

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur de la Recherche Scientifique
Université de Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

Mémoire de fin d'études

**En vue de l'obtention de diplôme de master dans le domaine science de
la nature et de vie**

Filière de Biologie

Option : Microbiologie

**Etude de l'activité antibactérienne d'un
extrait d'une plante médicinale de la famille
des lamiacées**

Présenté par :

HAMTTAT ROMAISSA

KHERCHAOUI KATER ENNADA SALIMA

Date de soutenance 18 Juillet 2020 Devant le jury composé de :

- **Président : Keskess** **MAA** **F.S.N.V.** **Université de BLIDA**
- **Examineur : Allaoui.A** **MAB** **F.S.N.V.** **Université de BLIDA**
- **Promotrice : Chelghoum.H** **MCB** **F.S.N.V.** **Université de BLIDA**
- **Co-promotrice : Eaddaikra A.** **MCB** **F.S.N.V.** **Université de BLIDA**

Promotion : 2020/2021

REMERCIEMENTS

A Mme Chelghoum H, notre promotrice. C'est à la femme de science que s'adressent nos remerciements. Vous avez initié et dirigé ce présent travail avec la rigueur scientifique, l'enthousiasme et la persévérance qui sont les vôtres.

Aux tribulations diverses qui auraient pu compromettre la réalisation de ce travail, vous avez toujours trouvé les solutions qui s'imposaient.

Nous tenons à remercier madame Eaddaikra notre Co-promotrice.

Nos remerciements s'adressent également à tous les membres du jury, Mme keskess et Monsieur Allaoui, pour avoir accepté d'examiner ce travail.

A tous les enseignants qui ont contribué à notre formation.

Nos parents qui nous ont soutenus tout au long de nos études universitaires.

A tous les étudiants de la promotion 2020 - 2021.

Enfin, nous remercions tous ceux et toutes celles qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

DÉDICACES

Je profite de cette occasion pour adresser mes vifs et sincères remerciements à :

Ma mère : merci pour votre grande attention à notre éducation, seul le grand DIEU peut vous remercier pour tout ce que vous avez fait pour moi

Ma sœur Asma et mon beau-frère Youcef :

La vie n'a pas été toujours rose, mais unis et solidaires nous allons mener une vie meilleure avec l'aide de DIEU. Je vous remercie pour le temps que vous avez fourni pour m'aider à cette modeste recherche.

Mes sœurs : Fatima, Yousera et toute ma famille.

Mon encadreur : Mme Chelghoum. H pour votre joie dans l'accueil et dans le travail. Votre humanisme et votre disponibilité sont très touchants. Les mots me manquent pour vous remercier. Sachez que ce travail est le vôtre

Merci mes dames les jurés pour votre diligence de correcteurs.

A tous mes amis de promotion 2020 /2021.

Tous ce qui attribut de près de loin à élaborer ce modeste travail et à tous ce que nous n'avons pas pu évoquer leurs noms et qui nous ont été d'une aide morale et matérielle.

ROMAISSA

Dédicace

Je dédie ce travail à :

Mes chers parents D'avoir prié pour moi de moi et Je leurs exprime ma
profonde reconnaissance pour leurs efforts, sacrifices et encouragements
durant tout mon parcours ainsi pour leur amour, leur confiance, leur soutien
moral

Et mes frères : Fares, Fadi, Iyed et Jad.

Aussi à ma chère grande mère qui a décidée cette année paix à son âme qui
a vraiment m'encourager et ma donnée des conseils en or.

Je dédicace aussi ma chère amie et ma sœur Nesrine qui a été toujours à ma
cotè aussi mes amies Faiza, Marwa, Wafia et Chaima.

A mes collègues de promotion 2020/2021 ainsi que mon binôme Romaiissa.

NADA

RÉSUMÉ

Les plantes médicinales sont une partie importante de notre richesse naturelle, elles servent d'agents thérapeutiques importants ainsi que des matières premières précieuses pour la médecine traditionnelle et moderne.

Marrubium vulgare est une plante médicinale recensée dans des populations végétales, reconnu par son intérêt thérapeutique, l'une des plus riches plantes aux composants précieux des traitements à base de plantes pour une variété de maladies. Elle est largement diffusée dans l'Algérie. Une deuxième étude a été réalisée sur les huiles essentielles de la plante médicinale la citronnelle (*Cymbopogon citratus*) qui est très connue depuis l'antiquité. C'est une plante à rhizomes appartenant à la famille des Poacées.

Cette étude a été réalisée afin de démontrer le pouvoir antibactérien de Marrube blanc. La plante a été récoltée de la région d'Ain defla Algérie. L'extraction est réalisée avec l'éthanol par la méthode de macération sous agitation pendant 72 h. L'analyse a révélé la présence des flavonoïdes 0,0649 mg EQ/ml d'extrait sec, et des polyphénols avec teneur de 0,013 mg EAG/ml d'extrait sec. L'activité antibactérienne a été déterminée à partir de méthode diffusion sur des disques contre les souches bactérienne avec des zones importantes : *Bacillus subtilis* (11mm), *Staphylococcus aureus* (15mm), *Escherichia coli* (15mm) et *Pseudomonas aureginosa* (25mm). L'objectif assigné à notre deuxième travail consiste à évaluer in vitro, le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle (HE) de la citronnelle (*Cymbopogon citratus*) vis-à-vis de plusieurs souches de référence par méthode de diffusion sur disque. Toutes les souches a révélé sensibles à l'action inhibitrice de l'HE. C'est principalement les Gram+ qui étaient les plus sensibles avec une zone d'inhibition de 65mm pour *Bacillus subtilis*, suivi par *Staphylococcus aureus* 53.5 mm.

Les tests de l'activité antibactérienne sur les deux plantes ont montré la puissance antibactérienne de l'extrait hydro-éthanolique et des huiles essentielles testées, l'effet bactéricide varie selon la nature de la souche et la concentration utilisée.

Mot clés : *Marrubium vulgare*, polyphénols, flavonoïdes, *Cymbopogon citratus*, Antibactérienne.

Abstract

Medicinal plants are an important part of our natural wealth, they serve as important therapeutic agents as well as valuable raw materials for the manufacture of many traditional and modern medicines.

Marrubium vulgare is a medicinal plant identified with plant populations, recognized for its therapeutic interest, one of the most valuable components of herbal treatments for a variety of diseases. It is widely distributed in Algeria. A second study was carried out on the essential oil (EO) of the medicinal plant lemongrass (*Cymbopogon citratus*) which has been a well-known since ancient times. It is a rhizomatous plant belonging to the *Poaceae* family.

These studies were carried out in order to provide evidence of its antibacterial power and to expand its use in biological fields. The plant was harvested from the Ain region of Algeria. The extraction is carried out with ethanol by the maceration method with stirring for 72 h. The analysis revealed the presence of flavonoids 0.013 mg EQ/ml of extract, and polyphenols with a content of 0.0649 mg EAG/ml extract in the extract isolated from the leaves. The antibacterial activity was determined using the diffusion method on disks against the bacterial strains with prominent areas : *Bacillus subtilis* (11mm), *Staphylococcus aureus* (15mm), *Escherichia coli* (15mm) and *Pseudomonas aeruginosa* (25mm). The objective assigned to our second work consists in evaluating, in vitro, the antimicrobial power of the essential oil (EO) of citronella (*Cymbopogon citratus*) against several reference strains, by method of diffusion on disc. All the strains are sensitive to the inhibitory action of EO, it is mainly the Gram + which were the most sensitive with an inhibition zone of (65 mm) for *Bacillus subtilis*, followed by *Staphylococcus aureus* (53.5mm).

Antibacterial activity tests on both plants showed the antibacterial power of hydroethanolic extract and The EO tested, the bactericidal effect varies depending on the nature of the strain and the concentration used.

Keywords: *Marrubium vulgare*, polyphenols, flavonoids, *Cymbopogon citratus*, Antibacterial.

ملخص

تعتبر النباتات الطبية جزءًا مهمًا من ثروتنا الطبيعية، فهي بمثابة عوامل علاجية مهمة وكذلك مواد خام قيمة لتصنيع العديد من الأدوية التقليدية والحديثة. الماريوت هو نبات طبي محدد مع مجموعات نباتية، معترف به لفائدته العلاجية، وهو أحد المكونات الأكثر قيمة للعلاج بالأعشاب لمجموعة متنوعة من الأمراض. يتم توزيعه على نطاق واسع في الجزائر. تم إجراء دراسة ثانية على الزيوت الطيارة لنبات حشيشة الليمون الطبية (*Cymbopogon citratus*) التي هي نباتًا طبيًا معروفًا منذ العصور القديمة، إنه نبات جذري ينتمي إلى عائلة Poaceae. أجريت هذه الدراسات من أجل تقديم دليل على القوة المضادة للبكتيريا الخاصة بنبات الماريوت وتوسيع استخدامها في المجالات البيولوجية. تم اقتناء النبتة من منطقة عين دفة بالجزائر. تم الاستخلاص بالإيثانول بطريقة النقع مع التحريك لمدة 72 ساعة. أظهر التحليل وجود فلافونويد 0.0649 مغ EQ / مل من مستخلص النبتة ووجود مركبات الفينول 0.013 مغ EAG / مل مستخلص النبتة معزولة من الأوراق. تم تحديد الفعالية المضادة للبكتيريا باستخدام طريقة الانتشار على الأقراص ضد البكتيريا ابرزت مناطق مهمة: (15م) لكل من *Escherichia coli* و *Bacillus subtilis* *Pseudomonas aeruginosa*، يتمثل الهدف المخصص لعملنا في تقييم فعالية الزيوت الطيارة لنبتة *Cymbopogon citratus* المضادة للميكروبات مقابل العديد من السلالات المرجعية، من خلال طريقة الانتشار على القرص. جميع السلالات كانت حساسة لتأثير المثبط لـ، وهي في الأساس الجرام + التي كانت الأكثر حساسية مع منطقة تثبيط 65 مم للعصيات الرقيقة، تليها المكورات العنقودية الذهبية (53.5).

أظهرت اختبارات النشاط المضاد للبكتيريا لكلا النباتين القوة المضادة للبكتيريا للمستخلص و الزيت الاساسي الذي تم اختباره، ويختلف تأثير مبيد الجراثيم اعتمادًا على طبيعة السلالة والتركيز المستخدم.

الكلمات الرئيسية: الماريوت - حشيشة الليمون - مركبات الفينول - فلافونويد - مضاد البكتيريا.

Sommaire

Introduction.....	1
<i>1 Rappels bibliographiques</i>	
1.1 Les plantes médicinales.....	2
1.1.1 La phytothérapie	2
1.1.2 La famille des lamiacées	2
1.1.3.2 Classification botanique	4
1.1.3.3 Appellation internationale.....	5
1.1.3.4 Habitat et culture.....	5
1.1.3.7 Formes d'utilisations et posologies.....	7
1.2.1 Propriétés antioxydants.....	10
1.2.2 Mécanisme d'action et propriétés antibactériennes de <i>M. vulgare</i>	10
1.3.1 Description botanique	12
1.3.2 Huiles essentielles de la citronnelle.....	13
1.3.3 Propriétés thérapeutiques et utilisation traditionnelle.....	14
1.4 Les souches bactériennes	14
<i>2 Matériels et méthodes</i>	
2.1 Matériels	16
2.1.1 Matériel Biologique	16
2.1.1.3 Souches bactériennes	18
2.1.1 Matériel non biologique	18
2.2 Méthodes.....	18
2.2.2 Dosage des métabolites secondaire contenus dans l'extrait hydro-éthanolique de.....	20
2.2.2.1 Dosage des composés phénoliques.....	20
2.2.2.2 Dosage des flavonoïdes.....	20
2.2.3 Etude de l'activité antibactérienne de l'extrait hydro-éthanolique de <i>M. vulgare</i>	21
2.2.5 Lecture des résultats.....	22
<i>3 Résultats et discussion</i>	

<i>3.1 Rendement d'extraction</i>	23
<i>3.2 Teneur des composés phénoliques dans l'extrait brut éthanolique</i>	24
<i>3.3 Teneur des flavonoïdes dans l'extrait brut éthanolique</i>	25
<i>3.4 L'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de M. vulgare</i>	26
<i>Conclusion</i>	34
<i>Références bibliographique</i>	
<i>Annexes</i>	

Liste des figures

Figure 1 : Répartition géographique de la famille des <i>Lamiacées</i> dans le monde entier	3
Figure 2 : l'espèce <i>Marrubium vulgare</i> L).....	4
Figure 3 : Citronnelle (<i>Cymbopogon citratus</i>)	13
Figure 4 : <i>Marrubium vulgare</i>	17
Figure 5 : <i>Marrubium vulgare</i> séchée	17
Figure 6 : Protocole d'extraction par macération de <i>Marrubium vulgare</i>	19
Figure 7 : Courbe d'étalonnage de l'acide gaélique	24
Figure 8 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	25
Figure 9 : d'inhibition de l'extrait éthanolique de <i>M. vulgare</i>	27
Figure 10 : Zones d'inhibition des huiles essentielles de plante médicinale <i>Cymbopogon citrat</i>	30
Figure 11 : Zones d'inhibition des huiles essentielles de plante médicinale <i>Cymbopogon citratus</i>	31

Liste des tableaux

Tableau I : Classification botanique de <i>Marrubium vulgare</i>	4
Tableau II: Différentes appellations de <i>Marrubium vulgare</i> en plusieurs langues.....	5
Tableau III : Indications thérapeutiques et proposition de dosage pour la partie aérienne de <i>Marrubium vulgare</i> L reconnues par l'EMA et la Commission allemande E	8
Tableau VI : Principales actions biologiques de <i>Marrubium vulgare</i> L	11
Tableau N°V : Pourcentage de l'extrait brut éthanolique de <i>Marrubium vulgare</i>	23
Tableau VI : Résultats de la teneur en composés phénoliques totaux de l'extrait brut hydro-éthanolique de <i>Marrubium vulgare</i> à différentes concentrations	24
Tableau VII : Résultats de la teneur en flavonoïdes de l'extrait brut hydro-éthanolique de <i>Marrubium vulgare</i>	25
Tableau VIII: Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de <i>M. vulgare</i> par la méthode des disques	26
Tableau X: Résultats de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de <i>Cymbopogon citratus</i> par diffusion en disque.....	29

Liste abrégations

EMA : Agence Européenne des médicaments

M. vulgare : *Marrubium vulgare*

HE : huile essentiel

UV : ultra-violette

MH : Muller Hinton

G : gentamicine

E.C : *Escherichia coli*

S : *Staphylococcus*

P : *Pseudomonas*

B. subtilis : *Bacillus subtilis*

DO : Densité optique

Min : minute

DZI : diamètre de zone d'inhibition

EAG : équivalent acide galique

EQ : équivalent de quercétine

3/J : trois fois par jour

Gram+ : bactéries à gram positif

Gram - : bactérie à gram négatif

Glossaire

α -pinène, α -PN : est un mon terpène bicyclique. Il a pour isomère le β -pinène. Il est connu pour ses propriétés antiseptiques. Il peut aussi être prescrit en cas d'hypersécrétion bronchique.

Alcaloïdes : Composé organique azoté et basique tiré d'un végétal (La morphine, la quinine, la strychnine sont des alcaloïdes).

Acide ursolique : est un composé organique de formule brute $C_{30}H_{48}O_3$. C'est un tri terpène penta cyclique que l'on trouve largement dans la pelure de certains fruits, ainsi que dans les herbes et épices comme le romarin et le thym.

Apigénine : est un composé chimique de la famille des flavones, une sous-classe des flavonoïdes, qui a des propriétés anti-inflammatoires. Elle est présente dans le persil, le plantain, l'achillée millefeuille, le romarin, le cannabis, la passiflore et aussi la camomille.

Aromathérapie: Thérapeutique par ingestion, massage du corps ou inhalation d'huiles essentielles végétales ou d'essences aromatiques.(L'aromathérapie est une branche de la phytothérapie, traitement des maladies par des produits dérivés des plantes).

Camphène : Hydrocarbure terpénique $C_{10}H_{16}$, existant dans de nombreuses huiles essentielles (bergamote, camphre, citronnelle, térébenthine).

Cosmopolite: Se dit d'une espèce quand elle est présente dans toutes les parties du monde.

Décoctions : Opération qui consiste à extraire les principes actifs d'une substance par action d'un liquide porté à ébullition.

Diterpènes : Nom générique des hydrocarbures $C_{20}H_{32}$ dérivant de l'isoprène, et des composés dérivant de ces hydrocarbures. (Les diterpènes se rencontrent dans les règnes végétal et animal. Certains d'entre eux ont un important rôle industriel [acide abiétique] ou biologique (vitamine A).

Huile essentiel : Substance grasse, liquide à la température ordinaire et insoluble dans l'eau, D'origine végétale, animale ou minérale, employée à de nombreux usages.

Limonène: Hydrocarbure terpénique C₁₀H₁₆, employé comme solvant, très répandu dans le règne végétal (citron, bergamote, pin) lurtéoline ou lutéolol : est un composé chimique de la famille des flavonoïdes, et plus spécifiquement l'une des flavones les plus communes. Elle fut isolée pour la première fois par le chimiste français Michel-Eugène Chevreul à partir de la gaude.

Monotèrpinique : un adjectif qui se rapporte aux monoterpènes qui est le nom générique des hydrocarbures cycliques C₁₀H₁₆, dérivés du diméthyle 2,6 octane. (Ils jouent un rôle important dans les industries de la parfumerie et des arômes alimentaires.)

Phénylpropanoïdes : sont une classe de composés organiques, dérivés de plantes, biosynthétisés à partir d'un acide aminé, la phénylalanine. Ils ont une grande variété de fonctions, comme la défense contre les herbivores, les attaques microbiennes et les autres agresseurs potentiels

Stéroïdes: Hormone stéroïde ou stéroïde, nom générique des hormones dérivées des stérols, sécrétées par les glandes endocrines (corticosurrénales, glandes génitales [testicules et ovaires], placenta).

Introduction générale

Introduction

Après de nombreuses tentatives pour trouver une alternative aux antibiotiques, en raison de la capacité des bactéries pathogènes qui sont devenus résistantes à ces derniers. De nombreux scientifiques se sont intéressés aux composés végétales pour les utiliser en phytothérapie.

Ces dernières années, un grand nombre d'études ont montré que les composés phytochimiques exercent leur activité antibactérienne par différents mécanismes d'action, tels que les dommages et l'inhibition de la membrane bactérienne, facteurs de virulence, y compris l'inhibition de l'activité des enzymes et des toxines, ainsi que la formation des biofilm bactériens (Barbieri et *al.*, 2017). Les propriétés antimicrobiennes de plusieurs familles des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité (Yano et *al.*, 2006).

L'Algérie est un pays connu pour ces ressources naturelles, dispose d'une flore singulière riche et variée. On compte environ 3000 espèces de plantes dont 15% endémiques et appartient à plusieurs familles botaniques (Gaussen, 1982). Les lamiacées qui sont l'une des familles connues depuis longtemps pour leurs propriétés médicinales, aromatique ou culinaire est très populaire en Algérie. Elle renferme différentes plantes telles que : le marrube blanc (*Marrubium vulgare*) (Ali, 2006). Et aussi la famille de Poacées qui est connue depuis l'antiquité pour ces différents bienfaits.

Le but de ce travail est basé sur la caractérisation et l'étude de l'activité antibactérienne de l'extrait hydro-alcoolique du *Marrubium vulgare* d'une part et de tester l'activité antibactérienne d'Huile essentielle de *Cymbopogon citratus* d'autre part.

Notre travail a été divisé en trois parties, la première concernant l'étude bibliographique, comprend un chapitre sur l'étude botanique de la famille *lamiaceae* et l'espèce *Marrubium vulgare* et la citronnelle. Une deuxième partie portera sur les matériels et les Méthodes utilisées pour évaluer ce travail.

La troisième partie, est consacrée aux résultats des différents tests faits sur l'extrait hydro-alcoolique de *Marrubium vulgare* et d'Huile essentielle de *Cymbopogon citratus*. Enfin, on termine par une conclusion générale dans laquelle sont récapitulés les principaux résultats obtenus.

Revue bibliographique

1 Revues bibliographiques

1.1 Les plantes médicinales

Les plantes médicinales sont toutes les plantes qui contiennent une ou plusieurs substances qui peuvent être utilisées à des fins médicinales ou comme précurseurs dans la synthèse de médicaments utiles (Sofowora, 2010).

Les plantes médicinales constituent une partie importante de notre mode naturel. Elles servent d'agent thérapeutique important ainsi que de matière première pour de nombreux médicaments traditionnels et modernes (Abdul motaleb, 2011).

1.1.1 La phytothérapie

La phytothérapie (En grec, *Phytos* : végétal et *Therapein* : soigner) est l'art de soigner par les plantes (Morel, 2008). Notre médecine traditionnelle malgré le développement important de l'industrie pharmaceutique, a permis à la médecine moderne de traiter un grand nombre de cas souvent mortels. Environ 80% de la population mondiale a bénéficié des apports de la phytothérapie traditionnelle, reconnaissant ainsi le savoir expérimental de nos ancêtres (El-Rhaffari et Zaid, 2004).

Selon l'OMS, les herbes sont considérées comme un médicament et sont encore largement utilisées dans certains pays, y compris les pays en développement. Il s'agit le plus souvent d'un médicament unique en raison du manque d'études cliniques (Clément, 2005). En phytothérapie traditionnelle, les plantes peuvent être utilisées fraîches ou séchées, puis mises dans diverses préparations pour préserver leurs principes actifs. On les administre sous forme de macérats, tisanes, compresses, baumes, etc.. (Morel, 2008).

1.1.2 La famille des lamiacées

La famille *Lamiaceae* ou *Labiatae* contient de nombreuses plantes médicinales précieuses. La famille comprend 236 genres et entre 6900 et 7200 espèces. Les plantes de la famille des Lamiales riches en huiles essentielles ont une grande valeur en médecine naturelle, pharmacologie, cosmétologie et aromathérapie (Acimović et al., 2020).

Les membres les plus connus de cette famille sont une variété d'épices aromatiques comme le thym, la menthe, l'origan, le marrube, le basilic, la sauge, la sarriette, le romarin, l'hysope, la mélisse et quelques autres à usage plus limité (Acimović et al., 2020).

La répartition géographique des Lamiacées est cosmopolite (figure 1). Les lamiacées se trouvent sous tous les climats et à toutes les altitudes. De 200 genres dans la famille sont presque cosmopolites, les autres genres sont plus retenus (Judd et *al.*, 2002). Les Lamiacées se retrouvent rarement dans le milieu forestier tropical, mais elles se concentrent dans la région méditerranéenne (Bruneton, 2001).

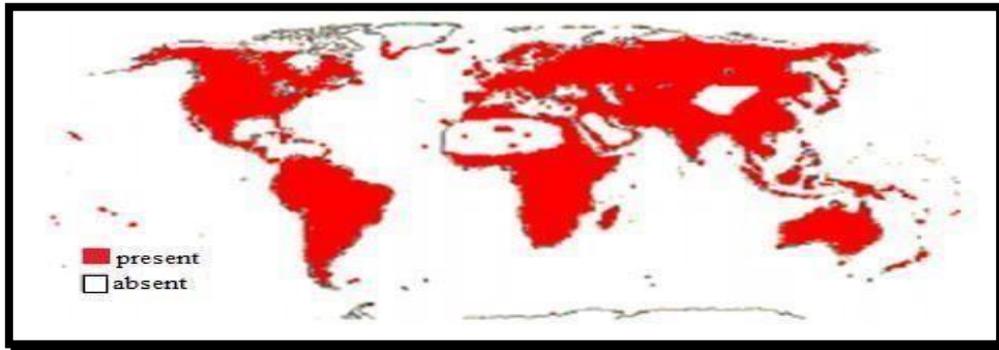


Figure 1: Répartition géographique de la famille des Lamiacées dans le monde entier (Tabti, 2017).

1.1.3 Le genre *Marrubium*

Le genre *Marrubium* comprend environ 75 espèces répandues dans une grande partie du globe et notamment en Europe et en Asie. On compte 50 espèces sur le pourtour méditerranéen (Greuter, 2010).

En Algérie, on retrouve 6 espèces différentes au sein de ce même genre : *Marrubium vulgare*, *Marrubium supinum*, *Marrubium peregrinum*, *Marrubium alysson*, *Marrubium alysoi* de Pomel et *Marrubium deserti* de Noé (Quezel et Santa, 1963).

✓ **Description, classification botanique et propriétés de *Marrubium vulgare***

Marrubium vulgare est régulièrement utilisé en médecine traditionnelle pour soigner une diversité des maladies (Aćimović et *al.*, 2020).

Le Marrube est une Arbuste, d'aspect blanchâtre très rameux, à poils laineux appliqués, à petites feuilles en coin à la base et portant quelques dents au sommet, fleurs en petites glomérules à l'aisselle des paires de feuilles (Ozenda, 2004). Elle est velue et grisâtre. Dressées, portant souvent de nombreuses pousses courtes et stériles, de 40 à 60 cm de long (Bellakhdar, 1997). Les fleurs sont blanches et en verticilles axillaires serrés. Le calice est tubulaire et divisé en 10 segments étroits à la marge, qui sont crochus à l'extrémité (Lodhi et *al.*, 2017) (figure2).

Le fruit est un tétra-akène. Toute la plante dégage une odeur forte, sa saveur est âcre (qui irrite les organes du goût et de l'odorat) et amère (Aouadhi, 2010).



Figure 2 : l'espèce *Marrubium vulgare* L (www.inpn.mnhn.fr , 2021).

✓ **Classification botanique**

Selon Judd et *al.*, (2002) et Gilly et *al.*, (2005), la position systématique de l'espèce *Marrubium vulgare* L est représentée dans le tableau I.

Tableau I : Classification botanique de *Marrubium vulgare*.

Règne	Plantae
Sous Règne	Tracheobionta
Embranchement	Mangliophyta
Classe	Mangliopsida
Sous classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae / Labiatae
Genre	Marrubium
Espèce	<i>Marrubium vulgare</i>

✓ **Appellation internationale**

Le Marrube est composé de deux mots hébreux : Mar, rob, suc amer (Bonnier, 1986).

Marrubium vulgare est connue avec plusieurs noms régionaux dans différentes parties du monde comme présente le tableau II :

Tableau II: Différentes appellations de *Marrubium vulgare* en plusieurs langues.

Langue	Appellation	Auteur
Arabe	Algérie : Marriouth	(Quezel et Santa, 1963)
	Maroc : Merrîwt	(Bellakhdar, 1997)
	Tunisie : Marrouibia	(Boukef, 1986)
Français	Marrube blanc	(Badiviane ,1996)
Anglais	White horehound	

✓ **Habitat et culture**

M .vulgare pousse dans toute 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). C’est une plante rustique qui préfère être en plein de soleil et dans un sol bien drainé (Iserin, 2016).

En Algérie, l’espèce *Marrubium vulgare.L* est assez commune de l’ensemble du territoire, très présente au nord et quasiment absente au sud (Bouterfas, 2016).

✓ **La composition biochimique de *M. vulgare***

Des études phytochimiques antérieures ont montré la présence des diterpènes amers de la série des furanolabdanes, d'alcaloïdes, de lactones, d'hétérosides flavoniques, de stéroïdes, de flavonoïdes, de tanins, et d'esters phénylpropanoïdes chez *M. vulgare* (Ahvazi, 2018).

On y trouve surtout des composés de lactones : marrubiine principalement et son précurseur pré uranique, la prémarrubiine, mais aussi du pérégrinol, du vulgarol, du marrubénol et du marrubiol, de la lurtéoline ou de l'apigénine, et aussi des lactoylflavones, et quelques dérivés de l'acide ursolique (Boutlis, 2014).

Elle contient plusieurs composants utiles biologiquement actifs. Son composant le plus connu est la marrubine et son précurseur préfuranique la prémarrubiine (Ce chinel, 2018).

M. vulgare produit des traces d'huile essentielle, généralement entre 0,03 % et 0,06 % avec des monoterpènes tels que le camphène, le p-cymol, le fenchène, le limonène, le -pinène, le sabinène et α -terpinol (Aćimović et al., 2020).

✓ **Utilisation traditionnelle de *M. vulgare***

Le marrube blanc est très connu depuis l'antiquité, IL est utilisé en médecine traditionnelle pour différents types des maladies humaines (Ce chinel, 2018).

Les parties de la plante les plus utilisées sont les feuilles. Les modes d'utilisation les plus fréquents sont l'infusion pour l'usage interne et la décoction pour l'usage externe (Boutabia et al., 2020).

Dans l'Égypte de la haute Antiquité, le Marrube blanc était déjà reconnu pour ses propriétés apaisantes contre la toux. On s'en servait également comme insectifuge et comme antidote contre plusieurs poisons (Boutlis, 2014), il était déjà considéré comme un traitement spécifique des affections de l'appareil respiratoire dans l'Égypte et la Grèce anciennes. Une infusion de marrube blanc pulvérisée sur les arbres fruitiers qui aident à tuer les chancres. Il est considéré comme « l'une des meilleures plantes d'Europe » (Lodhi, 2017 ; Schlempher, 1996).

Les Grecs de l'Antiquité l'utilisaient contre les morsures de chiens enragés. En médecine ayurvédique, chez les aborigènes d'Australie et les Amérindiens d'Amérique du Nord, le Marrube servait à traiter les infections des voies respiratoires (Boutlis, 2014).

En Algérie divers médicaments à base de plante *M. vulgare* sont utilisés comme expectorant dans la toux associée au rhume, pour le traitement symptomatique des plaintes dyspeptiques, telles que la perte temporaire d'appétit (Hammiche et *al.*, 2015 ; Foster et *al.*, 2002).

L'herbe est utilisée pour préparer le bonbon marronnier bien connu, qui, en raison de son agréable goût est utilisé pour soulager la toux, l'enrouement et la bronchite. Elle est largement utilisée comme agent aromatisant (Aćimović et *al.*, 2020).

Le marrube blanc aussi utilisé comme tonique amer, et diurétique. En plus d'une utilisation généralisée dans le traitement des troubles respiratoires. Extérieurement, il est utilisé pour les dommages de la peau, ulcères et plaies (Aćimović et *al.*, 2020).

✓ **Formes d'utilisations et posologies**

L'administration orale est la seule voie d'administration des préparations herbacées du marrube blanc dans les indications traditionnelles (herba, 2013).

Les dosages du médicament à base de *M. vulgare* sont décrits dans le tableau III ci-dessous :

Tableau III : Indications thérapeutiques et proposition de dosage pour la partie aérienne de *Marrubium vulgare L.* reconnues par l'EMA et la Commission allemande E (Boutlelis, 2014 ; Nsemi, 2014).

Indication thérapeutique	Posologies proposés	
	EMA	Commission allemande E
Expectorant dans le catarrhe associé au refroidissement	-Plante coupée : 1-2g/250 ml eau bouillante 3/j -Teinture : 7,5 ml trois fois jour	-Dose quotidienne : 4 à 5 g de matériel végétal frais / séché ou dose équivalente
Symptômes de dyspepsie tels que gonflement ou Flatulence	-Poudre (1 gélule) : 225-445 mg 3/j -Extrait sec (2 gélules) : 4,5g /jour	-L'administration doit être séparée pour les repas et les autres médicaments pendant au moins 30 minute
Perte d'appétit temporaire	-Jus : 10-20 ml 3/j -L'administration doit être à distance pour les repas et les autres médicaments pendant au - 30 min	

1.1.4 Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des composés qui ont un rôle dans l'interaction cellulaire avec l'environnement. Ces composés sont couramment impliqués dans la défense contre les stress biotiques ou abiotiques (Pagare et *al.*, 2015).

✓ Les composés phénoliques

Les polyphénols forment un très vaste ensemble de substances chimiques. Ces composés sont caractérisés par la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles. La structure des composés phénoliques naturels varie de molécules simples (acides phénoliques simples) aux molécules les plus hautement polymérisées (Bruneton, 1999 ; Malviya, 2010).

Les composés phénoliques jouent un rôle dans la protection contre les espèces pathogènes

Et les herbivores ainsi que la limitation des dommages dus aux radiations ultraviolettes. L'astringence et l'amertume des aliments et des boissons dépendent de la teneur en polyphénols (Bouterfas et *al.*, 2016).

Les polyphénols peuvent être classés dans de nombreuses classes, mais les principales classes de polyphénols sont acides phénoliques, flavonoïdes, alcools phénoliques et lignanes (Abbas et *al.*, 2017).

A. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont largement répandus chez les plantes. Ils dérivent principalement de l'acide benzoïque ou de l'acide cinnamique et comportent un radical COOH. Ils se trouvent souvent sous la forme de glycosides ou d'esters (Dacosta et *al.*, 2003).

B. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6 000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires. Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (Ghedira et *al.*, 2005). Les flavonoïdes peuvent être divisés en un assortiment de classes, par exemple, les flavones (par exemple, la flavone, l'apigénine et la lutéoline), les flavonols (par exemple, la quercétine, le kaempférol, la myricétine et la fisétine) et les flavanones (e.g., flavanone, hesperetin, and naringenin) (Ferraz et *al.*, 2020).

Ils sont capables de moduler l'activité de certaines enzymes et de modifier le comportement de plusieurs systèmes cellulaires, suggérant qu'ils pourraient exercer une multitude d'activités biologiques, notamment des propriétés antioxydantes, vasculoprotectrices, anti-hépatotoxiques, antiallergiques, anti-inflammatoires, antimicrobiennes, antiulcéreuses et même antitumorales significatives (Ghedira et *al.*, 2005 ; Albuquerque et *al.*, 2018).

C. Les tanins

Les tanins constituent un groupe hétérogène de composés polyphénoliques, présents dans un nombre considérable d'aliments végétaux. Le terme tanin est dérivé des propriétés de ces composés d'interagir et de précipiter les macromolécules, telles que les protéines, qui les rendent capables de bronzer le cuir animal. Par la suite, une définition générale des tanins a émergé, les désignant comme des polyphénols de haut poids moléculaire qui précipitent les protéines de la solution (Combs, 2016).

1.2 Les activités biologiques de *M.vulgare*

1.2.1 Activité antioxydante

Les huiles essentielles et les extraits obtenus à partir des parties aériennes de *Marrubium vulgare* se sont avérés avoir de fortes activités antimicrobiennes et antioxydantes.

Certaines études ont démontré que la présence de marrubine est le responsable d'activité antioxydante de *M. vulgare* ainsi que de composés phénoliques et de flavonoïdes exerçant un effet antioxydant, anticoagulant, antiplaquettaire et anti-inflammatoire important a été attribué à la marrubine (Ahvazi et al., 2018).

1.2.2 Mécanisme d'action et propriétés antibactériennes de *M.vulgare*

L'action antibactérienne de *M. vulgare* sans aucun doute est très compliquée et peut impliquer une variété des modes d'action (Tableau VI), tels que l'inhibition d'enzymes microbiennes extracellulaires, la chélation de substrats nécessaires à la croissance bactérienne ou la chélation de métaux tels que le fer, l'inhibition du métabolisme microbien et la dégradation des parois cellulaires, la destruction des membranes cytoplasmiques et l'apparition de fuite de composants cellulaires tels que l'ADN et l'ARN, les protéines et les systèmes lipidiques (Abedini, 2013).

Le pouvoir antimicrobien de *M. vulgare* est dû essentiellement à ces principes actifs tels que les huiles essentielles, les flavonoïdes et les tanins (Albuquerque et al., 2018).

La haute lipophilie des composés phénoliques renforce leur pouvoir antimicrobien, en favorisant leur interaction avec les membranes cellulaires et en induisant des dommages irréversibles à la membrane plasmique. Il peut également conduire à une inhibition enzymatique dans la cellule (Bouarab-Chibane et al., 2019).

Dans l'ensemble, une telle activité antibactérienne de *Marrubium vulgare* pourrait être aussi en raison de la présence de 1,8-cinéole, de camphre et de linalol, qui sont bien connus pour leurs activités antibactériennes, ou de la présence de β -caryophyllène pour lequel une activité antimicrobienne est décrite, et la présence des monoterpènes oxygénés, qui sont particulièrement actifs contre les cellules microbiennes (Bouterfas et al., 2016).

Les flavonoïdes peuvent également affecter la synthèse des protéines et de l'ARN en inhibant le métabolisme énergétique et la synthèse de l'ADN. Dans le cas des bactéries Gram+, des changements de pH intracellulaire et des interférences avec le système

de production d'énergie (ATP) ont été rapportés. Les flavonoïdes peuvent se lier à des protéines solubles situées à l'extérieur des cellules et de la paroi des cellules bactériennes favorisant ainsi la formation du complexe (flavonoïde- bactérie) (Bouarab-Chibane et *al.*, 2019).

Tableau VI : Principales actions biologiques de *Marrubium vulgare L* (Rodríguez, 2016).

Actions pharmacologiques	Composés pharmacologiques	Mécanismes impliqués
Antioxydante	-Composés phénoliques.	<ul style="list-style-type: none"> - Chélatant l'effet des ions Cu^{2+} libre et empêche la catalyse oxydative. - Diminution de la production des intermédiaires réactifs.
Antimicrobien antifongique	/ -Composés phénoliques -Tanins condensés.	<ul style="list-style-type: none"> - Action sur la membrane cellulaire de Gram+ et Gram- -Viabilité réduite des micro-organismes infectieux.
Cardio-protectrice	-marrubénol et les esters phénylpropanoïdes.	<ul style="list-style-type: none"> - Blocage des canaux calciques de type L et d'inhibiteurs de la cyclooxygénase (COX). - Protection des cardiomyocytes contre la mort induite par l'hypoxie.
Hépto-protectrice	-Polyphénols et autres antioxydants.	-Rupture des hépatocytes inférieurs.
Hypo-cholestérol	-Acide mic-6- octadécénoïque.	Cholestérol total inférieur, cholestérol LDL Fraction et triglycérides plasmatiques. Fraction HDL cholestérol plus élevé.

Antihypertenseur	-Marrubénol et composés apparentés à la structure.	-Blocus sélectif des canaux Ca ²⁺ de type L
Antispasmodique vasorelaxant	- Flavonoïdes. -Marrubénol et composés apparentés à la structure.	-Interférence sur l'absorption des ions Ca ²⁺ dans le cytoplasme ou pendant la libération des organites intracellulaires. -Blocage sélectif des canaux Ca ²⁺ de type L dans les muscles lisses intestinaux.

1.3 Généralités sur la Citronnelle (*Cymbopogon citratus*)

Le genre *Cymbopogon* comprend une cinquantaine d'espèces originaire d'Asie mais dont certaines sont depuis très longtemps introduites et naturalisées dans tout le monde (Teuscher et al., 2005). La citronnelle est une plante herbacée tropicale de la famille Poaceae elle est connue depuis longtemps, elle est utilisée ;depuis des siècles, et ce pas seulement dans la cuisine ou la médecine mais aussi dans le domaine thérapeutique et biologique. On cultive cette plante pour son huile qui sert de parfum, d'assaisonnement et de remède. Son parfum, rappelant l'odeur du citron, est à l'origine de son nom (Teuscher et al., 2005 ; Kouame et al., 2016).

1.3.1 Description botanique

La citronnelle (Figure 03) est une plante vivace de la famille des Poacées ou de la famille des graminées. La citronnelle contient de grande quantité des huiles essentielles à haute teneur en citral et en géraniol (Kouame et al., 2016). C'est une plante formée de tiges serrées pouvant atteindre 1,5 m de haut, lisses et glabres. Elles forment des touffes composées de feuilles linéaires, terminées en pointe, de 90 cm de long sur 3 à 5 cm de large ; ces feuilles sont raides, coupantes, lisses sur leurs deux faces et de couleur vert claire grisâtre. Elle a une forte odeur de citron quand on la froisse. (Teuscher et al., 2005).



Figure 03 : Citronnelle (*Cymbopogon citratus*) (www.the-passion.fr 2021)

1.3.2 Les Huiles essentielles de la citronnelle

Les huiles essentielles sont un extrait naturel dérivé de plantes aromatiques (Wegrzyn and Lamendinh, 2005). Elles concentrent le parfum de la plante, elles contiennent des substances volatiles, de consistance huileuse, très concentrées, offrant une forte concentration en principes actifs (Lardry and Haberkorn, 2007). Il est difficile d'obtenir des grandes quantités d'HE. Selon la Pharmacopée Européenne: « l'HE est un produit odorant, de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'HE est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition » (Ph. Eur., 2005).

HE de la citronnelle est obtenu à partir des feuilles fraîches ou sèches, que l'on récolte plusieurs fois par an. La matière fraîche de citronnelle contient de 0,26 à 0,52% d'HE et parfois 0,7% et la matière sèche en contient 0,4% (Bardeau, 2009 ; Lawal et *al.*, 2017).

Les composants principaux de la citronnelle sont les citrals et le myrcène. Citral est le nom donné au géraniol (α -citral, trans-citral ou encor citral A) et au néral (β -citral, cis-citral ou encor citral B) de la famille moléculaire des aldéhydes monoterpéniques. Le myrcène est

classé comme un hydrocarbure et plus précisément comme un monoterpène (Kouame et *al.*, 2016 ; Majewska et *al.*, 2019).

1.3.3 Propriétés thérapeutiques et utilisation traditionnelle

La citronnelle est une plante médicinale, ses feuilles ont des multiples bienfaits ; antispasmodique, antibactérienne, sédative. Elle est utilisée pour diverses pathologies, comme les troubles digestifs, les états grippaux et la fièvre, la fatigue mentale, les douleurs articulaires et rhumatismales.

L'huile essentielle possède les mêmes propriétés que la plante. Cette huile est reconnue comme anti-inflammatoire et antiseptique, elle est utilisée sur la peau pour apaiser les piqûres d'insectes et pour désinfecter les plaies bénignes. (Chiasson et Beloin, 2007 ; Kouame et *al.*, 2016 ; Machraoui et *al.*, 2018 ; Majewska et *al.*, 2019). L'HE sert à parfumer les produits d'entretien, les désodorisants, les lessives, les savons liquides, les déodorants et les gels douches (Akhila, 2009).

La citronnelle inhibe la croissance microbienne et bactérienne dans le corps, à la fois interne et externe, en aidant à prévenir et à guérir les infections bactériennes du côlon, de l'estomac, des voies urinaires et du système respiratoire. Elle possède également des vertus antifongiques qui permettent de traiter radicalement certaines mycoses. Elle est notamment présente dans beaucoup de crèmes antimycosiques (De Billerbeck, 2007 ; Oladeji et *al.*, 2019). L'HE sert à parfumer les produits d'entretien, les désodorisants, les lessives, les savons liquides, les déodorants et les gels douches (Akhila, 2009).

1.4 Les souches bactériennes

1.4.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli est typiquement une bactérie Gram-négative en forme de bâtonnet (bacilles de 2,0 à 6,0 mm de long et de 1,1 à 1,5 mm de large) avec une extrémité arrondie. *Escherichia coli* est d'origine fécale et se trouve presque exclusivement dans le tube digestif des animaux à sang chaud, en particulier l'homme. Plusieurs sérogroupes d'*E. coli* sont connus et la majorité sont non pathogènes. Cependant, certains groupes peuvent provoquer des maladies diarrhéiques graves, parfois fatales. (Bouskaoui et *al.*, 2017).

1.4.2 *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis est une bactérie gram-positif et à catalase-positif qui vit normalement dans le sol. La bactérie est en forme de bâtonnet et peut former une endospore, permettant à la

bactérie de survivre à des conditions extrêmes. C'est une bactérie aérobie pouvant se développer en anaérobiose et ubiquitaires dans l'environnement, elle a par conséquent des potentiels contaminants dans le monde de microbiologie (Bouhairi, 2017). Elle démontre une capacité à former des spores résistantes à la chaleur. Elle fabrique plusieurs produits commercialement importants (Du et *al.*, 2019).

1.4.3 *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa est une bactérie aérobie à Gram négatif en bâtonnets de la famille des *Pseudomonadaceae*. *P. aeruginosa* se trouve couramment dans le sol et l'eau ainsi que chez les plantes et les humains. On pense que la bactérie *Pseudomonas* est l'un des rares véritables agents pathogènes des plantes, elle provoque des infections des voies urinaires, du système respiratoire, du derme, des tissus mous, une bactériémie, des os et du sang, en particulier chez les patients souffrant de brûlures graves, de tuberculose, de cancer et de SIDA (Wu et Li, 2015).

1.4.4 *Staphylococcus aureus*

S. aureus est une bactérie à Gram positif et un agent causal d'un large éventail de maladies infectieuses telles que les infections cutanées, la bactériémie, l'endocardite, la pneumonie et l'intoxication alimentaire. L'organisme était à l'origine un agent pathogène nosocomial de premier plan et par la suite, des clones distincts sur le plan épidémiologique ont émergé en milieu communautaire. *S. aureus* exprime un certain nombre de facteurs de virulence qui aident à établir l'infection en facilitant l'attachement aux tissus, l'invasion des tissus et en évitant la réponse immunitaire de l'hôte. La capacité d'acquérir une résistance à plusieurs classes d'antibiotiques fait de *S. aureus* un agent pathogène difficile à traiter (Gnanamani et *al.*, 2017).

Matériel et méthodes

2 Matériels et méthodes

Il est important d'étudier l'efficacité de certaines plantes médicinales utilisées en médecine. Le but de notre étude était de déterminer l'activité antimicrobienne de l'extrait hydro alcoolique de *Marrubium vulgare*.

Cette étude a été réalisée au niveau du laboratoire (BPC) de la station expérimentale (Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Blida 1) et le laboratoire de microbiologie. (Faculté des Sciences de la nature et de la Vie, Université Blida 1) Bloc C.

2.1 Matériels

2.1.1 Matériel Biologique

✓ Les feuilles de *Marrubium vulgare*

Le matériel végétal utilisé dans cette étude expérimentale est une espèce végétale appartenant à la famille des Lamiacées *Marrubium vulgare* (figure 4). La partie végétale choisie pour la réalisation des expérimentations de cette étude est la feuille puisque c'est à ce niveau que se trouve la majorité des principales substances actives, en d'autres termes, c'est le lieu de synthèse et de la mise en réserve temporaire des principaux composés du métabolisme primaire et secondaire.

La partie aérienne du Marrube a été récoltée au mois de mars 2021 dans la région d'Ain defla, Algérie. Les feuilles sont soumises à un rinçage à l'eau de robinet pour éliminer les impuretés puis étendues en couches minces, à bonne aération pendant deux semaines jusqu'au séchage (figure 5).



Figure 4 : *Marrubium vulgare* (www.graines-semences.com2021)



Figure 5 : *Marrubium vulgare* séchée (www.herboristerieduvalmont.com 2021)

✓ **Huile essentielle de *Cymbopogon citratus***

L'huile essentielle de citronnelle (*Cymbopogon citratus*) a été fournie par la société « Extral Bio » de production des Huiles Essentielles, située à Blida. L'HE a été extrait à partir de la partie aérienne fraîche de la plante (tiges et feuilles) récoltée d'un champ de culture de ladite société.

✓ **Souches bactériennes**

L'activité antibactérienne a été évaluée *in vitro* sur des souches bactériennes de référence. Ces bactéries ont été conservées et maintenues en vie, par des repiquages continus, sur des milieux de culture adéquats.

-*Bacillus subtilis* ATCC 633

-*Escherichia coli* ATCC 8739

-*Pseudomonas aeruginosa* CNR ISPA PS20

-*Staphylococcus aureus* ATCC 19095

2.1.1 Matériel non biologique

Disques d'antibiotique de la gentamicine (G) ont été utilisés comme un témoin positif Pour les souches bactériennes testées.

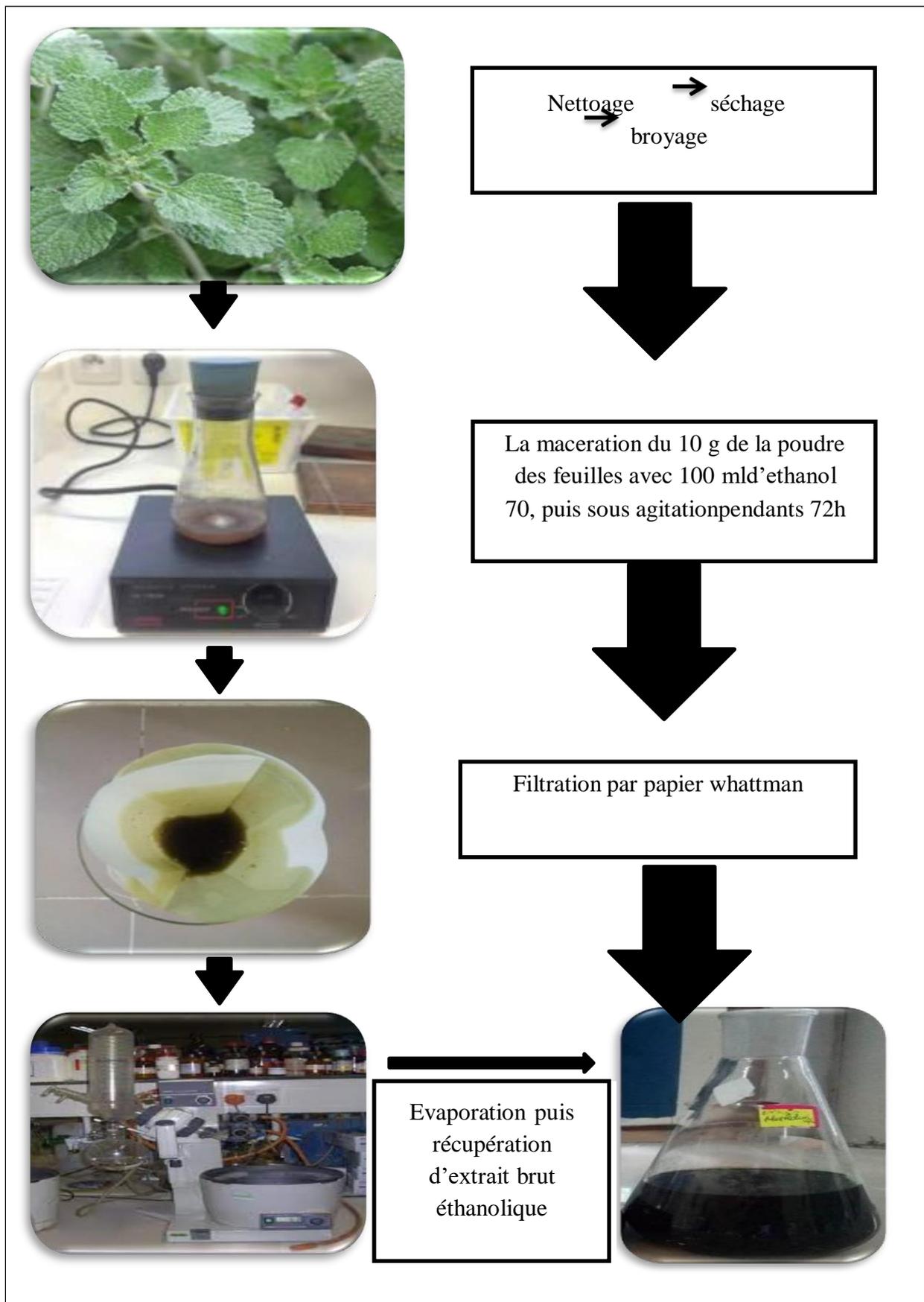
Les appareils et réactifs chimiques utilisés sont présentés dans les annexes.

2.2 Méthodes

2.2.1 Préparation de l'extrait hydroéthanolique de *Marrubium vulgare*

L'extrait hydroalcollique de plante est un extrait naturel à partir de macération de plante dans un solvant (alcools + l'eau). L'extraction a été réalisée par macération qui est une méthode courante pour l'extraction de petites quantités de matière végétale en laboratoire car elle peut être effectuée de manière pratique dans des flacons Erlenmeyer (Jones, 2006).

Les feuilles de marrube séchées ont été broyées juste avant l'extraction, en utilisant un broyeur à couteaux. L'extraction a été réalisée par macération de 10 g de la poudre de marrube blanc avec 100 ml d'éthanol 70, pendant 72h sous agitation. La solution est ensuite clarifiée par filtration sur papier Whatman, puis évaporée à l'aide d'un Rotavapeur à T60°C pour obtenir un extrait hydro-alcollique de marrube sec. L'extrait sec a été récupéré dans le même solvant d'extraction et conservé jusqu'à l'analyse à basse température (+4°C) (figure 6). Trois extraits ont été préparés.

Figure 06 : Protocole d'extraction par macération de *Marrubium vulgare*

2.2.1.1 Calcul du rendement des extraits secs

L'extrait brut éthanolique isolé a été quantifié selon la formule :

$$R = \text{PEB} / \text{PMV} \times 100$$

R : rendement / PEB : poids de l'extrait brut éthanolique (g) / PMV : poids de plante broyée (g)

2.2.2 Dosage des métabolites secondaire contenus dans l'extrait hydro-éthanolique de *M. vulgare*

✓ Dosage des composés phénoliques

Les composés phénoliques ont été estimés selon la méthode colorimétrique on utilisant le réactif de Folin Ciocalteu. Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par (Singleton et Ross, 1965).

Mode d'opération :

-200 µl de l'extrait brut éthanolique sont mélangés à 100 µl du réactif de Folin et 900 µl de H₂O distillée.

-Incubation à température ambiante pendant 4 minutes. Ensuite 800 µl de la solution carbonate de sodium (Na₂CO₃) anhydre 7.5 % sont ajoutés au mélange.

-Les composés phénoliques totaux sont déterminés à l'aide d'un spectrophotomètre à UV visible après 2 heures d'incubation à température ambiante par mesure de l'absorbance à une longueur d'onde de 760 nm.

-On a préparé dans les mêmes conditions un témoin (blanc) avec l'eau distillée à la place de la solution de l'extrait brut.

-La détermination de la concentration en polyphénols totaux est effectuée par référence à une courbe d'étalonnage préparé, dans les mêmes conditions, à partir d'une série de dilutions d'acide gallique. La concentration finale en ces composées a été exprimée en mg d'équivalents d'acide gallique (EAG) par ml d'extrait sec.

✓ Dosage des flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes a été déterminées à l'aide de la méthode au Chlorure d'Aluminium (AlCl₃) décrite par Chris et Muller 1960 :

Le principe de la méthode est basé sur le fait que les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner un complexe coloré, avec le Chlorure d'Aluminium. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des

Métaux (fer et aluminium). Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons.

Un volume de 1 ml de chaque extrait est mélangé avec 1 ml de la solution $AlCl_3$ (2%). Après l'agitation et l'homogénéisation, le mélange est incubé à la température ambiante pendant 10 min et à l'abri de la lumière. L'absorbance a été mesurée à 430 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible.

La quantification des flavonoïdes totaux a été déterminée par référence à une courbe d'étalonnage obtenue dans les mêmes conditions en utilisant la quercétine comme référence. La concentration finale en flavonoïdes a été exprimée en mg d'équivalents de quercétine (EQ) par ml par mg d'extrait sec.

2.2.3 Etude de l'activité antibactérienne de l'extrait hydro-éthanolique de *M. vulgaire*

Nous avons utilisé la technique de diffusion sur milieu solide (Nair et Chanda, 2005 ; Perez et *al.*, 1990). C'est une méthode similaire à celle de l'antibiogramme qui consiste à déterminer la sensibilité d'une souche microbienne vis-à-vis d'un ou de plusieurs produits.

✓ Préparation des milieux de culture

Le milieu de culture utilisé pour réaliser l'activité antibactérienne est: la gélose MH.

✓ Préparation des disques

Des disques de 6 et 9 mm de diamètre ont été découpés sur papier Whatman, stérilisés et conservés jusqu'au moment de leur utilisation.

✓ Préparation de pré-culture

Les souches bactériennes à tester ont été cultivées dans des boîtes de Pétri contenant le milieu MH (pour vérifier la pureté) et dans un bouillon nutritif (pour préparer la pré-culture) et incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures.

✓ Standardisation des suspensions bactériennes

Une nouvelle suspension a été préparée pour chaque test, quelques ml de bouillon nutritif pré-incubé sont dilués dans un bouillon nutritif stérile. Après homogénéisation, l'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 625 nm et doit être comprise entre 0,08 à 0,10 (Pierre *et al.*, 2020).

✓ Mode d'opérateur

Les disques d'extrait préparés sont imprégnés de deux doses de 80 ou 160 μL d'extrait hydro-éthanolique à tester. Par ailleurs, le milieu Mueller-Hinton stérile est coulée dans des boîtes de Pétri. Puis sontensemencées par écouvillonnage à l'aide d'un écouvillon stérile, en tournant chaque 3 fois la boîte environ 60° de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries.

A l'aide d'une pince stérile, les disques contenant les produits à tester sont déposés à la surface de la gélose. Chaque essai est répété deux fois dans les mêmes conditions d'expérimentation. Ainsi qu'un antibiogramme est réalisé avec des disques contenant d'antibiotique Gentamycine (G) (témoin positif) appropriés prêts à l'emploi et des disques imprégnés d'éthanol (témoin négatif).

2.2.4 Tests d'activité antibactérienne de *Cymbopogon citratus* par la méthode de diffusion en disques :

Les étapes de la méthode de diffusion en disque sont décrites précédemment. Les disques préparés sont imprégnés de quatre doses différentes d'HE testée : (5 ; 10 ; 20 ; et 40 μl), Chaque essai est répété trois fois pour chaque souche dans les mêmes conditions d'expérimentation.

2.2.5 Lecture des résultats

La lecture se fait par la mesure des diamètres de zone d'inhibition produite autour des disques, et peut être symbolisée par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis de l'extrait testé (Ponce *et al.*, 2003).

-Souche non sensible (-) ou résistante $\leq 8\text{mm}$

-Souche sensible (+) = 9 à 14

-Souche très sensible (++) = 15 à 19

-Souche extrêmement sensible (+++) ≥ 20

Résultats et discussions

3 Résultats et discussion

3.1 Rendement d'extraction

Les valeurs obtenues sont représentées dans le tableau suivant (Tableau N°V).

Tableau N°V : Pourcentage de l'extrait hydro-éthanolique de *Marrubium vulgare*.

Poids de l'extrait (g)	Pourcentage del'extrait (%)
1,41	14,1

La préparation de l'extrait hydroéthanolique du Marrube a donné un rendement de l'ordre de 1,41 g, ce qui correspond à un pourcentage de 14,1 %. Nos résultats concordent avec ceux qui sont obtenus à partir de la partie aérienne de la même espèce lors d'une étude entreprise par Bouzourene et *al.*, (2016), un rendement de 15,22% de l'extrait brut éthanolique a été enregistré.

Un rendement de 39,2% de l'extrait hydro-méthanolique a été obtenu à partir de la partie aérienne de la même espèce lors d'une étude entreprise par Kanyonga et *al.*, (2011). C'est un pourcentage nettement supérieur à celui obtenu dans notre cas (14,1 %) pour l'extrait éthanolique. Ceci pourrait être dû à la technique utilisée par l'auteur (extraction par soxhlet) et sous une température de 70 °C. En fait, Su et *al.*, (2006), ont rapporté que le rendement des extractions aqueuses augmente avec la température.

D'une manière générale, 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 de plante, le solvant d'extraction hydrométhanolique ou bien hydroéthanolique, la taille des particules et le coefficient de diffusion de solvant . En plus de ces aspects quantitatifs, quel que soit la méthode d'extraction appliquée, elle doit tenir compte de la qualité d'extrait, autrement dit de la bioactivité de ces principes actifs.

3.2 Teneur des composés phénoliques dans l'extrait brut éthanolique

La teneur en composés phénoliques obtenus à partir de l'extrait brut éthanolique a été estimée grâce à une courbe d'étalonnage, réalisée avec un extrait de référence, l'acide gallique à différentes concentrations (Figure 07). Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique par ml /mg d'extrait sec (mg EAG/ml d'extrait sec) (Tableau VI). La courbe d'étalonnage est établie avec un coefficient de corrélation $R^2=0,9969$.

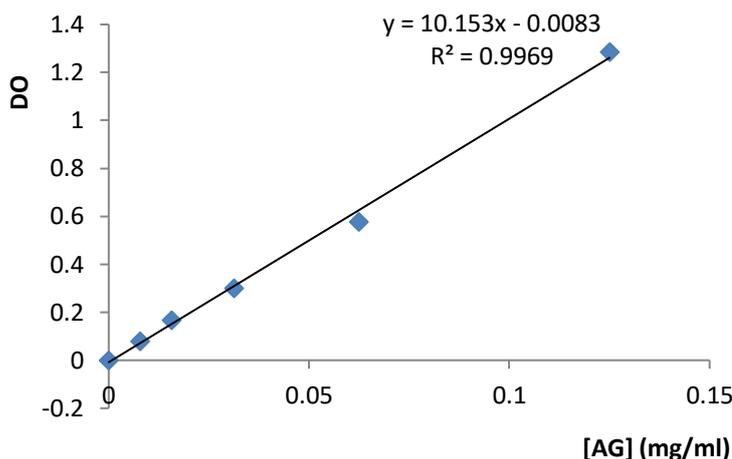


Figure 07 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Tableau VI : Résultats de la teneur en composés phénoliques totaux de l'extrait brut hydro-éthanolique de *Marrubium vulgare* à différentes concentrations.

	Teneur en composés phénoliques (mg EAG/ml d'extrait sec)
Extrait brut hydro-éthanolique	0,013±0,002

Les résultats de dosage de phénols totaux révèlent que l'extrait brut hydro-éthanolique de l'espèce *Marrubium vulgare*. Contient une teneur de l'ordre de 0,013 (mg EAG/ml d'extrait). Avec un écartype = 0,002 . Un taux de 17,08 mg EAG/ml d'extrait a été observé par Djahra, en (2014). Nous ne pouvons pas le comparer à notre étude parce que l'auteur n'a pas précisé le poids de l'extrait sec utilisé. Alors que, un taux de 18,21mg EAG/g MS d'extrait hydro-méthanolique (équivalent à 0,01821 mg EAG/mg MS) a été observé par Boudjelal, en (2012). Une teneur supérieur mais proche par rapport à celle qu'on a obtenus par notre étude (0,013 mg EA/mg d'extrait). Cette variabilité dans les résultats pourrait être liée aux conditions climatiques du biotope de l'espèce ou aux différentes méthodes suivies lors de l'extraction et aussi au solvant utilisé.

3.3 Teneur des flavonoïdes dans l'extrait brut éthanolique

La quantification des flavonoïdes totaux a été déterminée par référence à une courbe d'étalonnage obtenue dans les mêmes conditions en utilisant la quercétine comme référence (Figure 08). Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent de quercétine par ml par mg de d'extrait sec (mg QE/mg d'extrait sec) (Tableau VII). La courbe d'étalonnage est établie avec un coefficient de corrélation $R^2=0,9927$

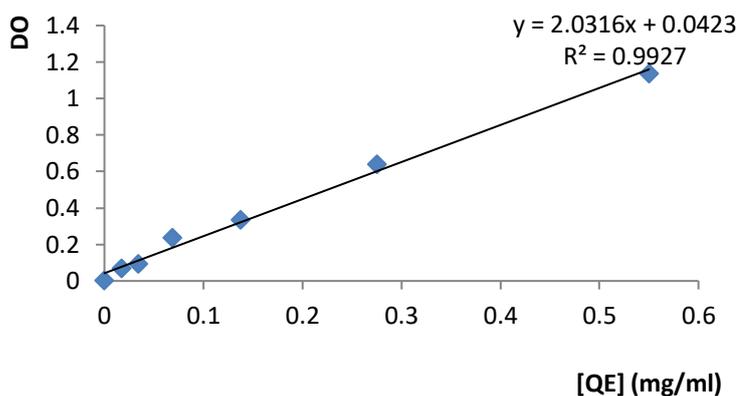


Figure 08 : Courbe d'étalonnage de la quercétine

Tableau VII : Résultats de la teneur en flavonoïdes de l'extrait brut hydro-éthanolique de *Marrubium vulgare*.

	Teneur en flavonoïdes (mg EQ/mg d'extrait)
Extrait brut hydro-éthanolique	0,0649±0,0115

Dans la présente étude, un taux de 0,0649 (mg EQ/mg d'extrait sec) de flavonoïdes a été obtenu par l'extrait hydro-éthanolique de *M.vulgare*, une teneur de 0,00226 (mg EAG/mg d'extrait) a été observée par Bouzourenne et Bourkache., (2016) pour le même extrait. Alors que les résultats obtenus par Boularas et *al.* (2019) a obtenu une teneur de 0,064 et 0,066 mg / mg d'extrait sec qui est une valeur similaire à celui obtenue par notre étude 0,0649 (mg EQ/mg d'extrait). Ces résultats confirment que *M. vulgare* est riche on flavonoïdes, la variabilité des résultats doit tenir compte de la qualité d'extrait, autrement dit de la bio activité de ces principes actifs.

Dans la présente étude, la méthode de macération sous agitation permet d'accélérer le processus d'extraction et de minimiser le temps de contact du solvant avec l'extrait tout en préservant la bioactivité de ses constituants. De même, le déroulement de cette extraction à température ambiante ainsi que l'épuisement du solvant à pression réduite permettent d'obtenir le maximum des composés et de prévenir leur dénaturation ou modification probable dues aux températures élevées utilisées dans d'autres méthodes d'extraction (Boutelis ,2013).

3.4 L'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de *M. vulgare*

Les résultats des différents tests de l'activité antibactérienne d'extrait éthanolique par diffusion en disques sont présentés dans le tableau VIII et la figure 09.

Tableau VIII: Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de *M. vulgare* par le méthode des disques

Doses d'extrait	ZONE D'inhibition (mm)		
	3,36 µg/80 µl	6,72 µg/160µg	Gentamicine (mg /ml)
<i>Souches</i>			
<i>E.Coli ATCC</i>	12	15	27
<i>S.aureus ATCC</i>	10	11	30
<i>P.aeuginosa ATCC</i>	20	25	30
<i>B.subtilis ATCC</i>	12	15	30

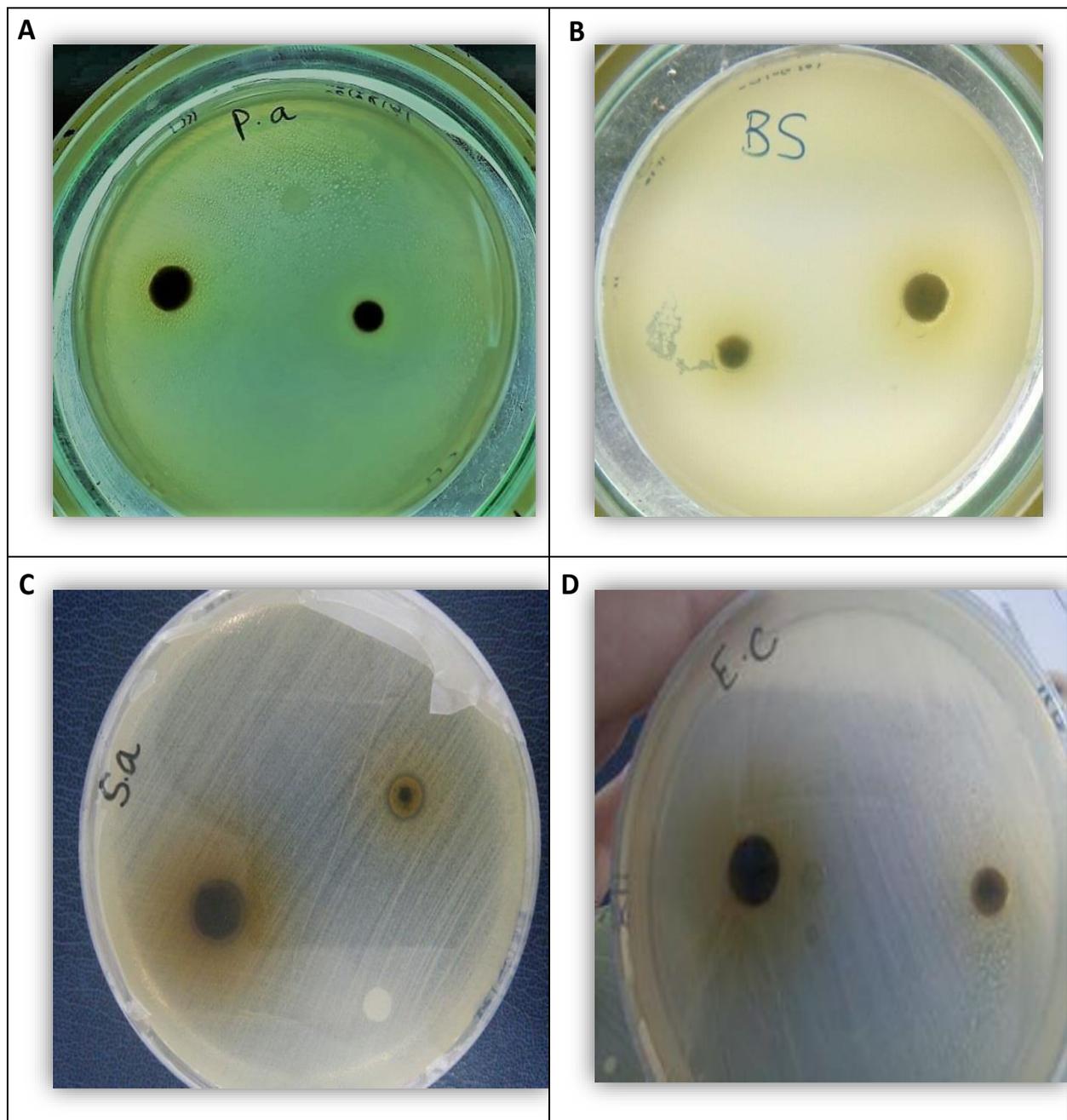


Figure 09 : Zones d'inhibition de l'extrait éthanolique de *M. vulgare* vis-à-vis des souches :

A : *P. aeruginosa* ; B : *B. subtilis* ; C : *S. aureus* ; D : *E. coli* .

D'après le tableau VIII, Il y a une grande hétérogénéité dans les résultats obtenus, l'effet antibactérien est plus ou moins important selon la nature de la souche et selon la concertation utilisée. D'une manière globale, l'extrait éthanolique de *M. vulgare* semble être efficace vis-à-vis tous les souches testées. Les résultats de la présente étude, montrent que les souches utilisées sont très sensibles à la gentamicine avec diamètre de 27-30 mm.

De nombreux travaux soulignent cet effet antibactérien des principes actifs naturels. En effet, Mubashir et *al.*, (2009), signalent que l'extrait aqueux des feuilles de l'espèce *Marrubium vulgare* exerce une forte activité inhibitrice sur les souches de *Staphylococcus aureus* et une activité de degré moindre sur *E. coli*.

Dans notre étude, l'extrait hydro-éthanolique de *M. vulgare* présente une activité antibactérienne vis-à-vis d'*E. coli* dont les diamètres moyens varient entre 12 mm et 15 mm, ceci nous ramène à conclure que l'activité antibactérienne dépend de la concentration de l'extrait. Nos résultats concordent avec ceux obtenus par une autre étude réalisée par Hameg et Taleb., (2018) qui ont obtenu un diamètre d'inhibition égal à 12,5 mm.

Les résultats obtenus dans cette étude montrent également une sensibilité de *Staphylococcus aureus* vis-à-vis de l'extrait brut éthanolique de *M. vulgare* avec des diamètres varient entre 10 mm et 11 mm sont des résultats similaires à ceux obtenus par Hameg et Taleb., (2018) ont obtenus des zones d'inhibition de diamètre 11,5 mm.

L'extrait hydro-éthanolique du Marrube blanc a marqué une activité important qui vient rivaliser celui des antibiotiques vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa* qui est extrêmement sensible dont les diamètres moyens varient entre 20 mm et 25 mm alors que le diamètre d'inhibition de gentamicine est de 30 mm. Selon les résultats obtenus par Bouzerenne et Bourakache., (2016), l'extrait aqueux de Marrube blanc n'a donné aucune activité avec *P. aeruginosa*. Alors que les études ont été obtenues par Hameg et Taleb. (2018) sur la même espèce a donné des zones d'inhibition de 15 mm pour l'extrait hydro-méthanolique et de 10 mm pour l'extrait hydro-ethanolique.

B. subtilis est aussi sensible aux extraits hydro-alcooliques dont les diamètres d'inhibition sont compris entre 12 mm et 18 mm. Des résultats similaires ont été obtenus par Kanyonga et al. (2011) dont les diamètres varient entre 14 et 16 mm.

3.5 L'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Cymbopogon citratus*

Les résultats de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Cymbopogon citratus* par diffusion en disque sont représentés dans le tableau X et la figure 10 et 11.

Tableau X: Résultats de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Cymbopogon citratus* par diffusion en disque.

Doses d'HE (µl)	Zone d'inhibition (mm)				G
	5	10	20	40	
SOUCHE					
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC	65	> 80			44
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC	17	22,3	47,6	53,3	30
<i>Escherichia coli</i> ATCC	11	14	29,3	35	30
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	10,3	15	15 ,6	27

-Zone d'inhibition (mm) sont moyen de triple expériences.

-Disque diamètre (6mm pour les faibles doses de 5 et 10 (µl) et 9mm pour les fortes doses de 20 et 40 (µl)).

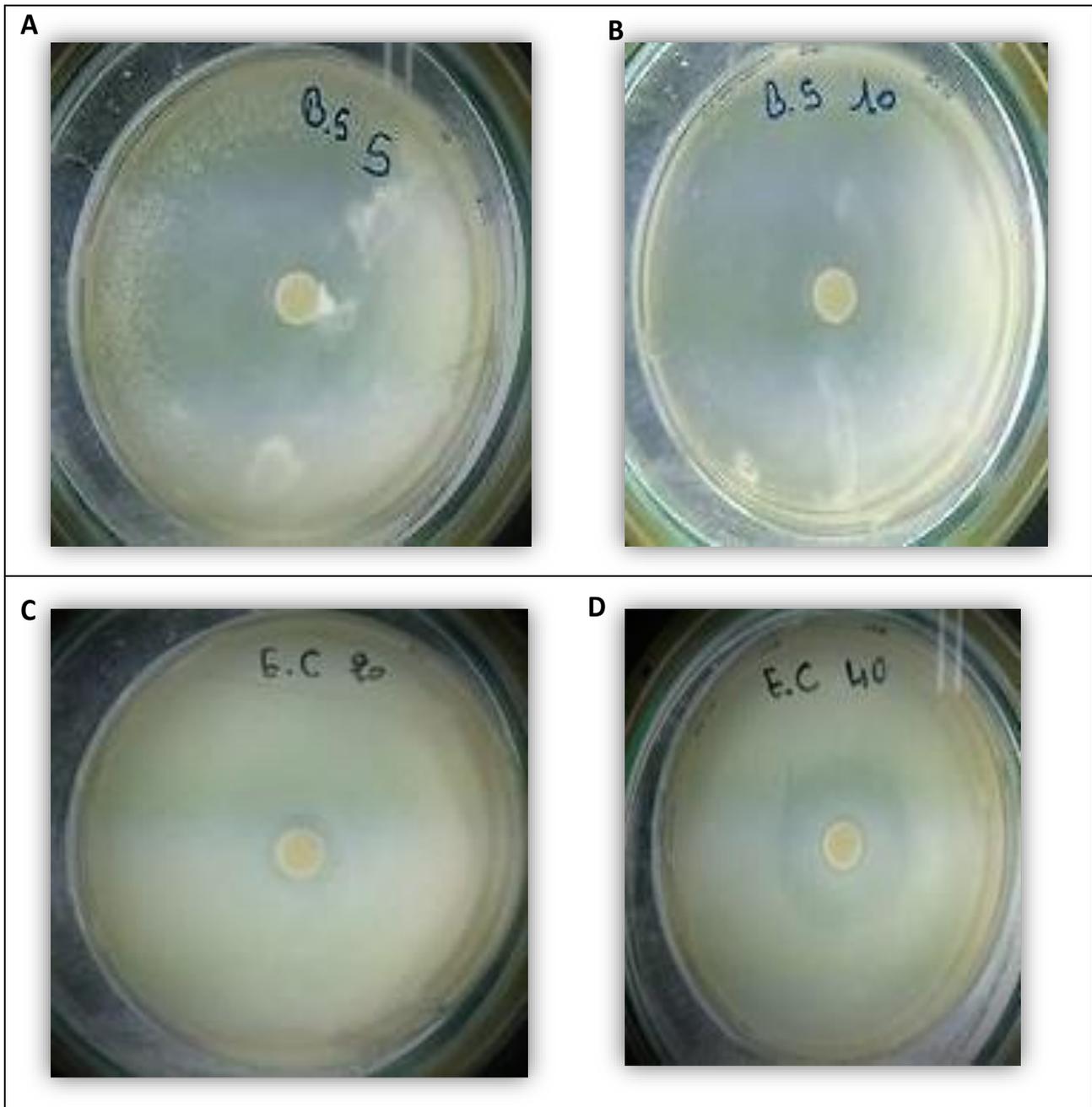


Figure 10: Zones d'inhibition des huiles essentielles de plante médicinale *Cymbopogon citratus* Vis-à-vis de *B. subtilis* 5 μ l (A) et 10 μ l (B) et *E. coli* 20 μ l (C) et 40 μ l (D).

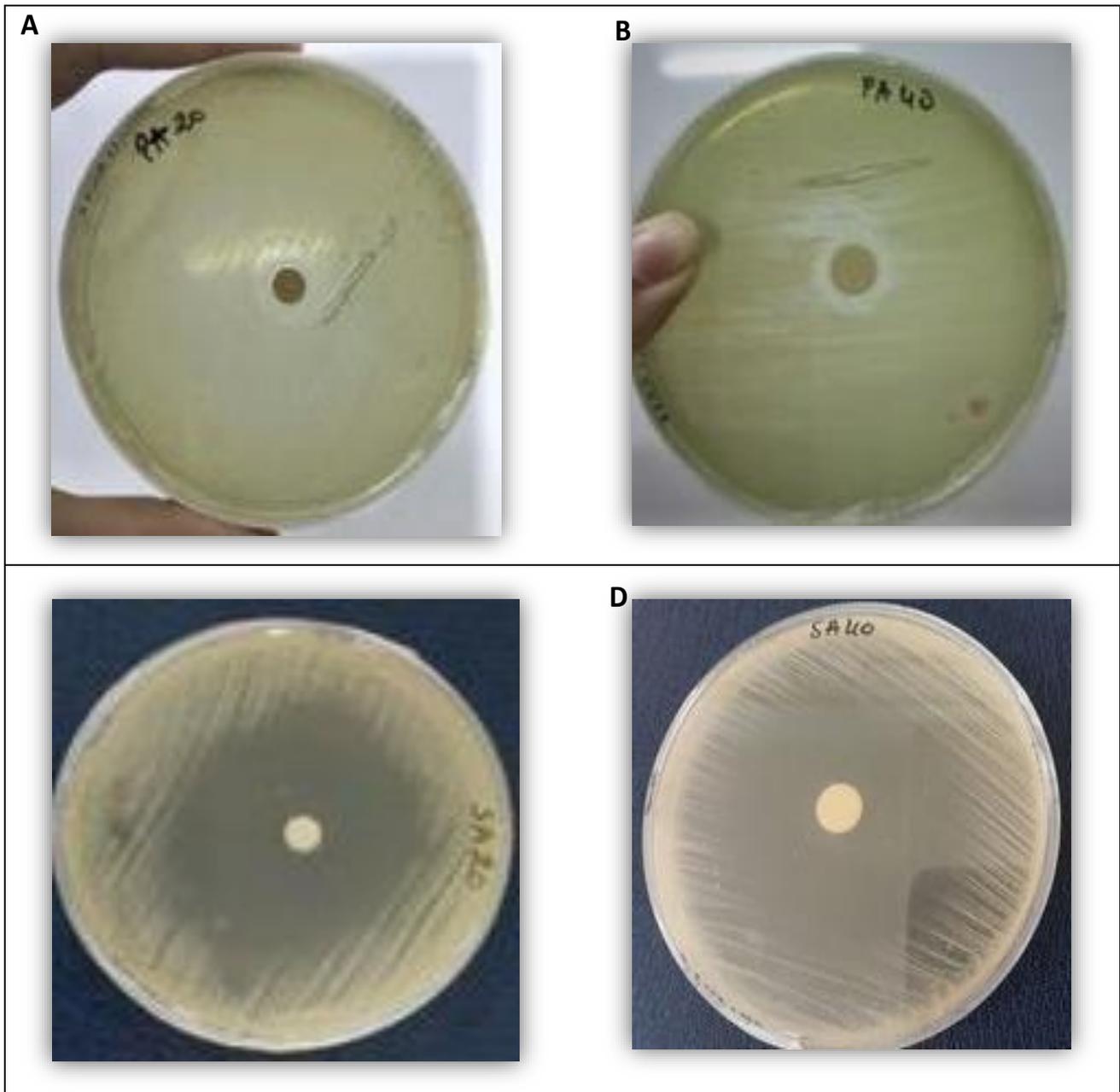


Figure 11 : Zones d'inhibition des huiles essentielles de plante médicinale *Cymbopogon citratus* Vis-à-vis de *P. aeruginosa* 20µl (A) et 40µl (B) et *S. aureus* 20µl (C) et 40 µl (D) .

Selon notre étude sur la plante médicinale *Cymbopogon citratus*, l'effet antibactérien des huiles essentielles de cette plante est très élevé. Les souches à Gram + ont été fortement inhibées par l'HE avec des diamètres plus de 80mm, les résultats obtenus par Tyagi and Malik., (2011) confirme que les bactéries à Gram + sont plus sensibles à l'HE de citronnelle que les bactéries Gram-. Cependant, la raison est que les mécanismes d'action des HE et leur sélectivité vis-à-vis de certaines bactéries ont été jusqu'à présent médiocres. D'autres auteurs ont mentionné qu'il n'y a pas de lien clair avec l'action bactéricide des HE et la nature des bactéries (Zaika, 1988 ; Dorman and Deans., 2000).

Notre étude a révélé un DZI avec *E. Coli* de 35 mm qui est très important que la zone d'inhibition d'antibiotique (27). Nos résultats concordent avec ceux obtenus par une autre étude réalisée par Otsmane et Lachouaki., (2020) qui ont obtenu un diamètre d'inhibition égal à 39mm.

L'HE du *C. citratus* s'est montré efficace contre *P. aeruginosa* avec un DZI de 15,6 mm, alors que des études réalisées par Otsmane et Lachouaki, (2020) n'a constatée aucune zone d'inhibition contre cette souche.

Staphylococcus aureus est aussi très sensible à l'HE avec DZI de 47,5 mm et 53,3mm qui sont des résultats similaires à celui obtenus par Otsmane et Lachouaki., (2020) ont obtenu des diamètres de 57mm.

B. subtilis a été fortement inhibées par l'HE de *C. citratus* avec DZI de 65mm à 80mm. Des mêmes résultats réalisés par Otsmane et Lachouaki., (2020) dont DZI vis-à-vis *B. subtilis* sont de 66 mm à 80 mm.

Du fait que la principale cible de ces composés naturels est la membrane bactérienne, l'activité antibactérienne des substances naturelles pourrait s'expliquer par la lyse de ces membranes. Les huiles essentielles, les flavonoïdes, voire même les tanins pourraient induire une fuite d'ions Potassium au niveau de la membrane et par conséquent des lésions irréversibles au niveau de cette membrane. Cette perméabilité au Potassium est un effet précurseur de la mort cellulaire (Rhayour, 2002).

Cette variabilité des résultats de l'activité biologique d'extrait végétale peut dépendre du contenu en composés polyphénoliques. Les mécanismes d'action des composés naturels sont expliqués de différente manière selon les auteurs. Selon Chabot et al., (1992), l'activité antimicrobienne est liée à la polarité des substances bioactives. Les composés les moins polaires comme les flavonoïdes n'ayant pas de groupement hydroxyle OH sur leur cycle (β) sont plus actifs vis-à-vis des agents microbiens que ceux portant le groupement hydroxyle.

Si l'on se réfère aux études de Moussaid et *al.*, (2012), l'activité des principes actifs serait liée aux conditions de séchage et de broyage de la plante. D'autre part, Il semble également que le broyage avec nitrogène liquide soit recommandé, car le broyage est aussi à l'origine de la génération de la chaleur responsable de la perte des molécules volatiles ainsi que la décomposition et l'oxydation des molécules thermolabiles (Jones et Kinghorn, 2005).

Conclusion

L'étude réalisée sur l'extrait hydroalcoolique des feuilles du *Marrubium vulgare* a permis d'obtenir un bon rendement en termes d'extrait brut sec (14,1%). La présence de groupe des composés polyphénoliques a été également révélée au cours de cette étude a teneur de (0,013mg EAG/ml/mg) d'extrait, et une teneur de 0,0649 (mg EAG/ml/mg d'extrait) des flavonoïdes. La richesse de *Marrubium vulgare* de ces composés pourrait justifier l'utilisation massive de cette plante en médecine traditionnelle.

Les principes actifs majeurs, de la plante étudiée *Marrubium vulgare* possèdent diverses activités biologiques telles que les activités antibactérienne. En effet, de l'activité antimicrobienne évaluée par le test in vitro, il ressort que l'extrait hydro-éthanolique possède un pouvoir antimicrobien important sur les germes multi résistants responsables des maladies infectieuses. L'inhibition varie en fonction de l'espèce bactérienne, et de la concentration d'extrait testé.

Notre étude permet de confirmer l'efficacité d'huile essentielle de la citronnelle qui a réveillétrès efficace notamment sur les bactéries à Gram positives.

Toutes les souches bactériennes testées (*E.coli*, *Staphylococcus*, *B.subtilis* et *P.aeruginosa*) se sont montrées très sensibles vis-à-vis de ces principes actifs. Elles sont classées de très sensibles à sensibles vis-à-vis des doses d'extrait étudié et les zones d'inhibition sont souvent élevées et rivalisé celui d'antibiotique gentamycine (G). L'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* s'est avérée plus efficace sur les souches bactériennes testées. Les meilleures zones d'inhibition sont obtenues avec *B.subtilis* et *S.aureus* sur le même milieu.

En continuité à cette étude, nous suggérons la nécessité de réaliser d'autres recherches, analyses et purifications de l'extrait de *Marrubium vulgare* pour déterminer les molécules bioactives exactes responsables de l'activité pharmacologique, ainsi que pour améliorer la sécurité de la phytothérapie et l'usage correct de la phytothérapie. Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour étudier l'activité antibactérienne d'extrait hydro-alcoolique de *Marrubium vulgare*.

Annexes

Annexe 1 : milieux de cultures

Les micro-organismes exigent pour leur croissance des aliments. Ces aliments leur sont fournis au laboratoire par des milieux nutritifs ou milieux de culture. Comme les besoins nutritionnels des microorganismes et les conditions de leurs développements sont très variés.

Les milieux utilisés sont :

1. Gélose Mueller-Hinton : est une gélose riche pour la réalisation de l'antibiogramme standard. Cette gélose standardisée est la gélose permettant de tester l'action des antibiotiques sur les bactéries. Elle doit être coulée en boîte de façon à obtenir une épaisseur de 4 mm

a) Composition

Infusion de viande de bœuf..... 300,0 ml
Peptone de caséine..... 17,5 g
Amidon de maïs 1,5 g
Agar 17,0

2. Gélose Nutritive

la gélose nutritive ou gélose nutritive ordinaire ou encore gélose ordinaire est un milieu d'isolement non sélectif. L'isolement est réalisé dans le but de contrôler la pureté d'une souche bactérienne ou de purifier la souche bactérienne si elle est contaminée

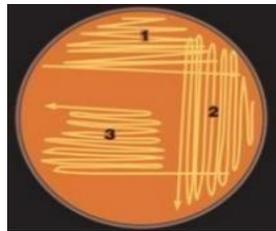
Extrait de viande de bœuf..... 1g ;
Extrait de levure 2g ;
Peptone 5g ;
Chlorure de sodium 5g ;
Agar 15g.

Matériels: distillateur pour l'eau distillé, béchers, éprouvette graduée, thermomètre, agitateur Magnétique, balance à précision, autoclave, bec bunsen, boîtes de Pétri, des tubes à vis ou cotonnés stériles, pince en bois ou gants.

Mode opératoire :

- Peser la masse nécessaire de poudre pour un volume (ml) d'eau distillée.
- Dissoudre la poudre dans le diluant à l'aide de l'agitateur magnétique et chauffer jusqu'à l'ébullition.
- Laisser refroidir la préparation dans le cône stérile du bec bunsen.
- Lorsque la préparation a atteint une température inférieure à 60°C, verser dans des flacons et stériliser à l'autoclave (sauf indication) à 120°C pendant 20 min.
- Lorsque la préparation a atteint de nouveau une température inférieure à 60°C, coulé dans des boîtes de Pétri ou des tubes à vis stériles.
- Après refroidissement et pour éviter que l'eau de condensation dans les boîtes de Pétri perturbe la surface du milieu gélosé, on place les boîtes en position retournée.

Annexe 2 : le repiquage



1. Prélever à l'aide de l'anse de platine une fraction de l'inoculum (bactérie en milieu liquide) ou une colonie a partir d'une culture bactérienne en milieu solide (boîtes de pétri)
- 2.ensemencer par stries fines et très serrées le premier demi-cercle.
3. Flamber l'anse de platine, laisser refroidir.
- 4.ensemencer le deuxième demi-cercle
- 6.ensemencer le troisième demi-cercle.

Références bibliographique

Référence bibliographique

- Abbas, M.,Saaed,F., Anjum, F.M, Afzaal,M.,Tufail.T.,Bashir,M.S., Ishtiaq,A.,Hussain,S.,Suleria., (2017). Natural polyphenols. *International jornal of food properties* .(20), P 1689-1699.
- Abdul Motaleb, M. (2011). *J:selected medicinal plants of chittagans hilltracts*.P1-5.
- Acimovic,M., Jeremic,K ., Gavaric.N. (2020).*Marrubium vulgare.L a phytochemical and pharmacological overview* 25(12).
- Ahvaz, G., Belali,Z., Jamzad,H. (2018). Taxnonomical,morphological and pharmacological reveiw of *Marrubium vulgare L.* (65)(1), pp. 7-24.
- Aiello, P. (2019). Medicinal Plants in the Prevention and Treatment of. 2(*Article ID 2075614*), 53 Pages.
- Akhila, A. (2009). essential oil-bearing grasses:the genus cymbopogon,UK. *CRC PRESS*.
- Ali.M,Youssef. (2006). *Plants médicinales de Kabylie* (p. 349),Paris: ibis press.
- Aouadhi,S. (2010). Mémoire atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle étude de 57 plantes recommandéepar les herboristes.
- Badiviane,A. (1966).Le dictionnaire illustré des noms de plantes, Medbouli.P 38.
- Balakumar ,P., Chakkarwar,V.,Kumar ,V. (2008). Experimental models for nephropathy. (J. R. syst, Éd.) (9), 189-5.
- Barbieri, A.,Hussain .A.(2017). “Anticancer and anti-inflammatory properties of *Ganoderma lucidum* extract effects on melanoma and triple-negative breast cancer treatment.” *Nutrients*. Vol. 9, No. 3 p: E210.
- Bardeau, F. (2009). *Les huiles essentielles*. Fernand Lanore.(6) 99-100.
- Belakhedr,J. (1997). contribution à ‘l’étude de la pharmacopée traditionnelle au Maroc : la situation actuelle, les produits ’les sources du savoir. 130-147.
- Bonnier,G. (1909). *La Végétation de la France, Flore Complète*. (Tome, Éd.) (9), pp25-26.
- Bonnier,G & De layens,G .(1986) *Flore complète portative de la France, de la Suisse et de la Belgique : Pour trouver facilement les noms des plantes sans mots techniques*. 5338 figures représentant les caractères de toutes les espèces, France, Suisse, berline .
- Bouarab-Chibane, L., Degraeve,P., Forquet,H.,Oulahal,N. (2019). Antibacterial Properties of Polyphenols: Characterization and QSAR (Quantitative Structure–Activity Relationship) Models. *Front. Microbiol.* (10),p 829.
- Boudjelal, A., Henchiri, C., Siracusa, L., Sari, M., Ruberto, G.,Compositional analysis in vivo anti-diabetic activity f wild Algerin *Marrubium vulgareL* . (83), p286,292.
- Boukef,M. (1986). *Médecine Traditionnelle et Pharmacopée, Les plantes de la médecine traditionnelle tunisienne*, Agence de Coopération Culturelle et Technique. P163 164.

- Boularas, H., Guezi, L., Merdjerab, I (2019). Evaluation de l'effet d'un extrait hydroalcoolique d'une Lamiaceae sur l'activité oedématisante induite par le venin de *Cerastes cerastes*. *mémoire de master académie*, Université des sciences de la technologies Houari Boumediene .
- Bouzourene, S & Bourkache, S (2016). Etude phytochimique du Marrube blanc (*Marrubium vulgare*). étude phytochimique du Marrube blanc (*Marrubium vulgare*).
- Boutaïba, L., Salah, T., Mohcen, M. (2020). Utilisation thérapeutique traditionnelle du *marrubium vulgare*. (44) (19), 19(44) :1-11 111.
- Boutlis, D.A (2014). Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydant, antihépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L ». Annaba-Badji mokhtar, thèse de doctorat, Annaba-Badji mokhtar.
- Bouterfas, K., Mehdadi, A. Latreche, Z., Hazem, N. (2016). Quantification de quelques polyphénols de *Marrubium vulgare* L de mont de tessala 8 (31).
- Bray, D.H. (1992). Drug-induced disease. *Medical Journal of Australia*, 724-728.
- Breneton, J. (2001). Plantes toxiques : végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. (3), 337P. paris: TEC&DOC.
- Bruneton, J. (2019). (3), 199-388-1120.
- Cechinel, V. (2018). *Marrubium vulgare* L., In Medicinal and Aromatic Plants of South America. "317-321. Springer dordrecht.
- Chabot, S., Bel-Rhaid, R., Piché, Y. (1992). Hyphal growth promotion in vitro of the VA mycorrhizal fungus, *Gigaspora margarita* Becker & Hall, by the activity of structurally specific flavonoid compounds under CO₂-enriched conditions. *New Phytologist*. 122, 461-467.
- Charles, Falzon, E. (2017). *Phytotherapy: An Introduction to Herbal Medicine*, 44 (2).
- Chiasson, H. & Beloin, N (2007). Les huiles essentielles, des biopesticides" Nouveau genre. *Bulletin de la Société d'Entomologie du Québec*, 14(1), 3-6.
- Clément, P., R. (2005). Aux racines de la phytothérapie : entre tradition et modernité (1ère partie) À Législation. 4, 171-5.
- Colalto, C. (2018). What phytotherapy needs: Evidence-based guidelines for better clinical practice, 32 (3).
- Combs, C. (2016). *Tannins: Biochemistry, Food Sources and Nutritional Properties*. Nova Science Publishers, p200.
- Dacosta, Y. (2003). Les phyto-nutriments bioactifs. (Y. Dacosta, Éd.) 317.
- De Billerbeck, V., G. (2001). Effects of *Cymbopogon nardus* (L.) Watson essential oil on the growth and morphogenesis of *Aspergillus niger*. *Canadian Journal of Microbiology*. 47(1), 9-7.
- Dorman, H. D., & Deans, S.G (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88(2), 308-316.
- Du, Y., Xu, Z., Yu, G., Liu, W., Zahou, Q., Cao, Y. (2019). A Newly Isolated *Bacillus subtilis* Strain Named WS-1 Inhibited Diarrhea and Death Caused by Pathogenic *Escherichia coli* in Newborn Piglets. *Front. Microbiol.* 10, 1248.

- El-Rhaffari L., Zaid. A. (2004). Pratique de la phytothérapie dans le sud-est du Maroc .un savoir empirique pour une pharmacopée rénovée. origine des pharmacopées traditionnelles et élaboration des pharmacopée savantes. 293-318.
- Ferraz, C. O. (2020). therapeutic potential of flavonoids in Pain and Inflammation: mechanisms of Action, Pre-clinical and Clinical Data, and pharmaceutical development. *molecules*. 25, 762.
- Foster, H & Hobs, C. (2002). field guide to western medicinal plants and herbs. Houghton Mifflin Harcourt., 464p
- Gaussen H., et Leroy H. F. 1982. Précis de botanique, végétaux supérieurs, 2ème Ed : Masson. Paris. 426 p.
- Ghedadba, H. B. (2014). Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuries de *Marrubium Vulgare L.*, *Pharmacognosie*. 15, 15-24.
- Ghedadba, N., Bousselsela, H., Hambaba, L., Hachemi, M., Drid. (2014). Évaluation de l'activité hémostatique in vitro de l'extrait aqueux des. *Algerian Journal of Natural Products*, 2:2, 64-74.
- Ghedira, K. (2005). Les N.P.M.U flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3(4), 162-169.
- Gilly Jean-Pierre, F. W. (2005). Enchevêtrement des espaces de régulation et gouvernance territoriale. Les processus d'innovation institutionnelle dans la politique des Pays en France., 0(5), pages 699-722.
- Greuter W, Burdet. H.M., Long, G (2010). *Conservatoire et Jardins Botaniques, Genève* (Vol. 3), (Med-Checklist, Éd.).
- Hameg Taous, T. D. (2018). Evaluation de l'activité antimicrobienne, et Antioxydante des composés phénoliques du Marrube blanc « *Marrubium vulgare* ». diplôme de master académique université mouloud mammeri de Tizi-ouzou.
- Hamliche, V. (2015). Traitement de la toux à travers la pharmacopée traditionnelle kabyle phytothérapie . *13(6)*, 358-372.
- Hanifi, A. (2018). Importance des ressources phytogénétiques et leurs utilisation en Algérie. In conservation des ressources végétales. 47-49.
- Iserin, P. (2016). Larousse encyclopédie des plantes médicinales .290-300
- Jones, W. & Douglas Kinghorn. A. (2006). Extraction of plant secondary metabolites. In *Natural products isolation*. 323-351.
- Judd W., Campbell, C. (2002). Botanique systématique: Une perspective phylogénétique. (1), 369-384.
- Kanyonga, P., Faouzi, M.A., Meddah, B., Mpona, M., Essai, E.M. (2011). Assessment of methanolic extract of *marrubium vulgare* for anti-inflammatory, analgesic and anti-microbiologic activities. 3(1):199-204.
- Kouame, N. M.-K. (2016). *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf: ethnopharmacologie, phytochimie, activités pharmacologiques et toxicologie. *Phytothérapie*, 14(6), 384-392.
- Lamendin, H. (2004). Huiles essentielles en diffusion atmosphérique. *Fr1185*, 78-80.
- Lardry, J. M. (2017). L'aromathérapie et les huiles essentielles. 7(61), 397-423.
- Lawal, O. A. (2017). *Cymbopogon citratus*. In *Medicinal Spices and Vegetables from Africa* . 397-423.

- Lodhi, S. V. (2017). *Marrubium vulgare* L.: A review on phytochemical and pharmacological aspects. *J Intercult Ethnopharmacol*, 6, 429.
- Machraoui, M. Kthiri,Z.,Ben,J.,Hamada,W. (2018). Ethnobotanical and phytopharmacological notes on *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. *Journal of New Sciences*,55, 3642-3652.
- Majewska, E., Kozłowska, M. Gruszczynska.S.,Kowalska.,D. (2019). Lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil: Extraction, Page 41 / 52 composition, bioactivity and uses for food preservation-a review. *. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences., 64(4)*.
- Malviya,R, V. B. (2010). High performance liquid chromatography: a short review. *Journal of global pharma technology*, 2(5), 22-26.
- Masoodi, B. Ahmed.I,Zargar;S.Khan (2008). Antibacterial activity of whole plant extract of *Marrubium vulgare*. *African journal of biotechnology*, 7(2).
- Morel.J-M. (2008). *Traité pratique de phytothérapie: remèdes d'hier pour médecine de demain*.Paris
- Morris, C. (2003). Carrageenan-Induced Paw Edema in the Rat and Mouse, in: *Inflammation Protocols*. 115-122.
- Mubashir H.M., I. Z. (2009). Evaluation of Antimicrobial Activity of Aqueous Extract of *Marrubium vulgare* L. *Journal of Research and Development.*, 9, 53-56.
- Muller P., Fellin R., Lambrecht J., Agostini B., Wicland H., Rost W., Sadel . R. (1974). Hypertriglyceridemia, secondary to liver disease, *. European Journal of Clinical Investigation*, 4, 419-428.
- Nair, R., Chanda, S. (2005). Anticandidal activity of *Punica granatum* exhibited in different solvents *Pharmaceutical Biology*. 43, 21-5.
- Otsmane,K., Lachouaki,N. (2019). *Mise au Point d'une Préparation Galénique Naturelle aux Huiles Essentielles de Citronnelle à Visée Thérapeutique* Diplôme d'un Master Académique Université Blida 1.
- Niimi ,K., B., M. (2010). Clinically significant micafungin resistance in *Candida albicans* involves modification of a glucan synthase catalytic subunit GSC1 (FKS1) allele followed by loss of heterozygosity.
- Nsemi,F. (2010). « Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques », thèse de doctorat, université de LORRAINE.
- Oladeji, O.Adelowo.,S (2019). Phytochemistry and pharmacological activities of *Cymbopogon citratus*: a review. (6) 136.
- Ozenda,P. (2004). *Flore et végétation du Sahara*. Paris p247 .
- Pagare, Saurabh., Bhatia, M., Tripathi, N., Sonal, Bansal, Y.K (2015). Secondary Metabolites of Plants and their Role: Overview. 9, 12.
- Paterson D.L, Robson J.M, Wagner M.W. (1998). Risk factors for toxicity in elderly patients given aminoglycosides once daily. *.: Journal of Internal Medicine**Journal of Internal Medicine.*, 13, 735-739.
- Pharmacopée Européenne, (2005). *Pharmacopée Européenne*. (7). Récupéré sur [. Pharmacopée Européenne](#).

- Pierre.J BRU, Christian Cattoen, Vincent Cattoir, Luc Dubreuil, Gérard Lina, Audrey Mernes, Patrick Plesiat, Marie-Cécile Ploy, Claude-James Sousy, Emmanuelle Varon,. (2020). Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. 18-77.
- Rhayour K. (2002). Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *mycobacterium phlei* et *mycobacterium fortuitum*, Thèse de doctorat. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès. Maroc. 158.
- Ribeiro, V. P., Arruda, C., Abd El-Salam, M., & Bastos, J. K. (2018). brazilian medicinal plants with corroborated anti-inflammatory activities: A review. *Pharmaceutical Biology*. 56(1), 253-268.
- Rosselet JP, M. J. (1963). Isolation, purification, and characterization of gentamicin. *antimicrob agents chemothe*. 16(1), 14-6.
- Quezel, E et Santa (1962/1963). Nouvelle flore l'Algérie et des régions desertiques mèridionales. 1170 pages.
- Schlempher, V. (1996). « Antispasmodie effects of hydroalcoholic extract of *Marrubium vulgare* on isolated tissues ». 211-216.
- Singleton, V., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R.M., (1999). analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent, in: *methods in enzymology*. 152-178.
- Sofowora, A. (2010). *Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique*. (Karthala, Éd.) 22.
- Su, Y. X. (2006). Molecular mechanism underlying anti-inflammatory activities of liriocresinol B dimethyl ether through suppression of NF- κ B and MAPK signaling in in vitro and in vivo models. 321-332.
- Brayt, D.H. (1992). Drug-induced disease. *Medical Journal of Australia*, 724-728.
- Tabti, M. (2017). « Étude taxonomique de quelques populations de *Salvia verbenaca* ssp. *Eu verbenaca* et ssp. *clandestina* (Lamiaceae) du golfe de Bejaia et de la vallée de la soummam ». mémoire de master, université Abderrahmane Mira de Bejaia .
- Teuscher, E. A. (2005). *Plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles*.
- Tuhinadri, S., Kumar, S. (2015). *Medicinal plants, human health and biodiversity*.
- Tyagi, A., Malik, K. (2011). Antimicrobial potential and chemical composition of *Eucalyptus globulus* oil in liquid and vapour phase against food spoilage microorganisms. *Food Chemistry*. 126(1), 228-235.
- Wegrzyn, R. & Lamendinh, H. (2005). *Huiles essentielles et aromathérapie buccodentaire*., 1225., 62-66.
- Weinstein MJ, Lamendinh, H. G. (1963). Gentamicin, a new antibiotic complex from *micromonospora*. (J. M. Chem, Éd.) 6, 463.
- Wu, M., Li, X. (2015). *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*, in: *molecular medical microbiology*. 1547-1564.
- www.inpn.mnhn.fr.
- www.the-passion.fr.
- www.herboristerieduvalmont.com.
- www.graines-semences.com.

- Yano, Y., Hiroshi, S. (2006). *Antimicrobial effect of spices and herbs on Vibrio parahaemolyticus seafood safety* Section. National Research Institute of Fisheries Science, Japan.
- Zaika, L. L. (1988). Spices and herbs: their antimicrobial activity and its determination. *Journal of Food Safety*, 9(2), 97-118.
- Zarai, Z., A. Kadri, Chobba, R. Mansour, A. Bekir, H. Mejdoub & N. Gharsallah (2011). The in-vitro evaluation of antibacterial, antifungal and cytotoxic properties of *Marrubium vulgare* L. essential oil grown in Tunisia. *Lipids in health and disease*. 10(1), 161.
- Zeremski, M. A. (2020). *Marrubium vulgare* L.: A Phytochemical and Vegetable Crops Novi Sad, Maksima Gorkog 30, 21000 Novi Sad, Serbia, Department of Pharmacy, Faculty of Medicine, University of Novi Sad, Hajduk Veljkova 3, Novi Sad 21000,.