



## International Journal of Natural Resources and Environment

Journal home page: <https://ijnre.univ-adrar.dz>

ISSN 2710-8724



I  
J  
N  
R  
E

### Contribution à l'étude des substances bioactives et des activités biologiques de l'espèce *Rosmarinus officinalis-L*

Saida Karouche<sup>1\*</sup>, Sarra Henouda<sup>2</sup>, Amel Benbott<sup>1</sup>, Kaouther Mihrab<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Faculté des sciences exactes, sciences de la nature et de la vie, Université Larbi Ben Mhidi Oum El Bouaghi,

<sup>2</sup>Laboratoire Ressources Naturelles Sahariennes, Faculté des Sciences et de la Technologie, Université Ahmed Draia – Adrar 01000, Algérie).

\* Corresponding author: [saidabmc86@yahoo.fr](mailto:saidabmc86@yahoo.fr) (S. Karouche)

**Article details:** Received: 28 March 2021, Revised: 15 May 2021, Accepted: 30 May 2021

#### Résumé:

Dans le contexte de l'intérêt croissant pour les plantes et leurs propriétés médicinales, nous avons étudié la plante *Rosmarinus officinalis-L* qui est très abondante en Algérie. Des études antérieures ont été menées sur ce romarin, mais peu d'études sont portées sur le romarin provenant de différentes régions. Dans ce contexte, le présent travail est porté sur une étude phytochimique des polyphénols majoritaires contenus dans cette plante, et une évaluation de leur activité antioxydante et antibactérienne de la partie aérienne de *Rosmarinus* d'Ouargla. L'extraction des polyphénols totaux par le méthanol a donné un rendement de 18,2 % vs 15,28 % pour l'extraction aqueuse. En effet, nos résultats montrent la richesse du romarin étudié en composés phénoliques, différentes classes de ces derniers ont été identifiées par CCM telle que les flavonols, flavones, et l'acide phénol. La détermination de l'activité anti-radicalaire vis-à-vis le radical DPPH montre que l'extrait méthanolique de *Rosmarinus* présente un fort pouvoir antioxydant (89.45 %) que celui de l'extrait aqueux (86.76 %), qui est très proche à celui du standard avec un pourcentage d'inhibition de 91.15 %. Pour l'activité antibactérienne, a également testé sur huit souches bactériennes (Gram+ et Gram-), a révélée que les extraits méthanolique et aqueux de *Rosmarinus officinalis-L*, possède un pouvoir antibactérien, sur les souches références et cliniques testées à divers degrés d'inhibition.

**Mots clés :** *Rosmarinus officinalis-L* ; polyphénols ; flavonoïdes ; activité antioxydante et antimicrobienne.

#### Abstract:

In the context of the growing interest in plants and their medicinal properties, we studied the plant *Rosmarinus officinalis-L* which is very abundant in Algeria. Previous studies have been done on this plant, but few studies have been done on *Rosmarinus* from different regions. In this context, the present work is focused on a phytochemical study of the major polyphenols contained in this plant, and an evaluation of their antioxidant and antibacterial activity of the aerial part of *Rosmarinus* d'Ouargla. Extraction of total polyphenols with methanol gave a yield of 18.2% vs. 15.28% for the aqueous extraction. Indeed, our results show the richness of *Rosmarinus* studied in phenolic compounds, different classes of these have been identified by CCM such as flavonols, flavones, and phenol acid. The determination of the anti-radical activity vis-à-vis the DPPH radical shows that the methanolic extract has a strong antioxidant power (89.45%) than that of the aqueous extract (86.76%), which is very similar to that of the standard with a percentage inhibition of 91.15%. For antibacterial activity, also tested on eight bacterial strains (Gram + and Gram-), revealed that the methanolic and aqueous extracts, has antibacterial power, on reference and clinical strains tested to varying degrees of inhibition.

**Keywords:** *Rosmarinus officinalis-L*; polyphenols; flavonoids; antioxidant and antimicrobial activities.

## 1. Introduction

Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement lorsque les constituants des plantes sont utilisés directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matières premières pour la synthèse de médicaments ou

comme modèles pour les composés pharmacologiquement actifs (Gurib-Fakim, 2006). Ces dernières renferment de nombreux principes actifs où certains sont issus du métabolisme secondaire. Elles produisent déjà 70% de nos médicaments, déjà environ 170 000 molécules bioactives ont été identifiées à partir de plantes (Chaabi, 2008).

L'Algérie est caractérisée par une grande superficie étendant de la mer Méditerranée au nord à la profondeur du Sahara africain au sud, cette extension lui donne une diversité dans la situation climatique, ce qui produit une couverture végétale grande et variée, et selon (Hanifi, 1991) comparativement des pays du Maghreb, la flore algérienne est représentée par 3000 espèces et 1000 genres. Et devant cette grande diversité de plantes médicinales, nous avons choisi *Rosmarinus Officinalis* L qui sont répandus dans les régions du nord dans un climat tempéré et semi-aride, ce choix est venu du fait de sa large diffusion et de sa grande utilisation par la population en médecine traditionnelle en raison de ses diverses propriétés thérapeutiques efficaces.

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la recherche des antioxydants naturels en évaluant les propriétés antioxydantes des polyphénols et flavonoïde de *Rosmarinus Officinalis* L et leur activité antibactérienne.

## **2. Matériels et Méthodes**

Le matériel végétal est constitué de feuilles de la plante *Rosmarinus officinalis*-L qui a été récolté au mois de janvier 2017 de la région Ouargla.

### **2.1. Préparation de l'extrait méthanolique**

50g de la poudre subit une macération dans 500 ml de méthanol à 80%. Après une période d'incubation de 48 heures à température ambiante, le mélange hétérogène est filtré par papier filtre ; ainsi, l'extrait récupéré est soumis à une évaporation à basse pression à 60 C avec un rotavapeur de type Heidolph (Thiaw et al., 2015).

### **2.2. Préparation de l'extrait total aqueux**

50 g de broyat de la partie aérienne de la plante est macérée dans 500 ml d'eau distillée pendant 15 à 20 min sous agitation magnétique, la solution est laissée reposer sur la plaque chauffante pendant 15 min puis le mélange est d'abord filtré et la solution obtenue est lyophilisée en utilisant un lyophilisateur pour obtenir une poudre (Khettaf et al., 2016).

### **2.3. Dosage des polyphénols totaux des extraits**

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par le réactif colorimétrique Folin-Ciocalteu selon la méthode cité par (Singleton and Rossi, 1965).

### **2.4. Dosage des flavonoïdes totaux des extraits**

La méthode de trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) cité par (Djeridane et al., 2006) est utilisé pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits.

## 2.5. Piégeage du radical libre par DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazil)

Afin d'étudier l'activité antiradicalaire de nos extraits, nous avons utilisé la méthode basée sur le DPPH, selon le protocole de (Masuda et al., 1999).

## 2.6. Activité antimicrobienne

Cette activité est réalisée au sein du laboratoire de microbiologie de l'établissement hospitalier d'Ain Fakroun, Oum el Bouaghi. L'activité antibactérienne des extraits a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé. 6 souches cliniques et 3 souches de références ont été choisies pour leur pathogénicité et leur implication fréquente dans plusieurs infections. Ce sont des espèces Gram négatif ou Gram positif, pathogènes et responsables d'infections graves chez l'homme et dont la plupart sont résistantes aux antibiotiques. Elles sont activées à 37° C par repiquage sur milieu gélosé Muller-Hinton.

Des disques standards contenant les antibiotiques : Nali-dixic acid, Cefotaxime, Ampicillin, Nitrofurantoin, Ceftazidime, Penicillin, Oxacillin, Fosfomicin, Fusidic acid servent de contrôles positifs.

## 3. Résultats et Discussions

### 3.1. Rendement d'extraction

L'extraction des polyphénols de la plante *R. officinalis*-L par macération dans le mélange méthanolique et le mélange aqueux permet de déterminer les rendements suivants :

**Tableau 2.** Rendement d'extraction.

Matériel végétal	Extrait	Rendement (%)
Feuilles	Méthanolique	18.2
	Aqueux	15.28

Notez que le meilleur rendement est enregistré pour la fraction méthanolique ; qui était supérieur à ceux de (Kahouli, 2010) avec un rendement faible de l'ordre de 13,9 % pour la même plante achetée à partir de sources commerciales (les montagnes de l'Inc. BSK, Canada), en utilisant l'éthanol comme solvant d'extraction dans des récipients scellés sous température ambiante. Les extraits ont été filtrés et le solvant organique a été évaporé sous vide à 45 °C. Dans une autre étude, (Hoefler, 1994) a réalisé l'extraction aqueuse et il a obtenu des rendements de l'ordre de 14,3 % et 16,2% des deux régions : Montrichard et St Arty/Caderonne en France, on peut dire que c'est proche de nos résultats de l'extraction aqueuse avec un rendement de 15.28%.

### 3.2. Screening phytochimique

Un résultat semblable (voir Tableau 2) est également noté dans les travaux réalisés par (Makhloufi, 2013) dans la région de Bechar, ils ont montré la même présence des huiles essentielles, stérols, triterpènes et flavones aglycone, les coumarines et les saponosides. En revanche, la même étude a montré l'absence des polyuronides et les alcaloïdes comparés à nos résultats, et la présence d'anthocyanosides qui sont absents dans nos résultats.

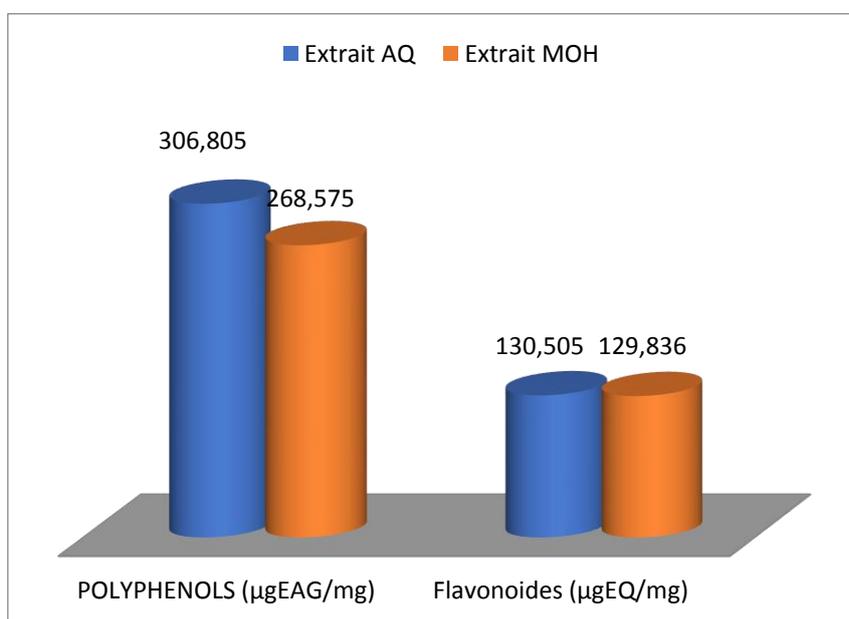
L'analyse qualitative par CCM, a permis de mettre en évidence de nombreuses taches (spots) colorées surtout en bleu, jaune, rouge, orange, violette et verte, qui peuvent correspondre aux flavonols, flavonones, isoflavonones, flavone, et l'acide phénol selon (Markham, 1982).

**Tableau 3.** Les composés phytochimique détectés dans *R. officinalis*-L d'Ouargla.

Les composants phytochimiques	Résultats
Les huiles essentielles	+
Stérols et triterpenes	+
Flavones aglycone	+
Les coumarines	+
Polyuronides	+
Tanins	+
Les saponosides	+
Les alcaloïdes	+
Anthracenosides	-

### 3.3. Résultats de dosage des composés phénoliques

Les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes de *R. officinalis*-L sont représentées dans la Fig.1 :

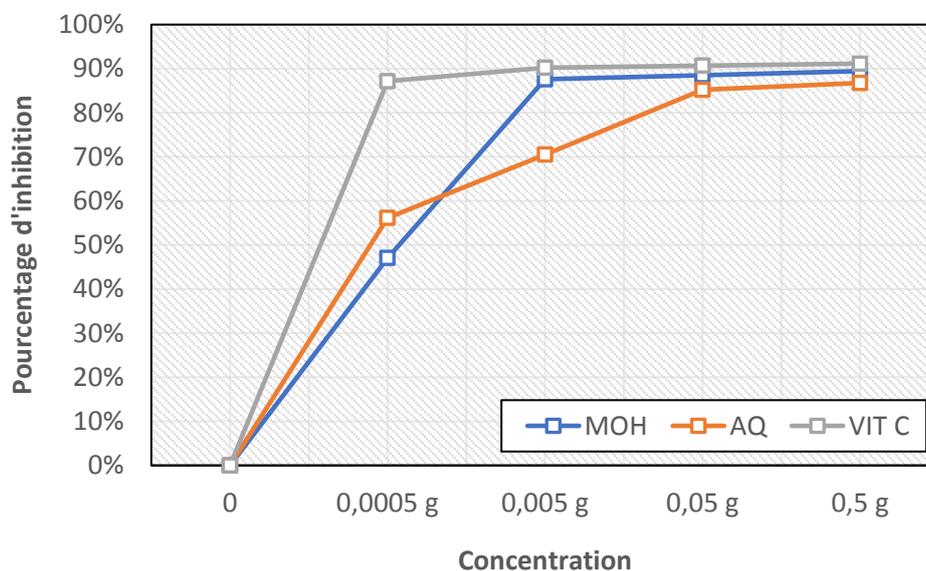


**Fig.1.** Teneurs en phénols totaux et flavonoïdes de *R. officinalis*-L d'Ouargla.

Dans l'étude de (Fadili et al., 2015), la teneur en polyphénols dans le Haut Atlas du Maroc, est significativement inférieure de nos résultats avec une teneur de l'ordre de  $185,71 \pm 4$  mg EAG / ml d'extrait méthanolique et la même chose pour l'étude de (Kahouli, 2010) qui a trouvé une teneur de 225 mg EAG /g. Donc nos résultats montrent que les feuilles de *Rosmarinus* renferment des teneurs importantes en polyphénols et en flavonoïdes.

### 3.4. L'activité antioxydante

Test de piégeage du radical libre DPPH.



**Fig.2.** Pourcentages d'inhibition des extraits de *Rosmarinus* et de la vitamine C.

La détermination de l'activité anti-radicalaire vis-à-vis le radical DPPH montre que l'extrait méthanolique de *Rosmarinus* présente un fort pouvoir antioxydant par rapport à l'extrait aqueux avec des pourcentages d'inhibition de l'ordre de (89.45 % vs 86.76 %) respectivement. Un pouvoir antioxydant très proche à celui du standard (91.15 %). Des résultats comparables menés par l'étude de (Makhloufi, 2013) qui a confirmé le fort pouvoir antioxydant de cette plante de la région Bechar avec des pourcentages d'inhibition de l'ordre de 80, 70% et 79, 62 % pour les deux extraits méthanolique et aqueux respectivement.

### 3.5. L'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de nos produits est estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les extraits de *Rosmarinus officinalis*-L à tester vis-à-vis trois souches bactériennes de références qui sont : *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853) et *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), et 5 souches cliniques qui sont : *Klebsiella*, *Escherichia coli* BLSE +, *Acinetobacter*, *Serratia sp*, *Proteus mirabilis* BMR. Après 24 heures d'incubation à 37°C, tous les extraits ont réagi positivement au moins sur une des souches microbiennes testées ce qui confirme que cette plante est douée de propriétés antimicrobiennes.

**Tableau 4.** Activité antimicrobienne des extraits méthanolique et aqueux de *R. officinalis*-L.

Les concentrations	E. MOH	E. AQ	E. MOH	E.AQ
	4 mg	8 mg	16 mg	24 mg
<i>E coli (ATCC 25922)</i>	R	R	6.2	6.5
<i>P. aeruginosa (ATCC 27853)</i>	R	R	R	6.7
<i>staphylococcus aureus (ATCC-25223)</i>	R	R	9	7
<i>E coli BLSE +</i>	R	R	6.8	6.2
<i>Klebsiella</i>	6.5	6.2	8.5	7
<i>Proteus mirabilis BMR</i>	R	R	7	8
<i>Acinetobacter</i>	R	R	7	7
<i>Serratia sp</i>	R	R	7.5	6.2

La plupart des souches testées (*Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* BLSE +, *Acinetobacter*, *Serratia sp*, *Proteus mirabilis* BMR) se révèlent résistantes pour les deux concentrations étudiées 4mg/ml d'extrait méthanolique et 8mg/ml d'extrait aqueux. Alors que les mêmes souches sont sensibles aux deux autres concentrations 16mg/ml et 24mg/ml respectivement avec des zones d'inhibitions de diamètres de 9 à 6mm.

*Klebsiella* est la souche clinique la plus sensible aux extraits de la plante *Rosmarinus* où nous avons noté des zones d'inhibitions élevées de l'ordre de (8.5 mm, 7 mm) pour les concentrations : 16 mg/ml d'extrait méthanolique, 24 mg/ml d'extrait aqueux respectivement.

Des résultats très élevés ont été trouvés par l'étude de (Amira, 2015 et Athamena, 2013) avec des zones d'inhibitions de l'ordre (12,4mm, 8,7mm, 8,4mm) pour les concentrations 1/2, 1/4, 1/8 de l'huile essentielle pour *Rosmarinus officinalis*-L d'el Kala et des zones d'inhibitions de l'ordre de (12.33mm, 12.33mm, 9.67mm, 7.33mm) pour les concentrations 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 de dilutions de romarin de Batna qui sont extraites par l'acétate d'éthyle. A partir des résultats obtenus lors de cette étude, il apparaît que la variation de l'activité antimicrobienne des extraits explique les variations de leurs compositions chimiques.

L'antibiogramme a été réalisé sur trois souches de référence des bactéries vis-à-vis les 8 antibiotiques de différentes familles. La mesure du diamètre des zones d'inhibition de chaque souche pour chacun des antibiotiques testés permet de caractériser les souches comme étant sensibles ou résistantes. Nos résultats montrent que les deux souches de référence *Escherichia coli* (ATCC 25921) et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), sont des bactéries sensibles qui possèdent des zones d'inhibition de diamètre de 25, 27, 18.5, 21.5 mm et 22, 12, 26, 20 mm respectivement pour Cefotaxime, Nali-dixicacid, Ampicillin et Nitrofurantoin utilisés comme des standards.

#### 4. Conclusion

À travers cette étude et d'après les résultats obtenus, les polyphénols et flavonoïde totaux de *Rosmarinus officinalis*-L a montré, qualitativement et quantitativement des activités : antioxydante, antimicrobienne intéressantes des deux extraits étudiés ; aqueux et méthanolique de la région Ouargla. L'ensemble de ces résultats restent une première étape dans la recherche de substances de source naturelle biologiquement active.

#### Remerciements

Mes remerciements vont également à mes étudiants Benbott M et Bouali Y pour leur participation dans ce travail.

#### Références

- Athamena, S.,** (2013). Etude quantitative des flavonoïdes des graines de *Cuminum cyminum* et les feuilles de *Rosmarinus officinalis* et l'évaluation de l'activité biologique.
- Chaabi, M.,** (2008). Étude phytochimique et biologique d'espèces végétales africaines: *Euphorbia stenoclada* Baill.(Euphorbiaceae), *Anogeissus leiocarpus* Guill. & Perr. (Combretaceae), *Limoniastrum feei* (Girard) Batt. (Plumbaginaceae). Louis Pasteur et Université MENTOURI de Constantine (Alger).
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N.,** (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry*, vol. 97, no 4, p. 654-660.
- Hanifi, N.,** (1991). Importance des ressources phytogénétiques et leur utilisation en Algérie. In conservation des ressources végétales. Publication d'Actes éditions. p47-49.
- Hoefler, C.,** (1994). Contribution à l'étude pharmacologique des extraits de *Rosmarinus officinalis* L., et notamment des jeunes pousses: activités cholérétiques, antihépatotoxiques, anti-inflammatoires et diurétiques. Metz.
- Kahouli, I.,** (2010). Effet antioxydant d'extraits de plantes (*Laurusnobilis* L., *Rosmarinus officinalis*, *Origanum majorana*, *Oléa Europea* L.) dans l'huile de canola chauffée. Université Laval.
- Khettaf Abdelkrim, Belloula Nacera, Dridi Seloua.,** (2016). Antioxidant activity, phenolic and flavonoid contents of some wild medicinal plants in southeastern Algeria. *African Journal of Biotechnology*, vol. 15, no 13, p. 524-530.
- Makhloufi, A.,** (2013). Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru.
- Markham, K.R.,** (1982). Techniques of flavonoid identification. Academic press London.

- Masuda, T., Yonemori, S., Oyama, Y., Takeda, Y., Tanaka, T., Andoh, T., Shinohara, A., Nakata, M.,** (1999). Evaluation of the antioxidant activity of environmental plants: activity of the leaf extracts from seashore plants. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, vol. 47, no 4, p. 1749-1754.
- Singleton, V. L., Rossi, Joseph A.,** (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, vol. 16, no 3, p. 144-158.
- Thiaw, Cheikh, COLY, Emile Victor, DJIBA, Saliou, et al.,** (2015). *Senna occidentalis* L : une plante prometteuse dans la lutte contre *Caryedon serratus* Ol. (Coleoptera, Bruchidae), insecte ravageur des stocks d'arachide au Sénégal. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, vol. 9, no 3, p. 1399-1418.