC and GC-MS. *Food Chem*. **95**: 44-52.

Q

- Quezel, P., Santa, S. (1963) Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. C.N.R.S. (Ed). Paris, 565p.

R

- Rahal, K. (2005) standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale. 4^{ème} édition. 116p
- Ramassamy, C., (2006) Emerging role of polyphenolic compounds in treatment of neurodegenerative diseases: A review of their intracellular targets. *European J Pharmacology*. **545**: 51-64.
- Ramirez, P., Santoyo, S., Garcia-Risco, M.R., Senorans, F.J., Ibanez, E., Reglero, G. (2007) Use of specially designed columns for antioxidants and antimicrobials enrichment by

preparative supercritical fluid chromatography (Prep-SFC). *J Chromatography A*.**1143**: 234-242.

Rasooli, I., Fakoor, M.H., Yadegarinia, D., Gachkar, L., Allameh, A., Rezaei, M.B.(2008) Antimycotoxigenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum copticum* L. essential oils. *International J of Food Microbiology*.**122**:135-139.

Rice-Evans C. (2001) Flavonoid Antioxidants. *Current Medicinal Chemistry*. **8**:797-807.

Roman-Ramos, R., Flores-Saenz, J.L., Alarcon-Aguilar, F.J. (1995) Anti-hyperglycemic effect of some edible plants. *J Ethnopharmacol*.**48**: 25-32.

S

Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, M., Bruni, R. (2005) Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chem*. **91**: 621-632.

Sagdic, O., Ozcan, M. (2003) Antibacterial activity of Turkish spice hydrosols. *Food Control*.**14**: 141-143.

Sagdic, O., Kuscü, A., Özcan, M., Özcelik, S. (2002) Effects of Turkish spice extracts at various concentrations on the growth of *Escherichia coli* O157:H7. *Food Microbiology*. **19**: 473-480.

Samotyja, U., Malecka M. (2007) Effects of blackcurrant seeds and rosemary extracts on oxidative stability of bulk and emulsified lipid substrates. *Food Chem*. **104**: 317-323.

Saiedirad, M.H., Tabatabaeifar, A., Borghei, A., Mirsalehi, M., Badii, F., Ghasemi Varnamkhasti, M. (2008) Effects of moisture content, seed size, loading rate and seed orientation on force and energy required for fracturing cumin seed (*Cuminum cyminum* Linn.) under quasi-static loading. *J Food Engineering*. **86**: 565-572.

Schelz Z., Molnar J, Hohmann J. (2006) Antimicrobial and antiplasmid activities of essential oils. *Fitoterapia*. **77**: 279-285.

Shahnaz, H., Hifza, A., Bushra, K., Khan, J.I. (2004) Lipid studies of *cuminum cyminum* fixed oil Pak. *J Bot*. **36**: 395-401.

Shan, B., Cai, Y.Z., Brooks, J.D., Corke, H. (2007) The *in vitro* antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International J Food Microbiology*. **117**: 112-119.

Sebranek, J.G., Sewalt, V.J.H., Robbins, K.L., Houser, T.A. (2005) Comparison of a natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. *Meat Science*.**69**: 289-296.

- Singh, K.K., Goswami, T.K. (1996) Physical Properties of Cumin Seed. *J.agric.Engng Res.* **64**: 93-98.
- Singh, K.K., Goswami, T.K. (1998) Mechanical Properties of Cumin Seed (*Cuminum cyminum* Linn.) under Compressive Loading. *J Food Engineering.* **36**: 311-321.
- Singletary, K., MacDonald, C., Wallig, M. (1996a) Inhibition by rosemary and carnosol of 7,12- dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)-induced rat mammary tumorigenesis and in vivo DMBA-DNA adduct formation. *Cancer Letters.* **104**: 43-48.
- Singletary, K.W. (1996b) Rosemary extract and carnosol stimulate rat liver glutathione-S-transferase and quinone reductase activities. *Cancer Letters.* **100**: 139-144.
- Slamenova, D., Kuboskova, K., Horvathova, E., Robichova, S. (2002) Rosemary-stimulated reduction of DNA strand breaks and FPGsensitive sites in mammalian cells treated with H₂O₂ or visible light-excited Methylene Blue. *Cancer Letters.* **177**: 145-153.
- Sotelo-Felix, J.I., Martinez-Fong, D., Muriel, P., Santillan, R.L., Castillo, D., Yahuaca, P.(2002) Evaluation of the effectiveness of *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae) in the alleviation of carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity in the rat. *J Ethnopharmacology.* **81**: 145-154.
- Soyal, D., Jindal, A., Singh, I., Goyal, P.K. (2007) Modulation of radiation-induced biochemical alterations in mice by rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract. *Phytomedicine.* **14**: 701-705.
- Sowbhagya, H.B., Florence Suma, P., Mahadevamma, S., Tharanathan, R.N. (2007) Spent residue from cumin - a potential source of dietary fiber. *Food Chem.* **104**: 1220-1225.
- Srinivasan, K. (2005) Spices as influencers of body metabolism: an overview of three decades of research. *Food Research International.* **38**: 77-86.
- Stefanovits-Banyai, E., Tulok, M.H., Hegedus, A., Renner, C., Szollosi Varga, I. (2003) Antioxidant effect of various rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) clones+. *Acta Biologica Szegediensis.* **47**:111-113.
- Surveswaran, S., Cai, Y.Z., Corke, H., Sun, M. (2007) Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. *Food Chem.* **102**: 938-953.

T

- Tawaha, K., Alali, F.Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M., El-Elimat, T. (2007) Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chem.* (in press).

- Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, H.A., Sokmen, A. (2006) Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey. *Food Chem.* **95**: 200-204.
- Tieppo, J., Verdelino, R., Dias, A.S., Silva Vaz, M.F., Silveira, T.R., Marroni, C.A., Marroni, N.P., Henriques, J.A.P., Picada, J.N. (2007) Evaluation of the protective effects of quercetin in the hepatopulmonary syndrome. *Food and Chemical Toxicology.* **45**: 1140-1146.
- Tsai, P., Tsai, T., Ho, S. (2007) *In vitro* inhibitory effects of rosemary extracts on growth and glucosyltransferase activity of *Streptococcus sobrinus*. *Food Chem.* (in press).
- Tsimogiannis, D., Samiotaki, M., Panayotou, G., Oreopoulou, V. (2007) Characterization of Flavonoid Subgroups and Hydroxy Substitution by HPLC-MS/MS. *Molecules.* **12**: 593-606.
- Tunc, I., Berger, B.M., Erler, F., Dagli, F. (2000) Ovicidal activity of essential oils from five plants against two stored-product insects. *J Stored Products Research.* **36**: 161-168.
- Turkmen, N., Velioglu, Y. S, Sari, F., Polat, G. (2007) Effect of Extraction Conditions on Measured Total Polyphenol Contents and Antioxidant and Antibacterial Activities of Black Tea. *Molecules.* **12**:484-496.

V

- Valko, M., Rhodes, C.J.b, Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M. (2006) Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions.* **160**: 1-40.
- Van Acker, S.A.B. E., Van Balen, G.P ., Van den Berg, D.J ., Bast, A., Van der Vijgh, W.J. F.(1998) Influence of Iron Chelation on the Antioxidant Activity of Flavonoids. *Biochemical Pharmacology.* **56**: 935-943.
- Vican, P., (2001) Encyclopédie des plantes médicinales. Larousse (Ed). Paris, 355p.
- Visanji, J.M., Thompson, D.G., Padfield, P.J. (2006) Induction of G₂/M phase cell cycle arrest by carnosol and carnosic acid is associated with alteration of cyclin A and cyclin B1 levels. *Cancer Letters.* **237**: 130-136.
- Vuorela, S. (2005) Analysis, isolation, and bioactivities of rapeseed phenolics. Helsinki.

W

- Wang, W., Wu, N., Zu, Y.G., Fu, Y.J. (2008) Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. *Food Chem.* **108**: 1019-1022.

Wei, G.J, Ho, C.T. (2006) A stable quinone identified in the reaction of carnosol, a major antioxidant in rosemary, with 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. *Food Chem.* **96**: 471-476 .

Weckesser, S., Engel, K., Simon-Haarhaus, B., Wittmer, A., Pelz, K., Schempp C.M. Screening of plant extracts for antimicrobial activity against bacteria and yeasts with dermatological relevance. *Phytomedicine*. (in press).

Willatgamuwa, S.A., Platel, K., Saraswathi, G., Srinivasan, K. (1998) Antidiabetic influence of dietary cumin seeds in streptozotocin induced diabetic rats. *Nutrition Research.* **18**: 131-142.

Wojdylo, A., Oszmianski, J., Czemerys, R. (2007) Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chem.* **105**: 940-949.

Wong, C.C., Li H.B., Cheng, K.W., Chen, F. (2006) A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chem.* **97**: 705-711.

X

Xu, Y.C., Leung, S.W.S., Yeung, D.K.Y., Hu, L.H., Chen, G.H., Che, C.M., Man, R.Y.K., (2007) Structure- activity relationships of flavonoids for vascular relaxation in porcine coronary artery. *Phytochemistry.* **68**: 1179-1188.

Y

Yano, Y., Satomi, M., Oikawa, H.(2006) Antimicrobial effect of spices and herbs on *Vibrio parahaemolyticus*. *International J Food Microbiology.* **111**: 6-11.

Z

Zhang, H., Kong, B., Xiong, Y .L., Sun, X. (2009) Antimicrobial activities of spice extracts against pathogenic and spoilage bacteria in modified atmosphere packaged fresh pork and vacuum packaged ham slices stored at 4 °C. *Meat Science.* **81**: 686-692.

Zhu, J.X, Wang, Y., Kong, L.D., Yang, C., Zhang, X. (2004) Effects of *Biota orientalis* extract and its flavonoid constituents, quercetin and rutin on serum uric acid levels in oxonate-induced mice and xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase activities in mouse liver. *J Ethnopharmacol.* **93**: 133-140.

الملخص

إن الهدف من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للتأكسد بواسطة طريقتين: طريقة تفسخ β -carotène وطريقة النشاطية الازاحية تجاه جذر DPPH واختبار التأثير المضاد للميكروبات عن طريق الانتشار على وسط صلب، لمستخلصات (المستخلص الخام، مستخلص خلات الاثيل و مستخلص البوتنول العادي) ليدور نبتة الكمون وأوراق نبتة الإكليل.

قمنا أولاً بإجراء تقدير كمي بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية المرئية للفينولات و كذلك الفلافونيدات على أسس أنها أهم قسم من العائلة الفينولية ودراسة تحليلية للفلافونيدات بواسطة كروماتوغرافيا السائل العالي الأداء (HPLC).

التقدير الكمي للفينولات بواسطة طريقة Folin-Ciocalteu و الفلافونيدات بواسطة طريقة $AlCl_3$ بينت غنى الإكليل بالفينولات (195.45 ± 4.16 mg EAG/g d'EBr) و الكمون بالفلافونيدات (17.39 ± 2.71 mg EQ/g d'EBr).

الدراسة التحليلية بواسطة HPLC بينت وجود rutine في كل المستخلصات و catéchine في مستخلصات الإكليل.

نتائج النشاط المضاد للتأكسد و البكتيريا أوضحت أن مستخلصات الإكليل كانت فعالة كعوامل مضادة للتأكسد و البكتيريا.

طريقة تفسخ β -carotène بينت أن مستخلص خلات الاثيل لنبتة الإكليل تميز بنشاط مضاد للأكسدة جد عالي (79.34%)، بينما طريقة النشاطية الازاحية تجاه جذر DPPH بينت أن مستخلص البوتانول العادي لنبتة الكمون (94.55%) و مستخلصي البوتانول العادي (96.18%) و خلات الاثيل (95.81%) لنبتة الإكليل تميزت بنشاطية ازاحية أعلى من نشاطية BHT.

مستخلص خلات الاثيل لنبتة الإكليل كان الأكثر فعالية على مجموع البكتيريات المختبرة و اظهر نشاط مهما مضادا للبكتيريا ضد السلالة المقاومة (BLSE+CHN) Entérobacter sp. نتائج النشاط المضاد للفطريات بينت عدم فعالية كل المستخلصات ضد السلالات الفطرية. كذلك نتائج النشاط المضاد للميكروبات لم تبين وجود أي قوة جمع (Synergie) بين المستخلصات الخامة للنبتين.

الكلمات المفاتيح : الكمون، الإكليل، الفينولات، النشاط المضاد للتأكسد، النشاط المضاد للميكروبات.

RESUME

Le présent travail a pour objectif d'évaluer l'activité anti-oxydante par le biais de deux méthodes : la méthode de blanchissement du β -carotène et la méthode au DPPH et de tester l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion en milieu gélosé, des extraits (EBr, EAcOEt et En-BuOH) des graines du cumin et les feuilles du romarin.

Nous avons tout d'abord procédé aux dosages quantitatifs colorimétriques par un spectrophotomètre UV-Vis des polyphénols totaux, ainsi que les flavonoïdes comme étant la classe la plus importante de la famille des polyphénols et à une analyse qualitative des flavonoïdes par chromatographie liquide à haute performance (HPLC).

Les dosages quantitatifs des polyphénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu et des flavonoïdes par la méthode d' AlCl_3 ont révélé la richesse du romarin en polyphénols (195.45 ± 4.16 mg EAG/g d'EBr) et du cumin en flavonoïdes (17.39 ± 2.71 mg EQ/g d'EBr).

L'analyse qualitative par HPLC a révélé la présence de la rutine dans tous les extraits et la catéchine dans les extraits du romarin.

L'expression des résultats de l'activité anti-oxydante et antibactérienne a montré que les extraits du romarin étaient plus actifs, comme agents antioxydants et antibactériens.

Dans le test de blanchissement du β -carotène, l'EAcOEt du romarin a montré l'activité anti-oxydante la plus élevée (79.34%), tandis que dans le test au DPPH l'En-BuOH du cumin (94.55%) et les extraits En-BuOH (96.18%), EAcOEt (95.81%) du romarin ont présenté une activité anti-radicalaire plus élevée que celle du BHT (92.91%).

L'EAcOEt du romarin était l'extrait le plus actif sur l'ensemble des bactéries testées et a révélé une activité antibactérienne intéressante contre la souche multi-résistante *Entérobacter* sp (BLSE+CHN). Les résultats de l'activité antifongique ont montré l'inefficacité de tous les extraits contre les souches fongiques. De même les résultats de l'activité antimicrobienne n'ont pas indiqué une synergie entre l'EBr des deux plantes.

Mots clés : Cumin, Romarin, Polyphénols, Activité Anti-oxydante, Activité antimicrobienne.

ABSTRACT

This work aims at evaluating the antioxidant activity by the means of two methods: the β -carotene bleaching method and DPPH assay as well as testing the antimicrobial activity by the Agar-well diffusion method, of the extracts (EBr, EAcOEt and En-BuOH) of the seeds of cumin and the rosemary leaves.

First, we carried out colorimetric quantification by a spectrophotometer UV-Vis of total polyphenols as well as the flavonoids being the most important class of the family of polyphenols. Afterwards, we have proceeded at analysis of the flavonoids by high performance liquid chromatography (HPLC).

The quantification of total polyphenols using the Folin-Ciocalteu method and of the flavonoids using the $AlCl_3$ method revealed the richness of the rosemary in polyphenols (195.45 ± 4.16 mg EAG/g of EBr) and the cumin in flavonoids (17.39 ± 2.71 mg EQ/g of EBr). The analysis by HPLC revealed the presence of rutin in all the extracts and the catechin in the extracts of the rosemary.

The expression of the results of the antioxidant and antibacterial activity showed that the extracts of the rosemary were more active as antioxidant and antibacterial agents.

In the β -carotene bleaching test, the EAcOEt of the rosemary displayed a very high antioxidant activity (79.34%), whereas in the DPPH assay the En-BuOH of the cumin (94.55%) and the extracts En-BuOH (96.81%), EAcOEt (59.81%) of the rosemary have shown an radical-scavenging activity overpassing that of the BHT (92.91%).

The rosemary EAcOEt has been the most active extract against the whole tested Bacterial strains. It has revealed an interesting antibacterial activity against the multi-resistant strain *Entérobacter* sp (ESBL+HLC).

The results of the antifungal activity showed the inefficiency of all the extracts against the fungal strains. Similarly, the results of the antimicrobial activity did not indicate a synergy between the EBr of the two plants.

Key words: Cumin, Rosemary, Polyphenols, Antioxidant activity, Antimicrobial Activity.