

UNIVERSITE BLIDA 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Biotechnologies

MEMOIRE DE MASTER

Spécialité : Système de Production Agro-écologique

**ETUDE DE QUELQUES ACTIVITES BIOLOGIQUES
DE (*MARRUBIUM VULGARE L.*) RECOLTE DE LA
REGION DE TAMANRASSET.**

Par

ZOUAOUI Abdelkarim

SADALLAH Mohamed Said

Devant le jury composé de :

F. BOUCHENAK

Maitre de conférence A,U. Blida1

Présidente

Y. MOUASS

Maitre assistante A, U. Blida 1

Examinatrice

F.Z. BENREBIHA

Professeur, U. Blida 1

Promotrice

A. MELIANI

Attachée de recherche, U. Blida 1

Co-Promotrice

Blida,08 Septembre 2020.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciement

Nous remercions, du plus profond de notre cœur, Dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et les moyens d'achever ce travail.

Nous adressons nos remerciements à :

Notre promotrice Madame BENREBIHA F.Z., professeur à l'U. Blida 1, de nous avoir proposé ce sujet de recherche, pour sa présence, son dévouement, sa rigueur, ses précieux conseils, ses encouragements et sa persévérance dans le suivi.

Notre Co-promotrice Mademoiselle MELIANI A., attachée de recherche à l'U. Blida 1, pour tout l'effort fourni, sa patience, ses orientations et ses conseils judicieux qui nous en éclairé et qui n'a pas hésité de nous venir humblement en aide, et de ne nous avoir jamais privé de son savoir.

Madame MOUASS Y., maitre assistante B, U. Blida 1, d'avoir accepté d'évaluer ce travail, malgré ses nombreuses occupations. Merci pour tout l'intérêt que vous avez accordé à ce travail.

Madame BOUCHENAK F., maitre de conférence A, U. Blida 1, qui a accepté d'évaluer ce travail et de présider mon jury de soutenance. Qu'elle trouve ici nos sincères remerciements.

Nous adressons nos remerciements à l'ensemble des techniciens de laboratoire d'amélioration des plantes de l'université de Blida 1, en particulier madame Karima.

Nos remerciements vont également à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Un grand merci à tous et à toutes.

Dédicace

A ceux qui m'ont donné la vie, la lumière de mes yeux " mes parents

ZOUAOUI Belkacem, NEMDIL Faiza qui m'ont entouré

de leur amour, leur soutien et leur affection et qui m'ont énormément aidé pour ma réussite, avec toute ma fidélité et tout mon amour pour vous, mes parents, je ne pourrai jamais égaler votre mérite et je prie

Dieu de me les protéger.

A mes très chers frères : Farouk, Sofiane ,Amine et Abderahmane qui n'ont cessé de m'encourager tout au long du projet.

A mes très chères belles sœurs et mes nièces.

A toute ma famille et à toute personne que j'aime et qui m'aime.

A tous mes ami(e)s, mon binôme Mohamed Said et mameilleure amie

Yasmine

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

ZOUAOUI Abdelkarim.

Dédicace

A Ceux qui sont les plus chères au monde, je dédie ce travail :

À mes parents Abdel Ouahab et SELLIDJ Hassiba, qu'ils trouvent ici ma plus profonde gratitude et tout mon amour pour leur soutien tout au long de mes études et leurs sacrifices sans limites.

A

Mes chères frères Oussama et Sofiane qui n'ont cessé de m'encourager tout au long du projet.

Ma sœur adorée.

Toute la famille SADALLAH et SELLIDJ.

Mes très cher amies Yasmine et Selma, ainsi mes camarades de promotion

Mon binôme Abdelkarim.

Tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de ce mémoire.

SADALLAH Mohamed Said.

Résumé

Le Sahara algérien est connu pour sa richesse naturelle, c'est une source potentielle de nouveaux médicaments d'origine végétale. *Marrubiumvulgare* L. ou marrube blanc est une espèce très répandue dans la flore d'Algérie qui est utilisée largement grâce à ses vertus thérapeutiques. De ce fait, nous nous sommes intéressés dans ce travail à l'étude de l'activité antibactérienne et antioxydante de l'extrait aqueux du marrube blanc. L'extrait des feuilles séchées du marrube blanc (*Marrubiumvulgare* L.) de la région de Tamanrasset a donné un rendement acceptable et peut être rentable à l'échelle industrielle. Il est de l'ordre de $23,18 \pm 0,10\%$. Le test phytochimique a montré que l'extrait aqueux est riche en flavonoïdes et tannins. L'activité antibactérienne a été étudiée vis-à-vis de quatre souches bactériennes : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* qui se sont toutes révélées sensibles à l'extrait aqueux étudié à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* qui s'est montrée résistante. Les résultats de l'activité antioxydante mesurée en utilisant le test de piégeage du radical diphénylpicrylhydrazyl (DPPH) montrent que l'extrait aqueux testé a une forte activité antioxydante, comparée à l'antioxydant de référence Vit C.

Mots clés : *Marrubiumvulgare* L., extrait aqueux, activité antibactérienne, activité antioxydante.

Abstract

The Algerian Sahara is known for its natural wealth, it is a potential source of new herbal medicines. *Marrubiumvulgare* L. or white horehound is a species very widespread in the flora of Algeria which is widely used for its therapeutic properties. Therefore, we were interested in this work to study the antibacterial and antioxidant activities of the aqueous extract of white horehound. The extract of the dried leaves of white horehound (*Marrubiumvulgare* L.) from the Tamanrasset has an acceptable yield and can be profitable on an industrial scale. It is of the order of $23.18 \pm 0.10\%$. The phytochemical test showed that the aqueous extract is rich in flavonoids and tannins. The antibacterial activity was studied against four bacterial strains: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis* which were all found sensitive to the aqueous extract studied with the exception of *Pseudomonas aeruginosa* which has been shown to be resistant. The results of the antioxidant activity measured using the diphenylpicrylhydrazyl radical scavenging test (DPPH) show that the aqueous extract tested has a strong antioxidant activity, compared to the reference antioxidant Vit C.

Keywords : *Marrubiumvulgare* L., aqueous extract, antibacterial activity, antioxidant activity.

المخلص

تشتهر الصحراء الجزائرية بثروتها الطبيعية، فهي مصدر محتمل للأدوية الجديدة من أصل نباتي. *Marrubiumvulgare L*. المريوة هي نوع واسع الانتشار في نباتات الجزائر وتستخدم على نطاق واسع بفضل مزاياها العلاجية. لذلك اهتمنا بهذا العمل لدراسة النشاط مضاد للبكتيريا ومضاد للأكسدة من المستخلص المائي من المريوة. مستخلص الأوراق المجففة من المريوة (*Marrubiumvulgare L*) من منطقة تمنراست له عائد مقبول ويمكن أن يكون مربحًا على نطاق صناعي. إنه من ترتيب $23.18 \pm 0.10\%$. أظهر الاختبار الكيميائي النباتي أن المستخلص المائي غني بالفلافونويد و التانين. تمت دراسة النشاط المضاد للبكتيريا ضد أربعة سلالات ميكروبية: الإشريكية القولونية، الزائفة الزنجارية ، المكورات العنقودية الذهبية ، والعصيات الرقيقة التي تم العثور عليها جميعًا حساسة للمستخلص المائي الذي تمت دراسته باستثناء *Pseudomonas aeruginosa* الذي ثبت أنه مقاوم. تُظهر نتائج نشاط مضادات الأكسدة التي تم قياسها باستخدام اختبار الكسح الجذري ثنائي الفينيلبيكريلهيدرازيل (DPPH) أن المستخلص المائي الذي تم اختياره له نشاط مضاد للأكسدة قوي ، مقارنةً بمضاد الأكسدة المرجعي فيتامين س.

الكلمات المفتاحية: *Marrubiumvulgare L* ، مستخلص مائي ، نشاط مضاد للجراثيم ، نشاط مضاد للأكسدة.

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

Figure 1.1 : *Marrubiumvulgare*.

Figure 1.2 : Squelette de base des flavonoïdes.

Figure 1.3 : Structure chimique des flavonols.

Figure 1.4 : Structures chimiques de certains flavan-3-ols.

Figure 1.5 : Structure chimique de quelques anthocyanidines courantes.

Figure 1.6 : Structure de l'acide gallique et ellagique.

Figure 1.7 : Structure chimique des tanins condensés.

Figure 2.1 : Localisation géographique de la zone d'étude wilaya de Tamanrasset.

Figure 2.2 : *Marrubiumvulgare*.

Figure 2.3: Réaction de réduction du DPPH•.

Figure 3.1 : Taux d'humidité des feuilles séchées du *Marrubiumvulgare*.

Figure 3.2 : Le rendement moyen en extrait aqueux du *Marrubiumvulgare*.

Figure 3.3: Pourcentage d'inhibition de DPPH par la Vit C.

Figure 3.4 : Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'extrait aqueux du *MarrubiumVulgare*.

Figure 3.5 : EC₅₀ de l'extrait aqueux du *Marrubiumvulgare* et la Vit C.

Tableau 1.1 : classification des composés phénoliques

Tableau 2.1 : Souches bactériennes testées.

Tableau 3.1 : Le test phytochimique du *Marrubiumvulgare*.

Tableau 3.2 : Inhibition du développement des souches bactériennes testées.

Table des matières

RESUME

REMERCIEMENTS

TABLES DES MATIERES

LISTE DES ILLUSTRATIONS GRAPHIQUES ET TABLEAUX

INTRODUCTION

CHAPITRE I : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Généralités sur les plantes médicinales	3
I.2. La famille des lamiacées	3
I.3. <i>Marrubium vulgare</i> L.	4
I.3.1. Origine et étymologie	4
I.3.2. Classification	4
I.3.3. Nom vernaculaire.....	4
I.3.4. Description botanique	5
I.3.5. Répartition géographique	5
I.3.6. Propriétés et utilisations	5
I.4. Les composés secondaires	6
I.5. Les polyphénols	6
I.5.1. Rôle des polyphénols	6
I.5.2. Classification	6
I.5.3. Biosynthese	8
I.6. Les flavonoïdes	8
I.6.1. Classification	8
I.7. Les tanins	10
I.7.1. Classification	11
I.8. Propriétés et utilisations des polyphénols	12
I.9. Méthodes d'extraction des composés phénoliques	13
I.9.1. La macération	13

I.9.2. Le soxhlet	14
-------------------------	----

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

II.1. Etude de la région.....	15
II.2. Matériel utilise	16
II.2.1. Matériel biologique.....	16
II.2.2. Matériel non-biologique.....	17
II.3. Méthodes d'études.....	17
II.3.1. Taux d'humidité	17
II.3.2. Préparation de l'extrait aqueux.....	18
II.3.3. Rendement	18
II.3.4. Tests phytochimiques.....	18
II.3.5. Activité antibactérienne.....	19
II.3.6. Activitéantioxydante.....	20
II.4. Analyses statistiques	22

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. Taux d'humidité	23
III.2. Préparation de l'extrait aqueux.....	24
III.3. Rendement	24
III.4. Tests phytochimiques.....	24
III.5. Activité antibactérienne.....	25
III.6. Activitéantioxydante.....	26

CONCLUSION

APPENDICE

- A. Matériel non biologique
- B. Etudes statistiques
- C. Liste des symboles et des abréviations

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

INTRODUCTION

Les relations entre les plantes et l'Homme existent depuis l'antiquité (**DIN et al., 2011**), elles ont été utilisées pour soulager les douleurs, guérir les maux et panser les blessures (**BENKHNIGUE et al., 2011**).

En effet les grandes civilisations chinoise, égyptienne, babylonienne, grecque et romaine ont eu recours aux plantes médicinales en raison de leurs propriétés thérapeutiques, cosmétiques, chimiques, diététiques, pharmaceutiques, agro-alimentaires et industrielles (**LAHSISSENE et al., 2009**). Malgré le progrès de la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde et surtout les pays en voie de développement (**TABUTI et al., 2003**).

L'Algérie, avec ses milliers d'hectares de forêt et de pâturage, regorge de plantes condimentaires et médicinales qui sont encore méconnues et exploitées de façon artisanale (**ABDELGUERFI & RAMDANE, 2003**). En effet, l'utilisation de ces plantes dans l'industrie cosmétique et pharmaceutique, ainsi que pour la production alimentaire, reste une perspective en Algérie (**REGUIEG, 2011**).

De plus, ces plantes constituent des ressources inépuisables de substances actives pour l'industrie pharmaceutique (**NGENE et al., 2015**). Il existe environ 500.000 espèces de plantes sur terre, dont 80.000 possèdent des propriétés médicinales (**BENKHNIGUE et al., 2011**). Ces plantes ont été utilisées depuis l'ancien âge pour traiter les diverses maladies infectieuses même avant de connaître l'origine microbienne de ces maladies (**SIJELMASSI, 2000**).

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

Pour notre part, notre choix s'est porté sur le Marrube blanc (*Marrubium vulgare*) qui est une source très riche en tanins et flavonoïdes que l'on rencontre dans les feuilles. Elle est largement utilisée dans le bassin méditerranéen pour ses nombreuses vertus thérapeutiques (**SAHPAZ et al., 2002**).

Pour ce faire, nous avons structuré notre travail en 3 chapitres :

Dans le premier chapitre, nous avons présenté, quelques généralités sur la plante étudiée, les composés secondaires ainsi que les principales techniques d'extraction.

Quant au deuxième chapitre est expérimental, réservée à l'ensemble du matériel et méthodes utilisés pour l'évaluation de l'activité antibactérienne et antioxydante des composés secondaires de cette plante.

Enfin, dans le troisième chapitre, nous présentons les différents résultats obtenus et discussions, et nous terminons par une conclusion générale qui résume l'ensemble de ces résultats.

Chapitre I

Rappels Bibliographique

I.1. Généralités sur les plantes médicinales :

Une plante médicinale est définie par la pharmacopée française comme une drogue végétale au sens de la pharmacopée européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Une « drogue végétale » est une plante ou une partie de plante, utilisée, soit le plus souvent sous la forme desséchée, soit à l'état frais (**SOFORA, 2010**). Les plantes médicinales sont des drogues végétales à propriétés médicamenteuses présentent au moins au niveau dans une partie de la plante (**FARNSWORTH et al., 1986**), et ils sont moins toxiques et doux par rapport aux médicaments pharmaceutiques (**DIDIER et al., 2011**). Elles sont donc utilisées comme remède pour traiter plusieurs affections et maladies dans les différentes sociétés et cultures (**EDDOUKS et al., 2007**).

Les plantes médicinales ont fait l'objet de beaucoup d'études grâce aux principes actifs qui diffèrent d'une plante à une autre créant ainsi une biodiversité remarquable. Plus de cinq milles substances naturelles différentes ont été identifiées (**FAROMBI, 2003**).

Selon l'OMS plus de 80% de la population mondiale s'est référée vers la pharmacopée traditionnelle pour prévenir et traiter leurs divers problèmes de santé et 25% des médicaments prescrits provient des extraits de plantes ou des principes actifs préparés à partir des plantes et plus de 119 substances chimiques distinctes, dérivées de 91 espèces de plantes sont considérés comme médicaments (**FARNSWORTH et al., 1986**). Actuellement, la médecine traditionnelles, connaît un regain d'intérêt grâce au développement humaine et aux études scientifiques basées sur les méthodes analytiques et les nouvelles expérimentations, et que le monde médical découvre de plus en plus, de nouvelles molécules nécessaire à la mise au point de futurs médicaments (**LAHSISSENE et al., 2009**).

I.2. La famille des lamiacées :

La famille des Lamiacées (Lamiaceae) ou Labiées (Labiatae) est une importante famille de plantes dicotylédones, qui comprend environ 4000 espèces et près de 210 genres (**SPICHIGER, 2004 ; NAGHIBI et al., 2005**). Cette famille comporte de nombreuses

plantes exploitées pour les essences ou cultivées pour l'ornementation et la plupart de ces espèces sont aussi bien utilisées dans la médecine traditionnelle que dans la médecine moderne (JUDD *et al.*, 2002).

Un très grand nombre de genres de la famille des Lamiaceae sont des sources riches en terpénoïdes et flavonoïdes. Le genre *Marrubium* (Marrube) qui est l'objectif de notre recherche comprend près de 30 espèces qui peuvent se trouver dans de nombreux pays du globe (NAGHIBI *et al.* 2005).

I.3. *Marrubiumvulgare* L. :

I.3.1. Origine et étymologie :

Marrubiumvulgare L. est originaire de l'Afrique du Nord et presque dans toute l'Europe, au centre et au Sud-ouest de l'Asie et aux Canaries. Elle est naturalisée dans l'Amérique du Nord et dans l'Amérique du Sud (BONNIER, 1909).

Le nom du genre *marrubium* vient de la ville italienne de Marsi, où la plante était très abondante; d'autres auteurs pensent qu'il dérive de la mer hébraïque, amère et volante, du jus; amenant l'amertume de la plante (FONNEGRA, 2007).

I.3.2. Classification (QUEZEL & SANTA, 1963) :

Règne : Plantae

Embranchement : Spermatophytes.

Sous embranchement : Angiospermes.

Classe : Dicotylédone.

Sous-classe : Asteridae

Ordre : Lamiales.

Famille : Lamiacées.

Genre : *Marrubium*.

Espèce : *Vulgare*.

Nom scientifique : *Marrubiumvulgare* L.

I.3.3. Nom vernaculaire (QUEZEL & SANTA, 1963) :

- Anglais : Harehound.
- Français : Marrube blanc.
- Arabe : Marrioua.

I.3.4. Description botanique :

Le marrube est une plante méditerranéenne, au feuillage vert gris duveteux. vivace herbacée de 30-60 cm de haut à tige carrée, laineuse dans la partie inférieure. Feuilles opposées, ovales pouvant atteindre 4 cm de long et de large, gaufrées, à pétiole court, jeunes feuilles laineuses. Fleurs blanches bilabiées, serrées les unes contre les autres à l'aisselle des feuilles supérieures corolle de 6 -7 mm de long (HENSEL, 2008).



Figure 1.1 : *Marrubiumvulgare*(JOHANNES, 2005).

I.3.5. Répartition géographique :

Le marrube est répandue sur tout le continent américain, l'Asie, l'Europe et l'Afrique du Nord (Dmitruk.Met *al.*,2014 ; Burcu.Bet *al.*,2014). Il est particulièrement abondant dans la région méditerranéenne (ARMONDOet *al.*,2006). Il pousse principalement sur les friches, Bord des chemins, terrains vagues lisière des bois, taillis (HENSEL,2008). C'est une belle plante ornementale qui mérite de retrouver une place dans nos jardins (JOSY, 2012).

I.3.6. Propriétés et utilisations :

Le marrube blanc est très utilisé en médecine traditionnelle comme expectorant, antispasmodique, antidiabétique, diurétique et en cas d'infections respiratoires. Il est aussi employé pour combattre la cellulite et l'obésité. Plusieurs de ces utilisations traditionnelles ont été confirmés par des essais scientifiques, le marrube blanc est considéré comme antidiabétique selon les populations anciennes, il aurait une action hypoglycémiant (ROMAN *et al.*, 1992 ;NOVAES *et al.*, 2001). Il est utilisé aussi pour le traitement de dyspepsies et la perte d'appétit (DJAHRA *et al.*, 2013).

I.4. Les composés secondaires :

Les végétaux produisent des substances chimiques de structures variées comme les métabolites primaires et secondaires (**EDEAS et al., 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 la pharmacologie ou l'agroalimentaires (**MACHEIX et al., 2005**).

I.5. 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**).

I.5.1. Rôle dans la plante :

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**).

I.5.2. 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 de squelette de base, principales classes sont largement répandues (**MACHEIX et al., 2006**). Le tableau 1.1 présente les différentes classes des composés phénoliques.

Tableau 1.1 :Classification des composés phénoliques (VERMERRIS & ICHOLSON, 2007).

Structure	Classe
C ₆	Phénol simple
C ₆ -C ₁	Acide phénolique et composante liée
C ₆ -C ₂	Acetophenone et acide phenylacetique
C ₆ -C ₃	Acide cinnamique, aldéhyde cinnamyle et alcool cinnamyle
C ₆ -C ₂	Coumarine, isocoumarine et chromone
C ₁₅	Chlaocones, auronnes, dihydrochalcones
C ₁₅	flavanes
C ₁₅	Flavones
C ₁₅	Flavnonnes
C ₁₅	Flavnonoles
C ₁₅	Anthocyanidines
C ₁₅	Anthocyanines
C ₃₀	Biflavonyls
C ₆ -C ₁ -C ₆ , C ₆ -C ₂ -C ₆	Benzophenones, xanthonnes, stilbenes
C ₁₈	Quinones
Lignans, neolignants	Betacyanines
Lignin	Dimers ou oligomers
Tannis	Oligomers ou polymers
Phlobaphenes	Polymers

I.5.3. 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 aussi responsable de la synthèse des acides aminés, parmi ceux-ci, 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**).

I.6. 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**).

I.6.1. 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 1.2**) (**DACOSTA, 2003**).

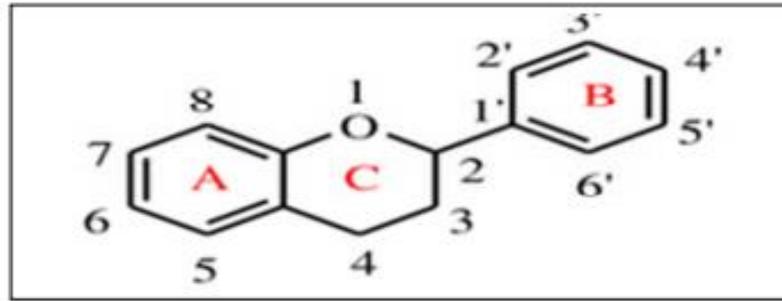


Figure 1.2 : Squelette de base des flavonoïdes (CROZIER, 2003).

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 :** Ces composés se différencient des flavones par la présence d'un OH en C3 (HELLER *et al.*, 1998). Leurs principaux présentant sont la quercétine, kaempférol et la rutine (Figure 1.3).

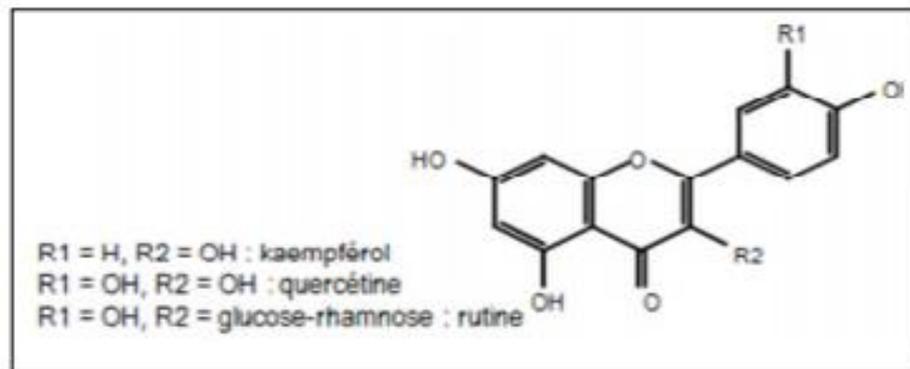


Figure 1.3 : Structure chimique des flavonols(CROSIER, 2003).

- **FLAVANE-3-OLS :** Les flavane-3-ols ou dérivés de catéchine sont la catégorie de flavonoïdes la plus complexe (ARTS *et al.*, 2000) (Figure 1.4).

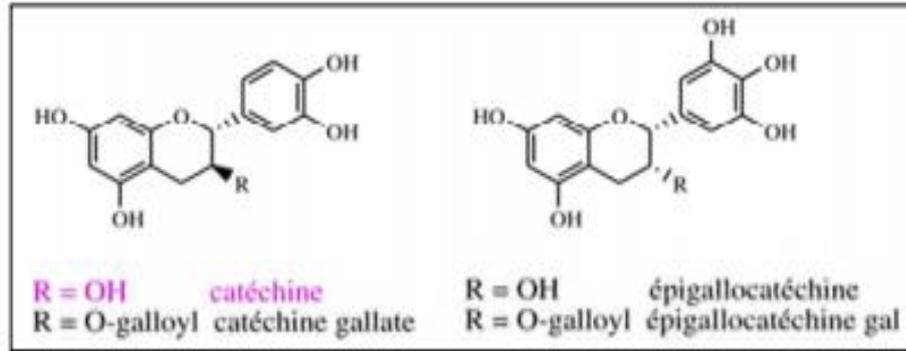


Figure 1.4 : Structures chimiques de certains flavan-3-ols (CHIRA *et al.*, 2008).

- **ANTHOCYANIDINES :** Ce sont des pigments principalement sous forme de glycoside et hydrosoluble, 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 1.5).

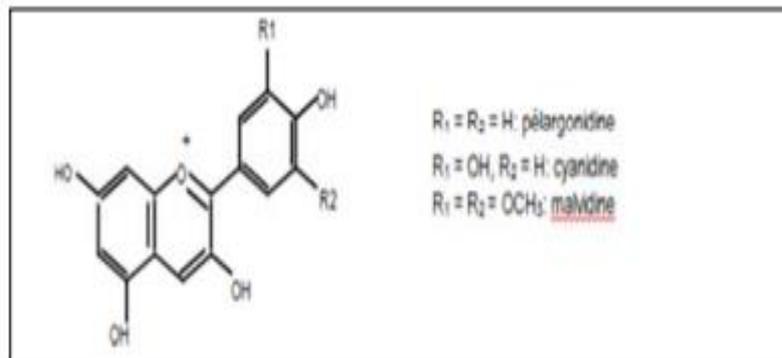


Figure 1.5 : Structure chimique de quelques anthocyanidines courantes (HAN *et al.*, 2007).

1.7. Les tanins :

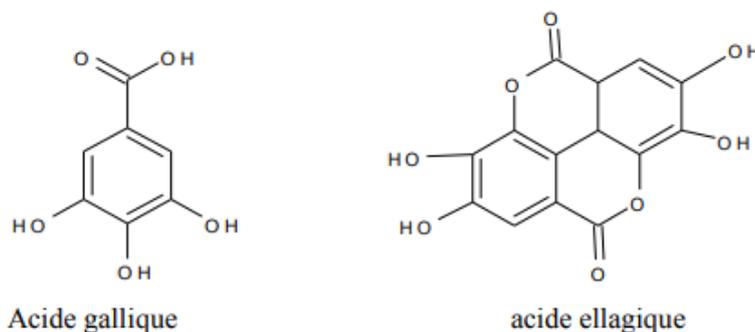
Les tanins sont des composés phénoliques complexes, hydrosolubles ayant un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da (KAMRA *et al.*, 2006). Ces composés naturellement produits par les plantes et se caractérisent par leur facilité à se combiner aux protéines (MAKKAR, 2003 ; MANGAN, 1988 ; MCSWEENEY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

I.7.1. Classification :

Du 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 (KHABABAE& 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 l'hydrolyse des oses et de l'acide gallique et les tanins ellagiques (Figure 1.6) (Ellagitanins), Ainsi sont scindés par les enzymes en oses et en acide ellagique (PARIS & HURABIELLE,



1981).

Figure 1.6 : Structure de l'acide gallique et ellagique (PACKER, 2001).

- **Les 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 diffèrent fondamentalement des tanins galliques et ellagiques, ils ne possèdent pas de sucre dans leurs molécules et sont non hydrolysables (PARIS & HURABIELLE, 1981). Il est admis aujourd'hui que ces tanins (Figure 1.7) sont constitués par le mélange de produits de polymérisation oxydative de catéchines (flavan-3-ols) et de proanthocyanes (flavan-3,4-dioles), on peut les qualifier encore de tanins flavaniques (RICHTER, 1993).

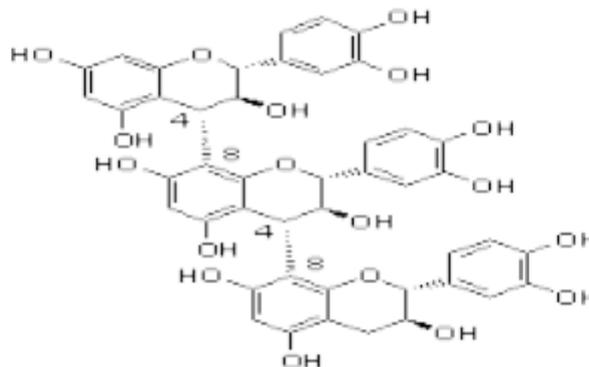


Figure 1.7 : Structure chimique des tanins condensés (BRUNETON, 2009).

I.8. Propriétés et utilisations des polyphénols :

Les recherches récentes sur les composés phénoliques en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussées en raison de leurs divers propriétés physiologiques comme les activités antiallergique, anti-atherogénique, anti-inflammatoire, hépatoprotective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, anti-thrombotique, cardioprotective et vasodilatatoire (MIDDLETON *et al.*, 2000 ; KSOURI *et al.*, 2007).

Ces actions sont attribuées à leur effet antioxydant qui est due à leurs propriétés redox en jouant un rôle important dans la destruction oxydative par la neutralisation des radicaux libres, piégeage de l'oxygène, ou décomposition des peroxydes (NIJVELDT *et al.*, 2001).

D'après les études multiples attestant de l'impact positif de la consommation de polyphénols sur la santé et la prévention des maladies, les industriels commercialisent maintenant des aliments enrichis en polyphénols ou des suppléments alimentaires. De plus, leur activité antioxydante assure une meilleure conservation des denrées alimentaires en empêchant la peroxydation lipidique. Dans l'industrie cosmétique, les composés phénoliques trouvent leur application pratique en luttant contre la production des radicaux libres néfastes dans la santé et la beauté de la peau. En phytothérapie, même si certaines indications sont communes à plusieurs classes (les propriétés vasculoprotectrices, sont par exemple aussi bien attribuées aux flavonoïdes qu'aux anthocyanes, tanins et autres coumarines), chaque classe chimique semble être utilisée pour des bénéfices spécifiques (HENNEBELLE *et al.*, 2004).

En ce qui concerne les flavonoïdes, ces composés peuvent empêcher les dommages oxydatifs (HODEK *et al.*, 2002). Ils jouent un rôle très important dans le traitement du diabète, de la goutte, des inflammations, des hépatites, des tumeurs, de l'hypertension, des thromboses, des allergies et des affections bactériennes et virales (anti-HIV) (ANDERSON *et al.*, 1996 ; COWAN, 1999 ; YAO *et al.*, 2004). Les flavonoïdes ont des propriétés neurosédatives, antispasmodiques, diurétiques, anti-œstrogènes, contre la sénescence cérébrale et ses conséquences telles l'altération de la mémoire et la confusion (HENNEBELLE *et al.*, 2004), antioxydantes, vasculoprotectrices, antihépatotoxiques, antiallergiques, anti-inflammatoires, antiulcéreuses et même antitumorales significatives (GHEDIRA, 2005).

Les plantes riches en tanins sont utilisées dans les cas de rhume, de maux de gorge, les problèmes de sécrétions trop importantes, les infections internes ou externes, blessures, coupures et brûlures (BRUNETON, 1999).

En outre, les tanins ont un très grand pouvoir antibactérien (KOLODZIEJ, 1999), antiviral (HONG *et al.*, 2000) et anti-inflammatoire (MOTA *et al.*, 1985).

Grâce à leurs propriétés astringentes les tanins sont utilisés comme antidiarrhéiques, vasoconstricteurs et hémostatiques, mais surtout comme protecteurs veineux dans le traitement des varices et hémorroïdes. Ils sont largement employés dans l'industrie du cuir surtout dans celle des vernis et peintures (PARIS & HURABIELLE, 1981).

I.9. Méthodes d'extraction des composés phénoliques :

Les techniques classiques pour l'extraction par solvants de molécules actives à partir des matrices végétales sont basées sur le choix du solvant couplé à la température et/ou à l'agitation. Les techniques classiques existantes permettant d'extraire ces principes actifs incluent : la macération et Soxhlet avec un mélange alcool-eau ou une graisse chaude (LUQUE & GARCIA, 1998).

I.9.1. La macération :

La macération est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple. Elle consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant avec ou sans agitation, à température ambiante ou à température élevée pour une durée déterminée. Cette technique est basée sur la

solubilité de composés bioactifs dans un solvant d'extraction et elle est influencée par une série de facteurs incluant la nature du matériel végétal, la concentration en solutés de l'échantillon, la nature du solvant, la durée d'extraction. La macération commence avec le choix d'un solvant d'extraction adéquat. Après une étape de diffusion du solvant à l'intérieur des cellules végétales le processus continue avec la solubilisation de composés bioactifs qui vont migrer de la matrice végétale vers le solvant environnant jusqu'à ce que l'équilibre de partage de concentration soit atteint (**HANDA, 2008**).

I.9.2. Le Soxhlet :

L'extraction par Soxhlet est une méthode simple et convenable permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à l'épuisement complet du soluté dans la matière première. Le Soxhlet est composé d'un corps en verre, dans lequel est placée une cartouche en papier-filtre épais (une matière pénétrable pour le solvant), d'un tube siphon et d'un tube de distillation. Dans le montage, l'extracteur est placé sur un ballon contenant le solvant d'extraction. Le ballon est chauffé afin de pouvoir faire bouillir son contenu. La cartouche contenant le solide à extraire est insérée dans l'extracteur, au-dessus duquel est placé un réfrigérant servant à liquéfier les vapeurs du solvant. Au fil des cycles, le solvant s'enrichit en substances extraites jusqu'à épuisement de l'échantillon en substances d'intérêt (**GRIGONIS, 2005**).

Chapitre II

Matériel et méthodes

II.1. Localisation géographique de la région :

Tamanrasset, une vaste terre aride, au milieu du Sahara algérien, elle est la capitale du Hoggar, elle reste la destination préférée du tourisme européen et surtout allemand. Sa superficie est de 619360 km². La ville de Tamanrasset est un axe incontournable des nomades et des touaregs qui arpentent les dunes, les regs du Sahara, du Mali au Niger passant par le Tchad et la Libye (ANDI, 2013).



Figure 2.1 : Localisation géographique de la zone d'étude wilaya de Tamanrasset.
(ANDI, 2013).

II.2. Matériel utilisé :

II.2.1. Matériel biologique :

Notre étude a été réalisée sur la partie aérienne de *Marrubiumvulgare*L. (**Figure 2.2**).

La récolte s'est effectuée au mois de Mars 2020 dans la région de Tamanrasset.

L'échantillon a été séché dans un endroit sec, à température ambiante pendant une semaine pour éviter le développement des micro-organismes et à l'abri de la lumière afin de garder l'aspect biochimique des molécules.

Après la détermination du taux d'humidité, les feuilles ont été broyées, à l'aide d'un broyeur de type Medicalex. Une poudre fine est obtenue et conservée soigneusement dans des bocaux bruns et hermétiquement fermés. L'échantillon est placé dans un endroit sec jusqu'à analyses.

En se référant à **QUEZEL & SANTA**, l'identification botanique de la plante a été faite par les botanistes de l'Institut National de Recherche Forestière - INRF- Station de recherche pour la protection des zones arides, Tamanrasset (Algérie).



Figure 2.2 : *Marrubiumvulgare* L.

❖ Micro- organismes :

L'activité antibactérienne a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie, sur quatre micro-organismes référenciés par la norme internationale pharmacopée européenne.

Tableau 2.1 : Souches bactériennes testées.

Souches bactériennes	
Bactéries Gram négatif	
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 10536
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
Bactéries Gram positif	
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538P
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 66333

II.2.2. Matériel non biologique :

La verrerie, l'appareillage et les réactifs utilisés sont mentionnés dans l'Appendice A.

II.3. Méthodes d'étude :

II.3.1. Taux d'humidité :

Le taux d'humidité consiste à une perte de poids par dessiccation(LAZOUNI *et al.*, 2007). Il est déterminé selon la méthode de DJABALI & BARKAT (2012) :

Pour cela, 5 g de feuilles séchées des échantillons étudiés est pesée dans des capsules puis placée à l'étuve de type Binder à $105 \pm 5^\circ\text{C}$ pendant 24 heures. A la sortie de l'étuve, les capsules sont refroidies dans un dessiccateur et pesées chaque 3 heures. L'opération est répétée plusieurs fois jusqu'à l'obtention d'un poids constant. La différence de poids observée représente le taux d'humidité. Il est calculé par la formule suivante :

$$H = \frac{(P_i - P)}{P_i} \times 100$$

H : Taux d'humidité en %.

P_i : Masse de l'échantillon avant séchage en étuve (g).

P : Masse de l'échantillon après séchage en étuve (g).

II.3.2. Préparation de l'extrait aqueux :

L'extrait aqueux (EAq) est préparé en suivant la méthode décrite par **MBIANTCHA et ses collaborateurs (2011)**, avec quelques modifications. La macération est faite avec 100g de la poudre des feuilles dans 1L de l'eau distillée tiède pendant 3 jours. Une filtration sur coton hydrophile, puis sur papier Wattman N°3 a été effectuée. Pour l'évaporation de l'eau distillée, le filtrat est placé dans l'étuve à 45°C jusqu'à l'obtention d'un extrait, conservé par la suite à -4°C jusqu'à son utilisation.

II.3.3. Rendement :

Le rendement d'extraction (%) est calculé selon **HARBORNE (1998)**, par la formule suivante :

$$Rdt(\%) = \frac{m_{es}}{m_v} \times 100$$

R (%) = Rendement d'extraction.

m_{es} : Masse de l'extrait sec (g).

m_v : Masse du matériel végétal utilisé (g).

II.3.4. Tests phytochimiques :

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de métabolites secondaires des plantes par des réactions qualitatives de caractérisation (**BENTABET & BOUCHERIT, 2014**). Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composés (**BOUTERAFAS et al., 2014**).

➤ Test des flavonoïdes :

Quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré et quelques milligrammes de tournures de magnésium sont ajoutés à 0,5 ml de l'extrait. La coloration rose-rouge ou jaune indique la présence des flavonoïdes (**HADOUCHI et al., 2016**).

➤ Test des tanins :

Quelques gouttes de FeCl₃ (1%) sont ajoutées à l'extrait. L'apparition de la coloration verdâtre indique la présence des tanins cathéchiques ou bleu noirâtre qui révèle l'existence des tanins galliques (HADOUCHI *et al.*, 2016).

II.3.5. Activité antibactérienne :

Les tests de sensibilité et résistance antibactérienne ont été effectués selon la méthode de diffusion à partir des disques.

❖ Principe :

Le principe de l'activité antibactérienne de l'extrait de plante consiste à réaliser une culture microbienne sur milieu gélose nutritive, en présence de disques imbibés d'extrait de plante. Si ces derniers ont une activité antimicrobienne, on observera une zone d'inhibition autour du disque due à la diffusion des échantillons dans le milieu (PAREKH *et al.*, 2007; DULGER *et al.*, 2004; ROTA *et al.*, 2008).

❖ Mode opératoire :

L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de *Marrubium vulgare* est évaluée par la technique de diffusion sur l'agar (méthode des disques) selon la méthode décrite par (FALLEH *et al.*, 2008) vis-à-vis de quatre souches bactériennes (à Gram- : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et à Gram+ : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*).

Les différentes espèces bactériennes sont d'abord repiquées par la méthode des stries dans des boîtes de Pétri contenant le milieu de gélose nutritive, puis incubées à 37 °C pendant 24 h.

Une ou plusieurs colonies de chaque culture pure sont prélevées et transférées dans l'eau physiologique à une turbidité équivalente à 0,5 McFarland ou à une DO de 0.08 à 0.10 à 625 nm. Un prélèvement à partir de cet inoculum sert à ensemercer de nouvelles boîtes de Pétri contenant le milieu de gélose nutritive par technique d'écouvillonnage. Des disques de papier filtre de 6 mm de diamètre, stériles, sont chargés de 10 µl de l'extrait aqueux et placés à la surface de ces boîtes.

Les disques des contrôles négatifs sont imprégnés avec l'eau distillée. Les boîtes de Pétri sont incubées à 37°C pendant 24h. Les résultats sont exprimés en diamètres des zones d'inhibition produites autour des disques.

II.3.6. Activitéantioxydante :

La méthode de piégeage du radical DPPH a été utilisée afin d'évaluer l'activitéantioxydante.

❖ Principe :

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 (FADIL *et al.*, 2017).

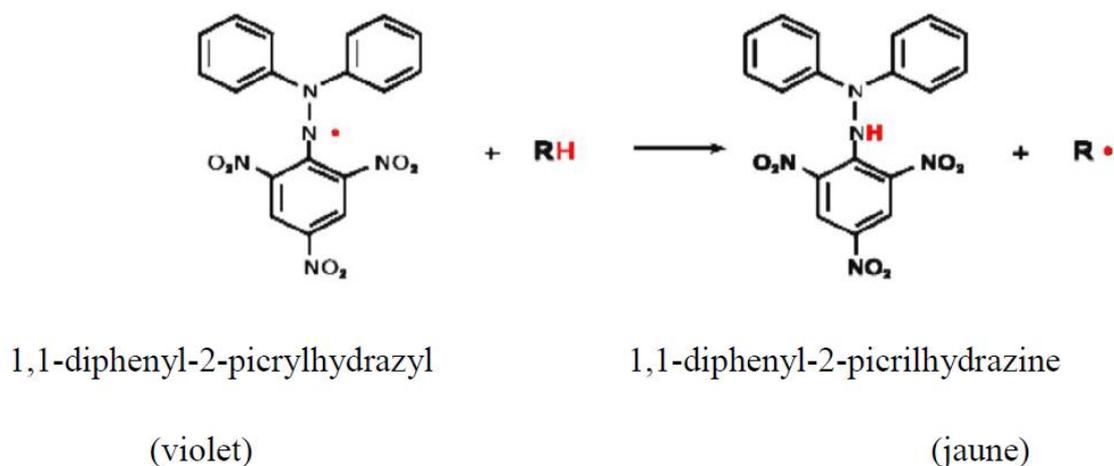


Figure 2.3: Réaction de réduction du DPPH• (MOLYNEUX, 2004).

Le radical DPPH• est l'un des substrats les plus utilisés généralement pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale et la simplicité de l'analyse.

Comme il n'existe pas de mesure absolue de la capacité antioxydante d'un composé, les résultats sont souvent portés par rapport à un antioxydant de référence comme l'acide ascorbique (Vitamine C).

La méthode utilisée pour l'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait aqueux de *Marrubiumvulgare* est celle proposée par SHARMA *et al.* (2013) avec quelques modifications.

❖ Mode opératoire :

La solution de DPPH est obtenue en dissolvant 4 mg de la poudre dans 100 ml de l'éthanol absolu (EtOH). L'échantillon testé a été préparé par dissolution dans l'éthanol (EtOH) avec des concentrations allant de 0,015 à 0,5 mg/ml. Le test s'effectue en mélangeant 1 ml de la solution précédente de DPPH (0,04%) avec 1 ml de l'extrait à tester à différentes concentrations.

L'antioxydant de référence ou le contrôle positif (Vit C) a été aussi préparé selon la même méthode à raison de 0,2 mg/ml. Le contrôle négatif est constitué de 1 ml de la solution DPPH et 1 ml de l'éthanol absolu (EtOH). Après une période d'incubation de 30 minutes, à une température du laboratoire ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) et à l'abri de la lumière et de l' O_2 atmosphérique, la mesure de l'absorbance a été effectuée à 517 nm (SHARMA & BHAT, 2009).

Les valeurs obtenues sont transformées ensuite en pourcentages d'inhibition en utilisant la formule proposée par MARINOVA & BATCHVAROV (2011):

$$I\% = 100 \times \frac{A_{\text{blanc}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{blanc}}}$$

I% : Activité antioxydante.

Ablanc : Absorbance du contrôle négatif.

Aéchantillon : Absorbance du composé à tester.

Le graphique de la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait permet de déterminer l' EC_{50} exprimée en mg de substrat/ml de DPPH. C'est la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du $\text{DPPH}\cdot$ initial de 50% (POPOVICI *et al.*, 2009 ; BARKAT & LAIB, 2012). Il peut être défini aussi comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH (ASGHAR & MASOOD, 2008 ; AMIT *et al.*, 2010).

L'activité antioxydante est déduite graphiquement par la régression linéaire (SHARIFIFAR *et al.*, 2007 ; BOUGANDOURA & BENDIMERAD, 2013). Cette valeur est comparée à celle trouvée par l'antioxydant standard (Vit C).

II.4. Analyses statistiques :

Pour chaque test effectué, trois répétitions ont été faites. Les résultats des tests sont exprimés en moyenne \pm SD (l'écart type) en utilisant le logiciel Excel 2013. La détermination de l'EC₅₀ de l'activité antioxydante a été effectuée par le logiciel (Origin 8) (Appendice B).

Chapitre III

Résultats et discussion.

III.1. Taux d'humidité :

La détermination du taux d'humidité des feuilles séchées de l'espèce *Marrubiumvulgare* a révélé un taux égal à $8,18 \pm 0,10\%$ (**Figure 3.1**).

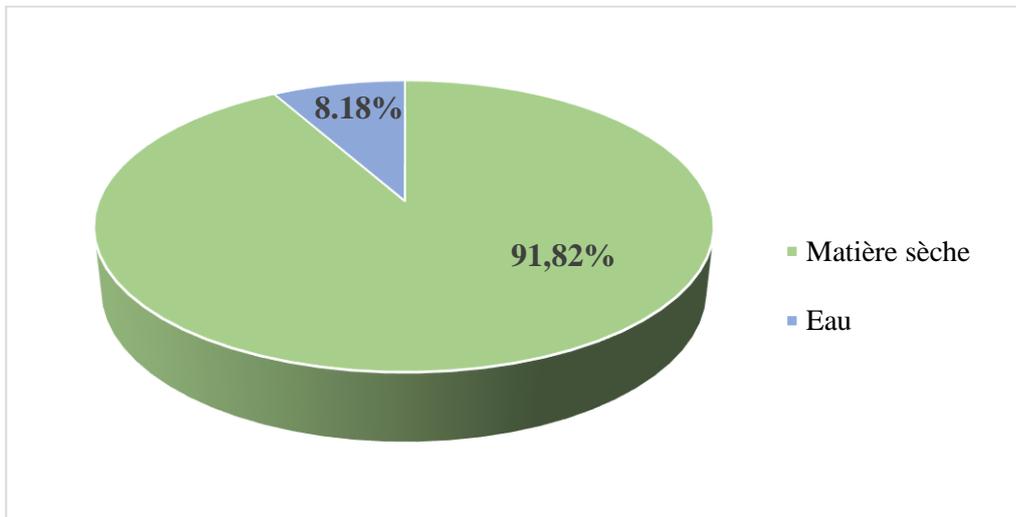


Figure 3.1 : Taux d'humidité des feuilles séchées du *Marrubiumvulgare*.

Selon la norme **ISO**, les résultats obtenus des échantillons séchés sont nettement inférieurs à 12%, cela montre que notre matière végétale a été séchée et conservée dans de bonnes conditions, ce qui rend, par conséquent, les résultats de nos analyses phytochimiques fiables.

A titre de comparaison, nos résultats présentent un taux d'humidité nettement inférieur à celui trouvé par **BOUTERFAS et al., (2013)** qui est de 40,32%.

III.2. Rendement :

Le rendement moyen en extrait aqueux est représenté par la figure 3.2.

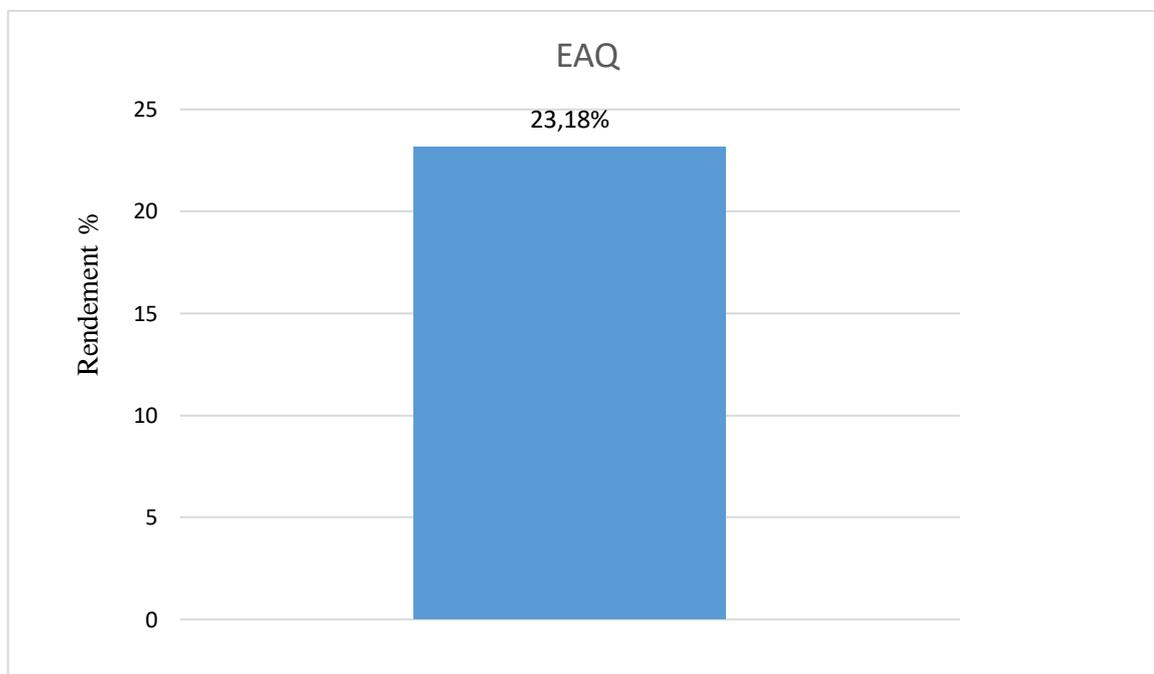


Figure 3.2 : Le rendement moyen en extrait aqueux du *Marrubium vulgare*.

Les teneurs en extraits secs varient non seulement d'une plante à une autre de la même famille, mais également en fonction des paramètres de l'extraction solide-liquide "le solvant d'extraction, la taille des particules, la température, pH et le coefficient de diffusion de solvant" (DJAHRA et al., 2013) la variation de ces facteurs donne naissance à une altération différentielle de la distribution des composés entre les deux phases solide-liquide (ANDRENEK et al., 2004 ; HAYOUNI et al., 2007).

III.3. Tests phytochimiques :

Le test phytochimique réalisé sur les feuilles séchées de *Marrubium vulgare* a permis d'avoir les résultats présentés dans le tableau 3.1.

Tableau 3.1 : Le test phytochimique de *Marrubium vulgare*.

Les composés	Les réactifs	<i>Marrubium vulgare</i>
Les flavonoïdes	H ₂ SO ₄	Positif
Les tanins	FeCl ₃	Très positif

D'après le tableau 3.1, nous avons noté que l'extrait aqueux de *Marrubium vulgare* est riche en flavonoïdes et les tanins.

Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par **AZZI et al. (2014)**, qui révèlent la présence des flavonoïdes et des tanins dans les feuilles du *Marrubium vulgare*.

Une autre étude phytochimique réalisée par **DJAHRA (2014)**, montre que les feuilles de cette espèce renferment des flavonoïdes et des tanins catéchiques.

III.4. Activité antibactérienne :

Les résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait testé sont regroupés dans le tableau 3.2.

Tableau 3.2 : Inhibition du développement des souches bactériennes testées.

Concentration %	Gram +		Gram -	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilus</i>	<i>Escherichia coli,</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
100	32	22	19	-
90	30	19	19	-
80	26	12	15	-
70	26	10	11	-
60	21	-	-	-
50	15	-	-	-
40	13	-	-	-
30	10	-	-	-
20	-	-	-	-
10	-	-	-	-

L'examen des résultats révèle que l'échantillon étudié a montré une activité antibactérienne contre la plupart des bactéries testées à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* qui s'est montrée résistante.

Selon certains auteurs **LAI (2008)** et **SCHLEMPER (1996)** ont montré que le marrube a un effet antibactérien ce qui confirme les résultats obtenus.

III.5. Activité antioxydante :

L'activité antioxydante exprime la capacité de réduction des radicaux libres. Le DPPH présente une coloration violette sombre mais lorsqu'il est piégé par des substances antioxydantes sa couleur vire vers le jaune pâle, le virage vers cette coloration et l'intensité de la coloration de la couleur de la forme libre en solution dépend de la nature, la concentration et la puissance de la substance antiradicalaire (ROLLAND, 2004).

L'activité antioxydante de l'extrait est exprimée en EC_{50} , il définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du radical DPPH. Dans ce test nous avons utilisé l'acide ascorbique comme standard, les résultats obtenus (pourcentage d'inhibitions I%) sont représentés dans les figures 3.3 et 3.4.

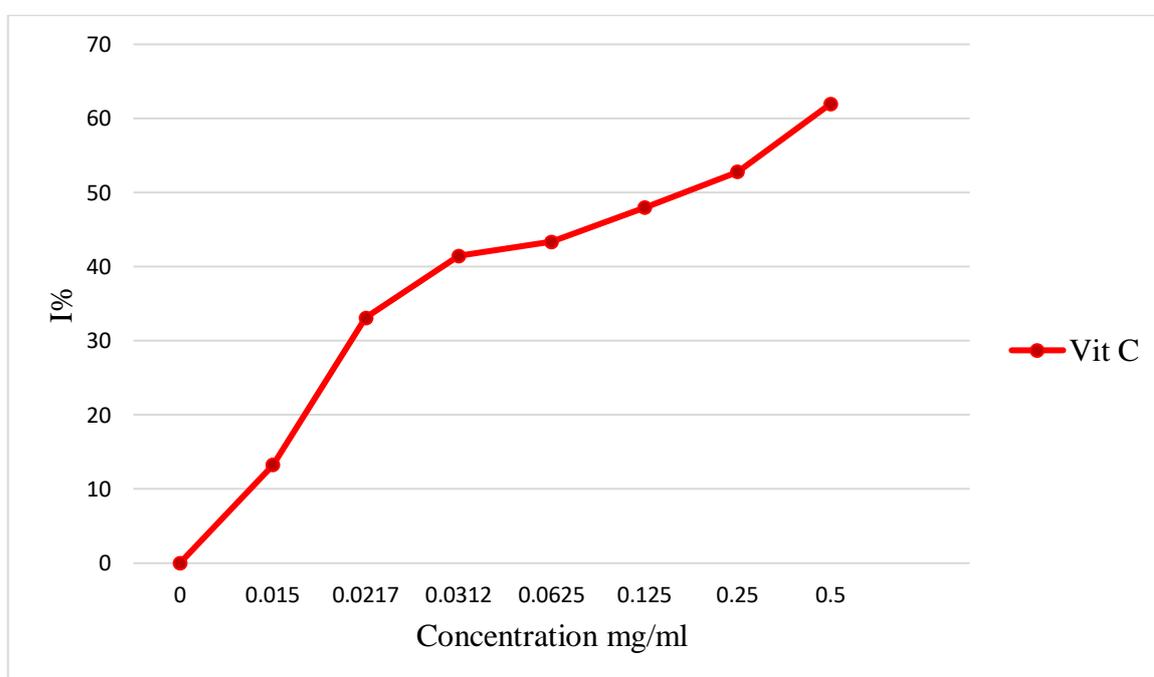


Figure 3.3: Pourcentage d'inhibition de DPPH par la Vit C.

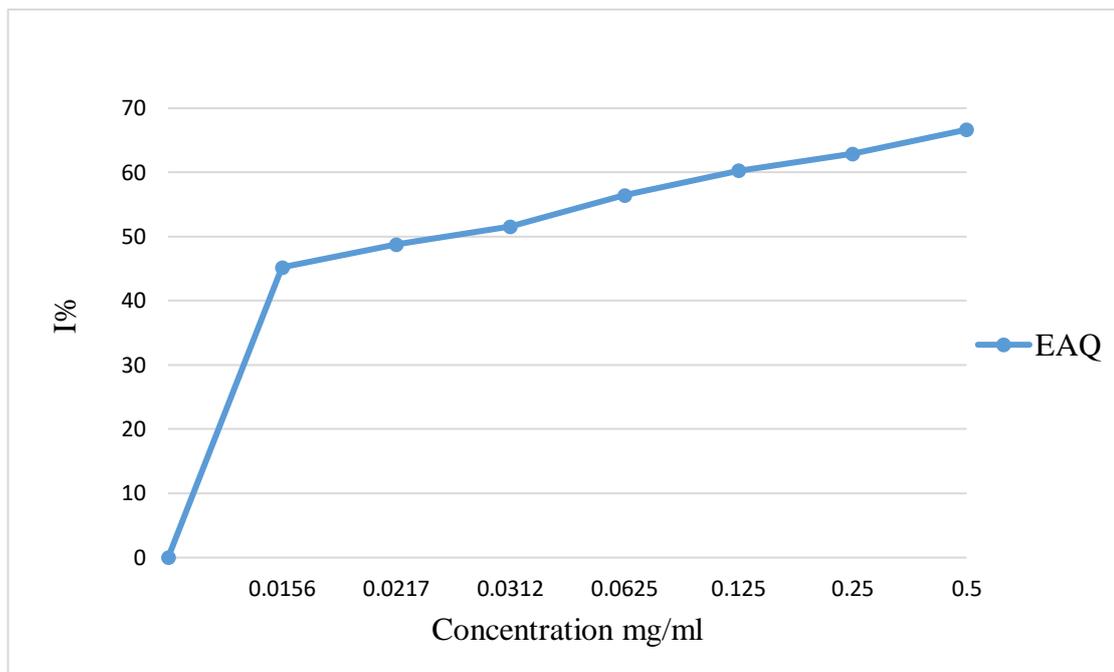


Figure 3.4 : Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'extrait aqueux du *MarrubiumVulgare*.

Les valeurs obtenues ont permis de tracer des courbes ayant une allure exponentielle avec présence d'une phase stationnaire qui signifie la réduction presque totale du DPPH \cdot en sa forme non radicalaire.

La détermination des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations utilisées (Figures 3.4 et 3.5) ainsi les valeurs d'EC₅₀ sont obtenues à partir de ces courbes.

Le pourcentage d'inhibition augmente progressivement avec la concentration jusqu'à arriver à un plateau qui correspond à l'épuisement presque total du DPPH \cdot présent dans le milieu.

L'EC₅₀ est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car elle exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%.

Les valeurs des EC₅₀ trouvées pour l'échantillon testé et la Vit c sont représentées dans les figures 3.5.

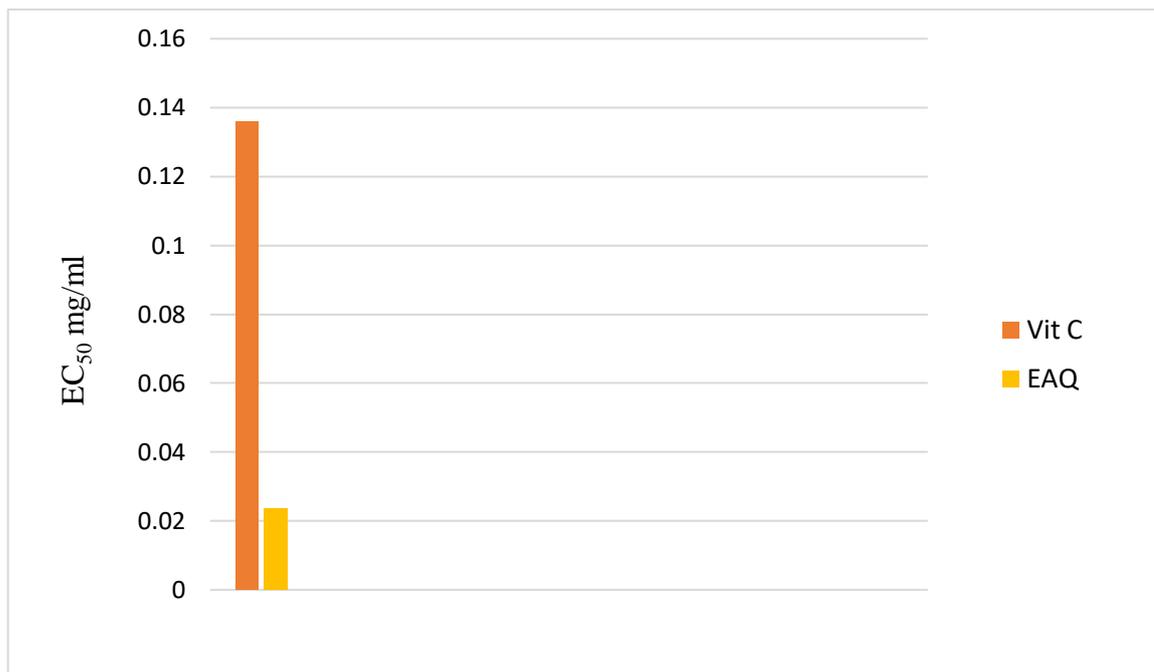


Figure 3.5 : EC₅₀ de l'extrait aqueux du *Marrubiumvulgare* et la Vit C.

D'après les résultats obtenus l'extrait de *Marrubiumvulgare* représenté une valeur d'EC₅₀= 0,0238mg/ml, ce qui signifie que l'extrait a un fort pouvoir antiradicalaire. Cette valeur est plus importante en comparaison avec celle de la Vit C (0,136 mg/ml).

D'après **MOLYNEUX (2004)**, **BOUZID et al.(2011)** plusieurs facteurs influencent le potentiel antioxydant et la cinétique de réduction, notamment les conditions de la réaction (temps, rapport antioxydant/DPPH*, type de solvant et le pH) et le profil phénolique en particulier.

Ces facteurs rendent la comparaison directe des valeurs d'EC₅₀ rapportés dans divers travaux n'est pas fiable. En effet, même pour les antioxydants de synthèse utilisés, telle que la Vit C, les valeurs de l'EC₅₀ rapportées sont différents selon le protocole expérimental utilisé (**SHARIFIFAR et al., 2007**).

CONCLUSION

La flore Algérienne est l'une des plus riches au monde et possède de nombreuses plantes utilisées en médecine traditionnelle. Parmi elles, le marrube blanc fait l'objet de notre étude phytochimique et des activités biologiques.

Au terme de ce travail, l'extrait des feuilles séchées du marrube blanc (*Marrubium vulgare* L.) de la région de Tamanrasset a un rendement acceptable et peut être rentable à l'échelle industrielle. Il est de l'ordre de $23,18 \pm 0,10\%$.

Le test phytochimique montre que l'extrait est riche en flavonoïdes et les tannins.

L'activité antibactérienne a été étudiée vis-à-vis de quatre souches bactériennes: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* qui se sont révélées sensibles à l'extrait à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* qui s'est montrée plus résistante.

L'activité antioxydante a été évaluée par le test de piégeage du radical diphénylpicrylhydrazyl (DPPH). Les résultats montrent que l'extrait testé a une forte activité antioxydante comparée à l'antioxydant standard : vitamine C.

Ce travail mérite d'être approfondi afin de révéler d'éventuelles propriétés thérapeutiques de l'extrait aqueux du *Marrubium vulgare*.

Il ressort du présent travail que le *Marrubium vulgare* L. est une plante très intéressante et riche en composés secondaires.

- Les résultats obtenus ouvrent des perspectives d'horizon qui nous permettront d'identifier séparément les molécules impliquées dans l'effet antibactérien et antioxydant.

- Etudier les mécanismes moléculaires intervenant dans les effets pharmacologiques observés.

APPENDICE A
MATERIEL NON BIOLOGIQUE

VERRERIES	APPAREILS	REACTIFS
Bocaux.	Broyeur.	Acide chlorhydrique
Capsules.	Balance analytique.	Tournures de
Flacons.	Etuve.	magnésium
Entonnoir.	Dessiccateur.	FeCL ₃
Flacons teintés.	Spectrophotomètre (UV-visible).	DMSO.
Béchers.		Ethanol.
Burette.		DPPH.
Tubes à essai.		Vitamine C.
Boites de pétri.		
Seringue.		

APPENDICE B
ETUDES STATISTIQUES

Calcul de la moyenne :

$$X = 1/n \sum_{1}^{n} xi$$

n : Nombre de répétitions.

xi : Valeurs observées.

Calcul de l'écart type : $S = \sqrt{\frac{1}{n} - 1 \sum_{i}^{n} (xi - X)}$

APPENDICE C

LISTE DES SYMBOLES ET ABREVIATIONS

ATCC : Américan Type Culture Collection.

CFU : Unité Formant des Colonies.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

EAQ : Extrait aqueux.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

I% : Pourcentage d'inhibition.

EC₅₀ : Concentration requise pour diminuer la concentration du DPPH de 50%.

ISO : Organisation Internationale de Normalisation.

DO : Densité optique.

g : gramme.

nm : Nanomètre.

O₂ : Oxygène.

% : pourcentage.

± : Plus au moins.

- : Négatif.

+ : Positif.

°C : degré Celsius.

References bibliographique

Abdelguerfi A, Ramdane,MSA. (2003), Évaluation des besoins en matière de renforcement des capacités nécessaires à la conservation et l'utilisation durable de la biodiversité importante pour l'agriculture. Projet ALG/97/G31. Plan d'action et stratégie nationale sur la biodiversité. Tome XI, p. 230.

Abderrazak M. Et Joël R. (2007). la botanique de a à z. ed. dunod. paris. 177p.

Amit J., Paras S. &Kaushik s., "Evaluation of phenolic&flavonoid profile and screening of antioxidant activity of plant *Croton sparsiflorus* by bio-autographic method", Journal of Pharmacy Research, V. 3, n°5, (2010), 1146-1148.

Anderson, C.M., Hallberg, A., Hogberg, T. (1996). Advances in development of pharmaceutical antioxidants. Adv. Drug. Res, 28 : 65-180.

Andi.,(2013). Wilaya de Tamanrasset . Invest Algerie.

Andrensek S., Simonovska B., Vovk I., Fyhrquist P., Vuorela H., Vuorela P, (2004), Antimicrobial and antioxidative enrichment of oak (*Quercus robur*) bark by rotation planar extraction using ExtraChrom®. Int. J. Food Microbiol, 92:181-7p.

Armando, Grassia¹. Felice, Senatore¹. Nelly, Apostolides Arnold Maurizio , Bruno. Franco, Piozzi. Daniela, Rigano. Carmen, Formisano. chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from aerial parts of two *marrubium* sp. (lamiaceae) growing wild in lebanon. polish j. chem, 2006, 80 623–628.

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, staple foods and processed foods. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 48: 1746-1751.

Asghar Z. & Masood Z., "Evaluation of antioxidant properties of silymarin and its potential to inhibit peroxy radicals in vitro", Pak. J. Pharm. Sci., V. 3, (2008), 249-254.

Azzi, R., Lahfa, F., Djaziri, R. (2014). Phytochemical, antihyperglycemic and Anti hyperlipidemic study of crude hydroalcoholic extract of aerial parts of *Marrubium vulgare* L. in normal and streptozotocin induced-diabetic wistar rats. *Int. J. Pharm. Sci. Res.*, 5, 2006-13.

Bahorun, T. (1997). Substances naturelles actives, la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research, Conseil Mauritus, Amas.

Barkat M. & Laib I., "Antioxydant activity of the essential oil from the flowers of *Lavandula stoechas*", *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, V. 4, n°7, (2012), 96-101.

Benkhigne O., Zidane L., Fadli M., Elyacoubi H., Rochdi A., Et Douira A., (2011). Étude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Mechraa Bel Ksiri (Région du Gharb du Maroc). *Acta Bot. Barc.* 53 : 191-216.

Bennick, A. (2002). Interaction of plant polyphenols with salivary proteins. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 13 (2), 184-196.

Bentabet, N., Boucherit-Otmani, Z., & Boucherit, K. (2014). Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia arietoides* de la région de béchar en algérie. *Phytothérapie*, 12, 364 – 371.

Bonnier G. (1909). La Végétation de la France, Flore Complète. Tome 09. *Suisse et Belgique*. Paris. 472, pp : 25-26.

Bougandoura N. & Bendimerad N., "Évaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* sp. *Nepeta* (L.) Briq", *Revue Nature et Technologie*, B-Sciences Agronomiques et Biologiques, n°09, (2013), 14-19.

Bouterfas, Karim. Zoheir, Mehdadi. Djamel, Benmansour. Meghit, Boumediengkhaled.

Mohamed, Bouterfas. Ali, Latreche. Optimization of Extraction Conditions of Some Phenolic Compounds from White Horehound (*Marrubium vulgare* L.) Leaves. *International Journal of Organic Chemistry* 20144292- 308 .

Bouterfas K., Mehdani Z., Latreche A., Hazem Z., Bouredja N., (2013), Quantification de quelques polyphénols de *Marrubium vulgare* L du mont de Tessala (Algérie occidentale) pendant deux périodes de végétation et floraison, *Les technologies de laboratoire*, 31(8), 34-36p.

Bouزيد W, Yahia M, Abdeddaim M, Aberkane M C Et Ayachi A (2011). Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de L'Aubepine Monogyne. Lebanese Science Journal, 12 (1), 59-69.

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

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

Bruyne T., Pieters L., Deelstra H. Et Vlietink A. (1999). Condensed vegetable tannins: Biodiversity in structure and biological activities. Biochemical Systematic 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 milk dairy products: a review. International Dairy Journal. 11(3): 103-120.

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

Cowan, M.M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. Clin. Microbiol Re, 12 (4): 564- 582.

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

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

Dinn., Mpondoe., Dibong S.D., Kwin N.F., Ngoye A., (2011). Inventory and identification of plants used in the treatment of diabetes in Douala town (Cameroon). European journal of medicinal plant 1: 60-73.

Djabali S. & Barkat M., "Effet des extraits polyphénoliques sur la résistance à l'infestation fongique dans le grain d'haricot sec", V. Microbiol. Ind. San. et Environn., V. 6, n°2, (2012), 174-191.

Djahra, A.B., Bordjiba, O., Benkherara, S,(2013), Extraction, separation et activité antibactérienne des tannins de marrube blanc (*Marrubium vulgare* L.), Metabolic capacities of three strains of *Pseudomonas aeruginosa* to biodegrade crude oil, 11 :348-352p.

Dmitruk ,Marta. WeronikaHaratymmorphological differentiation of nonglandular and glandular trichomes on *marrubiumvulgare*l. Modern Phytomorphology, 2014, 6(85) 1.

Dulger B, Gonuz A (2004).Antimicrobialactivity of someTurkishmedicinal plants. J. Pak. J. Boil. Sci. 7(9):1559-1562.

Edeas, M. (2007). Les polyphenols et les polyphenols de thé. Phytothérapie, 5, 264 – 270.

Fadili Kamal, Hannouzerkani, Smailamalich Et Touriyazair. Phytochemical Study And Evaluation Of Antioxidant Activity Of Leaves And Fruits Of Capparis spinosa L. 2017. American Journal Of Innovativeresearch And Applied Sciences.110-116.

Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M. &AbdellyC.,(2008), Phenolic Composition Of Cynaracardunculus L. Organs, And Theirbiologicalactivities. C. R. Biologies, 331: 372-9p.

Farombi, E.O. (2003). African indigenous plants with chemotherapeutic potentials and biotechnological approach to the production of bioactive prophylactic agents. African Journal of Biotchnology, 2, 662-671.

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

Ghedira K. Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. Phytother. 2005; 3: 162-169.

Grigonis, P.R., Venskutonis, B., Sivik, M., Sandahl, D. &Eskilsson, C.S. (2005). Comparison of different extraction techniques for isolation of antioxidants fromsweetgrass (*Hierochloëodorata*), The Journal .

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

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

Haddouchi F., Chaouche T. M. Et Halla N. « Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. **2016**. Phytothérapie. Lavoisier.1-9.

Handa, S.S. (2008). An Overview of Extraction Techniques for Medicinal and Aromatic Plants. Ed. International Centre for Science and High Technology (ICSUNIDO), Trieste. Italy. Pp 21-54.

Hensel, W. Quelle est cette plante médicinale. Vigot, 2009, P 4 34.

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

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

Hayouni E.A., Abedrabba M., Bouix M., &Hamdi M, (2007), the effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biologicalactivities in vitro of Tunisian (Quercuscoccifera L.) and (Juniperusphoenicea L.) fruit extracts. Food Chem, 105: 1126-34p.

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

Hennebelle, T., Sahpaz, S. & Bailleul, F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. Phytothérapie. Vol (1) : 3-6.

Hodek P, Trefil P, Stiborová M. Flavonoids – potent and versatile biologically active compounds interactingwith cytochromes P450. ChemBiolInteract. 2002;139:1–21.

Hong X.Y., Wan M., Dong H., But P.P.H., Fool.Ycap ; (2000). Inhibitoryactivity of flavonoids and tannins against HIV-1 protease. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 23(9), 1072-1076.

Josy, Marty Dufaut. Les plantes aromatiques et médicinales. Amazon, 2012, p 86 87 88.

Kamra D.N., Agarwal N., Chaudhary L.C. Inhibition of ruminalmethanogenesis by tropical plants containingsecondarycompounds.*Int. Congr.Ser.* 2006; 1293 : 156-163.

Khanbabaek ., Ree T.R., (2001)-Tannins:Classification and Defenition. Journal of Royal Society of Chemistry. Vol. (18): 641-649.

Kolodziej H., Kayser O., Latte K.P., Ferreira D. ; (1999). Evaluation of the antimicrobialpotency of tannins and relatedcompoundsusing the microdilutionbothmethod. Planta Medica, 65(5), 444-446.

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.

Ksouri, R., W. Megdiche, A. Debez, H. Falleh, C. Grignon And C. Abdelly, (2007). Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant Physiol. Biochem.*, 45: 244-249.

Labat M. (2001). Simple phenolic content in olive oil residues as a function of extraction systems. *Food Chemistry*.

Lahsissene H., Kahouadji A., Tijane M., Et Hseini S., (2009). Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de zaër (Maroc occidental). *Lejeunia*, BE ISSN 0457-4184. **Laid, M. M-E. F. Hegazy And A. A. Ahmed. (2008).** Sesquiterpene lactones from Algerian *Artemisia herba alba*. *Phytochemistry Lett.*, 1, 85-88.

Lazouni H. A., Benmansour A., Taleb-Bendiab S. A. & Chabane S. D., "Composition des constituants des huiles essentielles et valeurs nutritives du *Foeniculum vulgare* Mill", *Journal of Sciences & Technologie*, V. 25, (2007), 7-12.

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.

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.

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

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.

Luque, De Castro, M.D. & Garcia-Ayuso, L.E. (1998). "Soxhlet extraction of solid materials: An outdated technique with a promising innovative future." *Analytica Chimica Acta*. 369(1-2): 1-10.

Mbiantcha M, Kamanyi A, TeponnoRb, Tapondjou La, Watcho P, &Nguelefack Tb., (2011):Analgesic and Anti-InflammatoryProperties of Extractsfrom the Bulbils of Dioscoreabulbifera L. var sativa. (Dioscoreaceae) in Mice and Rats. Evidence-BasedComplementary and Alternative Medicine, 1-9.

MacheixJj, Fleuriet A And Jay-Allemand C. Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, 2005, p. 4-5.

MacheixJj (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 over comedetrimentaleffects of feeding tannin-richfeeds, Small Ruminant Research, (49) : 241-25.

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

Marinova G. &Batchvarov V., “evaluation of the methods for determinationof the free radical scavengingactivity by DPPH”, Bulgarian Journal of Agricultural Science, V. 17, n°1, (2011), 11-24.

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

Middleton, E. Middleton, E. J. Biologicalproperties of plant flavonoids: an overview. Int. J. Pharmacol. 34(5): 344-348, 1996.

Molyneux P., “The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimatingantioxidantactivitySongklanakarinn”, J. Sci. Technol., V. 26, n°2, (2004), 211-219.

Mota R., Thomas G., Barbosa FilhoJ.M. ; (1985). Anti-inflammatory actions of tannins isoledfrom the bark of Anacardiumoccidentale L. Journal of Ethnopharmacology, 13, 289-300.

Naghbi F, Mosaddegh M, MohammadiMotamed S &GhorbaniA. (2005). Labiatae family in folk medicine in Iran : from ethnobotany to pharmacology. *Iran. J. Pharm. Res.* 2: 63-79.

NgeneJp, Ngoule Cc, Kidikpouka Cm, NdjibRc, Dibong Sd. AndmpondompondoE : (2015). Importance dans la pharmacopée traditionnelle des plantes à flavonoïdes vendues dans les marchés de Douala est (Cameroun). *Journal of Applied.*

NijveldtRj, Van Nood E, Van Hoorn De, BoelensPg, Van Norren K, Van Leeuwen Pa (2001). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr* 74, 418–425.

O’connell J.E., Fox P.F. (2001). Signification and applications of phenolic compounds in the production and quality of milk dairy products: a review. *International Dairy Journal.* 11(3): 103-120.

Packer L. (2001). Flavonoids and other polyphénols. Ed Academic Press, California, p483.

Parekh J, Chanda Sv (2007). In vitro antimicrobial activity and phytochemical analysis of some Indian medicinal plant, *Turk. J. Biol.* 31:53-58.

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

Popovici C., Ilonka S. & Bartek T., “Evaluation de l’activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH”, *Revue de génie industriel*, V. 4, (2009), 25-39 .

Quezel P. & Santana S., “Nouvelle Flore de l’Algérie et des Régions Désertique Méridionales”, Editions Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, Tome II, (1963), 977.

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

Quezel, F., Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l’algérie et des régions désertiques méridionales. Ed. CNRS, Paris-France, 12, 801-802.

Reguieg L., (2011). Using medicinal plants in Algeria. *Am J Food Nutr* 1 (3): 126–7.

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

Rolland Y., “Antioxydants naturels végétaux”, OCL., V. 11, n°6, (2004), 419-424

Rota Mc, Herrera A, Martinez Rm, Sotomayor Ja, JordánMj .(2000). Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils, Food control. 19:681-687.

Sahpaz S. Garabacki N. Tits M. BailleulF.(2002) . isolation and pharmacological activity of phenylpropanoids esters from *Marrubium vulgare* ; journal of Ethnopharmacology 79,389-392.

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.

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

Schlemper V, Ribas A, Nicolau M, Cechinel-Filho V. (1996). Antispasmodic effects of hydroalcoholic extract of *Marrubium vulgare* on isolated tissues. Phytomedicine. 3: 211-216.

Shariff F., Moshafi M. H., Mansouri S. H., Khodashenas M. & Khoshnoodi M., “In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora*”, Boiss. Food Control, V. 18, (2007), 800-805.

Sharma R. K., Sharma N., Samant S. S., Nandi S. K., & Palni L. M. S., “Antioxidant Activities in Methanolic Extracts of *Olea ferruginea* Royle Fruits”, International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics, V. 3, n°2, (2013), 154.

Sijelmassi A (2000) Les plantes médicinales du Maroc. Edition Le Fennec, 285 p.

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.

Sofowora A., (2010). Plantes médicinales et médecine traditionnelle d’Afrique. Edition Karthala p.22.

Tabuti J.R.S., Lye K.A., Dhillon S.S., (2003).Traditionalherbaldrugs of BulamogiUganda : plants, use and administration, Journal of Ethnopharmacology, 88: 19-44.

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

Yao, L.H., Jiang, Y.M., Shi, J., Tomas-Barberan, F.A., Datta, N., Singanusong, R., Chen, S.S. (2004).Flavonoids in Food and theirhealthbenefits. Plant. Food Hum. Nutr, 59 : 113-122.

