

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

جامعة احمد بوقرة _ بومرداس

Université M'Hamed Bougara de Boumerdes



Faculté des Sciences

Département de Biologie

Mémoire de Fin d'Etudes

Présenté pour l'obtention du Diplôme de Master 2 Académique

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie des Populations et des Organismes

Thème

**Evaluation des activités biologiques de la plante *Marrubium vulgare* L.
de la région de Boumerdes**

Réalisé par :

M^{elle} – Temmar Anfal

M^{elle} – Boudef Dounia

M^{elle} – Khaouatbi Yasmine

Soutenu le 29 /06 /2024 devant les membres du jury :

Mme Boumaza S.	MCA	UMBB	Présidente
Mme Dadoun N.	MCA	UMBB	Examinatrice
Mme Bouchenak O.	Professeur	UMBB	Promotrice
Mme Laoufi R.	MCA	UMBB	Co-Promotrice

Promotion 2023-2024

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciement

Nous voudrions tout d'abord remercier le bon Dieu, le miséricordieux, le plus généreux qui a éclairé notre chemin et nous a donné la force et la volonté qui nous ont permis de pouvoir réaliser ce travail.

Nous remercions infiniment Notre professeur Madame Bouchenak O. pour ses précieux conseils, son accompagnement et pour son entière disponibilité durant la préparation de ce mémoire, en nous apportant toutes les directives et les orientations utiles à son élaboration, c'est donc avec reconnaissance qu'on lui présente nos remerciements les plus sincères.

Nous remercions sincèrement Mme Boumaza S. Maitre de Conférence A à l'UMBB pour nous avoir fait l'honneur d'accepter d'être le président du jury.

Un grand merci à Mme Dadoun N. Maitre de conférences A à l'UMBB d'avoir accepté d'examiner et juger ce travail.

Nous n'oublions pas de remercier infiniment Mme Laoufi R, Maitre de Conférence A à l'UMBB pour nous avoir guidés et aidés à la réalisation de ce mémoire.

Mous adressons notre remerciement particulier à Mme Hafid N. qui était avec nous tout au long de la réalisation de ce travail, en lui souhaitant un grand succès dans sa vie et son travail.

Également nous remercions infiniment nos parents, qui nous ont encouragé et aidé à arriver à ce stade de notre formation.

Nous ajoutons des remerciements groupés à tous les techniciens de laboratoire N° 20 de Biologie des Populations et des Organismes de la Faculté des Sciences de l'université M'hamed Bougara Mme Nessrine, et le laboratoire de recherche de Bioinformatique, Microbiologie Appliquée et Biomolécules, Mme Radia et le personnel du Centre de Recherche et de Développement de Boumerdes.

Et enfin, nos remerciements vont à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la présentation de ce mémoire en nous offrant la possibilité de réaliser ce projet de fin d'étude.

Merci

Dédicace

Avec tous mes sentiments de respect, avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ma remise de diplôme et ma joie :

A mon paradis, à la prunelle de mes yeux, à la source de ma joie et mon bonheur, ma lune et le fil d'espoir qui allume mon chemin, ma moitié, Maman.

A celui qui m'a fait une femme, ma source de vie, d'amour et d'affection à mon support qui était toujours à mes côtés pour me soutenir et m'encourager, Papa.

A mon petit frère gâté Ayoub, qui savait toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille.

A mon grande frère Mohamed, mon cher frère, tu es mon soutien, mes espoirs et mon côté ferme qui ne penche pas, je te souhaite tout le meilleur dans ta vie, j'espère que tu seras la personne la plus heureuse au monde.

A mon frère Sohaib, mon amour, je te souhaite tout le succès dans tes études.

A mon grand père et ma grande mère, que Dieu vous protège et prolonge vos vie.

A tous les membres de ma grande famille, mes tantes, cousins, oncles, ainsi qu'à leurs femmes et enfants.

A ma deuxième famille mon fiancé Alaa, merci pour tes encouragements constants et ton soutien permanent.

Et je n'oublie pas mon amie, ma sœur Madjda, que ma mère n'a pas mis au monde, je lui souhaite du succès dans sa vie et ses études.

Sans oublier mon binôme Dounia, Yasmine, qui ont partagées avec moi les moments difficiles pour réaliser ce travail.

A tous mes collègues.

Anfal Temmar.



Dédicace

Je rends grâce à ALLAH de m'avoir donné le courage, la volonté et la sagesse d'être Patiente dans mes études et d'atteindre le frisson de la réussite.

C'est avec une profonde gratitude et sincères remerciements que je dédie ce travail :

À ma mère, mon amour, la lumière de mes yeux et la joie de mon cœur... à Mon premier professeur qui m'a soutenue et encouragée tout au long de mon parcours Académique... à celle qui n'a ménagé aucun effort pour me rendre heureuse.

À mon père, mon idole, pour qui je suis fière d'être sa fille. Je suis là grâce à vous, ce succès est votre succès... Je vous dois beaucoup, un mot de remerciement ne vous donne pas votre droit que Dieu te bénisse pour moi.

À ma force et mon soutien dans la vie après mes parents, mes chers frères

À Mon grand frère Omar, sa femme chahinaz et ses enfants hamada et meriam.

À Ma sœur aînée Hadjer, son mari hmimed et ses enfants amir et rasim.

À Mon petit frère Mohamed je te souhaite tout le succès dans tes études.

Et ma chère sœur Nesrin, ma compagne et la personne la plus précieuse dans ma vie.

Et ma deuxième famille papa Salem et mama Habiba et mon frère Imad.

Et je n'oublie pas mes amis proches Amira, Sabrina et Amel.

Et mes binôme Anfal et Yasmine qui ont partagée avec moi les moments difficiles pour réaliser ce travail.

À tous mes collègues.

Boudef dounia



Dédicace

Je rends grâce à ALLAH de m'avoir donné le courage, la volonté et la sagesse d'être Patient dans mes études et d'atteindre le frisson de la réussite.

Avec tous mes sentiments de respect, avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ma remise de diplôme et ma joie.

A mes parents, pour l'amour qu'ils m'ont toujours donné, leurs encouragements et toute l'aide qu'ils m'ont apportée durant mes études. Aucun mot, aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération, et mon amour pour les sacrifices qu'ils ont consentis pour mon instruction et mon bien-être. Trouvez ici, chère mère et cher père, dans ce modeste travail, le fruit de tant de dévouements et de sacrifices ainsi que l'expression de ma gratitude et de mon profond amour.

Au nom de la vie et du secret de l'existence, à la prunelle de mes yeux, ma moitié, mon ange de la vie ...maman .

A mon cher père, un homme extraordinaire qui m'a inculqué des valeurs profondes et un amour inconditionnel. Merci d'être mon modèle et mon héros.

Puisse Dieu leur accorder santé, bonheur, prospérité et longue vie afin que je puisse un jour combler de joie leurs vieux jours.

Mes chères Frères, Noureddine et Mohamed amine qui sont toujours là pour moi avec amour et soutien inestimables. Votre présence rend ma vie plus riche et plus belle, vous êtes mes meilleurs amis.

A ma chère grand-mère et à toute ma famille, Mes amis, Mon fils ANES.

A mon cher mari, ta présence dans ma vie est un cadeau précieux que je chéris chaque jour. Ton amour, ta patience et ton soutien m'ont donné la force et la confiance de réaliser mes rêves.

A ma chère « NOUR EL HOUDA » tu as apporté une lumière et une joie indescriptible dans ma vie.

À tous ceux qui ont contribué à ma réussite de près ou de loin et qui ont participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

À mon frère ANFEL et DONIA qui ont partagée avec moi les moments difficiles pour réaliser ce travail.

Yasmine Khaouatbi



Résumé

Parmi les plantes médicinales recensées auprès des populations et bénéficiant de bonnes renommées thérapeutiques et qui de ce fait devront être mises à l'épreuve d'investigations sérieuses de décryptages chimiques et biologiques, le *Marrubium vulgare*. Afin d'apporter les preuves de son innocuité et de rendre son utilisation plus efficiente, une étude phytochimique a été réalisée, les activités biologiques antioxydant et anti-inflammatoire et antibactérienne.

L'étude a porté sur la partie aérienne de la plante. L'extraction des polyphénols est effectuée par l'éthanol avec le calcul du rendement. L'activité antioxydant in vitro est déterminée par le radical libre DPPH et l'ABTS et FRAP, L'activité anti-inflammatoire BSA et l'activité antibactérienne.

L'étude phytochimique a mis en évidence, la présence des tanins totaux, des tanins Catéchiques, des tanins galliques, des flavonoïdes, des anthocyanes, des stéroïdes, des saponosides, des irridioïdes, des Mucilag, des coumarines, des protéines, des glucosides, et l'absence des Leuco anthocyanes, des quinones et des alcaloïdes et de l'amidon . L'évaluation du rendement d'extraction indique une valeur de 6%. Les tests physicochimiques montrent une forte teneur en eau ($99\pm 0.01\%$) et une teneur en cendre de $22\pm 0.07\%$. Le dosage des phénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu totaux a révélé un taux de $15.351\pm 0.14\text{mg EAG/g}$. L'évaluation quantitative de l'activité anti radicalaire a prouvé que l'extrait éthanolique de *Marrubium vulgare* L. Possède une activité antioxydant moyenne par rapport au DPPH ($IC_{50} = 17,16\pm 0,05 \text{ mg/ml}$) ; et plus importante pour la ABTS ($IC_{50} = 0,64\pm 0,08 \text{ mg/ml}$) et FRAP ($IC_{50} = 0,121\pm 0,04 \text{ mg/ml}$). Son activité anti-inflammatoire BSA montre une capacité moindre ($IC_{50} = 4\pm 0,07 \text{ mg/ml}$) que celle du standard utilisé diclofénac ($IC_{50}=0,941\pm 0,04 \text{ mg/ml}$). L'activité antibactérienne, de l'extrait éthanolique de *M. vulgare* a montré une efficacité contre la souche *Sphingomonas paucimobilis* avec un diamètre de 15,3 mm.

La plante *Marrubium vulgare* L. possède plusieurs vertus thérapeutiques qui font d'elle une source de principes actifs très variés et utilisables dans le domaine pharmaceutique qu'il faut explorer.

Mots clés : *Marrubium vulgare* L, extrait éthanolique, DPPH, ABTS, FRAP, activité anti-inflammatoire BSA, activité antibactérienne.

Liste des abréviations

ABTS	2, 2'-azynobis-[3-ethylbenzothiazoline-6- sulfonic acid]
BHT	Butylated hydroxytoluene
BSA	Albumine Sérum Bovine
CUSO4	Sulfate de cuivre(II)
DPPH	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl
E. COLI	Escherichia coli
FeCl3	Chlorure ferrique.
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant power
H2SO4	L'acide sulfurique
H3PMo12O40	Acide phosphomolybdique
H3PW12O40	Acide phosphotungstique
HCL	Chlorure d'hydrogène
I%	Pourcentage d'inhibition
IC50	Concentration inhibitrice de 50 %
NaCl	Chlorure de sodium

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
01	Dénomination internationale de la plante <i>Marrubium vulgare</i> L.	03
02	Position systématique de l'espèce <i>Marrubium vulgare</i> L.	04
03	Les effets biologiques des biomolécules de <i>Marrubium vulgare</i> L.	07
04	Classification des composés phénoliques	10
05	Caractérisation quantitative des métabolites primaires et secondaires de <i>Marrubium vulgare</i> L.	25
06	Résultats de screening phytochimiques de la plante <i>Marrubium vulgare</i> L.	37
07	Caractéristique de l'extrait de <i>Marrubium vulgare</i> L.	40
08	La teneur en eau en cendre de la plante <i>Marrubium vulgare</i> L.	40
09	Teneur en polyphénols totaux de l'extrait éthanolique de la poudre du <i>Marrubium</i> blanc.	41
10	Valeurs d'IC50 de l'extrait de <i>Marrubium vulgare</i> L et de l'acide ascorbique.	42
11	Valeurs d'IC50 de l'extrait éthanolique de <i>Marrubium vulgare</i> L. et le BHT (ABTS).	44
12	Valeurs d'IC50 de l'extrait éthanolique <i>Marrubium vulgare</i> L. et l'Acide ascorbique (FRAP).	45
13	Valeurs d'IC50 de l'extrait éthanolique de <i>Marrubium vulgare</i> L. et le standard le diclofénac (BSA).	46
14	Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de <i>Marrubium vulgare</i> L.	47

Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Photo représentant la plante <i>Marrubium vulgare</i> (original).	05
02	Structure de quelques flavonoïdes isolés de <i>M. vulgare</i> .	06
03	Principales structures moléculaires présentes chez <i>M. vulgare</i> .	07
04	Squelette de base des flavonoïdes.	12
05	Structure chimique des flavonols.	12
06	Structures chimiques de certains flavan-3-ols.	13
07	Structures chimiques de quelques anthocyanidines courantes.	13
08	Structure de l'acide gallique et ellagique.	14
09	Structure chimique des tanins condensés.	15
10	Schéma récapitulatif des différents protocoles expérimentaux.	22
11	Localisation géographique de la zone de récolte Zamouri wilaya de Boumerdes.	23
12	Préparation de la poudre végétale de la partie aérienne de <i>Marrubium vulgare</i> l	24
13	Préparation de l'extrait éthanolique de <i>Marrubium vulgare</i> L.	29
14	Courbe étalon de l'acide gallique.	41
15	Pouvoir anti-radicalaire de l'extrait éthanolique de <i>Marrubium vulgare</i> .et de l'acide ascorbique.	42
16	Pourcentage d'inhibitions d'ABTS en fonction des concentrations de l'extrait éthanolique de <i>Marrubium vulgare</i> .	44
17	Pourcentage d'inhibitions de FRAP en fonction des concentrations de l'extrait éthanolique de <i>Marrubium vulgare</i> .	45
18	Pourcentage d'inhibitions de BSA en fonction des concentrations de l'extrait éthanolique de <i>Marrubium vulgare</i>	46

Sommaire

Introduction générale	1
Chapitre I : Généralité sur <i>Marrubium vulgare</i> L.	
I. Synthèse bibliographique	3
I.2. Dénomination internationale	
I.1. Historique	3
I.2. Dénomination internationale.....	3
I.3. Systématique	4
I.4. Description botanique	4
I.5. Composition chimique de <i>Marrubium vulgare</i>	5
I.5.1. Les flavonoïdes	5
I.5.2. Lactones diterpéniques labdaniques et autres composés	6
I.6. Utilisation traditionnelle de <i>Marrubium vulgare</i>	8
II. Métabolisme primaire et secondaire	9
II.1. Métabolisme primaire	9
II.2. Métabolisme secondaire	9
II.2.1. Les polyphénols	9
II.2.1.1.les flavonoïdes.....	11
II.2.1.2. Les tanins	13
III. Activités biologique	15
III.1. Activité antioxydant	15
III.2. Activité anti-inflammatoire	16
III.2.1. Les type d'inflammation.....	16
III.2.1.1. Inflammation aigue	16
III.2.1.2. Inflammation chronique	16
III.2.2. Les anti-inflammatoires	17
III.2.2.1. Anti-inflammatoires stéroïdiens.....	17
III.2.2.2. Anti-inflammatoire non stéroïdiens.....	17
III.2.2.3. Anti-inflammatoire d'origine végétale	17
III.3.activité antibactérienne	17
IV. Application en phytothérapie	18
Chapitre II : Materiel et Méthodes	
I. Matériel.....	21
I.1. Matériel biologique	21
I.2. Matériel non biologique	21

I.3. Identification de la plante <i>Marrubium vulgare</i> L.....	21
II. Méthodes	22
II.1. Récolte de la plante	23
II.2. Etude de la région	23
II.3. Lavage	23
II.4. Séchage	23
II.5. Broyage, conservation et stockage	24
II.6. Caractérisation photochimique de la plante <i>Marrubium vulgare</i> L	24
II.7. Détermination de la teneur en eau et en cendre	26
II.7.1. Détermination de la teneur relative en eau	26
II.7.2. Détermination de la teneur en cendre	27
II.8. préparation de l'extrait	28
II.9. Dosage polyphénol	30
II.10. Evaluation des activités biologique	31
II.10.1. Activité antioxydant	31
II.10.1.1. Test de DPPH	31
II.10.1.2. Activité de réduction du radical-cation ABTS+	32
II.10.1.3. Activité du pouvoir réducteur (FRAP).....	33
II.10.2. Activité anti-inflammatoire par la méthode de dénaturation des BSA.....	33
II.10.3. Activité antibactérienne	34
II.11. Analyse statistique	35

Chapitre III : Résultats et Discussion

I. Screening phytochimique	38
II. La teneur en eau et en cendre	40
III. Caractéristiques organoleptiques, physico-chimique et rendement de l'extrait éthanolique <i>Marrubium vulgare</i>	41
IV. Dosage des polyphénols	42
V. Résultats des Activités biologiques in vitro	43
V.1. Activité antioxydant	43
V.1.1. Test au DPPH	43
V.1.2. Test à l'ABTS+	44
V.1.3. Test de FRAP	45
V.2. Activité anti-inflammatoire in vitro	46
V.3. Activité antibactérienne	47
Conclusion.....	51
Références bibliographique	52
Annexe	66

An orange scroll graphic with rounded corners and a vertical strip on the left side, resembling a rolled-up document. The text is centered on the scroll.

Introduction générale

Introduction générale

Les produits naturels d'origine végétale, animale et minérale constituent la base du traitement des maladies humaines. Les plantes médicinales sont actuellement très demandées et leur popularité augmente de jour en jour. Selon l'OMS, environ 70 à 80 % de la population mondiale utilise des plantes médicinales pour leurs effets thérapeutiques (**World et Health, 2008**). Le système de médecine traditionnelle repose en grande partie sur les espèces végétales et animales pour les soins de santé primaires. Les plantes médicinales ont une valeur importante dans les pays en développement pour leur valeur médicinale, leur utilisation socioculturelle et spirituelle dans les zones rurales et tribales (**Hendawy et al., 2010**). Environ 50 000 à 80 000 plantes à fleurs sont utilisées à des fins médicinales par les peuples du monde entier (**Naghib, 2015 ; Rabe, 1997**).

Actuellement, l'ethnopharmacologie s'emploie à recenser, partout dans le monde, des plantes réputées actives et dont il appartient à la recherche moderne de préciser les propriétés et valider les usages. La recherche de nouvelles molécules doit être entreprise au sein de la biodiversité végétale en se servant de données ethno pharmacologiques. Cette approche permet de sélectionner des plantes potentiellement actives et d'augmenter significativement le nombre de découvertes de nouveaux actifs (**Pelt, 2001**). Jusqu'à présent, sur les 300000 espèces végétales recensées, on estime que seules 15% d'entre elles ont été étudiées sur le plan phytochimique, dont 6% pour leurs activités biologiques (**Verpoorte, 2002**), ce qui fait que les plantes constituent un réservoir de molécules bioactives encore peu exploré.

Le genre *Marrubium vulgare* L. (Lamiaceae) compte près de 30 espèces indigènes d'Asie et d'Europe (**Cantion et Harley, 1992**). Parmi eux, *Marrubium vulgare* L. est une plante herbacée vivace communément appelée « marrube blanc » en Europe, « Marriouth » en Algérie et « Marrubia » en Tunisie. Il pousse naturellement en Amérique du Nord et du Sud et est largement répandu dans les zones d'élevage de moutons, notamment autour des zones de litière et d'abreuvement.

Le marrube blanc a été inclus dans les pharmacopées et l'index de phytothérapie de Merck (1910). En 1927, des chercheurs ont rapporté que le marrube blanc était utilisé dans les troubles pulmonaires (**Gilg et al., 1927**). En 1941, il a été décrit comme étant l'un des remèdes pectoraux à base de plantes les plus populaires et qu'il était utilisé comme tonique amer, expectorant et diurétique (**Wren, 1941**). En 1954, la littérature belge, la « *Materia Medica Vegetabilis* », rapporte l'utilisation du marrube blanc en décoction avec du sirop de miel contre la bronchite et la toux (**Steinmentz, 1954**). Il est également utilisé contre la jaunisse, les hémorroïdes et la diarrhée.

Des recherches pharmacologiques récentes montrent que *M. vulgare* offre diverses activités pharmacologiques *in vivo* et *in vitro*, notamment des effets antihypertenseurs, antioxydants, anti-inflammatoires, antidiabétiques, des effets sur le système respiratoire, des stimulants digestifs, des effets antiasthmatiques, hypolipidémiques, antibactériens et antifongiques (**Meyre-Silva et Cechinel-Filho, 2010 ; Ghedadba et al., 2014**). Des études phytochimiques approfondies sur *M. vulgare* signalent une composition chimique de 54 métabolites secondaires. Ces métabolites comprennent des diterpènes, des sesquiterpènes, des flavonoïdes et des phénylpropanoïdes identifiés dans différentes parties de *M. vulgare* (**Knoss, 1994 ; Nawwar, 1989 ; Sahpaz, 2002**). La marrubiine, l'acide marrubiinique et le marrubénol sont des diterpènes majeurs qui présentent des activités analgésiques et anti-œdémogènes. L'arénarioside, l'acteoside, le forsythoside B et le ballotetoside sont des phénylpropanoïdes possédant de puissantes activités anticancéreuses et anti-inflammatoires.

Certains composés identifiés dans les extraits de la partie aérienne de *Marrubium vulgare L.*, tels que les composés phénoliques sont doués d'activités biologiques très importantes. Pour ce faire, nous avons fixé les objectifs suivants :

- Etude phytochimique et physicochimique de l'extrait éthanolique du *Marrubium vulgare* et évaluation de sa teneur en polyphénols;
- Etude de son pouvoir antioxydant *in vitro* par la méthode de piégeage du radical libre DPPH, la méthode de réduction du radical-cation ABTS⁺ et la méthode de FRAP ;
- Etude de son activité anti-inflammatoire *in vitro* ;
- Evaluation de son activité antibactérienne;
- Evaluation de l'activité anti-inflammatoire.

Cette étude est divisée en trois chapitres. Le premier chapitre comporte une synthèse bibliographique sur le modèle biologique étudié, les métabolites secondaires rencontrés et leurs activités biologiques. Le second chapitre traite du matériel utilisé et de la méthodologie suivie. Le troisième chapitre renferme les résultats obtenus et leurs discussions qui se termine par une conclusion générale avec des perspectives.

*Chapitre I : Généralité sur
Marrubium vulgare L.*

I. Généralité sur *Marrubium vulgare* L

I.1. Historique

En Égypte durant l'antiquité, le marrube était reconnu pour ses propriétés apaisantes contre la toux et pour soigner leurs infections respiratoires, sans doute associaient-ils la plante avec du miel. Dioscoride (40-90), médecin, pharmacologue et botaniste grec, préconisait le marrube blanc en décoction, pour soigner la toux. Antonius Castor, médecin romain qui a vécu au Ier siècle connaissait le marrube blanc comme le spécifique des affections de l'appareil respiratoire. Pline, ancien écrivain et naturaliste romain du Ier siècle a indiqué de nombreuses préparations curatives utilisant le marrube. Au Moyen Âge, on employait couramment le marrube blanc dans le traitement des mêmes maux que dans l'Antiquité, mais de surcroît la plante fut reconnue tonique, cholagogue et diurétique. A cette époque, Hildegarde de Bingen (1098-1179) religieuse bénédictine mystique et botaniste disait dans ses ouvrages: «Si on a les entrailles malades et en mauvais état, faire cuire du marrube avec du vin et une quantité suffisante de miel; une fois l'ensemble cuit, conserver dans un pot et boire froid : les entrailles retrouveront la santé ». Pour Jean-Emmanuel Gilibert (1741-1814) homme politique et botaniste français, le marrube blanc est considéré, dans son livre paru en 1798, "l'Histoire des plantes d'Europe", comme "l'une des meilleures plantes d'Europe". (d'Europe":<http://www.after-plastie.com/fr/abc-sante/M/697-marrube-blanc>).

I.2. Dénomination internationale

Le Marrube blanc est connu sous plusieurs noms (Tableau N° 1) :

Tableau 1. Dénomination internationale de la plante *Marrubium vulgare* L (Quezel et Santa, 1962, 1963).

Français	Marrube blanc
Anglais	Harehound
Italien	Marrubbio
Algerie	Marriouth
Maroc	Merriwt
Tunisie	Marroubia

I.3. Systématique

La position systématique de l'espèce *Marrubium vulgare* est donnée par le tableau N°2.

Tableau 2. Position systématique de l'espèce *Marrubium vulgare* selon (Judd *et al.* 2002).

Règne	Plantae (plantes)
Division	Magnoliophyta (plantes à fleurs)
Classe	Magnoliopsida (dicotylédones)
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae (lamiacées)
Genre	Marrubium
Espèce	Marrubium Vulgare

I.4. Description botanique

Le Marrube est composé de deux mots hébreux : mar, rob, suc amer. C'est une plante herbacée vivace à tiges épaisses, quadrangulaires recouverte d'un abondant duvet blanchâtre quand elle est jeune, qui peut atteindre 30 à 80 Cm de hauteur à odeur forte, désagréable légèrement musquée, de saveur à la fois chaude et amère (**Bruneton, 2009 ; Bouterfes *et al.*, 2013**) (**Figure 1**). La racine pivotante coriace, ligneuse, ramifiée ou à nombreuses racines latérales fibreuses (**Acimovic *et al.*, 2020**). Les tiges sont généralement ramifiées pour former une plante buissonnante arrondie allant jusqu'à 100 cm de haut, 20 à 100 cm de large (**Ahvazi *et al.*, 2018**). Les feuilles sont arrondies, ovales, généralement dentées, pétiolées, veinées et blanchies à la surface, mesurent 6 cm de long, 1-5 cm de large et elles sont disposées par paires opposées le long de la tige (**Ahvazi *et al.*, 2018 ; Acimovic *et al.*, 2020**). Les inflorescences se forment à l'aisselle des feuilles supérieures, avec des fleurs blanches en verticilles axillaires serrées. Le calice est tubulaire, lobé à 10 dents, chaque dent avec une petite épine/soie crochue (**Acimovic *et al.*, 2020**).



Figure 1. Photo représentant la plante *Marrubium vulgare* (original 2024)

I.5. Composition chimique de *Marrubium vulgare*

I.5.1. Les flavonoïdes

La plupart des flavonoïdes de *M. vulgare* sont isolés à partir des feuilles en utilisant des solvants polaires comme l'éthanol et le *n*-Butanol. Ce sont généralement des hétérosides flavoniques et flavoniques du quercétol, de la lutéoline et de l'apigénine (Figure 2), lactoylflavones, dérivés de l'acide ursolique (Nawwar *et al.*, 1989; Wolski *et al.*, 2007). D'autres auteurs ont pu isoler un nouveau flavonoïde à partir des sommités fleuries de *M. vulgare* : qui a été identifiée comme le 5,6-dihydroxy-7-4'-diméthoxyflavone (Alkhatib *et al.*, 2010 ; Boudjelal *et al.*, 2012 ; Pukalskas *et al.*, 2012). Ce composé possède une activité anti leucémique importante (Alkhatib *et al.*, 2010).

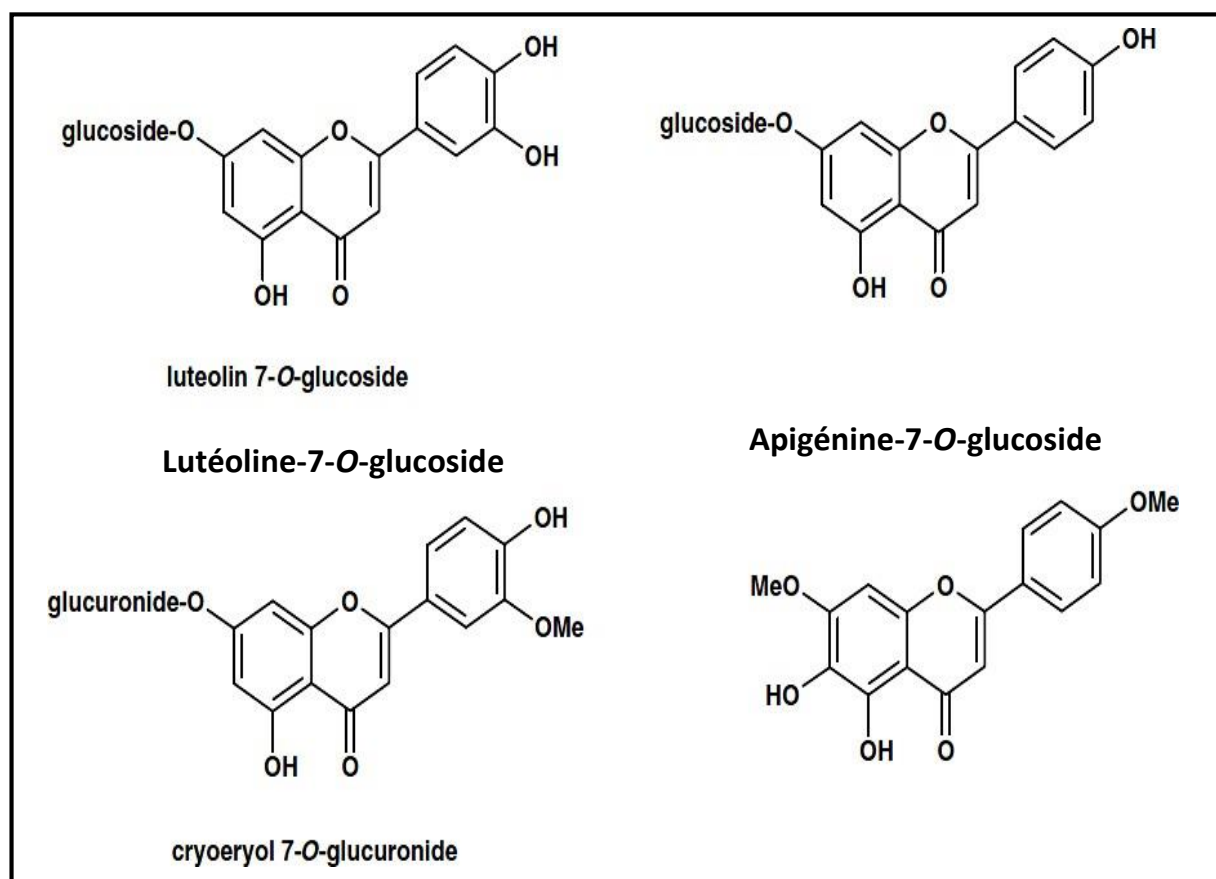


Figure 2. Structure de quelques flavonoïdes isolés de *M. vulgare* (Boudjelal *et al.*, 2012 ; Amessis-Ouchemoukh *et al.*, 2014).

I.5.2. Lactones diterpéniques labdaniques et autres composés

Marrubium vulgare L. est une plante riche en principes actifs dont les principales structures moléculaires sont représentées dans la figure 3 :

- **Lactones diterpéniques labdaniques** : prémarrubiine, marrubiine, marrubénol, marrubiol, acide marrubique, marrulibacétal A, geshoidine et deacétyl-forskoline (Stulzer *et al.*, 2006 ; Amessis-Ouchemoukh *et al.*, 2014 ; Yousefi *et al.*, 2014).
- **Phénylpropanoïdes glycosides** : marruboside, verbascoside, forsythoside B, arénarioside et ballotétroside (Sahpaz *et al.*, 2002a ; Sahpaz *et al.*, 2002b).
- **Tanins spécifiques des Lamiacées**, dérivés de l'acide hydroxycinnamique : acide caféique, acide chlorogénique, acide *p*-comarique (Wojdylo *et al.*, 2007).
- **Huiles essentielles** : limonène, sabinène, α -pinène, camphène, para-cymène,...

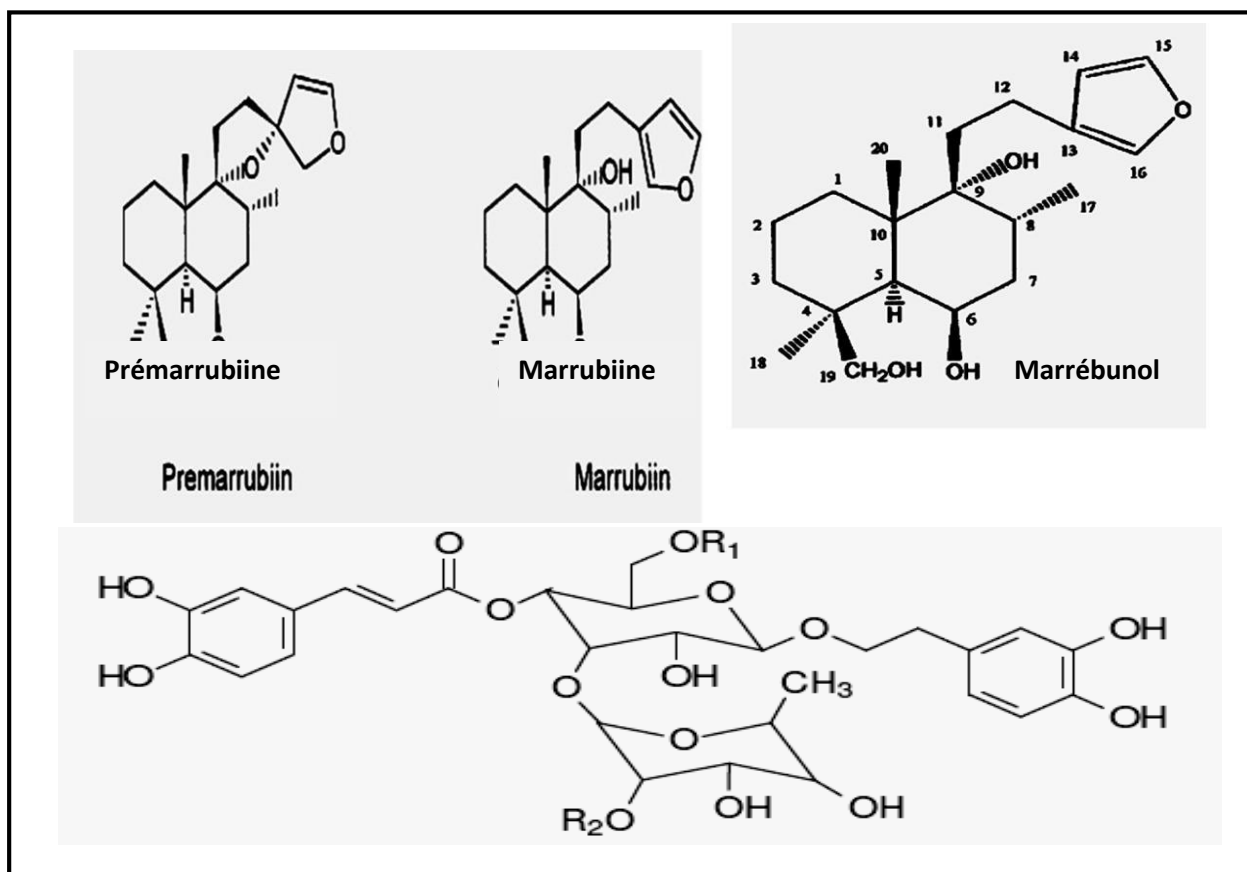


Figure 3. Principales structures moléculaires présentes chez *M. vulgare* L. (Stulzer *et al.*, 2006 ; Boudjelal *et al.*, 2012 ; Amessis-Ouchemoukh *et al.*, 2014).

Des travaux très récents permettent d'identifier ses différents constituants actifs de *M. vulgare* et leurs fonctions (Tableau 3).

Tableau 3. Les effets biologiques des biomolécules de *Marrubium vulgare*.

Biomolécules	Fonctions	Références
Diterpènes labdanes (marrubiine, marrubénol)	Antispasmodique, anti-inflammatoire Cholérétique, anti-hypertensive	(El-Bardai <i>et al.</i> , 2004 ; Stulzer <i>et al.</i> , 2006 ; Yousefi <i>et al.</i> , 2014).
Acides phénoliques, phényléthanoides (marruboside)	Antioxydants, anti-inflammatoire, Antimicrobienne, Anticancéreuse	(Berrougui <i>et al.</i> , 2006; Ahmed <i>et al.</i> , 2008 ; Xue et yang, 2016).

Flavonoïdes	Antioxydants, anti-inflammatoire, Analgésique, antidiabétique, antibactérienne	(Elberry <i>et al.</i> , 2015; Yousefi <i>et al.</i> , 2014 ; Bouterfas <i>et al.</i> , 2016).
Huiles essentielles (Eugénol)	Antioxydants, anti-cholinestérase, antibactérienne	(Orhan <i>et al.</i> , 2010 ; Kadri <i>et al.</i> , 2011 ; Bokaeian <i>et al.</i> , 2014).

I.4. Utilisation traditionnelle de *Marrubium vulgare*

M. vulgare est une plante médicinale utilisée dans plusieurs pays pour le traitement d'une variété de maladies, y compris les troubles inflammatoires (dermatite, otite) et gastroentérique dans le cas de l'ulcère (Balmé, 1982; Yousefi *et al.*, 2014). Elle est recommandée comme antispasmodique, insecticide et vermifuge en détruisant les vers intestinaux (Newal *et al.*, 1996; De Souza *et al.*, 1998; Pavela, 2004; Stulzer *et al.*, 2006).

De plus, *M. vulgare* est utilisée dans le traitement des maladies neuro-dégénératives y compris la maladie d'Alzheimer par son effet inhibiteur sur la cholinestérase en augmentant la fonction cholinergique centrale (Orhan *et al.*, 2010). Le Marrube blanc est surtout antitussif connu comme un remède contre la toux, présents dans le sirop (par exemple Ricola®) et les préparations de thé. Le marrube blanc est antiseptique, une infusion utilisée comme un lavage ou une préparation de pommade utilisée dans la désinfection des plaies (Karryev *et al.*, 1976 ; Yousefi *et al.*, 2013 ; Bouterfas *et al.*, 2016).

Il est aussi utilisé comme stimulant général de l'appétit et de la digestion, une infusion à froid agit comme un tonique amer. Il est utilisé pour combattre les états fébriles des enfants en abaissant la fièvre et pour traiter les maladies du foie et surtout les affections hépatobiliaires, en augmentant la sécrétion de la bile d'où son action cholérétique (Ahmed *et al.*, 2008; Zaabat *et al.*, 2010). Le marrube blanc fluidifie les sécrétions bronchiques et facilite l'expectoration. La présence de mucilages anti-inflammatoires le rend utile dans le traitement des inflammations de la gorge. C'est un dilatateur des bronches, avec une action bénéfique sur l'asthme (Bouterfas *et al.*, 2016). Il a été utilisé pour le traitement de l'ictère (la jaunisse), la fièvre typhoïde (Boullard, 2001) et est employé pour favoriser la perte de poids en augmentant le métabolisme des graisses (diminution des triglycérides et du cholestérol). En Algérie, la décoction d'El marioua est employée comme antidiabétique, seule ou associée à d'autres plantes médicinales, elle est prescrite aussi comme antithyroïdien, anti-inflammatoire, antipyrétique et anti-diarrhéique (Boudjelal *et al.*, 2012;

Amessis- Ouchemoukh *et al.*, 2014; Bouterfas *et al.*, 2014).

II.Métabolisme primaire et secondaire

II.1. Métabolisme primaire

Marubium vulgare implique des processus biochimiques essentiels comme la photosynthèse, la respiration cellulaire et la biosynthèse des composés organiques.

II.2. Métabolismes secondaires

Les végétaux produisent des substances chimiques de structures variées comme les métabolites primaires et secondaires (Edeas, 2007). Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes, ils sont divisés principalement en trois grandes familles : Les polyphénols, les terpènes, les alcaloïdes (Lutge *et al.*, 2002 ; Abderrazak & Joël, 2007). Ils représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents comme la pharmacologie ou l'agroalimentaires (Macheix *et al.*, 2005).

II.2.1. Les polyphénols

Les composés phénoliques, également dénommés polyphénols sont des molécules spécifiques du règne végétal. Ils forment une immense famille avec plus de 8000 composés (Bahorun, 1997). L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones, auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside (Labat, 2001 ; Sayadi, 2008).

La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés). Ils sont présents partout dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles de tous les végétaux (Macheix *et al.*, 2005). Les polyphénols jouent un rôle dans la protection contre les pathogènes et les herbivores ainsi que la limitation des dommages dus aux radiations ultraviolettes (Lugasi *et al.*, 2003).

- **Classification**

La classification de ces substances a été proposée par (Harborne, 1980). On peut distinguer les différentes classes des polyphénols en se basant d'une part, sur le nombre d'atomes constitutifs et d'autre part, sur la structure du squelette de base (Macheix *et al.*, 2006). Le tableau 4 présente les différentes classes des polyphénole.

Tableau 4. Classification des composés phénoliques (Vermerris & Icholson,2007).

Structure	Classe
C6	Phénol simple
C6-C1	Acide phénolique et composante liée
C6-C2	Acetophenone et acide phenylacetique
C6-C3	Acide cinnamique, aldéhyde cinnamyle et alcool cinnamyle
C6-C2	Coumarine, isocoumarine et chromone
C15	Chlacones, aurones, dihydrochalcones
C15	Flavanes
C15	Flavones
C15	Flavnonones
C15	Flavnonoles
C15	Anthocyanidines
C15	Anthocyanines
C30	Biflavonyls
C6-C1-C6, C6-C2-C6	Benzophenones, xanthonnes, stilbenes
C18	Quinones
Lignans, neolignants	Betacyanines
Lignin	Dimers ou oligomers
Tannis	Oligomers ou polymers
Phlobaphenes	Polymers

- **Biosynthese**

Les composés phénoliques résultent bio-génétiquement de deux voies synthétiques principale, la voie de schikimate et acétate (**Lugasi et al., 2003**).

- **Voie de schikimate** : L'acide cinnamique se forme par l'intermédiaire de l'acide schikimique, autrement dit par la voie de schikimate. Cette voie est aussi responsable de la synthèse des acides aminés tels la phénylalanine qui sert directement comme précurseur de l'acide cinnamique (**Richter, 1993**).
- **Voie des acetates** : C'est une voie secondaire qui conduit à l'élaboration des composés mixtes, dont les représentants les plus importants sont les flavonoïdes et les tanins, par condensation avec le schikimate (**Guignard, 2000**).

II.2.1.1. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes (du latin, *flavus* : jaune) sont des substances généralement colorées, très répandues chez les végétaux (**Guignard, 1996**). Cependant, il compte aussi des composés de couleurs variées ou même incolores (**Richter, 1993**). Ils sont d'une classe de faible poids moléculaire (**Lin et al., 2002**). Environ 4000 flavonoïdes ont été identifiés. Ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits (**Bennick, 2002**). Leur fonction principale semble être la coloration des plantes (**Gabor et al., 1988**).

Les flavonoïdes hétérosidiques sont hydrosolubles et solubles dans les alcools. Les flavonoïdes lipophiliques des tissus superficiels des feuilles sont solubles dans les solvants polaires et dans les solvants moyennement polaires (**Bruneton, 1999**).

- **Classification**

Les flavonoïdes sont des dérivés benzo-y-pyranne (**Skerget et al., 2005**). Leur structure de base est celle d'un diphenyl propane à 15 atomes de carbone (C6-C3-C6), constitué de deux noyaux aromatiques qui désignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné, qui désigne la lettre C (**Figure 4**) (**Dacosta, 2003**).

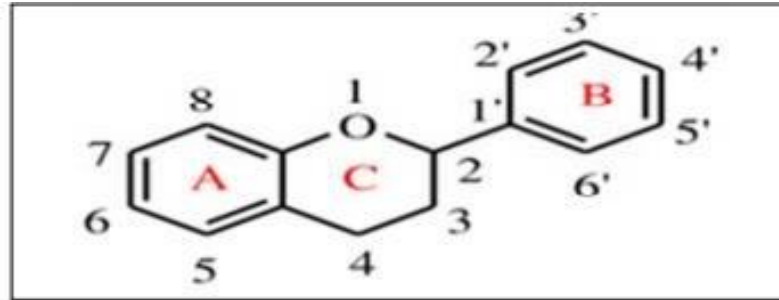


Figure 4. Squelette de base des flavonoïdes (Crozier, 2003).

Il existe plusieurs classes de flavonoïdes dont les principales sont les flavones, flavanols, les flavane-3-ols et les anthocyanidines. La structure de base de ces différents flavonoïdes peut subir de nombreuses substitutions, les groupements hydroxyles étant généralement en positions 4, 5 et 7. Ces substances existent sous forme de glycoside (Chira *et al.*, 2008).

✓ **Flavones et Flavanols :**

Les flavanols se différencient des flavones par la présence d'un OH en C3 (Heller *et al.*, 1998). Leurs principaux représentant sont la quercétine, kaempférol et la rutine (Figure 5).

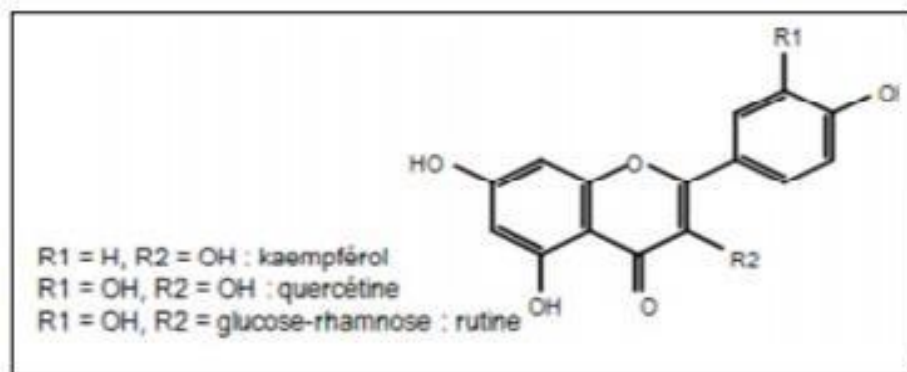


Figure 5. Structure chimique des flavonols (Crozier, 2003).

✓ **Flavane-3-Ols :**

Ce sont les dérivés de catéchine. Ils sont la catégorie de flavonoïdes la plus complexe (Arts *et al.*, 2000) (Figure 6).

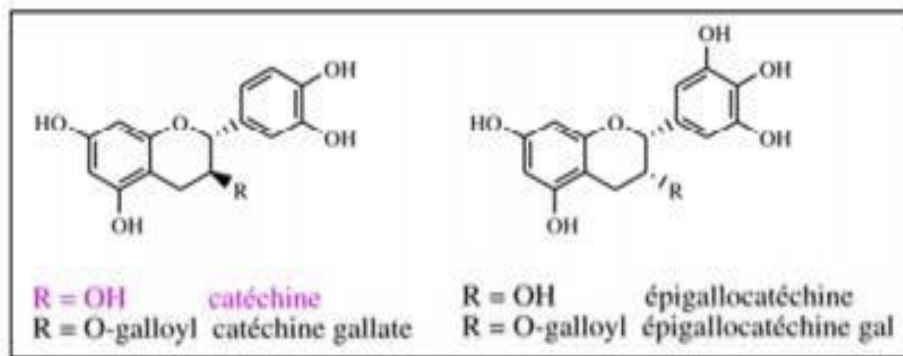


Figure 6. Structures chimiques de certains flavan-3-ols (Chira et al., 2008).

✓ Anthocyanidines :

Ce sont des pigments principalement sous forme de glycoside, hydrosolubles, rouge en milieu acide virant au bleu-violet en milieu neutre ou faiblement alcalin (Kosir et al., 2004). Ils colorent généralement les fleurs, les fruits et parfois les feuilles (Paris & Hurabielle, 1981) (Figure 7).

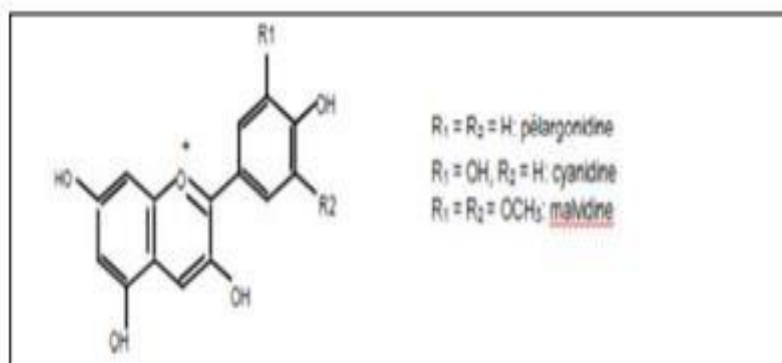


Figure 7. Structure chimique de quelques anthocyanidines courantes (Han et al., 2007).

II.2.1.2. Les tanins

Les tanins sont des composés phénoliques complexes, hydrosolubles ayant un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da (Kamra et al., 2006). Ces composés naturellement produits par les plantes et se caractérisent par leur facilité à se combiner aux protéines (Makkar, 2003 ; Mangan, 1988 ; Mcsweeney et al., 2001).

Les tannins sont caractérisés par une saveur astringente (Scalbert, 1991). Ils peuvent exister dans divers organes : l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines et les grains (Khanbabae & Ree, 2001).

- **Classification**

De point de vue structural, les tanins constituent un groupe chimique hétérogène, avec des structures moléculaires variées. En général, ils sont subdivisés en deux groupes distincts en fonction du type de l'acide phénolique et du type de liaisons qui déterminent la taille et la réactivité chimique de la molécule (**Khanbabae & Ree, 2001**).

- **Tanins hydrolysables** : Ce sont des hétéro polymères possédant un noyau central constitué d'un polyol, il s'agit souvent d'un D-glucose ; comme leur nom l'indique, ces substances s'hydrolysent facilement en milieux acides et alcalins ou sous l'action d'enzymes (telle que la tannase), pour donner des glucides et des acides phénoliques (**Leinmüller et al., 1991**). Ils sont facilement scindés par les enzymes de tannases en oses et en acide phénol, selon la nature de celui-ci on distingue : les tanins galliques (Gallo tanins), ils donnent par hydrolyse des oses et de l'acide gallique et les tanins ellagiques (**Figure 8**) (Ellagitanins), Aussi, ils sont scindés par les enzymes en oses et en acide ellagique (**Paris & Hurabielle, 1981**).

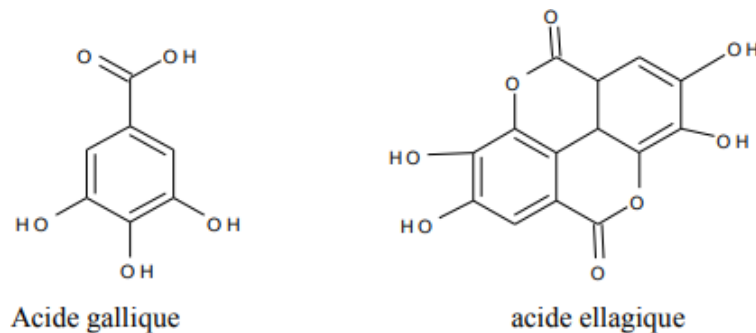
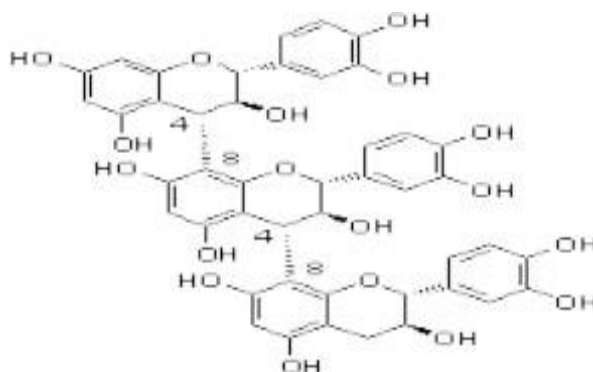


Figure 8. Structure de l'acide gallique et ellagique(**Packer, 2001**).

- **Tanins condensés ou proanthocyanidols** : Ce sont des polymères constitués d'unités flavane reliées par des liaisons entre les carbones C4, C8 et C6 (**Bruyne et al., 1999 ; O'connell & Fox, 2001**). Ils sont fondamentalement différents des tannins galliques et ellagiques, ils ne possèdent pas de sucre dans leurs molécules et sont non hydrolysable (**Paris & Hurabielle, 1981**). Il est admis aujourd'hui que ces tanins (**Figure 9**) sont constitués par le mélange de produits de polymérisation oxydative de catéchines (flavan-3-ols) et de proanthocyanes (flavan-3,4- diols), on peut les qualifier encore de tanins flavaniques (**Richter, 1993**).

Figure 9. Structure chimique des tanins condensés (Bruneton, 2009).

III. Activités biologiques

III.1. Activité antioxydant

L'oxygène est l'accepteur terminal d'électrons au cours de la respiration cellulaire des organismes aérobies. Dans l'organisme absorbé au niveau des alvéoles pulmonaires, il est transporté par l'hémoglobine au niveau des organes où il diffuse dans les mitochondries (Allain, 1996). Il assure grâce à des enzymes, l'oxydation de divers substrats endogènes : les phospholipides des membranes cellulaires, les protéines, l'ADN. Cette oxydation conduit à la formation des radicaux libres ou espèces réactives oxygénées (ERO). La formation des ERO est un processus tout à fait naturel et joue un rôle essentiel dans l'organisme : efficacité de l'apoptose, prolifération cellulaire normale, régulation de la pression sanguine, état redox normal pour l'expression des gènes (Rolland, 20104 ; Migdal *et Serres*, 2011). Cependant, ces ERO peuvent causer des dommages à l'organisme. En effet, en cas de stress entraînant un défaut de régularisation de l'oxydation, de changement de conditions environnementales ou de déséquilibre alimentaire, ils provoquent des désorganisations cellulaires parfois irréversibles entraînant la mort des cellules (Rolland, 2004). Cela peut conduire à l'apparition de nombreuses pathologies telles que : les maladies inflammatoires, l'athérosclérose, l'ischémie cérébrale, le cancer et le diabète (Diallo *et al.*, 2001; Sies *et al.*, 2017). L'organisme est doté d'un ensemble de systèmes de défenses très efficaces contre la surproduction d'ERO (Allain, 1996). Le terme d'antioxydant désigne toute substance, qui présente à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retarde ou inhibe significativement l'oxydation de ce substrat (Hannebelle, 2006). Cette définition fonctionnelle s'applique à un grand nombre de substances, comprenant des enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques. Mais, aussi à des petites molécules hydro ou liposolubles. Les systèmes antioxydants peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine (Delattre *et al.*, 2005).

De nombreuses plantes utilisées en médecine traditionnelle sont dotées de propriétés antioxydants notables. Les fruits et légumes comprennent une large gamme d'antioxydants, dont la vitamine C, la vitamine E, les caroténoïdes, les oligoéléments et surtout les polyphénols (Ferradji, 2018).

III.2. Activité anti-inflammatoire

L'inflammation est un ensemble de phénomènes réactionnels se produisant au point irrité par un agent pathogène. Elle se traduit par quatre symptômes cardinaux : chaleur, douleur, rougeur et œdème. L'inflammation est un ensemble de réactions dont la finalité peut être (Moulin, 1998) :

* utile : réaction de défense de l'organisme pour faire face à une agression.

* nocive : inflammation secondaire à un processus auto-immune.

De nombreuses enzymes participent à la réponse inflammatoire, y compris les lipoxigénases et les cyclooxygénases (COX 1 et COX 2) qui produisent des médiateurs pro-inflammatoires comme les leucotriènes et les prostaglandines à partir de l'acide arachidonique (Youghbaré-Ziébro *et al.*, 2016).

III.2.1. Les types d'inflammation

III.2.1.1. Inflammation aiguë

Il s'agit de la réponse immédiate à un agent agresseur, de courte durée (quelques jours à quelques semaines), souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculoexsudatifs intenses. Les inflammations aiguës guérissent spontanément ou avec un traitement, mais peuvent laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante (Charles *et al.*, 2010).

III.2.1.2. Inflammation chronique

La présence de plasmocytes, de macrophages et de lymphocytes dans le tissu infecté définit morphologiquement l'inflammation chronique. La réponse inflammatoire chronique peut souvent persister pendant plusieurs mois ou années. Elle est considérée comme le résultat de l'activation continue des réponses immunitaires innées et acquises. Les réponses vasculaires déclenchent d'abord l'inflammation chronique en produisant des molécules d'adhésion sur la surface des cellules endothéliales, Ces molécules stimulent l'adhésion des lymphocytes et des monocytes, et permettent leur transmigration dans le compartiment extravasculaire, tout comme dans la réponse inflammatoire aiguë. En tout type de réponse inflammatoire, les

différences entre les types de molécules d'adhésion exprimées sur les cellules endothéliales détermineront le type de leucocytes qui migrent (Ayoub, 2011).

III.2.2. Les anti-inflammatoires

III.2.2.1. Anti-inflammatoire stéroïdiens

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou les glucocorticoïdes sont une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol qui sont synthétisés par les glandes surrénales. Toutes les phases de la réaction inflammatoire peuvent être inhibées par les glucocorticoïdes. Par leur action directe sur les vaisseaux, ils diminuent les phénomènes vasculaires de l'inflammation (Boubekeur, 2019).

III.2.2.2. Anti-inflammatoire non stéroïdiens

En raison de leurs propriétés anti-inflammatoires et antalgiques, les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont l'une des classes de médicaments les plus utilisées au monde. Cependant, les effets indésirables tels que les ulcères gastro-intestinaux et l'insuffisance rénale sont souvent associés à leur utilisation thérapeutique à long terme (Ouédraogo *et al.*, 2012).

III.2.2.3. Anti-inflammatoire d'origine végétale

Les plantes médicinales largement utilisées en médecine traditionnelle à travers le monde pour le soulagement des maladies inflammatoires tels que l'arthrite rhumatoïde, l'asthme, la bronchite l'eczéma, l'arthrose, la goutte, la rhinite allergique, les ulcères, les inflammations gastriques et duodénales. L'activité anti-inflammatoire de ces plantes revient à leur contenue en métabolites secondaires doués d'activités biologiques : polyphénols, stérols, alcaloïdes, saponines, coumarines, terpènes et polysaccharides...etc (Krache, 2018).

III.3. Activité antibactérienne

L'utilisation des antibiotiques conduit dans la majorité des cas à la sélection de populations microbiennes résistantes qui est due à des mutations chromosomiques ou à l'acquisition de gènes de résistance portés par des éléments génétiques mobiles (plasmides, phages, transposons, intégrons). Ces résistances ont conduit à chercher de nouveaux agents antimicrobiens possédant une efficacité plus importante que les composés synthétiques d'une part et bien accepté par l'organisme d'autre part (García-Ruiz *et al.*, 2008; Kempf et Zeitouni, 2012). De nombreux chercheurs ont étudié l'activité antimicrobienne des extraits de plantes médicinales, ils ont constaté que ces extraits sont actifs non seulement contre les bactéries mais aussi contre les champignons, les levures et les virus (Jürgen, 2009). D'autres groupes de chercheurs ont franchi une étape plus loin, ils ont isolé et identifié les métabolites responsables

de l'activité antimicrobienne des extraits de plantes. Cette étape constitue une plateforme pour plusieurs implications incluant l'industrie pharmaceutique, la médecine alternative et la thérapie naturelle (**Huang, 2008**).

- **Mode d'action des composés sur les bactéries**

Il existe plusieurs types d'agents antimicrobiens. C'est le cas des agents physiques : radiations UV, rayon γ), des agents chimiques : alcools, métaux lourds, agents alkylants, détergents, aldéhydes, halogènes, antibiotiques et composés poly-phénoliques dont ceux d'extraits de plantes.

- a. **Par la modification de la perméabilité membranaire**

La membrane plasmique agit comme une barrière sélective. Elle régularise l'entrée et la sortie des substances chez les microbes. Une altération de la membrane plasmique peut inhiber la croissance de la bactérie ou conduire à sa mort. Dans ce cas, les antibiotiques utilisés sont les polymixines (**Bangou et al., 2012**).

- b. **Par inhibition de la paroi bactérienne**

Certains agents antibactériens affectent la paroi de la bactérie en inhibant sa synthèse. C'est l'exemple de l'inhibition du peptidoglycane par la pénicilline ou par les polyphénols. Les antibiotiques utilisés sont les β -lactamines et les glucopeptides (**Bangou, 2012**).

- c. **Par inhibition de la synthèse des protéines**

C'est le cas des antibiotiques ou extraits de plantes qui agissent en inhibant l'incorporation des acides aminés dans les chaînes polypeptidiques. D'autres composés inhibent la combinaison aminoacide, ARN de transfert (ARNt) avec le ribosome. Par contre d'autres inhibent la formation de la liaison peptidique par les peptidyl-transférases dans la bactérie. Les antibiotiques utilisés sont les phénicols et les tétracyclines (**Bangou, 2012**).

IV. Application en phytothérapie

La phytothérapie est une méthode thérapeutique qui consiste à utiliser les plantes médicinales, leurs extraits ou leurs principes actifs pour prévenir, soulager ou traiter divers troubles de santé. Cette approche repose sur l'utilisation des propriétés pharmacologiques des plantes pour favoriser le bien-être et la santé (**Académie nationale de médecine, 1987**). C'est une thérapeutique familiale, de conseil et d'automédication, à visée symptomatique, parfois

préventive. Elle répond à des principes allopathiques. La phytothérapie comprend plusieurs types, notamment :

- **Médicaments d'usage traditionnel:** pour lesquels il y a la reconnaissance d'une « efficacité plausible » dans une indication précise, liée à une tradition d'utilisation en Europe et non pas sur l'existence d'études cliniques . Cette validation, donnée par le groupe **HMPC** de l'Agence Européenne du Médicament, est conditionnée par une absence de toxicité de la plante et de ses différentes préparations. Pharmacopée française, disponible en ligne sur le site de **l'ansm, 1993**.
- **Phytothérapie moderne:** approche qui intègre les connaissances scientifiques et les avancées technologiques pour étudier, standardiser et utiliser les plantes médicinales de manière plus précise.
- **Phytothérapie clinique:** utilisation des plantes médicinales dans un cadre médical, sous la supervision d'un professionnel de santé.
- **Phytothérapie aromatique:** utilisation des huiles essentielles extraites de plantes pour leurs propriétés thérapeutiques.

Phytothérapie galénique: Préparation et formulation des plantes médicinales sous forme de médicaments ou de préparations spécifiques (**Lesv, 2018**).

An orange scroll graphic with a light orange background and a darker orange border. The scroll is unrolled in the center, with the top and bottom edges curled up. The text is centered on the unrolled portion.

*Chapitre II : Matériel et
Méthodes*

La présente étude a pour objectif la caractérisation phytochimique de la poudre de la partie aérienne de *Marrubium vulgare* L. et l'évaluation de ses propriétés antioxydants et anti inflammatoire in vitro et antibactérienne. Notre stage s'est déroulé à partir du mois de Mai jusqu' au mois de Juin.

- Le criblage phytochimique, l'extraction ont été réalisés au niveau du laboratoire de Biologie des Populations et des Organismes, Faculté des Sciences, Département de Biologie de l'UMBB.

- La détermination de la teneur en eau, en cendre, le dosage des polyphénols, l'activité antioxydant, et l'activité anti inflammatoire in vitro ont été effectués au niveau du laboratoire de recherche de Bio-Informatique, Microbiologie Appliquée et Biomolécules, situé au niveau du bloc de recherche, UMBB.

- L'activité antibactérienne a été déterminée au neau du laboratoire d'analyse de microbiologie à l'hôpital de Thénia.

I. Matériel

I.1. Matériel biologique

Le matériel végétal utilisé pour la conception de ce travail est la partie aérienne de la plante de *Marrubium vulgare* L. incluant les feuilles, les fleurs et les tiges.

I.2. Matériel non biologique

Le matériel non biologique utilisé dans notre étude est composé de verreries, d'appareillage et d'un ensemble de réactifs et de produits chimiques qui sont résumés dans **l'annexe 1**.

I.3. Identification de la plante *Marrubium vulgare* L.

L'identification du spécimen végétal est réalisée au sein de l'école nationale supérieure agronomie (ENSA) Khalifa Abdullah Alias kasdi Merbah, au niveau du département de botanique, salle d'herbier et aimablement identifié par Madame **Baa Somia**.

Nom commun : Marrube commun

Nom latin : *Marrubium vulgare* L.

Famille : Lamiaceae (Lamiacées)

II. Méthodes

Les différents protocoles expérimentaux réalisés dans cette étude sont résumés dans La figure 10.

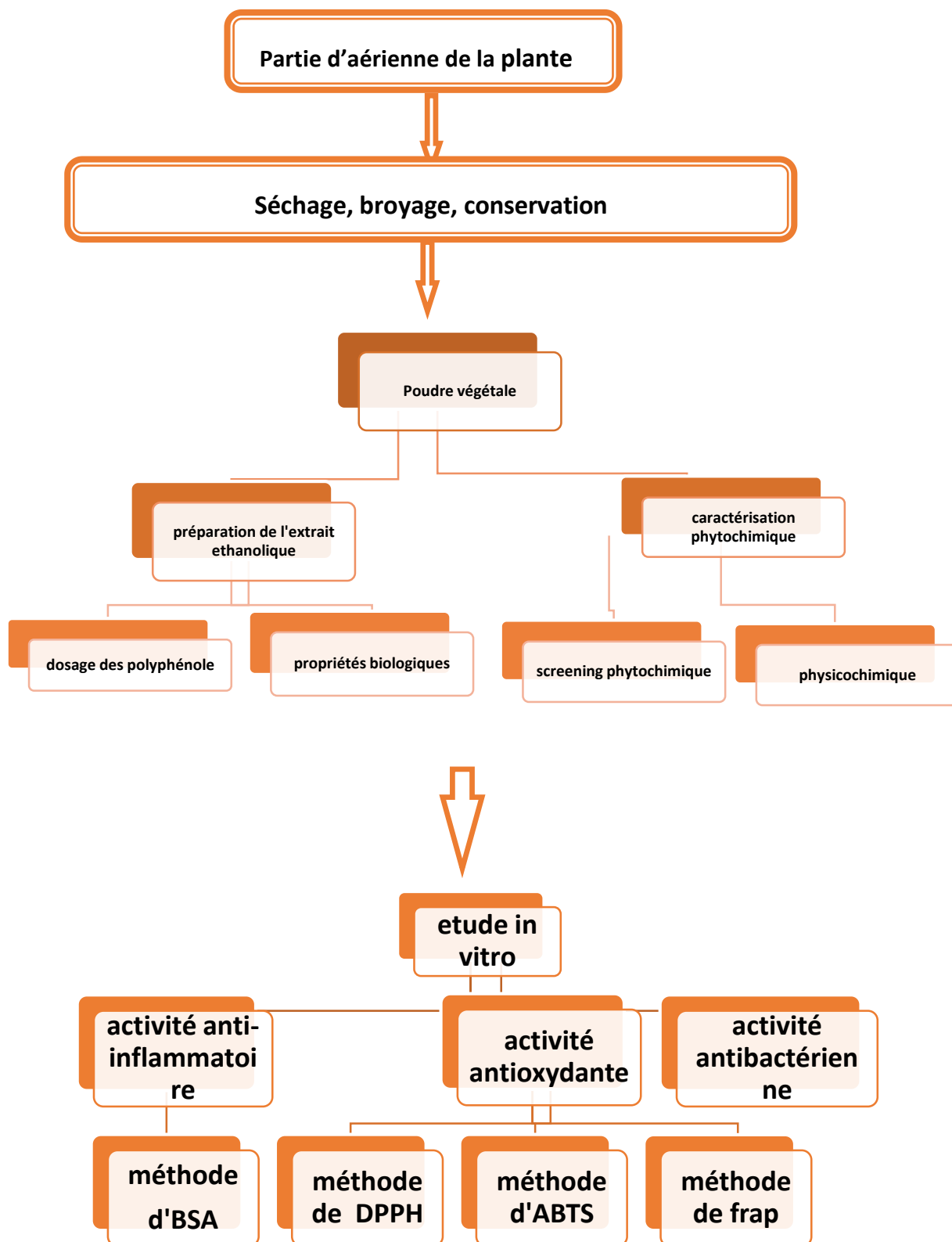


Figure 10. Schéma récapitulatif des différents protocoles expérimentaux

II.1. Récolte de la plante

La plante a été récoltée dans la région de Zamouri, wilaya de Boumerdes au début du mois Mars.

II.2. Etude de la région

La Wilaya de Boumerdes est une wilaya côtière du centre du pays avec 100 Km de profil littoral. Elle se situe dans la région Nord Centre, partie intégrante de l'Est de l'aire métropolitaine d'Alger.

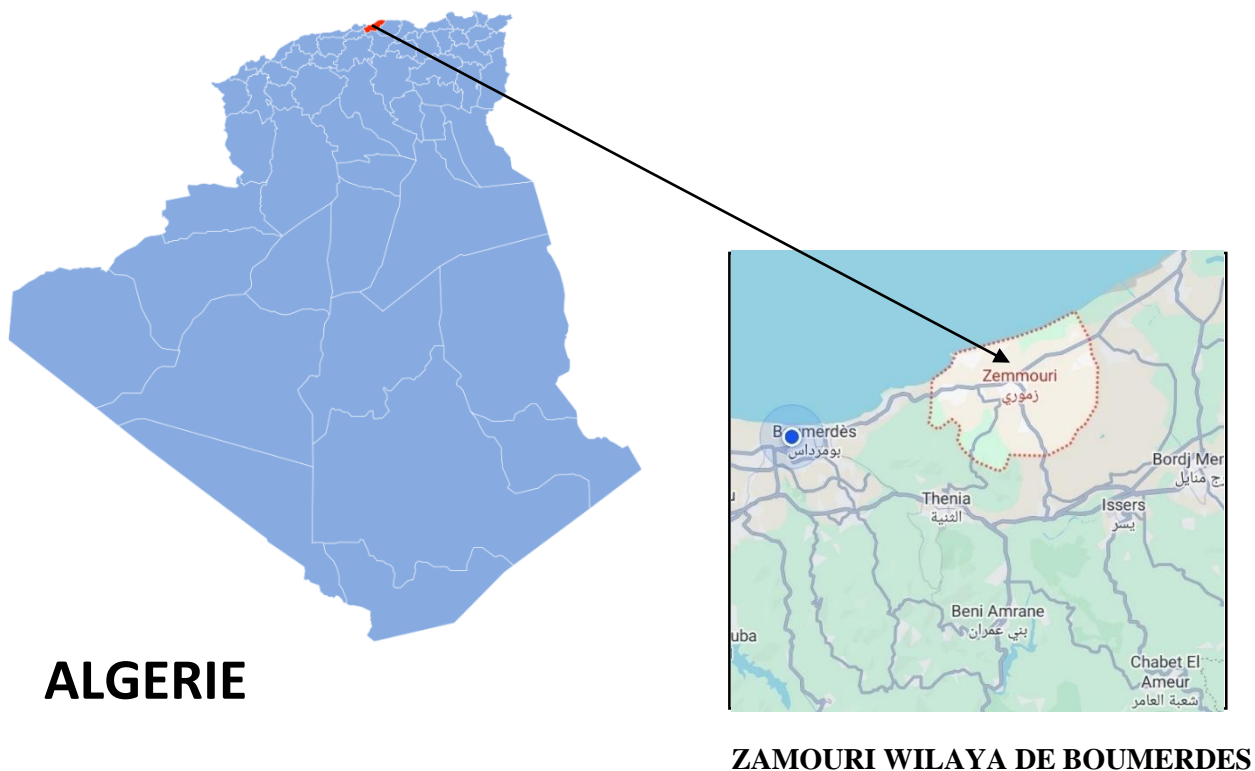


Figure 11. Localisation géographique de la zone de récolte Zamouri, wilaya de Boumerdes 35

II.3. Lavage

La plante *Marrubium vulgare* L. est nettoyée avec l'eau du robinet pour éliminer les grosses particules telles que la poussière, puis elle est rincée avec de l'eau distillée pour éviter toute présence d'impuretés.

II.4. Séchage

Le matériel végétal fraîchement récolté est séché à l'ombre, à température ambiante, dans un endroit sec et à l'abri de l'humidité pendant 15 jours jusqu'à ce qu'il soit prêt pour la préparation

des extraits.

II.5. Broyage, conservation et stockage

Le broyage est effectué à l'aide d'un mixeur jusqu'à obtention d'une poudre très fine (Figure 12). La poudre ainsi obtenue est tamisée et stockée dans des bocaux en verre ombrés hermétiquement fermés jusqu'à son utilisation.

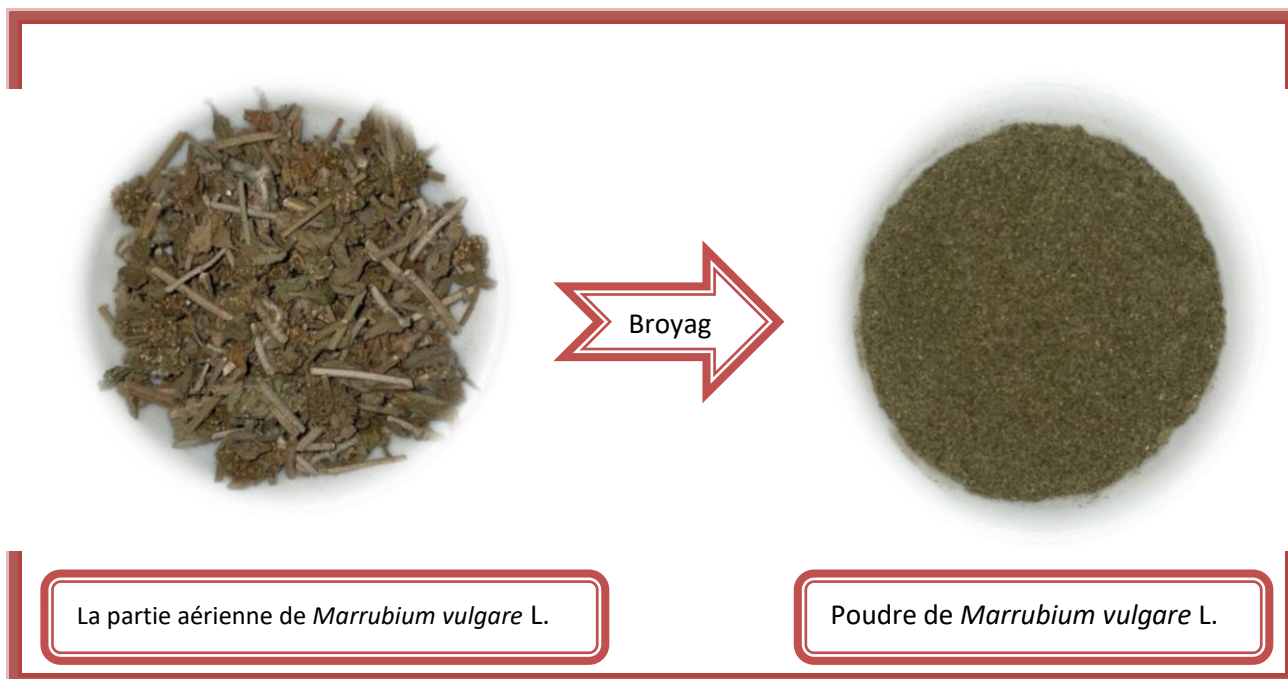


Figure 12. Préparation de la poudre végétale de La partie aérienne de *Marrubium vulgare* L.

II.6. Caractérisation phytochimique de la plante *Marrubium vulgare* L.

C'est une technique qui permet de mettre en évidence la présence ou l'absence des métabolites primaires et secondaires dans un organe végétal. Ils sont effectués soit sur la poudre, soit sur l'infusé à 10 %. Les méthodes d'identification utilisées dérivent de celles décrites par **Trease et Evans (1987)** ; **Harborne et al. (1998)** et **Raaman et al. (2006)**.

L'infusé à 10% de la partie aérienne est préparé par l'addition de 10g de la poudre végétale à 100 ml d'eau distillée chaude. Après un temps de contact de 15 à 20 minutes, l'infusé est filtré à travers un tissu de mousseline, ensuite à l'aide d'un papier filtre, puis le filtrat obtenu est ajusté à 100 ml avec de l'eau distillée. Les différents tests analytiques réalisés sont notés dans le **(tableau 5)**.

Tableau 5. Caractérisation qualitative des métabolites primaires et secondaires de *Marrubium vulgare* L. (Trease et Evans, 1987; Harborne et al., 1998; Raaman et al., 2006)

			Réaction	Résultat attendu
Composés phénoliques	Tanins	Totaux	La présence des tanins est mise en évidence par l'addition à 1 ml de l'infusé (5%) de la plante de 2 ml d'eau et de 2 à 3 gouttes de solution de FeCl ₃ diluée à 1%.	coloration bleue-noire ou bleue verte
		Galliques	5ml de l'infusé + 2g d'acétate de sodium + quelques gouttes de FeCl ₃ .	Coloration bleue foncée
		Catéchiques	15 ml de l'infusé + 10 ml du formol à 40% + 5 ml d'HCl concentré.	Coloration rouge
	Flavonoïdes		5 ml de l'infusé + 5 ml d'HCl + un copeau de magnésium+ 1 ml d'alcool iso-amylique.	Coloration rouge orangée
	Anthocyanes		5 ml de l'infusé + 5 ml d'acide sulfurique (H ₂ SO ₄), puis 5 ml d'hydroxyde d'ammonium (NH ₄ OH)	Coloration rouge (en milieu acide) Coloration bleue violacée (en milieu basique)
	Leuco-anthocyanes		Faire mélanger 2 g de poudre dans 20 ml de propanol / HCl (1/1), puis porter à ébullition au bain Marie.	Coloration rouge
Stéroïdes			introduire 5 ml d'anhydride acétique à 5 ml de l'extrait, qui sont repris dans un tube à essai dans lequel sont ajoutés 0,5 ml de H ₂ SO ₄ concentré.	coloration violettevire au bleu puis au vert
Saponosides			2mL de l'infusé + quelques gouttes d'Acétate de Plomb	Formation d'un précipité blanc
Irridoïdes			2 ml de l'infusé + quelques gouttes d'acide chlorhydrique. Chauffer légèrement.	Coloration bleue
Quinones			1.5 ml extrait et quelque goutte de HCL	Coloration vert

Mucilage	5 ml d'éthanol absolu sont ajoutés à 1 ml d'infusé. Le mélange est incubé pendant 15min	Précipité floconneux
Alcaloïdes	1.5 ml de l'infusé et 1,5 ml de Mayer	Coloration rouge
Coumarines	2 ml de l'infusé à 5% placé dans un tube dans lequel sont ajoutés 3 ml de NaOH (10%). Agiter la solution.	Coloration jaune
Protéines	1g de poudre végétal + 2ml d'Hydroxyle de Sodium (NaOH) à 2% + quelques gouttes du CuSO4.	Une violette avec teinte rougeâtre coloration
Glucosides	2g de poudre végétal quelques gouttes de l'Acide Sulfurique (H2SO4).	La formation d'une coloration rouge brique
Amidon	2g de poudre végétal + quelques gouttes d'iode.	Une coloration violette

II.7. Détermination de la teneur en eau et en cendre

II.7.1. Détermination de la teneur relative en eau

La méthode adaptée est la méthode gravimétrique pondérale. C'est une méthode qui permet la détermination de la perte de masse par dessiccation à l'étuve.

On répartie 3g de poudre végétale de la plante dans 3 verres de montre. Ensuite, ils sont mis dans l'étuve à 103°C pendant 24 heures. On réalise des pesées pour obtenir la masse après étuvage (Linden et Lorient, 1994). La détermination de la teneur en eau est obtenue par la moyenne des trois prises. Le pourcentage d'eau (taux d'humidité) est calculé par la relation suivante :

$$\text{Taux d'humidité} = \frac{\text{Masse d'eau}}{\text{Masse de poudre végétale}} \times 100$$

Tel que :

Masse de poudre végétale = masse de poudre végétale utilisées avant étuvage.

Masse d'eau = masse totale avant étuvage- masse totale après étuvage.

-La matière sèche (MS) est calculée comme suit :

$$(MS)\% = 100 - T \text{ eau } \%$$

MS % : matière sèche.

T eau % : taux de la teneur en eau.

II.7.2. Détermination de la teneur en cendre

Le dosage des cendres est effectué selon la méthode (**Williams, 1984**). C'est une méthode qui permet de mesurer la quantité de substances résiduelles non volatile lorsque l'échantillon est calciné. Elle consiste à introduire 3g de poudre végétale dans deux creusets préalablement tarés. La poudre végétale est calcinée à 600°C dans le four à moufle pendant six heures. Le pourcentage des cendres totales est calculé par le rapport suivant :

$$\text{Pourcentage des cendres totales} = \frac{\text{Masse des cendres } T}{\text{Masse de poudre végétale}} \times 100$$

Tel que :

Masse des cendres T : c'est la masse des cendres totales obtenue après la calcination.

Masse de poudre végétale : c'est la masse de poudre utilisée avant la calcination.

II.8. Préparation de l'extrait

Les composés phénoliques ont été extraits à partir de la partie aérienne de la plante *Marrubium vulgare* bien broyés par la méthode de macération dans le méthanol (extraction solide-liquide). Le principe se base sur l'entrée du solvant dans le solide par un mécanisme osmotique et la sortie du soluté par dialyse ou par diffusion (**Ross *et al.*, 2009**). Cette méthode d'extraction a été effectuée selon le protocole décrit par (**Bruneton, 1999**) on y apportant quelques modifications (**Figure13**). 15g de la poudre végétale finement broyée est macéré dans 120 ml d'éthanol pendant 24h, Le mélange est ensuite filtré et le filtrat est clarifié par centrifugation à 2000 tr/min pendant 5 min. Il est ensuite séché par un Evaporateur rotatif à 40°C et repris dans 4 ml d'éthanol pure. L'extrait ainsi obtenu est conservé au réfrigérateur à 4°C avant son utilisation.



Figure 13. Préparation de l'extrait éthanolique de *Marrubium vulgare* L.

- **Calcul du rendement d'extraction**

Le rendement d'extraction est calculé en pourcentage du rapport de la masse de l'extrait obtenue sur la masse totale de la poudre végétale utilisée dans l'extraction, selon la formule suivante :

$$R\% = \frac{m-m_0}{mt} \times 100$$

Tel que :

R% : rendement de la matière extraite ;

m : masse du ballon après extraction ;

m₀ : masse du ballon vide (avant l'extraction) ;

(m-m₀) : masse de l'extrait sec ;

mt : masse totale de la poudre végétale utilisée dans l'extraction.

II.9. Dosage des polyphénols

- **Principe**

La teneur en composés phénoliques de notre extrait est estimée par la méthode de Folin-ciocalteu selon (Li *et al.*, 2007). Cette méthode colorimétrique utilise le réactif de Folin Ciocalteu de couleur jaune qui est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀).

Son principe est basé sur la réduction en milieu alcalin de la mixture phosphotungstique phosphomolybdique de réactif de Folin par les groupements oxydables des composés phénoliques, conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleue. Ces derniers présentent un maximum d'absorption à 765 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon (Georgé *et al.*, 2005).

- **Mode opératoire**

Le dosage des polyphénols totaux dans l'extrait de la partie aérienne de *Marrubium vulgare* L. est effectué selon la méthode de Folin Ciocalteu (Wong *et al.*, 2006). Mélanger 0,1 ml d'extrait (4mg/ml) avec 0,4 ml de la solution de carbonate de sodium Na₂CO₃ (2 %). Ce mélange est agité et incubé pendant 5 minutes. Par la suite ajouter 0,5 ml de réactif Folin-Ciocalteu à 1N , puis la préparation est incubée pendant 2 heures à l'abri de la lumière et à température ambiante. La lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 760nm. La quantification des polyphénols est

déterminée en fonction d'une courbe d'étalonnage, réalisée par l'acide gallique à différentes concentrations, dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalent d'acide gallique par gramme de matière végétale sèche.

II.10. Evaluation des activités biologiques

II.10.1. Activité antioxydant

Dans notre étude, la démonstration de l'activité antioxydant *in-vitro* de nos extraits est menée à travers quatre activités, à savoir: le piégeage du radical libre DPPH⁺, le piégeage du radical libre ABTS⁺, la méthode de la Réduction du fer FRAP (Ferric reducing antioxydant power).

II.10.1.1. Test de DPPH

- **Principe**

La capacité des extraits à réduire les radicaux libres Du radical DPPH est mesurée par la méthode de spectrophotométrie décrite par **Blois, (1958)**. Le changement de couleur violet à jaunâtre du DPPH en présence de composés anti radicalaires met en évidence le potentiel antioxydant de l'échantillon grâce à sa capacité à piéger les radicaux libres.

Le DPPH est un radical libre stable de couleur violette, il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm, cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH[•] est réduit en diphényle picrylhydrazine par un composé à propriété antiradicalaire, entraînant ainsi une décoloration. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (**Fadili et al., 2017**).

- **Mode opératoire**

La méthode est effectuée à température ambiante pour éviter tout risque de dégradation thermique des molécules examinées.

La solution de DPPH est préparée par solubilisation de 2,4 mg de DPPH dans 100 ml l'éthanol. Un volume de 50µl de chaque solution éthanolique des extraits et de standard (acide ascorbique) à différentes concentrations (de 0,031 à 1mg/ml) sont ajoutés à 1,95ml de la solution éthanolique du DPPH (0,0024g/l). En outre, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 50µl d'éthanol avec 1,95ml de la solution l'éthanol DPPH. Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, la lecture de l'absorbance est effectuée contre un blanc préparé pour chaque concentration à 517nm (**Sanchez et al., 1998**)

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition (PI%) selon la formule suivante :

$$\text{PI}\% = \frac{\text{Abs Contrôle} - \text{Abs Extrait}}{\text{Abs Contrôle}} \times 100$$

Abs Contrôle : est l'absorbance de la réaction témoin contenant tous les réactifs à l'exception de l'extrait.

Abs Extrait : est l'absorbance de la réaction contenant de l'extrait ou l'acide ascorbique.

II.10.1.2. Activité de réduction du radical-cation ABTS+

- **Principe**

Ce test porte sur la production directe du bleu vert ABTS + Chromophore. Il a une absorption maximale à 734nm. L'activité de piégeage du radical ABTS a été effectuée en utilisant la méthode de **Re et al. (1999)**.

- **Mode opération**

Le réactif radical chromogène ABTS, à une concentration de 7,0 mM, est préparé en dissolvant 19,2 mg du composé dans de l'eau et en le diluant à 50 ml. À cette solution, on ajoute 3,3 mg de persulfate de potassium (K₂S₂O₈) afin d'obtenir une concentration finale de persulfate de potassium de 2,45 mM. La solution de cation radicalaire ABTS obtenue est laissée à mûrir à température ambiante dans l'obscurité pendant 12 à 16 heures. Avant utilisation, cette solution est diluée dans l'éthanol pour obtenir une absorbance voisine de 0,700 ± 0,002 à 734 nm. Pour les tests, 150 µl d'extrait à différentes concentrations (4 mg/ml) sont mélangés à 650 µl de la solution ABTS+, chaque dilution étant réalisée en triple. Un contrôle négatif est préparé en mélangeant 150 µl d'éthanol avec 650 µl de la solution ABTS+. Un contrôle de couleur est préparé en mélangeant 150 µl d'extrait à différentes concentrations avec 650 µl de la solution ABTS+. Après 10 minutes d'incubation à l'abri de la lumière, l'absorbance des solutions est mesurée à 734 nm contre un blanc (éthanol) (**Takebayashi et al., 2010**).

✓ Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition (PI%) selon la formule suivante :

$$\text{PI}\% = \frac{\text{A Contrôle} - \text{A Extrait}}{\text{A Contrôle}} \times 100$$

CC : absorbance du contrôle négative.

CE : absorbance de l'échantillon,

CA: absorbance du contrôle de couleur de l'échantillon.

II.10.1.3. Activité du pouvoir réducteur (FRAP)

- **Principe**

La réduction du fer des extraits a été déterminée en utilisant la méthode de (Oyaizu, 1986). Cette méthode est basée sur le changement de couleur de l'échantillon vers le bleu en fonction de la puissance de réduction de chaque composé.

- **Mode opératoire**

Le protocole est réalisé selon la technique décrite par (Karagözler *et al.* 2008). Mélanger 0,2 ml de l'extrait à différentes concentrations (4 mg/ml) avec 0,5 ml d'une solution tampon phosphate (pH 6,6) et 0,5 ml d'une solution de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ à 1 %. Incuber l'ensemble à 50 °C pendant 20 minutes dans un bain-Marie. Laisser le mélange refroidir, puis ajouter 0,5 ml de l'acide trichloroacétique (TCA) à 10 % pour stopper la réaction. Centrifuger l'ensemble à 3000 tr/min pendant 10 minutes. Combiner 0,5 ml de surnageant avec 0,5 ml d'eau distillée et 0,1 ml d'une solution aqueuse de chlorure de fer $FeCl_3$ à 0,1 %. Mesurer l'absorbance à l'aide d'un spectrophotomètre à 700 nm. Le test est répété trois fois.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard, l'acide ascorbique, dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Bougandoura et Bendimerad, 2013).

II.10.2. Activité anti-inflammatoire par la méthode de dénaturation des BSA

- **Principe**

Le test anti-inflammatoire est réalisé selon (Chakou *et al.* 2021), cette technique est effectuée selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines.

- **Mode d'opératoire**

Dans des tubes à essai, un volume de 50µL des polysaccharides ou de diclofénac (contrôle de couleur), est ajouté à 450 µL de BSA à 0,5%. Le mélange résultant est incubé à 37°C pendant 20 min, puis chauffé à 70°C durant 10 min, après refroidissement des tubes, 2,5ml de la solution tampon phosphate (pH 7,4) est ajouté. L'absorbance est mesurée par un spectrophotomètre UV –visible à 660 nm, voir **Annexe 3**.

Calcul du pourcentage d'inhibition :

$$\text{INHI}\% = \frac{\text{Abs contrôle négatif} - \text{Abs contrôle positif}}{\text{Abs contrôle négatif}} \times 100$$

CE : absorbance du contrôle positif

CA: absorbance du contrôle négatif

II.10.3. Activité antibactérienne

- **Principe**

Pour tester l'activité antibactérienne de l'extrait ethanologique de la plante *Marrubium vulgare* L., la technique adoptée est la méthode de diffusion sur milieu solide, à partir des disques imprégnés avec l'extrait selon le Comité National des Normes du Laboratoire Clinique (**NCCLS, 2001**). Elle permet de déterminer l'activité inhibitrice de croissance bactérienne par la mesure du diamètre d'inhibition autour d'un disque.

- **Mode opératoire**

- ✓ **Préparation des milieux de culture**

La gélose Muller Hinton stérile prête à l'usage est coulée aseptiquement, dans des boîtes de Pétri stériles de 90 mm de diamètre. L'épaisseur de la gélose est de 3mm répartie uniformément dans les boîtes. La gélose doit être solidifiée à température ambiante avant usage.

- ✓ **Préparation des disques**

Des disques de 6 mm de diamètre sont découpés dans du papier Wattman et stérilisés dans un autoclave.

- ✓ **Préparation de l'inoculum**

A partir de cultures jeunes, des colonies de bactéries sont prélevées à l'aide d'une anse de platine et diluées dans de l'eau physiologique stérile à 0.09 %.

La lecture de la densité de chacune des suspensions microbiennes préparées est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre à 620nm, l'absorbance doit être comprise entre 0,2 et 0,3 ce qui correspond à une concentration de 10^8 UFC/ml.

- ✓ **Ensemencement**

La suspension bactérienne préalablement préparée est ensemencée à l'aide d'un écouvillon, puis on dépose aseptiquement à l'aide d'une pince stérile un disque de 6 mm imbibé de 20 µl de l'extrait de *Marrubium vulgare* L. sur la gélose Muller Hinton. L'expérimentation est répétée en triplicata, le témoin

positif est représenté par les différents antibiotiques standards utilisés. Le tout est incubé à 37°C pendant 24h.

✓ **Expression des résultats**

Le protocole de base des antibiogrammes adopté est celui proposé par le laboratoire de microbiologie de l'École Polytechnique Fédérale de LAUSANNE (Faculté Environnement Naturel, Architectural et Construit Institut des infrastructures, des ressources et de l'environnement, Section D'architecture, Suisse):

- Insensible (-) < 8 mm de diamètre.
- Sensible (+) entre 9 et 14 mm de diamètre.
- Très sensible (++) entre 15 à 19 mm de diamètre.
- Extrêmement sensible (+++) aux diamètres supérieurs à 20 mm (**Ponce *et al.*, 2003**).

II.11. Analyse statistique

Toutes les données représentent la moyenne de trois essais et les résultats sont exprimés par la moyenne \pm de l'écart type.

An orange scroll graphic with rounded corners and a vertical strip on the left side, resembling a rolled-up document. The text is centered on the scroll.

*Chapitre III : Résultats et
Discussion*





Les résultats de l'analyse de l'extrait éthanolique de *Marrubium vulgare* L. sont représentés sur les tableaux et les figures suivants les paramètres :

- Caractéristiques phytochimiques de la partie aérienne de *Marrubium vulgare* L.
- Teneur en eau.
- Teneur en cendre.
- Rendement de l'extraction de la poudre des feuilles et tiges.
- Dosage des polyphénols.
- Evaluation des activités biologiques :
 - ✓ Activité antioxydant.
 - ✓ Anti inflammatoire.
 - ✓ Antibactérienne


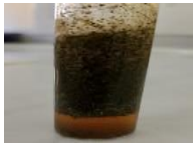
I. Screening phytochimique

Les résultats du criblage phytochimique de la poudre *Marrubium vulgare* L. sont mentionnés dans le tableau 6.

Tableau 6. Résultats du screening phytochimique de la plante *Marrubium vulgare* L.

Composant		Résultats		
Composés phénoliques	Les tanins	Totaux	+++	
		Catéchique	+++	
		Gallique	+++	
	Flavonoïde	+++		

	Anthocyane	+++	
	Leuco anthocyane	-	
	Stéroïde	+++	
	Saponoside	+++	
	Irridoïde	+++	
	Quinone	-	
	Mucilage	+++	
	Alcaloïde	-	
	Coumarin	+++	
	Protéine	+++	

Glucoside	+++	
Amidon	-	

(+++): très riche en composé ; (-): absence du composé

Les résultats du screening phytochimique de *Marrubium vulgare* L. ont révélés une richesse dans les métabolites primaires et secondaires. En effet, on observe une forte concentration en tanins totaux, tanins catéchiques, tanins gallique, flavonoïdes, anthocyanes, stéroïdes, saponosides, irridoïde, mucilage, coumarins, les protéines et les glucosides. Par contre, on note une absence des leuco anthocyanes, des quinones et des alcaloïdes.

Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés par plusieurs auteurs. En effet, (**Rhoades et al., 2013**), ont mis en évidence la présence des tanins, des flavonoïdes, des alcaloïdes, les composés réducteurs, des coumarines, des stérols, des stéroïdes, des saponosides, et de l'amidon. (**Bouterfas et al., 2016**) ont révélé également la présence de ces métabolites dans les extraits de *M. vulgare*, à l'exception des coumarines. De plus, (**Fayyad et al., 2014**) ont noté la présence des flavonoïdes aglycones et des stéroïdes dans tous les extraits de *M. vulgare* sauf l'extrait hexanique.

(**Rhoades et al., 2013**), rapportent que la composition chimique est influencée par les conditions climatiques tels que les températures élevés, l'exposition au soleil, la sécheresse et la salinité du sol, qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaire.

II. La teneur en eau et en cendre

La connaissance de la teneur en humidité est importante pour déterminer un produit qui peut être stocké pendant une longue période sans risque d'être attaqué par des agents bactériens et fongiques qui pourraient altérer la qualité par décomposition (**Aguilera-Morales et al., 2005**). Le taux de cendre représente la quantité totale en sels minéraux présentes dans un échantillon (**Afnor, 1984**). La détermination de la teneur en cendres des échantillons d'aliments n'a pas de signification nutritionnelle en soi, mais la valeur des cendres est un contrôle utile pour résumer la composition proximale de l'aliment et une mesure de sa teneur en minéraux (**Prapasiri et al., 2011**). Les résultats obtenus sont mentionnés dans le **Tableau 7**.

Tableau 7. Teneur en eau et en cendre de la plante *M. vulgare*

Teneur en eau %	Teneur en cendre %	La matière sèche
99±0,01	22±0,07	1%

Les résultats représentés dans le **Tableau7** indiquent que la teneur en eau de la plante *Marrube vulgare* fraîche récoltée dans la région de Zamouri est de 99%±0,01. Cette valeur est importante et peut être expliquée par les conditions de cueillette de plante, réalisée au début du printemps ; la plante était encore en phase de croissance, elle nécessite une grande quantité d'eau pour son développement. Cependant, une forte teneur en eau peut entraîner une détérioration, ce qui nécessite un séchage avant son utilisation.

Cette variation de la teneur en eau peut être due aussi aux différentes conditions environnementales : exposition aux différentes conditions pédoclimatiques et répartition géographique (**Laoufi, 2017**).

Le résultat de la teneur en cendre obtenu pour 3g de poudre végétale est de 22%±0,07. Le taux de cendre représente la quantité totale en sels minéraux présentes dans un échantillon (**Afnor, 1984**). Ces variations peuvent être causées par divers facteurs écologiques, notamment l'âge de la plante, la période du cycle végétatif, les caractéristiques édaphiques du sol ou même des facteurs génétiques (**Laoufi, 2017**).

III.Caractéristiques organoleptiques, physico-chimique et rendement de l'extrait éthanolique de *Marrubium vulgare L.*

Les résultats des caractères organoleptiques, physico-chimique et le rendement de l'extrait éthanolique de *Marrubium vulgare L.* sont résumés dans le **Tableau 8**

Tableau 8. Caractéristique de l'extrait de *Marrubium vulgare L.*

Espèce étudiée	<i>Marrubium vulgare</i>
Mode d'extraction	Macération
Rendement (%)	06%
La couleur	Marron caramel
L'odeur	Henné
Saveur	Amer
Aspect	Pâte collante

L'extrait éthanolique de la poudre *Marrubium vulgare* se caractérise par une couleur marron caramel et une odeur henné. Il présente un goût amer et un aspect pâteux collant.

Le rendement obtenu pour 15 g de poudre de *Marrubium vulgare L.* est de 6%. L'étude rapportée par

(Rhoades *et al.*, 2013) a montré que l'extraction réalisée sur les feuilles, tiges et racines de *Marrubium vulgare* L. a donné un rendement de 6% pour les feuilles et de 1,5% pour les tiges, en utilisant l'éthanol comme solvant. Le rendement d'extraction dépend de plusieurs facteurs : le temps, la température et la différence entre les parties aériennes et chaque partie prise séparément. Le rendement d'extraction dépend de plusieurs facteurs : le temps, la température et le solvant utilisé dans l'extraction.

IV. Dosage des polyphénols

La teneur en polyphénols de l'extrait aqueux des feuilles et tiges de *R. peregrina* est représentée dans le tableau N° 9.

Tableau.9. Teneur en polyphénols totaux de l'extrait éthanolique de la poudre du *Marrube blanc L*

<i>Marrubium vulgare</i> L.	Rendement
Infusé (mg EAG /1g de matière sèche)	15,351±0,14

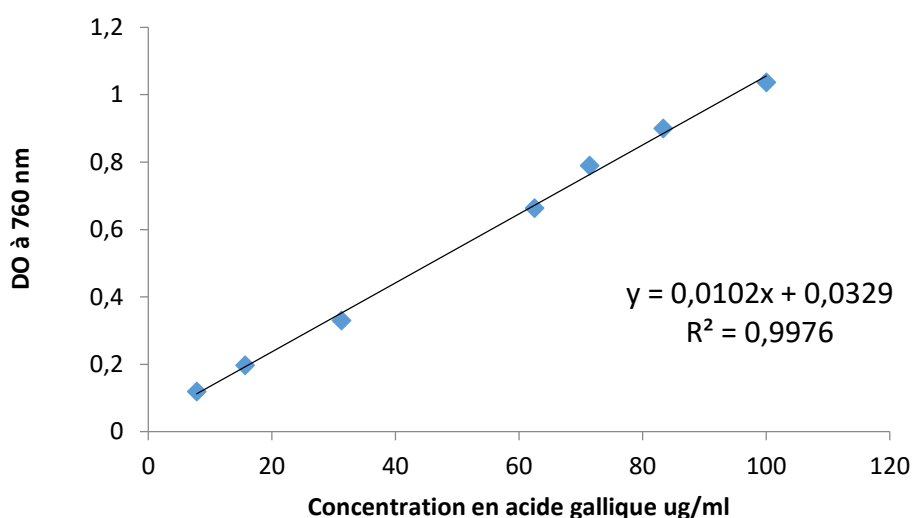


Figure14. Courbe étalon de l'acide gallique

La détermination de la concentration des polyphénols dans l'extrait éthanolique de la partie aérienne de *Marrubium vulgare* est effectuée en suivant la méthode spectrophotométrique en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Cette dernière nécessite préalablement l'établissement d'une courbe d'étalonnage linéaire avec de l'acide gallique comme étalon (l'équation standard de courbe : $y = 0,0102x + 0,0329$; $R^2 = 0,9976$).

D'après nos résultats, la teneur en polyphénols obtenue est estimée à $15,351 \pm 0,14$ mg EAG/g. Nos résultats pour l'extrait éthanolique sont supérieurs à ceux rapportés par (Wojdylo *et al.*, 2007), qui ont révélé que l'extrait méthanolique de *Marrubium vulgare* contenait une teneur en polyphénols de $3,86 \pm$

0,05 mg EAG/g. En revanche, nos résultats sont inférieurs à ceux des travaux de (Matkowski *et al.*, 2008), qui ont rapporté des résultats divergents avec une teneur en polyphénols de $63,4 \pm 1,7$ mg EAG/g pour un extrait méthanolique de *M. vulgare*. La teneur phénolique d'une plante dépend également d'un certain nombre de facteurs intrinsèques et extrinsèques, en particulier les conditions climatiques, la maturité à la récolte et les conditions de stockage ainsi que le solvant d'extraction.

V. Résultats des Activités biologiques *in vitro*

V.1. Activité antioxydant

V.1.1. Test au DPPH

Les résultats du pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH par l'extrait éthanolique de *Marrubium vulgare* L. et de l'acide ascorbique sont illustrés dans la **figure 15**.

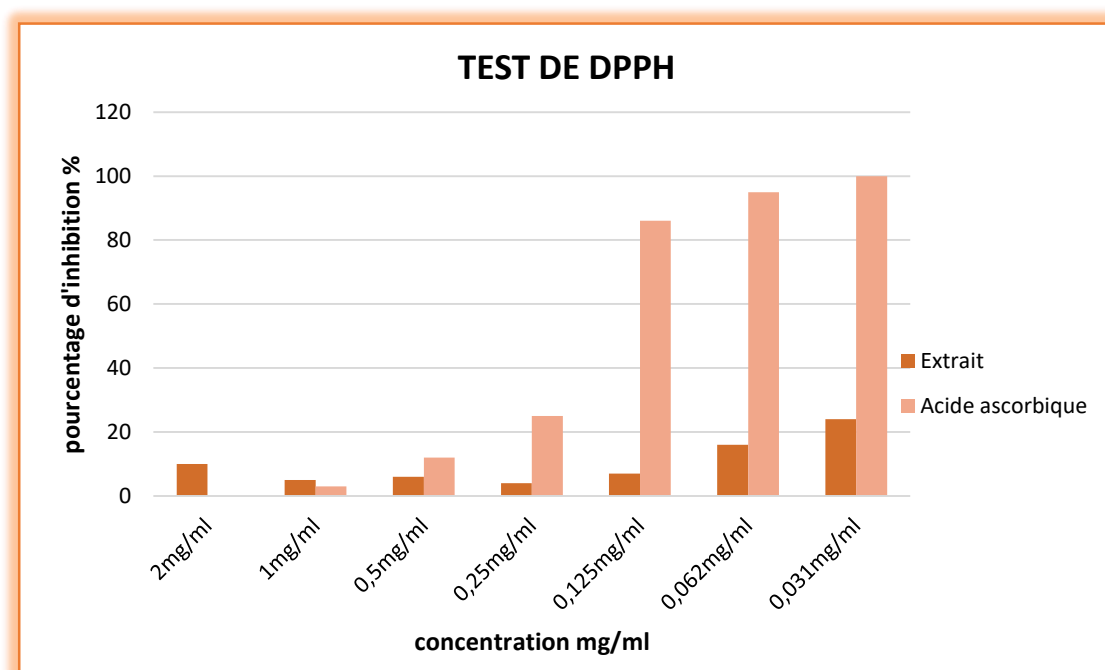


Figure15. Pouvoir anti-radicalaire de l'extrait éthanolique de *Marrubium vulgare* L. et de l'acide ascorbique

Tableau 10. Valeurs d'IC50 de l'extrait de *Marrubium vulgare* L et de l'acide ascorbique

Extraits	IC50 (mg/ml)
Marrubium vulgare L	17.16±0.05
Acide ascorbique	0.187±00

Le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH est faible proportionnellement avec la concentration croissante de l'extrait de *Marrubium vulgare* L. L'acide ascorbique utilisé comme antioxydant standard a

révélé une bonne activité anti-radicalaire en comparaison avec l'extrait *Marrubium vulgare*, avec des IC50 de 0.187 ± 0.00 mg/ml et de 17.16 ± 0.05 mg/ml respectivement.

L'extrait de la plante montre une activité antioxydante nettement inférieure à celle du produit de référence, l'acide ascorbique. L'augmentation de l'absorbance dans le milieu réactionnel est corrélée à une réduction de l'IC50.

Les résultats rapportés par (**Ghedadba, 2017**), montrent que les extraits méthanoliques de *M. vulgare* ainsi que les standards exercent une activité antiradicalaire d'une manière dépendante de la concentration. L'activité augmente avec la concentration pour atteindre un maximum au-delà la duquel elle reste constante (plateau).

En revanche, selon les résultats de (**January, 2023**), l'éthanol présente un pouvoir antiradicalaire significatif (APR = $15 \pm 0,00\%$), proche de celui de la quercétine (APR = $16,74 \pm 0,00\%$).

Les extraits de *M. vulgare* montrent une activité antiradicalaire dépendante de la dose, avec des IC50 déterminés pour chaque extrait. Selon (**Kadri et al., 2011**), une valeur plus faible de l'IC50 (la concentration du substrat qui provoque une inhibition de 50 % de l'activité de DPPH) indique une activité antioxydante plus élevée. Les résultats du pouvoir antioxydant peuvent être influencés non seulement par la composition chimique, mais aussi par les conditions de test (température de réaction, ratio antioxydant/DPPH, type de solvant, pH, concentration de l'échantillon).

V.1.2. Test à l'ABTS⁺

Le radical ABTS⁺ est largement utilisé pour déterminer l'activité antioxydant de l'extrait de *Marrubium vulgare* L. Une comparaison est faite avec la capacité de l'acide ascorbique à capturer l'ABTS⁺. Les résultats obtenus ont été exprimés en % d'inhibition, en valeurs IC50 mg/ml d'équivalents BHT d'extrait de *Marrubium vulgare* portés sur la **figure 16** et le **tableau 11**.

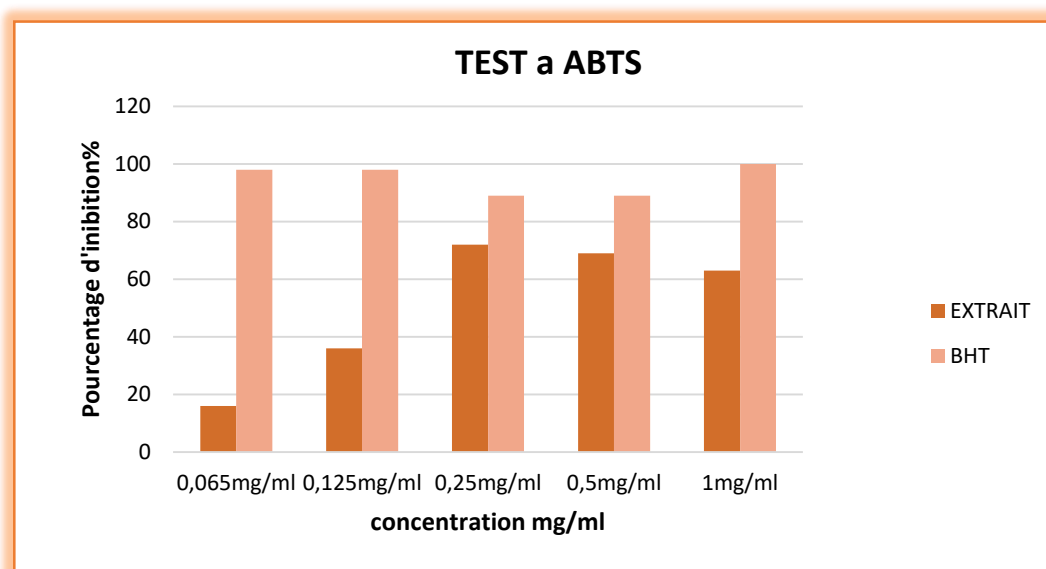


Figure 16. Pourcentage d'inhibition d'ABTS en fonction des concentrations de l'extrait éthanolique de *Marrubium vulgare* L.

D'après les résultats illustrés dans la **figure16**, l'extrait de *Marrubium vulgare* L. révèle un pouvoir réducteur hautement significatif. La valeur la plus élevée du pourcentage d'inhibition est de 100% à 1mg/ml contre 69,7% d'acide ascorbique. Cependant, le pourcentage d'inhibition d'ABTS pour l'extrait végétale est élevé à celui de contrôle positif pour toutes les concentrations utilisées.

Le tableau 11 résume les IC50 calculés de l'extrait de *Marrubium vulgare* L. et du standard (BHT).

Tableau 11. Valeurs d'IC50 d'extrait éthanolique de *Marrubium vulgare* L. et le (BHT)

Extraits	IC50 (mg/ml)
Marrubium vulgare L	0.460±0.08
BHT	0.022±00

L'extrait éthanolique présente une activité ABTS relativement élevée avec un IC50 de $0,46 \pm 0,08$ mg/ml. Les résultats obtenus pour le standard utilisé (BHT) ont révélé un IC50 $0,022 \pm 0,00$ mg/ml. Les résultats de l'activité antiradicalaire par l'ABTS obtenus par (**Zaabat et al., 2010**), ont montré que l'extrait de *M.vulgare* polyphénolique présente un effet inhibiteur de $92,12 \pm 3,829$ mg/ml.

V.1.3. Test de FRAP

Le ferric reducing antioxidant power FRAP est largement utilisé pour déterminer l'activité antioxydant de l'extrait de *Marrubium vulgare L.* Une comparaison est faite avec la capacité du BHT à capturer FRAP **Figure 17.**

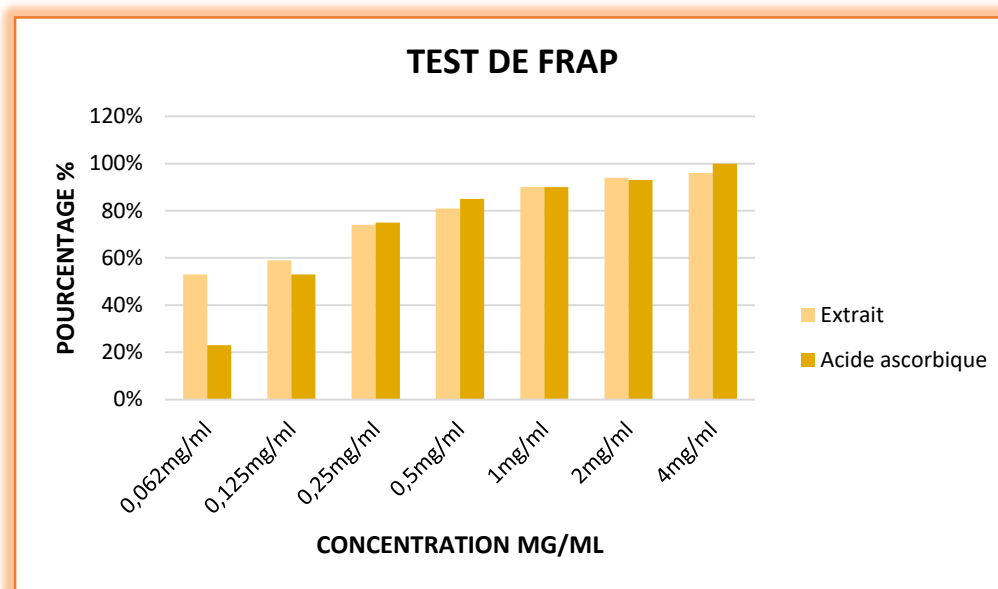


Figure 17. Pourcentage d'inhibition de FRAP en fonction des concentrations de l'extrait éthanolique de *Marrubium vulgare L.*

Selon les résultats présentés, l'extrait de *Marrubium vulgare* montre un pouvoir réducteur très élevé. Le pourcentage d'inhibition le plus élevé est de 98 % à une concentration de 1 mg/ml, comparé à 100 pour l'acide ascorbique. Cependant, le pourcentage d'inhibition mesuré par la méthode FRAP pour l'extrait végétal est inférieur à celui de l'acide ascorbique, utilisé comme contrôle positif, pour toutes les concentrations testées.

Tableau 12. Valeurs d'IC50 d'extrait de *Marrubium vulgare L* et d'acide ascorbique par la méthode de FRAP

Extrait	IC50 (mg/ml)
Marrubium vulgare L	0.121±0.04
Acide ascorbique	0.345±0.01

Le **tableau N°12** indique que l'extrait éthanolique présente une activité ferric reducing antioxidant power (FRAP) supérieure (IC50 de 0.121±0,04 mg/ml) à celle du standard utilisé (Acide ascorbique) dont l'IC50 est de (0,345±0.01 mg/ml).

Selon les résultats des tests antioxydants, l'extrait qui présente une forte activité antioxydante possède une teneur élevée en polyphénols. Il a été prouvé que les composés phénoliques présents dans les plantes sont principalement responsables de piéger les radicaux libres (Amessis-Ouchemoukh *et al.*, 2014).

V.2. Activité anti-inflammatoire *in vitro*

Selon (Rathiste *et al.*, 2013), la méthode de la dénaturation protéique est la plus convenable pour l'évaluation de l'activité anti inflammatoire *in vitro*.

Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition de la dénaturation du BSA de l'extrait éthanolique du Marrube blanc avec comme standard, le diclofénac à différentes concentrations (Figure18).

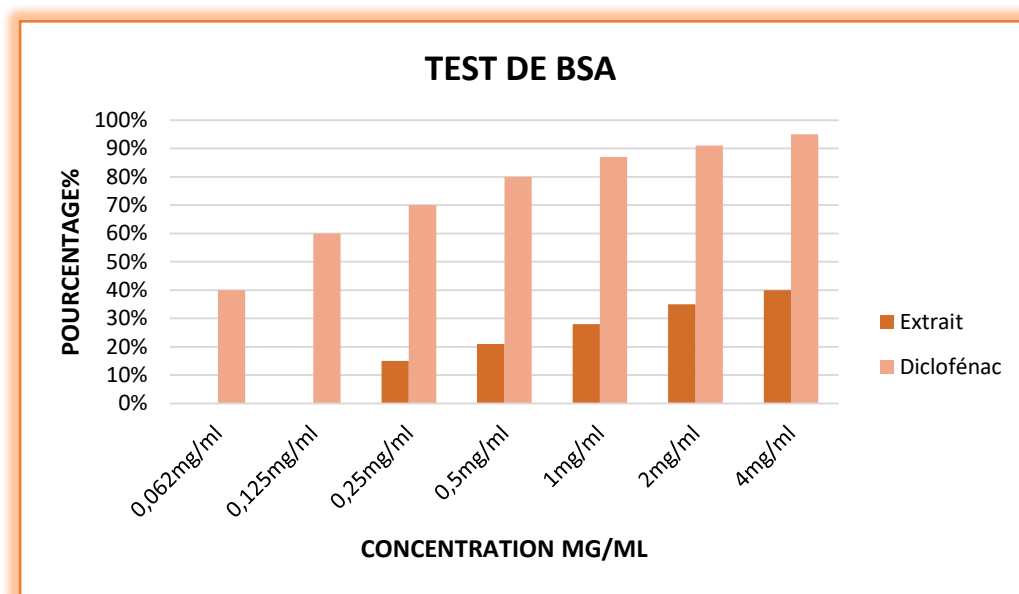


Figure 18. Pourcentage d'inhibition de BSA en fonction des concentrations de l'extrait éthanolique de *Marrubium vulgare* L.

La figure N°18, montre que la concentration de l'extrait éthanolique de *Marrubium vulgare* L. est nulle jusqu'à 0,25mg/ml après nous remarquons une augmentation progressive.

Tableau 13. Valeurs d'IC50 de l'extrait éthanolique de *Marrubium vulgare* L. et du standard le diclofénac

Extraits	IC50 (mg/ml)
Marrubium vulgare L	4±0.07
Diclofénac	0.941±0.04

Dans le **tableau13**, les valeurs d'IC50 enregistrées pour l'extrait éthanolique de *Marrubium vulgare* L. et le diclofénac montrent que l'extrait éthanolique possède une valeur plus élevée d'IC50 de 4±0,07 mg/ml

que celle du standard utilisé diclofénac qui est de $0,941 \pm 0,04$ mg/ml. Ceux-ci suggèrent que *M. vulgare* possède une activité anti inflammatoire moins puissante que celle du diclofénac.

V.3. Activité antibactérienne

Les résultats de l'activité antibactérienne des différents extraits de *Marrubium vulgare* L. et des antibiotiques erythromicine, rifamicine, ciproflaxacine et la chloraphenicol sont présentés dans le **Tableaux14** voir **Annexe 4** et **Annexe 5**.

Tableau 14. Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de *Marrubium vulgare* L.

Espece	La Plante	Erythromicin	Rifamicine	Ciproflaxacine	Chloramphenicol
E.coli 1	10,7±1,15	+	+	+	+
klebsiella SP	13,7±5,51	-	+	-	+
Sphingomonas	15,3±8,08	-	+	-	-
E.coli 2	12,0±1,00	-	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa	11,3±1,53	-	-	-	-
E.coli 3	11,7±2,08	-	+	+	-
E.coli 4	13,3±2,52	-	+	-	-

Sensible (-) et Résistant (+)

Selon le tableau 14, l'activité est notablement plus élevée contre la souche Sphingomonas, avec une zone d'inhibition de $15,3 \pm 8,08$ mm, suivie par la souche Klebsiella SP avec une zone d'inhibition de $13,7 \pm 5,51$ mm, et enfin la souche E. coli2, qui présente la zone d'inhibition la plus faible de $10,7 \pm 1,15$ mm.

La sensibilité de l'extrait éthanolique est classée selon le diamètre des zones d'inhibition comme suit : toutes les souches sont considérées comme sensibles (+) avec un diamètre de 9 à 14 mm. Cela inclut E. coli2 (10,7 mm), Klebsiella sp (13,7 mm), E. coli6 (12,0 mm), Pseudomonas (11,3 mm), E. coli9 (11,7 mm) et E. coli10 (13,3 mm). Seule Sphingomonas paucimobilis (15,3 mm) est classée comme très sensible (++) avec un diamètre de 15 à 19 mm.

La sensibilité aux différents extraits est classée selon le diamètre des zones d'inhibition, comme indiqué par (Moreira *et al.*, 2005) : non sensible (-) pour un diamètre inférieur à 8 mm ; sensible (+) pour un diamètre entre 9 et 14 mm, et très sensible (++) pour un diamètre entre 15 et 19 mm.

De plus, les résultats obtenus pour l'antibiotique d'Erythromycine restent sans effets sur toutes les souches étudiées, à l'exception de la bactérie *E. Coli2*. De même, pour l'antibiotique de Rifamycine, les résultats des bactéries sont majoritairement sensibles à l'exception de la souche d'*E. Coli 6* et de *Pseudomonas aeruginosa*. Les observations des effets de l'antibiotique de Ciprofloxacine, révèlent des résultats négatifs pour la plupart des bactéries, à l'exception notable d'*E. Coli2* et d'*E. Coli9*. Enfin, l'antibiotique de chloramphénicol confirme cette tendance avec des résultats négatifs, à l'exception de *Klebsiella SP* et d'*E. Coli2*.

Les résultats de l'activité antibactérienne des sommités de la partie aérienne du *Marrubium vulgare* ont montré une bonne activité performance. L'étude a révélé que plusieurs paramètres peuvent influencer la détermination de l'activité antibactérienne, notamment la méthode d'évaluation, la concentration, le type d'extrait, ainsi que la nature et la structure moléculaire des métabolites secondaires bioactifs.

Les études de (**Ghedadba, 2017**) ont mis en évidence l'activité antibactérienne de certains extraits méthanoliques de plantes *M. Vulgare*. L'activité la plus élevée a été observée contre la souche *SARM*, avec une zone d'inhibition de $16,34 \pm 0,7$ mm, suivie par *S. aureus* avec une zone d'inhibition de $14,13 \pm 1,03$ mm. En revanche, *E. Coli* s'est révélée moins sensible, avec une zone d'inhibition de $12,94 \pm 0,5$ mm. Quelques zones d'inhibition modérées sont enregistrées avec l'extrait méthanolique contre *P. Aeruginosa* ($7,24 \pm 0,37$ mm), *K. Pneumoniae* ($7,84 \pm 0,56$ mm), *S. Typhimurium* ($7,56 \pm 0,75$ mm), ainsi que les deux souches d'*Entérobacter SP* ($9,47 \pm 1,67$ mm ; $10,74 \pm 0,24$ mm). L'extrait éthanolique de *M. Vulgare* maintient son activité à une concentration de 62,5 mg/ml contre les souches *SARM*, *S. Aureus* et *E. Coli*.

Ces classifications représentent la sensibilité des souches testées aux extraits de *M. Vulgare*. La sensibilité des souches *S. Aureus* et *SARM*, notamment pour les extraits méthanoliques, peut s'expliquer par la probabilité de sensibilité des bactéries Gram (+) ou des modifications environnementales externes, telles que la température, le pH et les extraits naturels, en raison de l'absence de membrane externe (**Balentine et al., 2006**)



Conclusion

Conclusion

La popularité des plantes à travers le monde continue d'attirer l'attention pour leur importance dans les systèmes de médecine traditionnelle. Notre étude vise à étudier les activités biologiques de l'extrait éthanolique de *Marrubium Vulgare* L. cultivé spécifiquement dans la région de Boumerdes. Nous envisageons de réaliser une analyse phytochimique approfondie, d'évaluer les propriétés antioxydants et antimicrobiennes, ainsi que d'explorer les activités anti-inflammatoires *in vitro* de cet extrait.

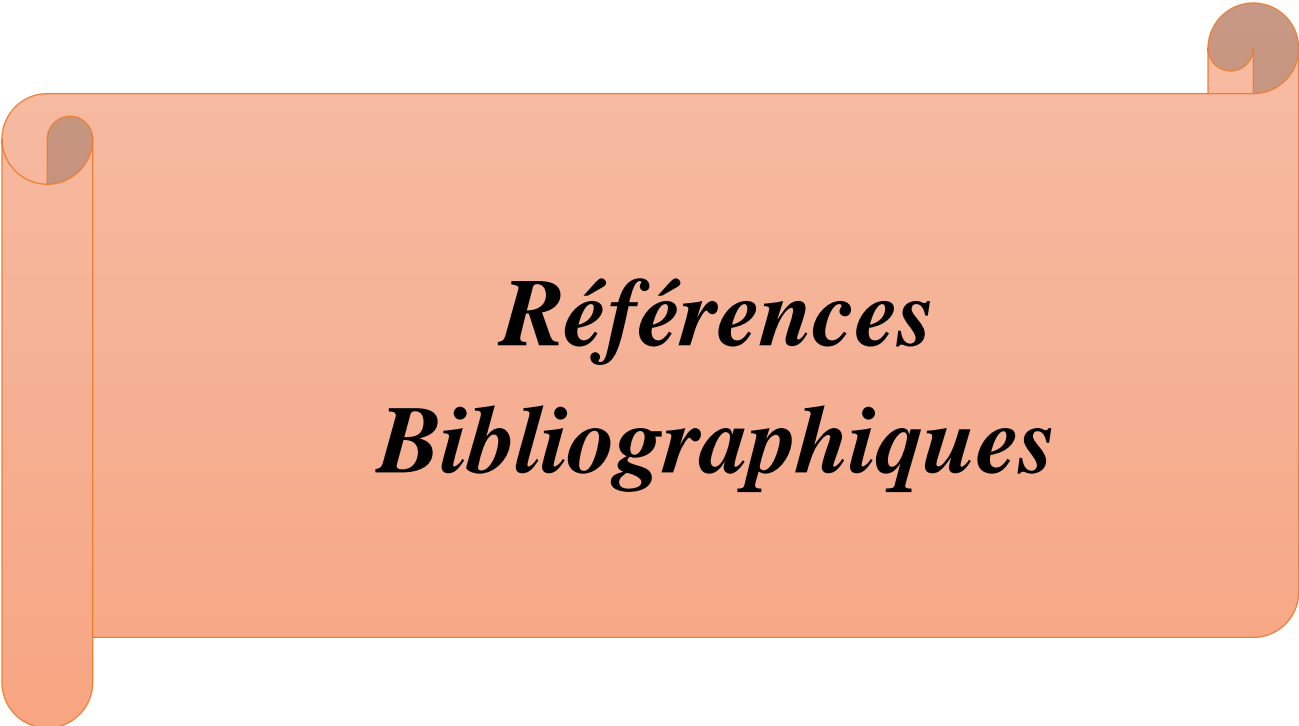
Les résultats de l'étude ont été concluants. L'analyse phytochimique a révélé une richesse notable en métabolites secondaires, incluant des tanins, des flavonoïdes, des alcaloïdes, des composés réducteurs, des coumarines, des stérols et des stéroïdes, des *saponosides*, ainsi que l'amidon.

L'analyse des polyphénols avec le réactif de Folin-Ciocalteu a révélé une concentration élevée dans l'extrait éthanolique, indiquant ainsi ses propriétés bénéfiques pour la santé.

L'évaluation de l'activité antioxydant a révélé que l'extrait éthanolique présente un pouvoir réducteur et une capacité anti-radicalaire moyenne. De plus, l'extrait a montré une activité anti-inflammatoire notable. Les résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de *Marrubium Vulgare* L. Il présente une activité importance. Cela est illustré par les zones d'inhibition observées contre différentes souches bactériennes telles que *Sphingomonas* et *Klebsiella SP*.

A travers la bibliographie consultée, ces découvertes soulignent l'importance de *Marrubium Vulgare* L. comme source de composés bioactifs bénéfiques pour la santé humaine. Cependant, il est nécessaire de mener des études complémentaires pour comprendre précisément les mécanismes responsables de ces activités, ainsi que pour optimiser les conditions d'extraction afin d'améliorer la reproductibilité et l'efficacité des résultats obtenus.

En perspective, des recherches ultérieures pourront utiliser ces résultats comme référence pour explorer les applications médicinales de *Marrubium Vulgare* L., notamment dans le développement de thérapies naturelles contre les maladies inflammatoires et comme agents antimicrobiens. De plus, l'optimisation des méthodes d'extraction et l'étude des constituants bioactifs spécifiques pourraient ouvrir la voie à de nouvelles formulations pharmaceutiques dérivées de cette plante.



***Références
Bibliographiques***

A

Abderrazak, M., Joël R, 2007. La botanique de A à Z. Ed. Dunod, Paris, 177p.

Afnor, N. (1984). X43-021 Prélèvement sur filtre des matières particulaires en suspension dans l'air ambiant–Appareillage automatique séquentiel. *AFNOR, Paris, décembre.*

Aguilera-Morales, M., Casas-Valdez, M., Carrillo-Dominguez, S., González-Acosta, B., & Pérez-Gil, F. (2005). Chemical composition and microbiological assays of marine algae *Enteromorpha* spp. as a potential food source. *Journal of food composition and analysis, 18(1), 79-88.*

Ahmed, R. S., Suke, S. G., Seth, V., Chakraborti, A., Tripathi, A. K., & Banerjee, B. D. (2008). Protective effects of dietary ginger (*Zingiber officinales* Rosc.) on lindane-induced oxidative stress in rats. *Phytotherapy Research, 22(7), 902-906.*

Ahvazi, M., Balali, G. R., Jamzad, Z., & Saeidi, H. (2018). A taxonomical, morphological and pharmacological review of *Marrubium vulgare* L., an old medicinal plant in Iran. *فصلنامه علمی پژوهشی گیاهان دارویی, 17(65), 7-24.*

Alkhatib, R., Joha, S., Cheok, M., Roumy, V., Idziorek, T., Preudhomme, C., ... & Hennebelle, T. (2010). Activity of ladanein on leukemia cell lines and its occurrence in *Marrubium vulgare*. *Planta medica, 76(01), 86-87.*

Allain, P. (1996). Les médicaments. Editions ESTEM. Paris, p 414.

Amessis-Ouchemoukh, N., Abu-Reidah, I. M., Quirantes-Piné, R., Madani, K., & Segura-Carretero, A. (2014). Phytochemical profiling, in vitro evaluation of total phenolic contents and antioxidant properties of *Marrubium vulgare* (horehound) leaves of plants growing in Algeria. *Industrial Crops and Products, 61, 120-129.*

Arts, I.C.W., Van De Putte B., Hollman P.C.H. (2000). Catechin contents of Food commonly consumed in the Netherlands. 1. Fruits, vegetables, staplefoods and processedfoods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48: 1746-1751.*

Ayoub, S. S., Wood, E. G., Hassan, S. U., & Bolton, C. (2011). Cyclooxygenase expression and prostaglandin levels in central nervous system tissues during the course of chronic relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). *Inflammation Research, 60, 919-928.*

B

- Baba Ahmed,A., Keb,T., (2023).** Faculty of Science and Technology, Department of Process Engineering, University of Relizane, Relizane, Algeria, Faculty of sciences, International Journal Of Circuits, Systems And Signal Processing Phytochemical Screening and evaluation of Heavy metals in a medicinal plant Marrubium vulgare L , Volume 17, 2023,pp 107-111.
- Bahorun, T. (1997).** Substances naturelles actives, la flore mauricienne, une source d’approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research, ConseilMauritus, Amas. Labat M. (2001). Simple phenolic content in olive oilresidues as a function of extraction systems. Food Chemistry.
- Balentine, C. W., Crandall, P. G., O’Bryan, C. A., Duong, D. Q., et 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, pp 413-421.
- Balme, E: Plantas medicinais, Ed (1982).** Hemus Ltda Brasil, pp.241-243
- Bangou, M. J. (2012).** Etude phytochimique et activités biologiques des tiges feuillées de Lantana camara L. et de Lippia chevalieri Moldenke: deux verbenaceae du Burkina Faso. Thèse de doctorat. Biochimie et Chimie des Substances Naturelles, Université de Ouagadougou, pp 25-42.
- Bennick, A. (2002).** Interaction of plant polyphenolswithsalivaryproteins. Crit. Rev. Oral Biol. Med. 13 (2), 184-196.
- Berrougui, H., Isabelle, M., Cherki, M., & Khalil, A. (2006).** Marrubium vulgare extract inhibits human-LDL oxidation and enhances HDL-mediated cholesterol efflux in THP-1 macrophage. *Life sciences*, 80(2), 105-112.
- Blois, M. S. (1958).** Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200.
- Boubekour, H. (2019).** Activités biologiques d’Helichrysum stoechas (Doctoral dissertation), p155.
- Boudjelal, A., Henchiri, C., Siracusa, L., Sari, M., & Ruberto, G. (2012).** Compositional analysis and in vivo anti-diabetic activity of wild Algerian Marrubium vulgare L. infusion. *Fitoterapia*, 83(2), 286-292.
- Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2013).** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de Satureja calamintha ssp. Nepeta (L.) Briq. *Nature & Technology*, (9), 14.

Boullard, B., (2001). Dictionnaire des plantes médicinales du monde_Croyances et Réalités. Ed. ESTEM, Paris, 636p.

Bouterfas, K., Mehdadi, Z., Benmansour, D., Khaled, MB, Bouterfas, M. et Latreche, A. (2014). Optimisation des conditions d'extraction de certains composés phénoliques des feuilles de marrube blanc (*Marrubium vulgare* L.). *Journal international de chimie organique* , 4 (05), 292.

Bouterfas, K., Mehdadi, Z., Elaoufi, M. M., Latreche, A., & Benchiha, W. (2016, November). Antioxidant activity and total phenolic and flavonoids content variations of leaves extracts of white Horehound (*Marrubium vulgare* Linné) from three geographical origins. In *Annales pharmaceutiques francaises* (Vol. 74, No. 6, pp. 453-462). Elsevier Masson.

Bouterfas, K., Mehdadi, Z., Latrèche, A., & Cherifi, K. (2013). Autoécologie du Marrube blanc (*Marrubium vulgare* L.) et caractérisation de la biodiversité végétale dans le Djebel de Tessala (Algérie nord-occidentale). *ecologia mediterranea*, 39(2), 39-57.

Bruneton J. (2009). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 4ème édition Tec & doc, p.567-592, ISBN: 978-2-7430-1188-8.

Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes Médicinales. 3 èmeédition, Techniques & Documentation, Paris.

Bruyne T., Pieters L., Deelstra H. Et Vlietink A. (1999). Condensedvegetabletannins :Biodiversity in structure and biologicalactivities. *BiochemicalSystematic and Ecology*. 27:445-459. O'Connell J.E., Fox P.F. (2001). Signification and applications of phenolic compounds in the production and quality of milkdairyproducts:areview. *International Diary Journal*. 11(3): 103-120.

C

Cantino PD, Harley RM, Wagstaff SJ. Genera of Labiatae: Status and classification (1992). In: Harley RM, Reynolds T, editors. *Advances in Labiate Science*. London, UK: Kew, Royal Botanic Gardens; p. 511-22.

Chakou, F. Z., Boual, Z., Hadj, M. D. O. E., Belkhalifa, H., Bachari, K., El Alaoui-Talibi, Z., ... & Michaud, P. (2021). Pharmacological investigations in traditional utilization of *Alhagi maurorum* Medik. in saharan Algeria: In vitro study of anti-inflammatory and antihyperglycemic activities of water-soluble polysaccharides extracted from the seeds. *Plants*, 10(12), 2658.

Charles, N., Serhan, Peter, A. Ward and Derek W Gilroy., (2010). *Fundamentals of Inflammation*.Cambridge University Press, 2-3.

Chira K., Such J., Saucier C., Teissèdre L. (2008). Les polyphénols du raisin. Ed :Springer. 6 :75-82.

Cohen, Y. (1986). Abrégé de Pharmacologie. Masson, Paris, p 440.

Crosier, K., Grant, I., & Gilmore, C. (2003). Account planning in Scottish advertising agencies: a discipline in transition. *Journal of Marketing Communications*, 9(1), 1-15.

Crozier A. (2003). Classification and biosynthesis of secondary plant products: an overview. In *Plants' Diet and Health*". Ed. Goldberg. pp: 27- 48.

Crozier, K. B., Sundaramurthy, A., Kino, G. S., & Quate, C. F. (2003). Optical antennas: Resonators for local field enhancement. *Journal of applied physics*, 94(7), 4632-4642.

D

Dacosta Y. (2003). Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris. 317p. (cited in DjemaiZoueglache S, 2008).

De Souza, MM, De Jesus, RAP, Cechinel-Filho, V. et Schlemper, V. (1998). Profil analgésique de l'extrait hydroalcoolique obtenu à partir de *Marrubium vulgare*. *Phytomédecine* , 5 (2), 103-107.

Delattre, J., Beaudoux, J. L., Bonnefont-Rousselot, D. (2005). Radicaux libres et stress oxydant, aspects biologiques et pathologiques. Première édition. Ed. Tec et Doc, Lavoisier, Paris, p 547

Diallo, D., Martson, A., Terreaux, C., Touré, Y., Smestad-Paulsen, B., et Hostettmann, K. (2001). Screening of Malian medicinal plants for antifungal, larvicidal, molluscicidal, antioxidant and radical scavenging activities. *Phytotherapy research*, 15, pp 401-406.

E

Edeas M. (2007). Les polyphénols et les polyphénols de thé. *Phytothérapie* 5(5):264-270.

El Bardai, S., Lyoussi, B., Wibo, M., & Morel, N. (2004). Comparative study of the antihypertensive activity of *Marrubium vulgare* and of the dihydropyridine calcium antagonist amlodipine in spontaneously hypertensive rat. *Clinical and experimental hypertension*, 26(6), 465-474.

Elberry, AA, Harraz, FM, Ghareib, SA, Gabr, SA, Nagy, AA et Abdel-Sattar, E. (2015). L'extrait méthanolique de *Marrubium vulgare* améliore l'hyperglycémie et la dyslipidémie chez les rats diabétiques induits par la streptozotocine. *Journal international du diabète sucré* , 3 (1), 37-44.

F

Fadili, K., Zerkani, H., Smail Amalich, S., & Zair, T. (2017). Phytochemical study and evaluation of antioxidant activity of leaves and fruits of *Capparis spinosa* L. *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*, 5(2), 108-118.

Fayyad, AGS, Ibrahim, N. et Yaakob, *WA Journal malaisien de microbiologie*.

Ferradji, A. (2018). Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des baies de *pistacia lentiscus*. Université Ferhat Abbas–Setif, p 90.

Fischedick, J. T., Standiford, M., Johnson, D. A., De Vos, R. C., Todorović, S., Banjanac, T., ... & Johnson, J. A. (2012). Activation of antioxidant response element in mouse primary cortical cultures with sesquiterpene lactones isolated from *Tanacetum parthenium*. *Planta medica*, 1725-1730.

G

Gabor M., Cody V., Middleton E. J., Harborne J. B., Beretz A., Liss A. R.; (1988). *Plants Flavonoids In Biology And Medecine* li. Biochemical, Cellular AndMedecinalproperlies, New York, 1-15.

Garcia-Ruiz, A., Bartolomé, B., Martinez-Rodriguez, A. J., Pueyo, E., Martin-Alvarez, P. J., et Moreno-Arribas, M. V. (2008). Potential of phenolic compounds for controlling lactic acid bacteria growth in wine. *Food Control*, 19, pp 835–841.

George, E. S., Marshall, S., Mayr, H. L., Trakman, G. L., Tatucu-Babet, O. A., Lassemillante, A. C. M., ... & Marx, W. (2019). The effect of high-polyphenol extra virgin olive oil on cardiovascular risk factors: A systematic review and meta-analysis. *Critical reviews in food science and nutrition*, 59(17), 2772-2795.

Ghedadba, L. Hambaba, M.C., Abercane, H. Bousselfela, S.M. Oueld-Mokhtal(2015). polyphenols totaux, activités antioxydante et antimicrobioenne des extraits des feuilles de *Marrubium dserti* de Noe. *Pharmacognosie*. 13, 118- 123.

Ghedadba, N., Ayachi, A., & Aberkane, M. C. (2017). Evaluation of antibacterial and haemostatic activities of organic extracts of. *Cardopatum corymbosum*, 3604-3610.

Ghedadba, N., Bousselfela, H., Hambaba, L., Benbia, S., & Mouloud, Y. (2014). Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuries de *Marrubium vulgare* L. *Phytothérapie*, 12(1), 15-24.

Gilg E, Brandt W, Schurhoff PN. Lehrbuch der Pharmakognosie. 4th ed. Berlin: Springer Verlag; 1927. p. 371.

Guignard, J.L. (1996). Biochimie végétale. Lavoisier, Paris. pp 175-192.

Guignard, J.L. (2000). Biochimie végétale. 2^{ème} édition; Paris. pp 171-174.

H

Han, X.H., Hong S.S., Hwang J.S., Lee M.K., Hwang B.Y., Ro J.S. (2007). Monoamine oxidaseinhibitory components from *Cayratia japonica*. Archives Pharmacal Research. 30: 07-13.

Harborne, A. J. (1998). Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis. springer science & business media.

Harborne, Jb (1980). In Secondary plant products. Encyclopedia of plant physiology. Bell EA, Charlwood BV, Eds.; Springer-Verlag: BerlinHeidelberg, 8: 329-402.

Heller, R., Esnault, R., et Delance, C. (1998). physiologie végétale 1-nutrition 6^{ème} édition. Dunod. Paris, Pp 297-298.

Hendawy, SF, El-Din AA, Aziz EE, Omer EA (2010). Productivity and oil quality of *Thymus vulgaris* L .under organic fertilization conditions. Ozean J Appl Sci;3:203-16.

Hennebelle, T. (2006). Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de Lamiales productrices d'antioxydants : *Marrubium peregrinum*, *Ballota larendana*, *Ballota pseudodictamnus* (Lamiacées) et *Lippia alba* (Verbénacées). Thèse de doctorat. Chimie Organique et Macromoléculaire. Université de Lille, pp 37-114.

Huang, G., Jiang, J., et Dai, D. (2008). Antioxidative and antibacterial activity of the methanol extract of *Artemisia anomala*. African Journal of Biotechnol, 7 (9), pp 1335-1338.

J

Judd, W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A., Steven P. (2002). Botanique systématique: Une perspective phylogénétique. 1^{ère} Ed : Paris et Bruxelles. pp. 369-384.

Jürgen, R., Paul, S., Ulrike, S., et Reinhard, S. (2009). Essential oils of aromatic plants with antibacterial, antifungal, antiviral and cytotoxic properties - an Overview. Forsch Komplementmed, 16, pp 79–90.

K

Kadri, A., Zarai, Z., Békir, A., Gharsallah, N., Damak, M., & Gdoura, R. (2011). Chemical composition and antioxidant activity of *Marrubium vulgare* L. essential oil from Tunisia. *African journal of biotechnology*, 10(19), 3908-3914.

Kadri, A., Zarai, Z., Békir, A., Gharsallah, N., Damak, M., et Gdoura, R. (2011). Chemical composition and antioxidant activity of *Marrubium vulgare* L. essential oil from Tunisia. *African Journal of Biotechnology*, 10(19), pp 3908-3914.

Kamra, D.N., Agarwal N., Chaudhary L.C. Inhibition of ruminal methane production by tropical plants containing secondary compounds. *Int. Congr. Ser.* 2006; 1293 : 156-163.

Karagözler, A. A., Erdağ B., Emek, Y. Ç., & Uygun D. A. 2008- Antioxidant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastata*. *Food Chemistry*, 111(2), 400-407

Karryev, M. O., Bairyev, C. B., & Ataeva, A. S. (1976). Some therapeutic properties and phytochemistry of common horehound. *Izv Akad Nauk Turkm SSR Ser Biol Nauk*, 3, 86-8

Kempf, I et Zeitouni, S. (2012). Coût biologique de la résistance aux antibiotiques: analyse et conséquences. *Pathologie Biologie*, 60, pp 9-14.

Khaje, H., Bazi, S., Amini-Borojeni, N., Niazi, A. A., Bokaeian, M., Saboori, E., & Saeidi, S. (2014). Phytochemical Analysis, Antibacterial Activity of *Marrubium vulgare* L against *Staphylococcus aureus* in vitro. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 16(10), 60-64.

Khanbabae, K Et Ree, T.R. (2001). Tannins: Classification and Definition. *Journal of Royal Society of Chemistry*. 18: 641-649. (Cited in Djemai Zoueglache S, 2008).

Khanbabae K., Ree T.R., (2001)-Tannins: Classification and Definition. *Journal of Royal 70/ Packer L.* (2001). *Flavonoids and other polyphenols*. Ed Academic Press, California, p483.

Knoss W (1994). Furanic labdane diterpenes in differentiated and undifferentiated cultures of *Marrubium vulgare* and *Leonurus cardiac*. *Plant Physiol Biochem* ;32:785-9.

Košir I-J., Lapornik B., Andrenšek S., Wondra A., Vrhovšek U Et Kidric J. (2004). Identification of anthocyanins in wines by liquid chromatography, liquid chromatography - mass spectrometry and nuclear magnetic resonance. *Analytica Chimica Acta*. 513: 277-282.

Krache, I. (2018). Effets anti-inflammatoire antioxydants et toxiques de l'extrait de *teucrium polium* L (Doctoral dissertation), p 133.

L

Leinmüller E., Steingass H., Menke K.H., (1991) .Tannins in ruminant feedstuffs. Biannual Collection of Recent German Contributions Concerning Development through Animal Research 33, 9 -62.

Li, H.B., Cheng, K.W., Wong, C.C., Fan, K.W., Chen, F., Tian, Y. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fraction of selected microalgae. Food Chemistry, 102: 771-776.

Lin, C.-M., Chen C.-S., Chen C.-T., Liang Y.-C., Lin J.-K. (2002).Molecular modeling of flavonoid that inhibits xanthine oxidase. Biochem. Biophys. Res. Commun., 294, 167-172.

Linden, G., & Lorient, D. (1994). Biochimie agro-industrielle. Masson.

Lutge U., Kluge M., Bauer G., (2002). Botanique 3ème Ed : Technique et documentation. Lavoisier .Paris. 211p.

M

Macheix, J. J., Fleuriet A., Et Jay-Allemand C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR Presses polytechniques.

Macheix Jj, (2006). Les composés phénoliques des végétaux. PPTUR. ISBN2 -88074. Lausanne, Suisse, 625-626p.

Makkar. H.P.S. (2003). Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds, Small Ruminant Research, (49) : 241-25.

Mangan, J. L. (1988). Nutritional effects of tannins in animal feeds. Nutr. Res. Rev. Vol. (1) : 209-231.

Matkowski, A. (2008). Plant in vitro culture for the production of antioxidants—a review. *Biotechnology advances*, 26(6), 548-560.

Mcsweeney, C.S., Palmer B., Mcneill D.M. And Krause D.O., (2001). Microbial interaction with tannins: nutritional consequences for ruminants. Animal Feed Science and Technology. Vol. (91): 83-93.

Mehal, S. (2018). *Etude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne de la plante Marrubium Vulgaire L* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

Meyre-Silva C, Cechinel-Filho V 2010. A review of the chemical and pharmacological aspects of

the genus marrubium. *Curr Pharm*; 16:3503-18.

Meyre-Silva, C., & Cechinel-Filho, V. (2010). Une revue des aspects chimiques et pharmacologiques du genre marrubium. *Conception pharmaceutique actuelle* , 16 (31), 3503-3518.

Migdal, C., et Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Médecine sciences*, 27, pp 405-412.

Moreira, M. R., Ponce, A. G., Del Valle, C. E., et Roura, S. I. (2005). Inhibitory parameters of essential oils to reduce a food borne pathogen. *LWT*, 38, pp 565-570.

Moulin, M. (1998). Pharmacologie. Masson, Paris, p 708.

N

Naguib, NY. (2011). Organic versus chemical fertilization of medicinal plants: A concise review of researches. *Adv Environ Biol*;5:394-400.

National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) (2001) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: eleventh informational supplement, M100- S11, Wayne, PA, USA.

Nawwar, MA, El-Mousallamy, AM, Barakat, HH, Buddrus, J. et Linscheid, M. (1989). Lactates flavonoïdes des feuilles de *Marrubium vulgare*. *Phytochimie* , 28 (11), 3201-3206.

Newal, C. A.; Anderson, L. A.; Phillipson, J. D.. Herbal medicines (1996). A guide for health-care professionals. The pharmaceutical press, London, U.K., pp. 179.

O

O'connell J.E., Fox P.F. (2001). Signification and applications of phénolic compounds in the production and quality of milkdairyproducts:areview. *International Dairy Journal*. 11(3): 103- 120.

Orhan, I. E., Belhattab, R., Şenol, F. S., Gülpinar, A. R., Hoşbaş, S., & Kartal, M. U. R. A. T. (2010). Profiling of cholinesterase inhibitory and antioxidant activities of *Artemisia absinthium*, *A. herba-alba*, *A. fragrans*, *Marrubium vulgare*, *M. astranicum*, *Origanum vulgare* subsp. *glandulosum* and essential oil analysis of two *Artemisia* species. *Industrial Crops and Products*, 32(3), 566-571.

Ouédraogo N., Lompo, M., Sawadogo, R.W., Tibiri, A., Hay A. E., Koudou, J., Dijoux, M.G., Guissou, I.P. (2012). Étude des activités anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique des décoctés aqueux des feuilles et des racines de *Pterocarpus erinaceus* Poir. (Fabaceae). *Phytothérapie*, 10:286-292.

Ouriagli, T., Amnay, A., Raoui, S. M., Errachidi, F., Chahdi, F. O., & Chabir, R. (2023). Alkaloids from *Marrubium vulgare* L.: Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities as a Function of Extraction Methods. *Tropical Journal of Natural Product Research*, 7(7).

Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reactionAntioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*. 44, 307–315.

P

Paris M., HurabielleM.; (1981). Abrégé de matière médicale «Pharmacognosie». Tome 1, Generalities, Morphologies. Ed. Masson, Paris. pp : 256-266.

Pavela, R. (2004). Activité insecticide de certaines plantes médicinales. *Fitoterapia* , 75 (7-8), 745-749.

Ponce, A. G., Fritz, R., Del Valle, C., & Roura, S. I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT-Food Science and Technology*, 36(7), 679-684.

Prapasiri, P., Naorat, S., ... & Maloney, S. A. (2011). Incidence of bacteremic melioidosis in eastern and northeastern Thailand. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 85(1), 117.

Pukalskas, A., Venskutonis, P. R., Salido, S., de Waard, P., & van Beek, T. A. (2012). Isolation, identification and activity of natural antioxidants from horehound (*Marrubium vulgare* L.) cultivated in Lithuania. *Food chemistry*, 130(3), 695-701.

Q

Quezel P., Santa, S. (1963). La nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II, Ed : CNRS. Paris. 360-361 p.

R

Raaman, N. (2006). Phytochemical techniques New India Publishing agency, New Delhi, India, pp19-24. Methods.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.

Rhoades, C. J. (2013). Burnout in Catholic clergy: A predictive model using psychological and spiritual variables. *Psychology of Religion and Spirituality*, 5(4), 335.

Richter, R. (1993). Métabolisme des végétaux : Physiologie et Biochimie 5 ème éd, Presse polytechnique et universitaires romandes, Lausanne, France, 526p.

Rolland, Y. (2004). Actualités des lipides en cosmétique : Antioxydants naturels végétaux. OCL, 11, pp 419 – 424.

Ross, K. A., Beta, T., & Arntfield, S. D. (2009). A comparative study on the phenolic acids identified and quantified in dry beans using HPLC as affected by different extraction and hydrolysis methods. Food Chemistry, 113(1), 336-344.

S

Sahpaz, S., Garbacki, N., Tits, M. et Bailleul, F. (2002). Isolement et activité pharmacologique des esters phénylpropanoïdes de Marrubium vulgare. *Journal d'ethnopharmacologie* , 79 (3), 389-392.

Sahpaz, S., Hennebelle, T. et Bailleul, F. (2002). Marruboside, un nouveau glycoside phényléthanoïde de Marrubium vulgare L. *Lettres de produits naturels* , 16 (3), 195-199.

Sánchez- Moreno, C., Larrauri, J. A., & Saura- Calixto, F. (1998). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. Journal of the Science of Food and Agriculture, 76(2), 270-276.

Sayadi S. (2008). Effect of storage on refined and husk olive oils composition: stabilization by addition of natural antioxidant from Chemlali olive leaves. Food Chemistry. 108: 253–262. Lugasi A., Hovari J., Sagik., And Biro L. (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *J. Acta biologica. szegediensis*. 47 (1-4):119-125.

Scalbert A., Williamson G., (2000)-Dietary intake and bioavailability of polyphenols. Journal of Nutrition. Vol. (130): 2073-2085.

Sies, H., Berndt, G., et Jones, D., P. (2017). Oxidative stress. *Annu. Rev. Biochem. istry*, 86:25.1–25.34.

Skerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hras, A., Simonic, M. And Knez, Z., (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. Food. chem. 89: 191-198.

Steinmetz EF. Materia Medica Vegetabilis. Vol. 2. Amsterdam: Herba Marrubii Albi; 1954. p. 291-2.

Stulzer, H. K., Tagliari, M. P., Zampirolo, J. A., Cechinel-Filho, V., & Schlemper, V. (2006). Antioedematogenic effect of marrubiin obtained from Marrubium vulgare. *Journal of ethnopharmacology*, 108(3), 379-384.

T

Takebayashi, J., Chen, J., & Tai, A. (2010). A method for evaluation of antioxidant activity based on inhibition of free radical-induced erythrocyte hemolysis. *Advanced protocols in oxidative stress II*, 287-296.

Trease, E., & Evans, W. C. (1987). *Pharmacognosie*. Billiare Tindall: London, UK. 52
Turki, Z., El-Shayeb, F., & Abozeid, A. (2013). Seed morphology of some *Trigonella L.* species (Fabaceae) and its taxonomic significance. *International Journal of Science and Research*, 3(12), 940-948.

V

Vermerris, W., & Nicholson, R. (2007). *Phenolic Compound Biochemistry*. Ed, Springer : U.S.A. 288p.

W

Williams, S. (1984). *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. Association of Official Analytical Chemists, Inc.

Wojdyło, A., Oszmiański, J., & Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food chemistry*, 105(3), 940-949.

Wojdyło, A., Oszmiański, J., & Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food chemistry*, 105(3), 940-949.

Wolski, T., Baj, T., Matosiuk, D., Kwiatkowski, S., & Ziewiec, A. (2007). Szanta zwyczajna (*Marrubium vulgare L.*)—roślina lecznicza i miododajna. *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska sectio DD Medicina Veterinaria*, 62(2), 80-93.

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 chemistry*, 97(4), 705-711.

World Health Organization, WHO. *Traditional Medicine, Fact Sheet Number. 134*; 2008.

Wren RC. *Potter's Cyclopaedia of Botanical Drugs and Preparations*. Artillary, London, UK: Potter & Clarke Ltd.; 1941.

Xue, Z., & Yang, B. (2016). Phenylethanoid glycosides: Research advances in their phytochemistry, activity and pharmacokinetics. *Molecules*, 21(8), 991.

Y

Yougbaré-Ziébrou, M. N., Ouédraogo, N., Lompo, M., Bationo, H., Yaro, B., Gnoula, C., & Guissou, I. P. (2016). Activités anti-inflammatoire, analgésique et antioxydante de l'extrait aqueux des tiges feuillées de *Sabasen egalensis* Pichon (Apocynaceae). *Phytothérapie*, 14(4), 213-219.

Yousefi, K., Fathiazad, F., Soraya, H., Rameshrad, M., Maleki-Dizaji, N. et Garjani, A. (2014). L'extrait méthanolique de *Marrubium vulgare* L. inhibe la réponse inflammatoire et prévient la fibrose des cardiomyocytes dans l'infarctus aigu du myocarde induit par l'isoprotérénol chez le rat. *BioImpacts : BI*, 4 (1), 21.

Yousefi, K., Fathiazad, F., Soraya, H., Rameshrad, M., Maleki-Dizaji, N. et Garjani, A. (2014). L'extrait méthanolique de *Marrubium vulgare* L. inhibe la réponse inflammatoire et prévient la fibrose des cardiomyocytes dans l'infarctus aigu du myocarde induit par l'isoprotérénol chez le rat. *BioImpacts : BI*, 4 (1), 21.

Z

Zaabat, N. Darbour¹, C. Bayet¹, S. Michalet, A. Doléans-Jordheim, L. ChekirGhedira, S. Akkal, M.-G. Dijoux-Franca.(2010) : Étude préliminaire de *Marrubium deserti* de Noé, une Lamiaceae endémique algérienne. 1UMR 5557 CNRS-UCBL écologie microbienne, CESN, ISPB, université de Lyon, F-69373 Lyon, France.

Zaabat, N., Darbour, N., Bayet, C., Michalet, S., Doléans-Jordhem, A., Chelr-Ghedlra, L., ... & Dijoux-Franca, M. G. (2010). Étude préliminaire de *Marrubium deserti* de Noé, une Lamiaceae. (d'Europe":<http://www.after-plastie.com/fr/abc-sante/M/697-marrube-blanc>).

A decorative orange scroll graphic with rounded corners and a vertical strip on the left side, resembling a rolled-up document. The word "Annexes" is centered on the scroll.

Annexes

Annexe 1 : Le matériel non biologique utilisé dans l'expérimentation

Verreries	Réactifs
-Acide chlorhydrique (HCl)	- Bêchers
-Acétate de sodium (C ₂ H ₃ NaO ₂)	- creusé
-Coupeau de magnésium	- Burette graduée
-Acide sulfurique (H ₂ so ₄)	- Compte-gouttes
-Propanol (C ₃ H ₈ O)	- Embouts
-acide sulfurique (H ₂ SO ₄)	- Entonnoir
-Chloroforme (CHCl ₃)	- Eprouvette
-Ammoniaque (NH ₄ OH)	- Erlenmeyer
-Éthanol absolu	- Fioles
-ABTS	- Flacons (250ml)
-Persulfate de potassium (K ₂ so ₈)	- Flacons en verre ambré
-Dihydrogénophosphate de sodium (Na ₂ h ₂ po ₄)	- Papier aluminium
-Hydrogénophosphate de -----	- Papier filtre (0.45µm)
-sodium (Na ₂ h ₂ po ₄)	- Pipette
-eau distillait	- Pipette graduée
-Eau physiologique	- Porte tube à essai
-Glucophage	- Portoirs
-Glucose	- cuvettes
-Diclofenac	- Spatule
-Carragénine	- Tubes à essai
-Acide nitrique (HNO ₃)	- Tubes secs à bouchons
-Acide ascorbique. (C ₆ H ₈ O ₆)	- Verres de montre
-Acide gallique (C ₇ H ₆ O ₅)	
-Carbonate de sodium (Na ₂ CO ₃)	
-Folin- Ciocalteu	
-Ethanol.	
-Méthanol.	
-Solution de DPPH	
-Tampon phosphate	
-Trichlorure de fer (FeCl ₃)	
-BSA.	

Annexe 2 : Appareillage



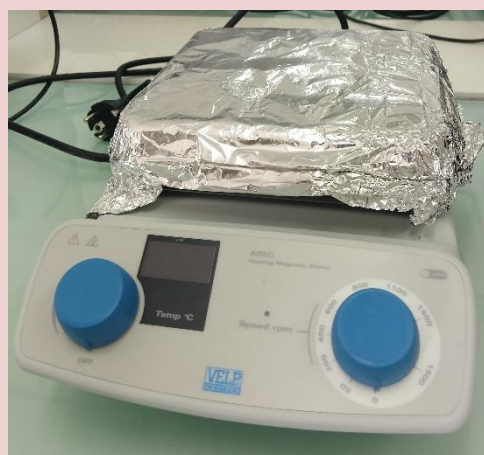
**Micropipette
DWB 100-1000UL**



**Balance de précision
SWISSMEDE**



**Ph/orp metre
HANNA instruments**



**Agitateure
VELP scientifica**



**Agitateur
HEIDOLPH**



**Rotavapore
STUART**



**Spectrophotometre
OPTIZEN**



**Bain Marie Agitation
MEMMENT**



**Centrifugation
HERMLE**



**Etuve
MEMMENT**



**Foure a moufle
WISETHERM**



**Hotte chimique
SEAT**

Annexe 03 : Préparation du tampon phosphate salin PH 6.8

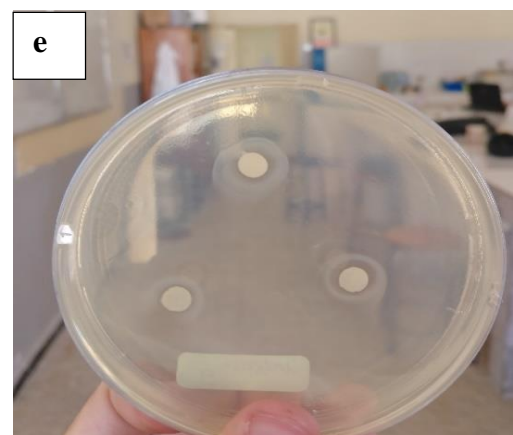
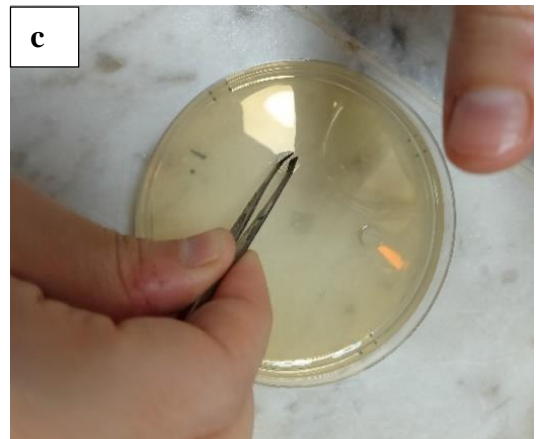
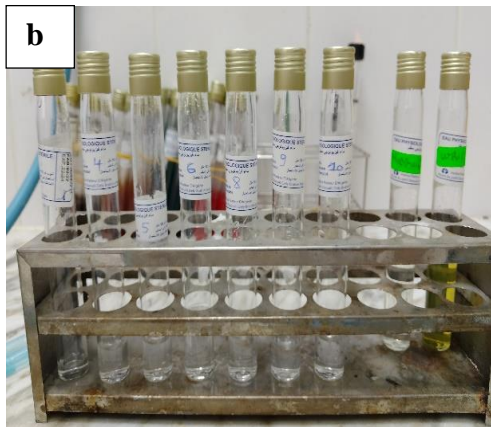
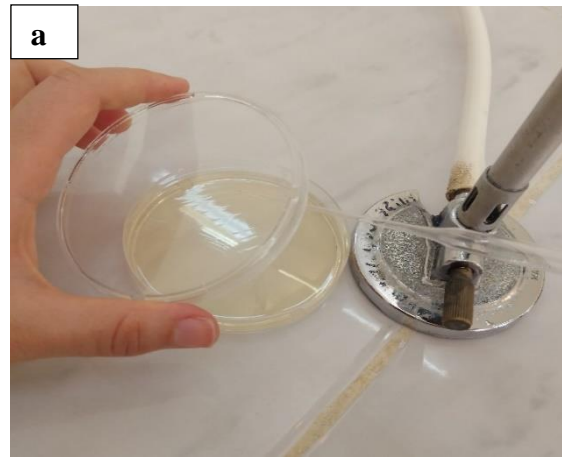
Constituants	Quantités
NaCl	4g
KCl	0.1g
Kh ₂ PO ₄	0.12g
Na ₂ HPO ₄	0.72g
Eau distillée	500ml

Annexe 04 : Antibiogramme

Antibiogramme

souche	erythromicine	rifamicine	ciproflaxacine	chloraphenicol
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	12	15	35	20
E.coli (infection)	20		36	
4	15		36	
5	25	15	40	34
6	35	35	30	15
7	13	30	40	30
8	20	12	34	30
9	32			37
10	30		40	26

Annexe 5.



Récapitulatif des étapes de l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de *M. vulgare*

a. Ensemencement ; b. L'inoculum ; c. Inhibition ; d. Incubation ; e. Dépôt des disque

من بين النباتات الطبية التي تم تحديدها بين السكان والتي تستفيد من سمعة علاجية جيدة والتي يجب بالتالي إخضاعها لاختبارات تحقيقات فك التشفير الكيميائية والبيولوجية الجادة، *Marrubium vulgare*. من أجل تقديم دليل على سلامته وجعل استخدامه أكثر كفاءة، تم إجراء دراسة كيميائية نباتية، والأنشطة البيولوجية المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات والمضادة للبكتيريا. ركزت الدراسة على الجزء الجوي من النبات. يتم استخلاص البوليفينول باستخدام الإيثانول مع حساب المحصول. يتم تحديد نشاط مضادات الأكسدة في المختبر من خلال الجذور الحرة DPPH و ABTS و FRAP، والنشاط المضاد للالتهابات BSA والنشاط المضاد للبكتيريا. أبرزت الدراسة الكيميائية النباتية وجود العفص الكلي، والعفص الكاتيكي، والعفص الغالي، والفلافونويدات، والأنثوسيانين، والمنشطات، والسابونوسيدات، والأريدويدات، والمسيلاج، والكومارين، والبروتينات، والجلوكوزيدات، وغياب الأنثوسيانين والكينونات والقلويدات والنشا. ويشير تقييم محصول الاستخراج إلى قيمة 6%. تظهر الاختبارات الفيزيائية والكيميائية نسبة عالية من الماء (99±0.01%) ومحتوى رماد 22±0.07%. كشف تحديد إجمالي الفينولات بطريقة Folin-Ciocalteu عن مستوى 0.14±15,351 ملجم EAG/g. أثبت التقييم الكمي للنشاط المضاد للجذور أن المستخلص الإيثانولي لـ *Marrubium vulgare* له نشاط مضاد للأكسدة متوسط مقارنة بـ DPPH ($IC_{50} = 17.16 \pm 0.05$ ملجم/مل)؛ والأكثر أهمية بالنسبة لـ ABTS ($IC_{50} = 0.64 \pm 0.08$ ملجم / مل) و FRAP ($IC_{50} = 0.121 \pm 0.04$ ملجم / مل). يُظهر نشاطه المضاد للالتهابات BSA قدرة أقل ($IC_{50} = 4 \pm 0.07$ ملجم / مل) من تلك الخاصة بالديكلوفيناك القياسي المستخدم ($IC_{50} = 0.941 \pm 0.04$ ملجم / مل). أظهر النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلص الإيثانولي لنبات *M. vulgare* فعاليته ضد سلالة *Sphingomonas paucimobilis* التي يبلغ قطرها 15.3 ملم. يتمتع نبات *Marrubium vulgare* بالعديد من المزايا العلاجية التي تجعله مصدرًا لمكونات نشطة متنوعة للغاية يمكن استخدامها في المجال الصيدلاني والتي يجب استكشافها. الكلمات المفتاحية: *Marrubium vulgare* L، المستخلص الإيثانولي، DPPH، ABTS، FRAP، نشاط مضاد للالتهابات BSA، نشاط مضاد للجراثيم.

SUMMARY

Among the medicinal plants identified among the populations and benefiting from a good therapeutic reputation and which therefore must be put to the test of serious chemical and biological decryption investigations, *Marrubium vulgare*. In order to provide evidence of its safety and to make its use more efficient, a phytochemical study was carried out, the antioxidant, anti-inflammatory and antibacterial biological activities.

The study focused on the aerial part of the plant. The extraction of polyphenols is carried out using ethanol with the calculation of the yield. In vitro antioxidant activity is determined by the free radical DPPH and ABTS and FRAP, BSA anti-inflammatory activity and antibacterial activity.

The phytochemical study highlighted the presence of total tannins, Catechic tannins, gallic tannins, flavonoids, anthocyanins, steroids, saponosides, irridoids, Mucilag, coumarins, proteins, glucosides, and the absence of Leuco anthocyanins, quinones and alkaloids and starch. The evaluation of the extraction yield indicates a value of 6%. Physicochemical tests show a high water content (99±0.01%) and an ash content of 22±0.07%. The determination of total phenols by the Folin-Ciocalteu method revealed a level of 15,351±0.14 mg EAG/g.

The evaluation of the extraction yield indicates a value of 6%. Physicochemical tests show a high water content (99±0.01%) and an ash content of 22±0.07%. The determination of total phenols by the Folin-Ciocalteu method revealed a level of 15,351±0.14 mg EAG/g. The quantitative evaluation of the anti-radical activity proved that the ethanolic extract of *Marrubium vulgare* L. Has an average antioxidant activity compared to DPPH ($IC_{50} = 17.16 \pm 0.05$ mg/ml); and more significant for ABTS ($IC_{50} = 0.64 \pm 0.08$ mg/ml) and FRAP ($IC_{50} = 0.121 \pm 0.04$ mg/ml). Its BSA anti-inflammatory activity shows a lower capacity ($IC_{50} = 4 \pm 0.07$ mg/ml) than that of the standard used diclofenac ($IC_{50} = 0.941 \pm 0.04$ mg/ml). The antibacterial activity of the ethanolic extract of *M. vulgare* showed effectiveness against the *Sphingomonas paucimobilis* strain with a diameter of 15.3 mm. The *Marrubium vulgare* L. plant has several therapeutic virtues which make it a source of very varied active ingredients usable in the pharmaceutical field which must be explored. Key words: *Marrubium vulgare* L, ethanolic extract, DPPH, ABTS, FRAP, BSA anti-inflammatory activity, antibacterial activity.