

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
People's Democratic Republic of Algeria
The Minister of Higher Education and Scientific Research
ⵜⴰⴳⴷⴰⵢⵜ ⵏ ⵜⴰⵎⴳⴷⴰⵢⵜ ⵏ ⵜⴰⵎⴳⴷⴰⵢⵜ ⵏ ⵜⴰⵎⴳⴷⴰⵢⵜ ⵏ ⵜⴰⵎⴳⴷⴰⵢⵜ

ABOU BEKR BELKAID UNIVERSITY
TLEMCCEN
FACULTY OF MEDICINE- Dr. B. BENZERDJEB
PHARMACY DEPARTMENT



جامعة أبو بكر بلقايد - تلمسان
كلية الطب - د. ب. بن زرجب
قسم الصيدلة

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES POUR
L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTEUR EN PHARMACIE

THÈME :

Etude phytochimique d'une plante médicinale *Marrubium vulgare L*

Présenté par :

MERAHI Zahira Abir YAMOUCHE Ikram Bouchra

Soutenu le

10/06/2024

Jury

Président :

Dr NEGADI Sihem

Maitre assistante en Botanique Médicale et Cryptogamie

Membres :

Dr HADJILA Amina

Maitre-assistante en Hydrobromatologie

Dr LOUZIM Habiba

Maitre-assistante en Chimie Thérapeutique

Encadrant :

Dr NORDINE Ibrahim Zakaria

Maitre-assistant en Chimie analytique

Année universitaire : 2023-2024

Remerciement

Nous commençons par remercier Dieu, car c'est grâce à lui que nous nous trouvons ici. Nous lui exprimons nos gratitude pour toutes les bénédictions, en particulier pour la santé, le succès, la bienveillance et le soutien dont nous avons bénéficié dans nos vies en général et dans nos parcours académiques en particulier.

Celui qui ne remercie pas les gens n'a pas remercié Allah.

*Nous tenons à remercier notre encadrant **NORDINE Zakaria Ibrahim** d'avoir accepté d'encadrer ce travail, ainsi que pour sa gentillesse, ses conseils constructifs, son attention, son dévouement et sa disponibilité tout au long de cette année de travail sans jamais douter de son aboutissement.*

*Nos vifs remerciements à Professeur **HAREK** de nous avoir accueillies au sein du laboratoire de chimie analytique et d'électrochimie.*

Sans oublier de remercier le technicien du laboratoire de chimie minérale de la faculté de médecine.

*Nous tenons à remercier sincèrement l'informaticien de la faculté de médecine **HESSAINE Réda** qui a toujours été disponible pour apporter son aide lorsque nous en avons besoin.*

*Nous voulons remercier le Docteur **NEGADI Siham** d'avoir accepté de présider le jury.*

*Nous souhaitons exprimer notre sincère gratitude envers les membres du jury, le Dr **LOUZIM** et le Dr **HADJILA Amina**, pour avoir consacré leur temps à évaluer cet humble travail.*

Nous exprimons également notre gratitude envers tous les enseignants du département de pharmacie qui ont participé à notre formation.

Dédicace

Avec une profonde reconnaissance, de la gratitude et du respect, je souhaite dédier ce modeste travail :

- *À mes parents, pour leurs sacrifices, leur dévouement, leur patience et la confiance qu'ils m'ont accordée.*
- *À ma grande sœur et son mari pour leur soutien moral et leurs encouragements.*
- *À ma petite sœur pour son engagement et sa motivation.*
- *À mon cher neveu Youcef Yazen, à qui je souhaite tout le succès et le bonheur du monde.*
- *À mes amies :*
 - *Amira, avec qui j'ai partagé de merveilleux moments tout au long de mon cursus.*
 - *Kawtar Ali dahmane qui m'a apporté son soutien inestimable en périodes difficiles de mon cursus.*
 - *Fatima Hafid et Rania Chebourou ont toujours été là pour me prodiguer des conseils précieux pour mon travail, ainsi que pour m'apporter leur soutien moral.*
 - *À mes collègues Hanane Loudjaïne Aissacouia pour ses précieux conseils, Abderahim qui m'a toujours apporté son aide et Bilal.*
 - *À mon précieux binôme, Abir Zahira, pour sa compréhension, son aide et sa patience tout au long de ce travail.*
 - *À toute ma famille et à mes proches que j'aime*

Akram Bouchra

Dédicace

Je dédie ce travail

À mes chers parents, qui sont la source de tendresse et la lumière qui éclaire mon chemin vers le succès. Leur soutien et leur présence dans ma vie ont été inestimables.

À mon cher frère Zineedine et ma chère sœur Nesrine

À tous mes amis (s) sans exception

À ma chère binôme Ikram Bouchra

Enfin, J'offre mes bénédictions à tous ceux qui m'ont soutenu dans l'accomplissement de ce travail.

Zahira Abir

TABLE DES MATIERES

GLOSSAIRE DES TERMES SCIENTIFIQUES	V
LISTE DES ABREVIATIONS	VI
LISTE DES TABLEAUX	VI
LISTE DES FIGURES	VI
INTRODUCTION	1
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	1
CHAPITRE I : PRESENTATION DE L'ESPECE <i>Marrubium vulgare L.</i>	2
I.1. Introduction	5
I.2. Historique	5
I.3. Etude botanique de <i>Marrubium vulgare L.</i>	5
I.3.1. Famille des labiées / lamiacées	5
I.3.1.1. Composition chimique de la famille	6
I.3.1.2. Répartition géographique des lamiacées	6
I.3.1.3. Description botanique des lamiacées	6
I.3.1.4. Systématique de la famille des Lamiacées	7
I.3.2. Genre <i>Marrubium</i>	8
I.3.2.1. Répartition géographique	8
I.3.2.2. Description botanique	8
I.3.3. Espèce <i>Marrubium vulgare L.</i>	
I.3.3.1. Répartition géographique	8
I.3.3.2. Description botanique	8
I.4. les procédés de culture et de récolte du marrube blanc	10
I.5. Utilisations thérapeutiques du <i>Marrubium vulgare L.</i>	11
I.6. Les contre-indications et les effets indésirables	11
CHAPITRE II : METABOLITES SECONDAIRES ET LEURS ACTIVITES BIOLOGIQUES	12
II.1. Métabolites secondaires	13
II.1.1. Composés phénoliques	13
II.1.1.1. Acides phénoliques	13
II.1.1.2. Flavonoïdes	15
II.1.1.3. Polymères	16

II.1.1.4. Lignane.....	17
II.1.1.5. Stilbénoides	18
II.1.2. Composés terpéniques.....	18
II.1.3. Extraction des composés phénoliques	19
II.1.3.1. Extraction solide-liquide	19
II.1.3.2. Extraction par liquide sous pression	19
II.1.3.3. Extraction supercritique	20
II.1.3.4. Extraction assistée par micro-ondes.....	21
II.1.3.5. Extraction assistée par ultrasons	21
II.1.4. Activités biologiques des métabolites secondaires	22
II .1.4.1. Activités biologiques des composés phénoliques	22
II .1.4.1.1. Activités antioxydants	22
II .1.4.1.2. Action anticancéreuse	23
II .1.4.1.3. Action sur le système cardiovasculaire	23
II .1.4.1.4. Action sur le système nerveux	24
II .1.4.1.5. Action anti inflammatoire	24
II .1.4.1.6. Activité antibactérienne	24
II .1.4.2. Activités biologiques des composés terpéniques	24
II.2.1. Huiles essentielles (HE)	25
II.2.1.1. Généralités sur l'aromathérapie et les huiles essentielles.....	25
II.2.1.2. Caractéristiques physico-chimiques et compositions chimiques des HE	27
II.2.1.3. Principaux constituants des HE du genre Marrubium	31
II.2.1.4. MÉTHODES D'EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES	32
II.2.1.4.1 Entraînement à la vapeur d'eau = distillation à la vapeur d'eau	33
II.2.1.4.2. Extraction par hydrodistillation	34
II.2.1.4.3. Procédé mécanique = expression à froid	35
II.2.1.5. Analyses et contrôles réalisés en laboratoire	35
II.2.6. Conservation	36
II.2.1.6. L'aromathérapie dans le domaine pharmaceutique	37
II.2.1.6.1. Rôle du pharmacien dans l'aromathérapie	37
II.2.1.6.2. Les huiles essentielles et médicaments	38
ETUDE EXPERIMENTALE	39
MATERIEL ET METHODES	40

1.Objectifs de l'étude	42
1.1. Objectifs principaux	42
2.Etude ethnobotanique de <i>Marrubium vulgare L</i>	42
2.1. Type de l'étude	42
2.2. Matériels	42
2.3. Méthode	42
3.Etude phytochimique de <i>Marrubium vulgare L</i>	42
3.1. Matériels	42
3.1.1. Lieu et durée de l'étude	42
3.1.2. Réactifs	43
3.1.3. Matériel végétal.....	43
3.1.4. Matériel biologique.....	45
3.1.5. Matériel du laboratoire	46
3.2. Méthodes	46
3.2.1. Screening/criblage phytochimique de <i>Marrubium vulgare L</i>	46
3.2.1.1. Préparation des extraits	47
3.2.1.2. Protocole de screening/criblage phytochimique	47
3.2.2. Extraction et analyse de l'HE de <i>Marrubium vulgare L</i>	49
3.2.2.1. Extraction de l'HE par hydrodistillation	49
3.2.2.2. Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle	51
3.2.2.3. Caractérisation physique de l'huile essentielle	51
3.2.3.Evaluation de l'activité antioxydant de l'HE de <i>Marrubium vulgare L</i>	52
3.2.3.1. Test de la réduction du fer (FRAP)	52
3.2.4. Evaluation de l'activité antibactérienne de l'HE de <i>Marrubium vulgare L</i> ...	53
3.2.4.1. Méthode de diffusion en milieu gélosé ou aromatoگرامme	53
Résultats	55
1. Résultat de l'enquête ethnobotanique sur <i>Marrubium vulgare L</i>	56
2. Résultats du Screening/criblage phytochimique de <i>Marrubium vulgare L</i>	65
3. Calcul du rendement en HE	71
4. Résultats de la caractérisation organoleptique de l'HE	71
5. Résultats de la caractérisation physique de l'HE	71
6. Résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante de l'HE	72
7. Résultat de l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'HE	73

DISCUSSION	75
1. Discussion des résultats de l'enquête ethnobotanique	76
2. Discussion des résultats de screening phytochimique de <i>Marrubium vulgare L</i>	77
3. Discussion des résultats de l'analyse de l'HE de <i>Marrubium vulgare L</i>	78
4. Discussion des résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante d'huile essentielle ..	79
5. Discussion des résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles	79
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	81

GLOSSAIRE DES TERMES SCIENTIFIQUES

Feuilles lancéolées : en forme de fer de lance.

Inflorescence : un groupe ou un amas de fleurs.

Plante annuelle : un végétal réalisant son cycle biologique complet dans l'année puis mourant au terme de celui-ci.

Plante bisannuelle : Les bisannuelles sont des plantes qui accomplissent leur cycle de vie sur deux années.

Système racinaire : Il est caractérisé par une racine principale qui s'enfonce verticalement dans le sol, et sur laquelle se développent des racines secondaires latérales

Tomentum : Couvert de poils (pour une feuille)

Verticilles : ensemble d'organes de même nature insérés en cercle et à un même niveau.

LISTE DES ABREVIATIONS

ABTS : acide 2,2-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonique)

AC : Acide

AFNOR : Association française de normalisation

ATCC: American type culture collection

CUPRAC: Cupric Reducing Antioxidant Capacity

DMSO : Diméthylsulfoxyde

ERN : Espèces réactives de l'azote

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

FSC : fluide super critique

HE : Huile essentielle

Km : Kilomètre

ml : Millilitre

ORAC : Capacité d'absorption des radicaux d'oxygène

PMA : Procréation médicalement assistée.

ug : Micro gramme

ELP : Extraction liquide sous pression

EAU : Extraction assistée par ultrasons

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Présentation des souches bactériennes testées	45
Tableau II : Présentation du matériel utilisé	46
Tableau III :Dilutions de l'huile essentielle (test de FRAP).	52
Tableau IV : Dilutions de l'acide ascorbique (test de FRAP)	53
Tableau V : Sensibilité des souches bactériennes en fonction de diamètre des zones d'inhibition.	54
Tableau VI : Caractères organoleptiques de l'HE de Marrubium vulgare L.	71
Tableau VII : Caractères physiques de l'HE de Marrubium vulgare L	71
Tableau VIII :Sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis l'HE du marrube blanc.....	73

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Carte de répartition géographique mondiale de la famille des lamiacées	6
Figure 2 : Caractéristiques morphologiques d'une lamiacée	7
Figure 3 : Aspects morphologiques de l'espèce <i>Marrubium vulgare L</i>	9
Figure 4 : Morphologie des fleurs et fruits de <i>Marrubium vulgare L</i>	10
Figure 5 : Classification simplifiée des composés phénoliques	13
Figure 6 : Structure chimique de l'acide hydroxybenzoïque	14
Figure 7 : Structure chimique de l'acide hydroxycinnamique	14
Figure 8 : Structure de base des coumarines	15
Figure 9 : Les classes principales de flavonoïdes	16
Figure 10 : Structure chimique de l'acide gallique	16
Figure 11 : Structure chimique de Tanin hydrolysable penta-O-galloylglucose	16
Figure 12 : Structure chimique des Tanins condensés	17
Figure 13 : Structure générale des lignanes	17
Figure 14 : Structure chimique du cis et du trans-resvératrol	18
Figure 15 : Structure chimique de l'isoprène	19
Figure 16 : Montage d'une extraction supercritique	20
Figure 17 : Montage d'une extraction assistée par microonde	21
Figure 18 : Montage d'une extraction assistée par ultrasons	21
Figure 19 : Structures chimiques de quelques constituants des huiles essentielles	28
Figure 20 : Structures chimiques de quelques constituants des huiles essentielles	29
Figure 21 : Les principaux composants des huiles essentielles du Genre <i>Marrubium</i>	32
Figure 22 : Principe schématisé de l'extraction par entraînement à la vapeur	34
Figure 23 : principe schématisé de l'hydrodistillation (HD)	35
Figure 24 : Chromatogramme d'une huile essentielle de cannelle	36
Figure 25 : Les huiles essentielles deviennent de plus en plus populaires en pharmacie.	38
Figure 26 : Photo originale de la plante <i>Marrubium vulgare L</i> . prise le jour de la récolte.	44
Figure 27 : Localisation géographique de la zone de cueillette de <i>Marrubium vulgare L</i> .	44
Figure 28 : Forme séchée et broyée de <i>Marrubium vulgare L</i>	45
Figure 29 : Photo originale d'un dispositif d'hydrodistillation type Clevenger..	50
Figure 30 : Mécanisme réactionnel du test FRAP	52
Figure 31 : Distribution par sexe	56
Figure 32 : Distribution de la population étudiée selon l'âge.	57
Figure 33 : Répartition de la population étudiée selon le lieu de résidence.	57
Figure 34 : Niveau d'éducation de la population étudiée.	58
Figure 35 : Catégorie socio-professionnelle de la population étudiée.	59
Figure 36 : Connaissance des marrubes blancs par la population étudiée	59
Figure 37 : Usage des marrubes blancs par la population étudiée	60
Figure 38 : Approvisionnement des marrubes blancs	60
Figure 39 : Différentes méthodes de préparation des plantes médicinales (marrube blanc).	61
Figure 40 : Usage thérapeutique de <i>Marrubium vulgare L</i> .	62
Figure 41 : Formes d'utilisation de <i>Marrubium vulgare L</i> .	62
Figure 42 : Parties utilisées de <i>Marrubium vulgare L</i> .	63
Figure 43 : modalité d'utilisation de Marrube Blanc	63
Figure 44 : Les effets indésirables de Marrube blanc.	64
Figure 45 : Résultat après l'ajout de FeCl ₃	65

Figure 46: Résultat après l'ajout du réactif de Shinoda.	65
Figure 47: Réaction de fluorescence	66
Figure 48 Résultat obtenu après l'ajout du FeCl ₃	67
Figure 49: Résultat obtenu après l'ajout du Stiasny	67
Figure 50: Résultat obtenu Après filtration et l'ajout d'acétate de sodium	67
Figure 51: Résultat obtenu après l'ajout du réactif de Dragendorff	68
Figure 52 :Série de dilutions d'un extrait de plante pour la détection des saponosides	68
Figure 53: Réaction de Libermann-Burchard	69
Figure 54: Résultat après l'ajout de liqueur de Fehling	69
Figure 55: Réaction en milieu basique	70
Figure 56: Résultat obtenu après l'ajout du réactif de H ₂ SO ₄ .	70
Figure 57: Courbe d'étalonnage de la réduction du fer (FRAP) obtenue avec l'huile essentielle	72
Figure 58: Courbe d'étalonnage de la réduction du fer (FRAP) obtenue avec l'acide ascorbique	72
Figure 59: Pouvoir réducteur des huiles essentielles de <i>Marrubium vulgare L</i> extraite et d'AC ascorbique en fonction des concentrations	73
Figure 60: Test de pouvoir antibactérien de l'HE de <i>Marrubium vulgare L</i> sur <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>E. coli</i> .	74

INTRODUCTION

Les plantes médicinales renferment une multitude de composés aux effets pharmacologiques et biologiques divers, offrant ainsi une source infinie de substances bénéfiques. Les herboristes traditionnels dans certaines régions d'Afrique utilisent exclusivement des plantes médicinales pour soigner plus de 90 % de la population(1). Il est crucial d'analyser ces plantes médicinales et de fonder leur utilisation sur des preuves scientifiques. L'Algérie possède un riche et précieux patrimoine botanique, comprenant plus de 3000 espèces végétales parmi lesquelles 15% sont endémiques(2). Parmi ces précieuses ressources naturelles, de nombreuses plantes médicinales sauvages, qui contiennent des composés bioactifs tels que les Lamiacées, sont très utilisées au quotidien(2).

Parmi ces plantes médicinales, *Marrubium vulgare L*, plante utilisée depuis l'antiquité, considérée comme un substituant thérapeutique naturel, de la famille des lamiacées, très répandue dans le bassin méditerranéen et en particulier ; l'Algérie(3). Elle est fréquemment utilisée comme analgésique, anti-inflammatoire, antimicrobienne, antifongique, antihypertensive, antidiabétique, antioxydante, insecticide et pour de nombreuses autres indications thérapeutiques et activités biologiques(3). Ces effets thérapeutiques de *M. vulgare L* dépendent de la présence de métabolites secondaires(3). Cela nous amène à aborder la problématique suivante :

Quelle est la position de *Marrubium vulgare L* dans la phytothérapie en Algérie ? Quels sont les principaux métabolites secondaires de cette espèce ? Et quelles sont leurs propriétés biologiques ?

L'objectif de cette étude est de fournir de nouvelles informations sur l'espèce *Marrubium vulgare L* de la région de Tlemcen, dans le but de la mettre en valeur, en établissant principalement son profil phytochimique.

Dans le cadre d'une démarche scientifique, Ce manuscrit se compose de deux grandes parties :

La première partie est une synthèse bibliographique composée de deux Chapitres :

Le premier chapitre traite de la famille, du genre et de l'espèce botanique *Marrubium vulgare L*, tandis que le deuxième aborde les métabolites secondaires et leurs activités biologiques.

INTRODUCTION

La seconde partie concerne les travaux expérimentaux. Initialement, une enquête ethnobotanique a été menée pour recueillir des informations sur la plante *Marrubium vulgare* L, afin de documenter les différentes utilisations thérapeutiques et les effets secondaires de cette plante. Ensuite, nous avons entrepris d'établir le profil phytochimique du marrube blanc en utilisant diverses méthodes d'analyse des extraits. Ensuite, nous avons évalué ses activités antioxydantes et antimicrobiennes. Enfin, une conclusion générale a été présentée sur notre travail et ses perspectives.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I :

PRESENTATION DE L'ESPECE *Marrubium vulgare L*

I.1. Introduction

Les plantes ont toujours été très utilisées de façon abondante par l'homme depuis son apparition sur cette terre, Environ 35000 espèces de plantes sont commises par le monde à des fins médicinales, Leurs efficacités résultent de leurs composés, tant des métabolites primaires que secondaires. Parmi ces plantes, on trouve le marrube blanc, une espèce de la famille des Lamiacées, reconnue depuis longtemps pour ses propriétés curatives et sa capacité à traiter diverses maladies(4).

I.2. Historique :

Le marrube blanc est considéré dans l'ancienne époque en Grèce comme plante à effet thérapeutique, et cela depuis Hippocrate. Le nom de cette plante provient de « HORRUS », un dieu égyptien (5).

Antonius Castor (médecin romain du premier siècle), classait cette plante parmi les plantes utilisées pour traiter les maladies respiratoires(5).

Pline l'ancien (un naturaliste romain et écrivain du premier siècle) a mentionné dans ses bouquins plusieurs préparations à base de marrube blanc(5).

Dioscoride était un médecin, pharmacologue et botaniste grec, recommandait une décoction de marrube blanc pour le traitement de la toux(5).

Marrubium vulgare L était très connu des anciens arabes mais aussi des Grecs(6).

Au Moyen Âge, *Marrubium vulgare L* était souvent utilisé pour soigner les mêmes maladies que dans l'Antiquité(6).

Pour l'homme politique et botaniste français Jean-Emmanuel Gilbert (1741-1814), dans son ouvrage de 1798 intitulé "Histoire des plantes européennes", *Marrubium vulgare L* était considéré comme « L'une des plus belles plantes d'Europe »(5).

I.3. Etude botanique de *Marrubium vulgare L*.

I.3.1. Famille des labiées / lamiacées

Les Labiacées ou Lamiacées du latin « labia = lèvre » signifiant que les fleurs ont une forme caractéristique à deux lèvres, elles sont considérées comme l'une des familles les plus évoluées au sein des angiospermes dicotylédones ; ces plantes herbacées, vivaces, bisannuelles ou annuelles, et arbustives, comprennent à l'échelle mondiale, 258 genres et 6970 espèces(7,8).

CHAPITRE I : PRESENTATION DE L'ESPECE *Marrubium vulgare* L

Cette famille typique du monde végétal, comprend de nombreuses espèces d'importance économique. Elles sont utilisées comme condiments et leurs huiles essentielles sont également employées dans les industries cosmétique et pharmaceutique(9).

I.3.1.1. Composition chimique de la famille :

Les lamiacées se caractérisent par une variété chimique des composés présents comprennent les terpénoïdes, les iridoïdes, les polyphénols, les flavonoïdes, les huiles essentielles, et en particulier les courtes chaînes des terpénoïdes qui confèrent à la famille des Lamiacées son odeur et sa saveur caractéristiques(8).

I.3.1.2. Répartition géographique des lamiacées

Les lamiacées sont cosmopolites se trouvent plus fréquemment dans les zones tropicales que dans les zones tempérées du monde, comme le montre la (Figure 1). Leur répartition s'étend à travers le globe, avec une concentration particulière du bassin méditerranéen à l'Asie centrale .En Algérie, on trouve 28 genres et 146 espèces de cette famille botanique, caractérisées par une grande variabilité entre les espèces(8,10,11).

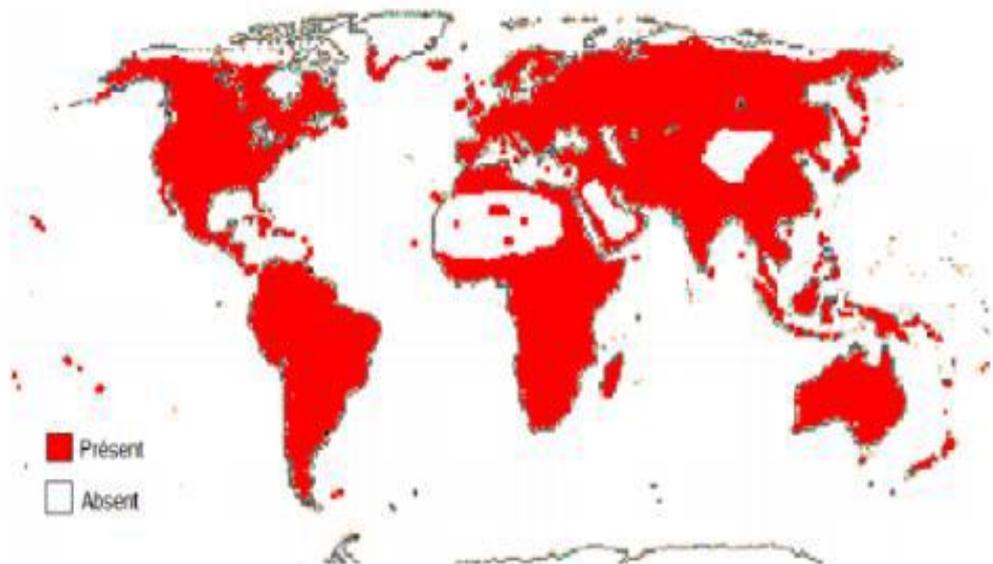


Figure 1 : Carte de répartition géographique mondiale de la famille des lamiacées (12)

I.3.1.3. Description botanique des lamiacées :

La plupart des membres de la famille des Lamiacées sont des plantes herbacées, seuls une dizaine d'arbres en font partie(13).

CHAPITRE I : PRESENTATION DE L'ESPECE *Marrubium vulgare* L

Les caractéristiques distinctives de cette famille incluent leurs glandes épidermiques aromatiques. Le feuillage des lamiacées est généralement persistant ou semi-persistant, avec des feuilles simples disposées de manière opposée, alternée ou en verticille. Bien que la plupart des espèces aient des feuilles simples, certaines développent toutefois des feuilles composées(13,14).

La floraison des Lamiacées se caractérise par des fleurs à deux lèvres ou à cinq pétales, regroupées en épis. La corolle contient généralement un disque nectarifère, et des tétrakènes lisses se forment lors de la fructification. Ces tétrakènes renferment des graines peu riches en albumen(12).

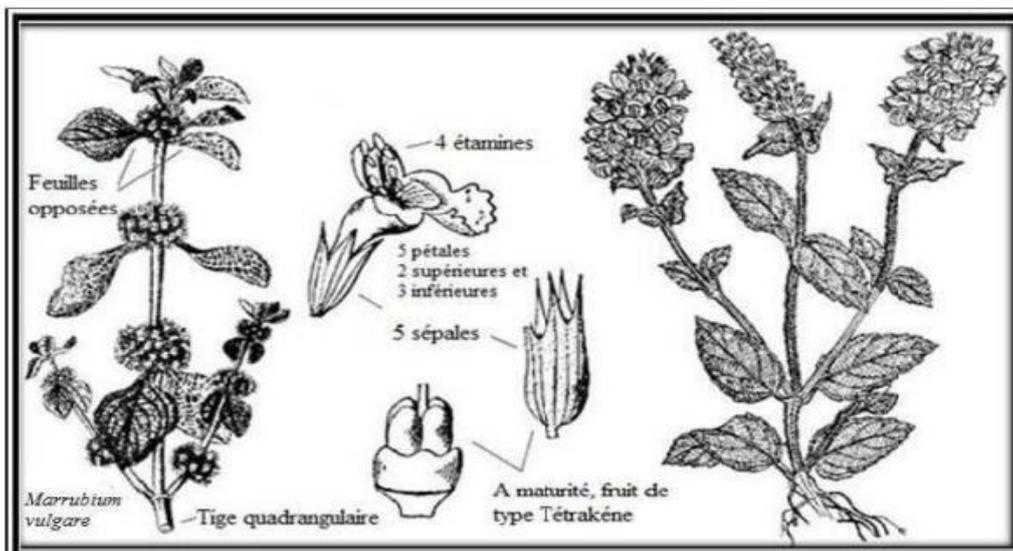


Figure 2 : Caractéristiques morphologiques d'une lamiacée(15)

I.3.1.4. La classification taxonomique des Lamiacées :

Selon la classification de l'APG 3 (Angiosperms Phylogeny Group 3, 2009), la famille des Lamiacées est classée comme suit :

Embranchement : Embryophytes

Sous Embranchement : Trachéophytes

Super Classe : Spermaphytes

Classe : Angiospermes

Grade : Triporées évoluées

Grade : Astéridées

CHAPITRE I : PRESENTATION DE L'ESPECE *Marrubium vulgare* L

Grade : Lamiidées (Euastéridées I)

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiacées

I.3.2. Genre *Marrubium*

Le genre *Marrubium* comprend environ 40 espèces, principalement des plantes herbacées annuelles ou vivaces avec des rhizomes. Cette plante ornementale est très attrayante et mérite d'être réintroduite dans nos jardins(16).

En Algérie, il existe six espèces distinctes appartenant à ce genre, parmi lesquelles on retrouve *Marrubium vulgare* L., qui est l'objet de notre étude(11).

I.3.2.1. Répartition géographique

Ce genre est principalement présent le long de la Méditerranée, dans les zones tempérées de l'Eurasie ainsi que sur tout le continent américain. Il est originaire d'Europe, mais on le trouve également en Afrique du Nord. Il se développe principalement dans les friches, le long des chemins, sur les terrains vagues et en lisière des bois et des taillis(16).

I.3.2.2. Description botanique

Les marrubes sont habituellement recouverts de tomentum, avec des feuilles crénelées et dentelées, et des fleurs blanches de petite taille disposées en verticilles axillaires et accompagnées de bractéoles. Ce genre possède un calice à dix dents, dont cinq sont courtes et pointues, se terminant toutes par une pointe épineuse(11,17).

I.3.3. Espèce *Marrubium vulgare* L

I.3.3.1. Répartition géographique

Le marrube blanc est une plante répandue à l'échelle mondiale. Présente dans presque toute l'Europe, en particulier dans ses régions méditerranéennes, ainsi que dans le sud de l'Europe et au centre-sud-ouest de l'Asie. On le trouve également dans le nord de l'Afrique, notamment en Algérie. Cette espèce se rencontre dans les zones non cultivées, les décombres, les friches, les prairies chaudes et sèches, les garrigues, souvent sur des sols calcaires(18).

I.3.3.2. Description botanique

CHAPITRE I : PRESENTATION DE L'ESPECE *Marrubium vulgare* L

- Appareil végétatif

Il s'agit d'une plante herbacée vivace mesurant entre 30 et 80 cm de hauteur (19), de couleur blanchâtre, qui ressemble légèrement à la menthe. Elle dégage une odeur forte et pénétrante, légèrement musquée, et possède une saveur à la fois chaude et amère., avec une racine pivotante ramifiée, ligneuse et dure ou de nombreuses racines latérales fibreuses et de nombreuses tiges quadrangulaires, dressées, très duveteuses et de 20 à 100 cm de haut(20), sont épaisses, carrées simple ou peu rameuses(21).

Les feuilles ont des pétioles et sont ovales à orbiculaires, avec une base en forme de cœur ou de coin, elles sont irrégulièrement crénelées, ridées et recouvertes de tomentum. Leur face supérieure est verte, et elles sont disposées en paires opposées le long d'une longue tige(21).



Figure 3 : Aspects morphologiques de l'espèce *Marrubium vulgare* L (22)

- Appareil reproducteur :

Les inflorescences du marrube blanc sont formées à l'aisselle des feuilles supérieures, avec des fleurs blanches regroupées en verticilles axillaires denses. Le calice présente une forme tubulaire et lobée, avec 10 dents, chacune ornée de petites épines ou de poils crochus. La corolle est blanche à lavande pâle, tubulaire et bilabiale ; la lèvre supérieure est à 2 lobes, bifide et dressée, tandis que la lèvre inférieure est à 3 lobes avec un lobe moyen plus grand(20). La forme

CHAPITRE I : PRESENTATION DE L'ESPECE *Marrubium vulgare L*

des grains de pollen est oblate-sphéroïdale, radialement symétrique et isopolaire. Les Fleurs chez *M. vulgare L* sont blanches, regroupées en de nombreux verticilles axillaires, multiflores et très compactes, disposés le long des tiges de manière espacée. apparaissent généralement au début du printemps, et ils sont régulièrement visités par les abeilles nectarifères (23). Les graines se trouvent au fond du calice (24). Les bractéoles sont en forme d'alène, lisses et crochues à leur extrémité, tout comme les 6 à 10 dents inégales du calice et les fruits sont quatre akènes(21).



Figure 4 : Morphologie des fleurs de *Marrubium vulgare L*(25)

I.4.les procédés de culture et de récolte du marrube blanc

Le marrube blanc s'épanouit dans un sol calcaire pauvre et sec, préférant les endroits ensoleillés et les sols bien drainés. Il peut être cultivé en pleine terre ou en pot (26).

Pour le semer en pleine terre, choisissez le printemps ou l'automne. Il suffit de le semer légèrement enfoncé dans le sol, puis de le compacter et d'arroser de façon modérée. Laissez environ 50 cm d'espace entre chaque plant(26).

CHAPITRE I : PRESENTATION DE L'ESPECE *Marrubium vulgare L*

Le marrube blanc ne nécessite pas d'entretien particulier. Un arrosage léger au début de la culture est suffisant. Vous pouvez le tailler deux fois par an pour le rendre plus dense et éliminer les fleurs fanées au fil du temps (26).

Les feuilles du marrube blanc sont cueillies de printemps à l'automne, tandis que les fleurs sont récoltées en été. Par la suite, il convient de les faire sécher dans un endroit sec, à l'abri de la lumière(26).

I.5. Utilisations thérapeutiques du *Marrubium vulgare L*

Marrubium vulgare L a été traditionnellement utilisé pour soulager les affections dermatologiques et respiratoires. Des études ont montré que les extraits et les métabolites de *Marrubium vulgare L*. ont des effets bénéfiques dans le traitement du diabète de type II et des maladies cardiovasculaires(27,28).

Des études in- vitro et in vivo ont prouvé que la marrubiine stimule la sécrétion d'insuline dans des conditions hyperglycémies avec une efficacité potentiellement plus élevée par rapport aux médicaments antidiabétiques établis tels que la metformine(27,28).

En phytothérapie moderne, divers produits à base de plantes médicinales comme *Marrubium vulgare L*. sont employées comme expectorant pour soulager la toux associée au rhume et pour traiter les symptômes. du léger trouble dyspeptique, tel que ballonnements flatulents, et perte temporaire d'appétit(29).

La plante *M. vulgare L* possède des activités anti oxydantes, antifongiques, elle présente des propriétés antibactériennes, antispasmodiques, anti nociceptifs (7).

En Algérie, il est couramment utilisé dans la médecine traditionnelle pour traiter divers troubles du système digestif, tels que `la diarrhée, le diabète, les rhumatismes, les affections respiratoires comme le rhume, ainsi que les douleurs respiratoires(31).

I .6. Les contre-indications et les effets indésirables

Les femmes enceintes sont généralement conseillées d'éviter le marrube blanc car il a été signalé par la Commission européenne comme ayant la capacité de stimuler l'utérus, ce qui pourrait entraîner des effets abortifs.

CHAPITRE II :

METABOLITES SECONDAIRES ET LEURS ACTIVITES BIOLOGIQUES

CHAPITRE II : METABOLITES SECONDAIRES ET LEURS ACTIVITES BIOLOGIQUES

II.1. Métabolites secondaires

Le terme « métabolites secondaires » est utilisé pour décrire divers composés présents dans les plantes jouent un rôle indirect mais crucial dans plusieurs fonctions essentielles pour la vie végétale, comme la communication intercellulaire, la défense et la régulation des cycles catalytiques(32).

II.1.1. Composés phénoliques

L'appellation « composés phénoliques » regroupe plus de 8 000 molécules sont classées en environ 10 groupes chimiques différents, tous caractérisés par la présence d'au moins un cycle aromatique composé de 6 atomes de carbone dans leur structure, qui peut également contenir diverses fonctions hydroxyles (OH)(33).

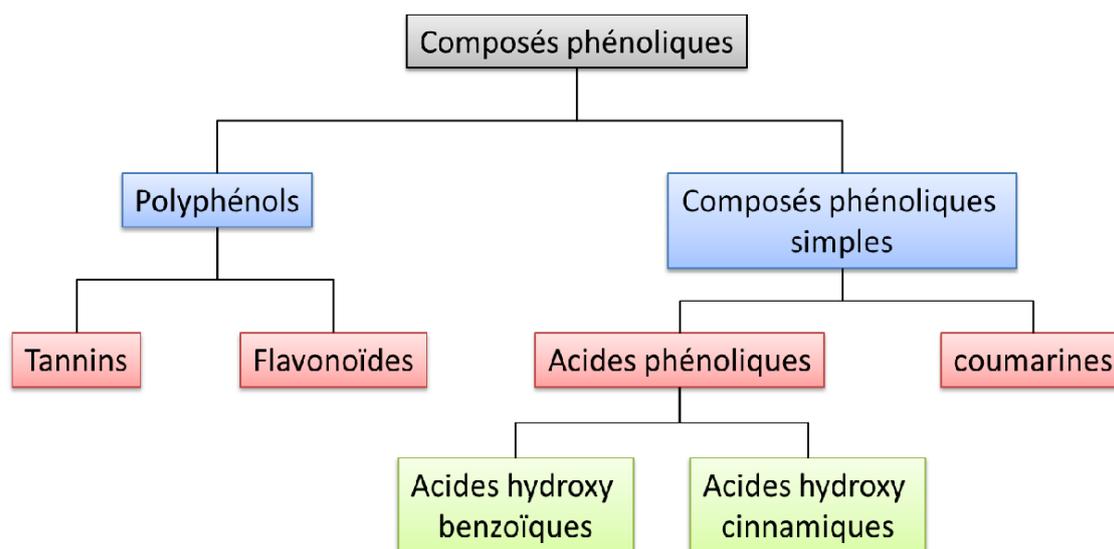


Figure 5 :Classification simplifiée des composés phénoliques (34)

II.1.1.1. Acides phénoliques

Les acides phénoliques comprennent des composés polyphénoliques non flavonoïdes, divisés principalement en deux types : l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique, qui sont constitués de groupes de C1-C6 et de C3-C6, ainsi que des coumarines. Tous ces composés présentent une structure de type (C6 - C3)(35).

CHAPITRE II : METABOLITES SECONDAIRES ET LEURS ACTIVITES BIOLOGIQUES

- Dérivés de l'acide benzoïque : Acides hydroxybenzoïque

La structure de l'acide hydroxybenzoïque est basée sur l'hydroxylation et méthylation sur le cycle phénol aromatique de structure basique en C6 - C1(35).

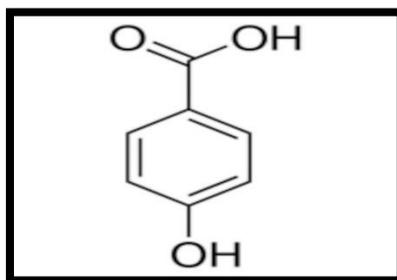


Figure 6 : Structure chimique de l'acide hydroxybenzoïque(36)

- Dérivés de l'acide cinnamique : Acides hydroxycinnamiques

Les acides hydroxycinnamiques sont des composés aromatiques à chaîne latérale de trois carbones (C6-C3), comprenant principalement de l'acide p-coumarique, de l'acide caféique, de l'acide férulique et de l'acide sinapique..(37,38)

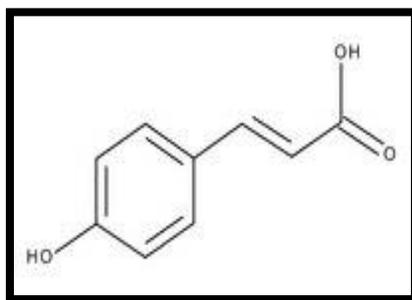


Figure 7 :Structure chimique de l'acide hydroxycinnamique(39)

- Coumarines

La structure des coumarines est constituée d'un cycle benzénique associé à un noyau lactone (benzo- α -pyrone), formant ainsi un noyau coumarine simple(40).

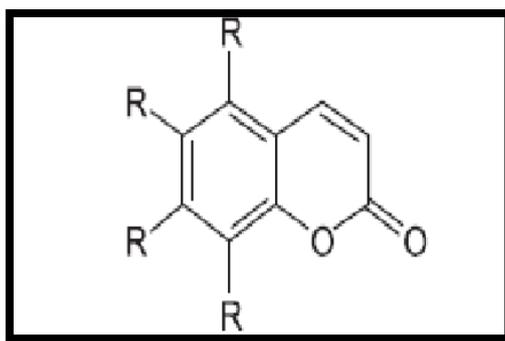


Figure 8 :Structure de base des coumarines(41)

II.1.1.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont universels dans le monde végétal, ils sont des composés pigmentaires les plus courants à côté de la chlorophylle et caroténoïdes. Généralement, ils se retrouvent dans les plantes sous forme de dérivés glycosylés et ils ont différents rôles physiologiques dans l'écologie des plantes. Les flavones, les flavonols et les anthocyanidines, grâce à leurs couleurs attrayantes, peuvent servir de signaux visuels pour attirer les insectes pollinisateurs (6).

Ce sont des composés de petite taille, constitués de quinze atomes de carbone, organisés selon une configuration C6-C3-C6. Leur structure est principalement composée de deux anneaux aromatiques, A et B, reliés par un pont de 3 carbones, généralement sous la forme d'un hétérocycle (anneau C) (6).

Ils sont classés en sous-groupes distincts, comme les anthocyanines., les flavan-3-ols, les flavones, isoflavones, flavanonols, flavanones, flavanols (catéchines) (7).

CHAPITRE II : METABOLITES SECONDAIRES ET LEURS ACTIVITES BIOLOGIQUES

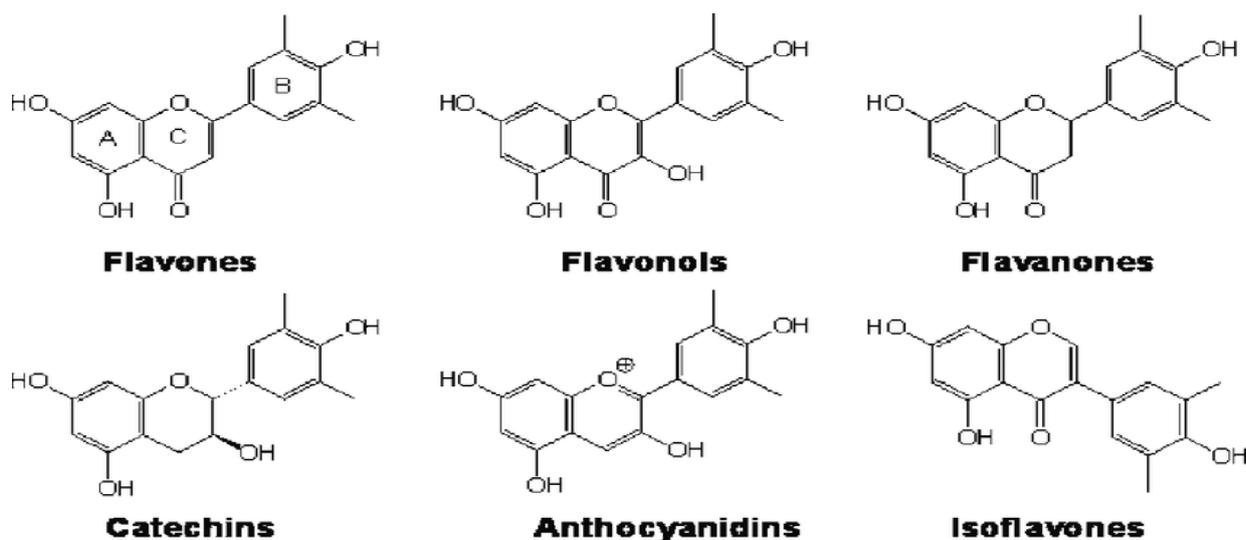


Figure 9 : Les classes principales de flavonoïdes(42)

II.1.1.3. Polymères

Les tanins représentent une classe très importante de polyphénols, leur poids moléculaire est compris entre 500 et 3000 Da, Ils forment le troisième groupe majeur de composés phénoliques et peuvent être divisés en tanins hydrolysables et tanins condensés(37).

- **Tanins hydrolysables** : sont des esters de l'acide gallique (gallo- et ellagi-tannins), associée à un polyol (habituellement le glucose). Ils sont divisés en ellagitannins et gallotannins(35).

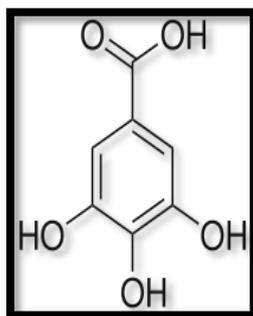


Figure 10 : Structure chimique de l'acide gallique (43)

CHAPITRE II : METABOLITES SECONDAIRES ET LEURS ACTIVITES BIOLOGIQUES

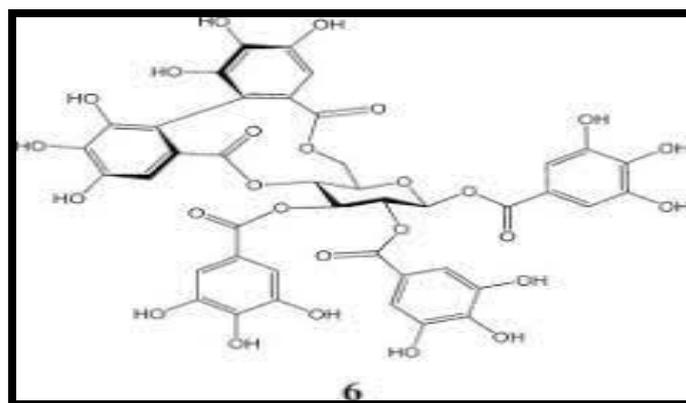


Figure 11 :Structure chimique de Tanin hydrolysable penta-O-galloylglucose (44)

- **Tanins condensés** : Ce sont des polymères de monomères de polyhydroxyflavan-3-ol qui se distinguent fondamentalement des tannins hydrolysables par l'absence de sucre dans leur molécule. Leur structure est proche de celle des flavonoïdes(32,37).

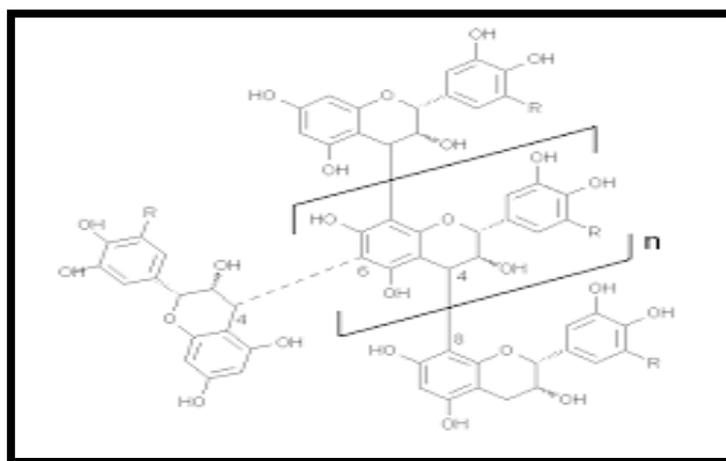


Figure 12 : Structure chimique des Tanins condensés(45)

II.1.1.4. Lignane

Les lignanes font partie des composés mineurs associés aux fibres alimentaires et dont les effets physiologiques sont importants. Les lignanes sont un groupe de diphenols relativement simples(37), qui renferment une structure de 2,3-dibenzylbutane sont obtenus par la fusion de deux résidus d'acide cinnamique à travers une dimérisation(38).

CHAPITRE II : METABOLITES SECONDAIRES ET LEURS ACTIVITES BIOLOGIQUES

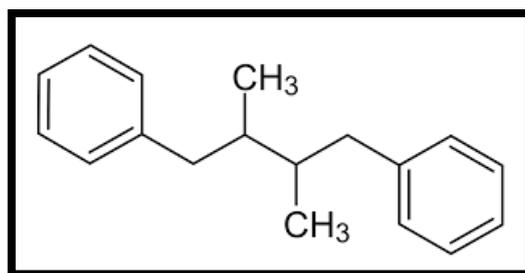


Figure 13 :Structure générale des lignanes(46)

II.1.1.5. Stilbéoïdes

Les stilbènes sont caractérisés par la présence de deux groupes phényles liés par un pont méthylène reliant deux atomes de carbone(38),Il existe deux formes isomères des stilbènes (Cis et Trans) ont des propriétés chimiques et biologiques différentes ,des dimères et trimères de trans-resvératrol (3,5,4'-trihydroxystilbène) et ont été identifiés dans le raisin après hélistation UV ou à l'ozone(35).

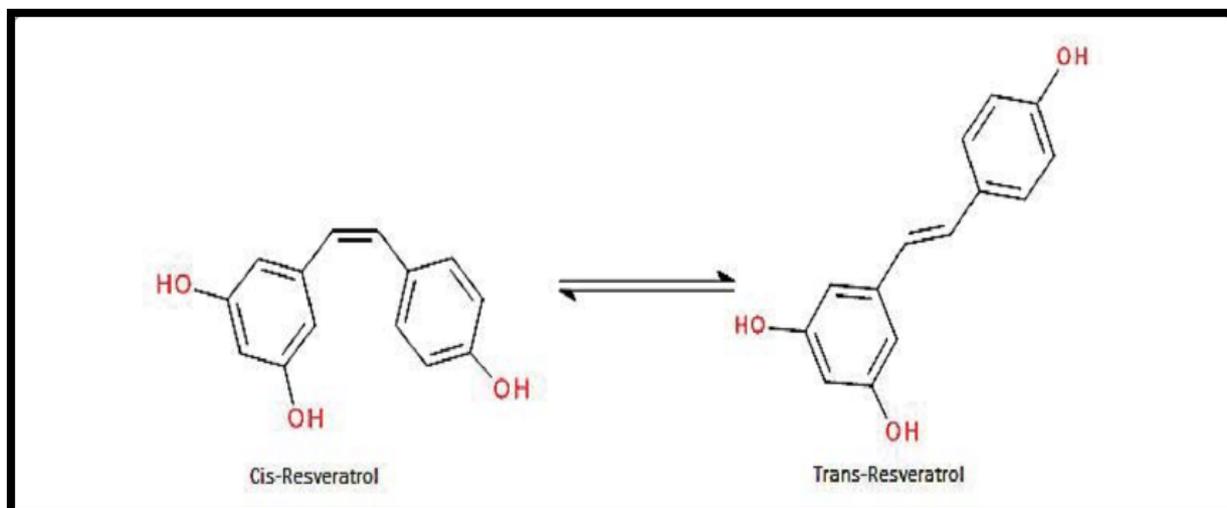


Figure 14 : Structure chimique du cis et du trans-resvératrol(47)

II.1.2. Composés terpéniques

Les terpénoïdes sont des composés naturels dérivés de l'isoprène, qui jouent un rôle crucial dans le métabolisme de tous les organismes (48), Ils sont synthétisés à partir de l'acétyl-CoA ou du

CHAPITRE II : METABOLITES SECONDAIRES ET LEURS ACTIVITES BIOLOGIQUES

malonyl-CoA, formés par l'assemblage d'unités à cinq carbones, issues du 2-méthylbutadiène (polymères de l'isoprène)(48).

La diversité des classes de terpènes est déterminée par le nombre d'unités isopréniques : monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), sesterterpènes (C25), triterpènes (C30) et tétraterpènes (C40)(49).

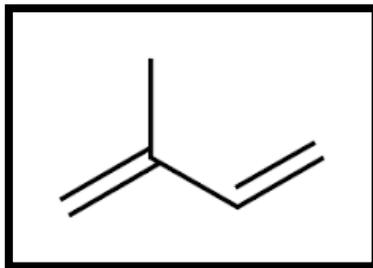


Figure 15 : Structure chimique de l'isoprène(50)

II.1.3. Extraction des composés phénoliques

II.1.3.1. Extraction solide-liquide

L'extraction solide-liquide, est l'une des méthodes d'extraction la plus couramment utilisée et la plus simples à réaliser pour extraire les composés phénoliques, cette méthode implique généralement une extraction initiale en utilisant différents solvants comme le méthanol, l'éthanol et l'acétone ou la phase aqueuse de ces mélanges de solvants , un nettoyage et un fractionnement supplémentaire par extraction liquide-liquide, généralement avec de l'acétate d'éthyle ou de l'hexane, suivi d'une chromatographie sur colonne ou d'une extraction en phase solide .d'une façon générale, l'extraction solide-liquide des polyphénols consiste à extraire directement du matériel végétal frais ou lyophilisé avec un solvant approprié à l'aide d'un extracteur, un homogénéisateur ou un bain ultrasonique pendant une durée déterminée(51).

II.1.3.2. Extraction par liquide sous pression

Une nouvelle technique d'extraction qui utilise des solvants organiques à des pressions élevées et à des températures supérieures à leur point d'ébullition normal. Normalement, un échantillon solide est introduit dans une cellule d'extraction où il est traité avec un solvant adapté à une température élevée (entre 40 et 200°C) et à une pression allant de 500 à 3000 psi, pendant des intervalles de temps courts, généralement de 5 à 15 minutes., et l'extrait purgé de l'échantillon

CHAPITRE II : METABOLITES SECONDAIRES ET LEURS ACTIVITES BIOLOGIQUES

est recueilli dans un flacon de collecte par gaz comprimé. Les techniques de ELP ont été utilisées pour l'extraction des polyphénols de nombreuses matières végétales, L'extraction accélérée par solvant est un synonyme de l'ELP. Cette extraction est réalisée à haute température (50-200 °C) et haute pression (1450-2175 psi) avec le solvant à l'état liquide chaud. Une augmentation de la température augmente la vitesse de diffusion du solvant et augmente le taux d'extraction. La haute pression remplit la cellule d'extraction plus rapidement, forçant le liquide à pénétrer plus rapidement dans la matrice solide, permettant ainsi au liquide de pénétrer dans la matrice solide(51).

II.1.3.3. Extraction supercritique

Une méthode efficace pour extraire les polyphénols. Elle peut être générée en élevant la température d'un gaz au-delà de son seuil critique ou en appliquant une pression supérieure à celle du liquide au-dessus de son point critique. Le FSC le plus couramment utilisé est le CO₂ supercritique, les autres FSC comprennent l'éthane, le butane, le pentane, l'oxyde nitreux, l'ammoniac, le dioxyde de carbone et la vapeur d'eau. Le trifluorométhane et l'eau sont également utilisés. Le CO₂ supercritique a une faible température critique (T_c=31,1°C) et constitue une méthode sûre et non toxique. L'ajout d'une forte concentration d'éthanol exige que l'extraction soit effectuée à un des conditions sous-critiques de 40-60°(51).

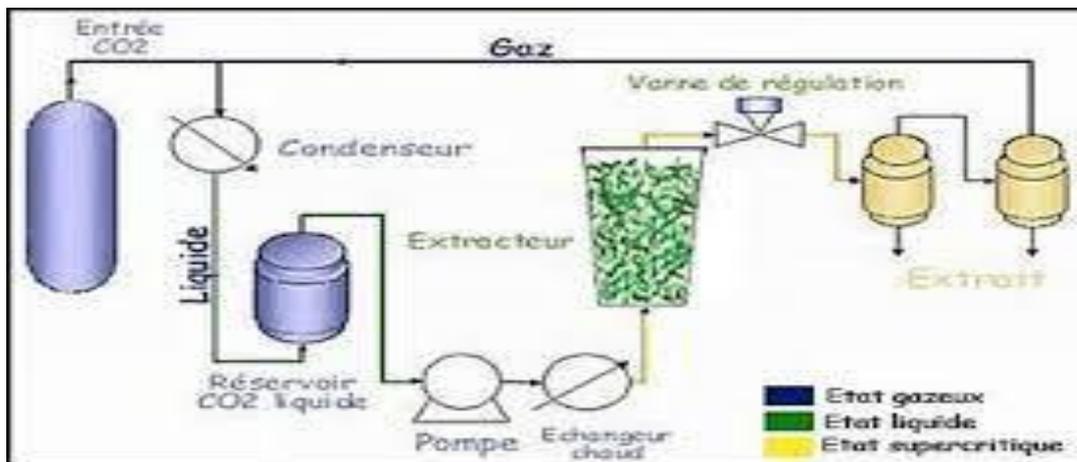


Figure 16 : Montage d'une extraction supercritique(52)

II.1.3.4. Extraction assistée par micro-ondes

Cette technique utilise l'énergie des micro-ondes pour libérer les composants chimiques de la matrice de l'échantillon dans un solvant. Lors de l'absorption de l'énergie micro-onde, l'eau présente dans l'échantillon s'évapore, créant une pression à l'intérieur des cellules et formant finalement des membranes cellulaires. Cette méthode réduit de manière significative à la fois le temps d'extraction et le volume de solvant(53).

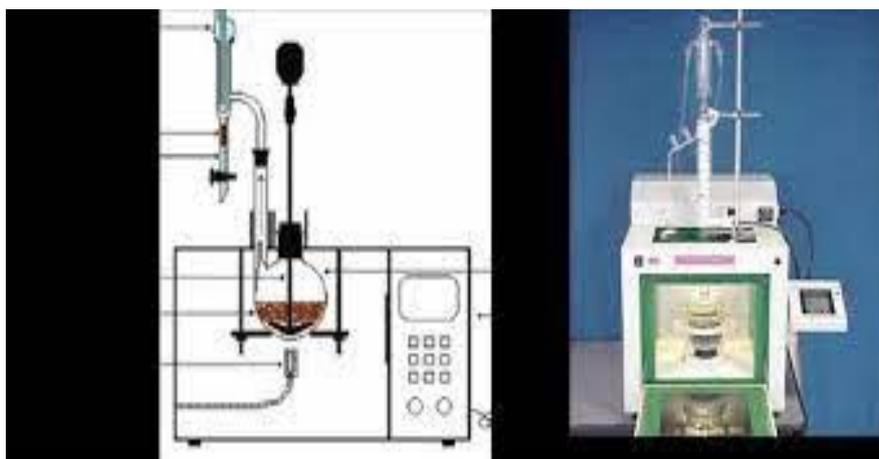


Figure 17 : Montage d'une extraction assistée par microonde(54)

II.1.3.5. Extraction assistée par ultrasons

Ultrasons sont un autre outil technologique utile pour l'extraction des composés phénoliques. Ils sont compatibles avec les procédés chimiques durables « verts » et permettent une extraction rapide et fiable tout en réduisant la consommation d'énergie et de solvants. Les EAU utilisent des ultrasons pour induire la formation de bulles de cavitation dans le solvant d'extraction. L'effondrement de ces bulles de cavitation acoustique favorise la désintégration des cellules, améliore le transfert de masse et permet une meilleure pénétration du solvant dans les matières végétales(53).



Figure 18 : Montage d'une extraction assistée par ultrasons(55)

II.1.4. Activités biologiques des métabolites secondaires

II .1.4.1. Activités biologiques des composés phénoliques :

Les plantes produisent des métabolites secondaires appelés les polyphénols pour se protéger des autres organismes extérieurs, il a été démontré que les polyphénols alimentaires ont un impact significatif sur la santé humaine. Une consommation élevée de fruits, de légumes et de céréales complètes riches en polyphénols a été liée à une réduction du risque de cancer, de maladies cardiovasculaires, d'inflammation chronique et de nombreuses maladies dégénératives(56).

II .1.4.1.1. Activités antioxydants

Grâce à leur système hautement conjugué et certains schémas d'hydroxylation tels que le groupe 3-hydroxy dans les flavonols, qui sont considérés comme essentiels à leurs activités antioxydantes, Les polyphénols ont été identifiés comme des antioxydants puissants capables de neutraliser les radicaux libres en cédant un électron ou un atome d'hydrogène. Ils ont également la capacité d'inhiber la formation de radicaux libres et de réduire le processus d'oxydation en bloquant la formation ou l'inactivation des espèces réactives et des précurseurs de radicaux libres. Souvent, ils agissent en tant qu'agents pièges de radicaux directs (briseurs de chaîne) dans la réaction en chaîne de la peroxydation lipidique(57).

CHAPITRE II : METABOLITES SECONDAIRES ET LEURS ACTIVITES BIOLOGIQUES

Les polyphénols agissent aussi comme des agents chélateurs pour les métaux, tels que le Fe²⁺. Cette chélation des métaux de transition peut réduire directement la vitesse de la réaction de Fenton, ce qui bloque l'oxydation causée par les radicaux hydroxyles très réactifs. Il a été révélé que les polyphénols peuvent agir en tant que co-antioxydants et qu'ils jouent un rôle dans la régénération des vitamines essentielles. Quand les molécules de polyphénols reçoivent un électron ou un atome d'hydrogène, elles deviennent elles-mêmes des radicaux libres à une concentration adéquate, ce qui leur permet de potentiellement déclencher des activités pro-oxydantes(57).

II .1.4.1.2. Action anticancéreuse

Le cancer est un problème de santé majeur causé par une croissance cellulaire anormale, Il existe de nombreux médicaments anticancéreux, mais seuls quelques-uns inhibent l'oncogénèse, et la plupart d'entre eux sont toxiques et ont des effets secondaires néfastes. Les flavonoïdes sont réputés pour leur capacité à bloquer ou à entraver la croissance cellulaire et à agir comme anticancéreux(58).

Grâce à leurs propriétés de piégeage, Les polyphénols peuvent prévenir le cancer en neutralisant les effets néfastes des radicaux libres sur les cellules. Leur variété de structures chimiques les rend polyvalents dans la neutralisation des activités des radicaux libres, ce qui aide à prévenir ou à réduire le stress oxydatif à des niveaux qui ne compromettent pas l'intégrité de l'ADN cellulaire et la synthèse des protéines nécessaires à la régulation des activités cellulaires. Les polyphénols affectent également la propagation du cancer, arrêtent sa progression et contribuent à la guérison des cellules endommagées. Selon des preuves expérimentales, ils peuvent protéger les cellules normales, avoir des effets cytotoxiques sur les cellules cancéreuses, moduler les interfaces facteur de croissance-récepteur et les cascades de signalisation cellulaire qui régulent la survie des cellules normales et l'apoptose des cellules cancéreuses(59).

II .1.4.1.3. Action sur le système cardiovasculaire

Selon plusieurs études, Les individus qui consomment une quantité importante de flavonoïdes présentent un risque de mortalité par maladies cardiovasculaires réduit de 18%. Une forte consommation de ces flavonoïdes entraîne une diminution de la rigidité artérielle, contribuant ainsi à une réduction du risque de maladies cardiovasculaires(58).

CHAPITRE II : METABOLITES SECONDAIRES ET LEURS ACTIVITES BIOLOGIQUES

II .1.4.1.4. Action sur le système nerveux

Les flavonoïdes contribuent à la prévention des maladies neurodégénératives associées à l'âge, telles que la démence, la maladie de Parkinson et la maladie d'Alzheimer. Les ERO et les ERN ont un impact sur de nombreuses maladies neurodégénératives. La tangéritine, un flavonoïde trouvé dans les agrumes, combat les ERO et les espèces azotées et protège contre les troubles neurodégénératifs comme la maladie de Parkinson(58).

II .1.4.1.5. Action anti inflammatoire

L'inflammation est la réaction immunitaire de l'organisme face à l'agression de substances pro-inflammatoires, qu'elles soient virales, bactériennes ou autres (comme les lipoprotéines oxydées ou les marqueurs du stress oxydatif). Cette réaction est minutieusement régulée pour limiter les altérations des biomolécules de l'hôte. Toutefois, une régulation inadéquate peut conduire à un état inflammatoire chronique(60).

Des études in vitro et in vivo ont montré que les polyphénols agissent sur les activités enzymatiques de l'acide arachidonique (AA), de la μ -phospholipase A2, de la cyclooxygénase et du métabolisme de la lipoxygénase. Ils influencent également la production de \cdot NO en modulant l'activité du ERN(61).

Des études in vitro ont montré que les flavonoïdes tels que la lutéoline et l'apigénine inhibent la production de cytokines telles que l'IL-4, l'IL-5 et l'IL-13, et que la quercétine inhibe la production de cytokines telles que l'IL-4, l'IL-4, l'IL-13. Il a été démontré que le kaempférol inhibe l'expression et la sécrétion du TNF- α , de l'IL-1 β ou de l'IL-6 dans les mastocytes(61).

II .1.4.1.6. Activité antibactérienne

Des études ont indiqué que les niveaux globaux de composés phénoliques dans le marrube blanc présentent des avantages pour la santé. Les flavonoïdes, particulièrement ceux présents dans cette plante, ont montré une activité antibactérienne contre *Candida albicans*(23).

II .1.4.2. Activités biologiques des composés terpéniques

Les terpènes ont été signalés comme exerçant des activités antimicrobiennes à la fois contre les espèces sensibles aux antibiotiques et contre les espèces non sensibles. Les bactéries sensibles aux antibiotiques et les bactéries résistantes aux antibiotiques. Leur capacité à favoriser la rupture cellulaire et l'inhibition de la synthèse des protéines et de l'ADN. L'utilisation de composés terpéniques et terpénoïdes en tant qu'agents antimicrobiens est très prometteuse, Ils

CHAPITRE II : METABOLITES SECONDAIRES ET LEURS ACTIVITES BIOLOGIQUES

ont été utilisés dans plusieurs domaines industriels, notamment les cosmétiques, les aliments et certains produits de soins de santé, tels que les toniques capillaires, dentifrices, nettoyants pour les paupières, restaurateurs de cheveux, savons pour la peau et lotions pour le corps. Le α -Terpineol est un mono terpène a montré bons effets inhibiteurs contre plusieurs bactéries gram-négatives(62).

Les terpènes et les terpénoïdes constituent la plus grande classe de composés organiques produits dans les HE de diverses plantes et jouent un rôle important dans la prévention des tumeurs malignes dans le cancer. Ils ont constaté que le citral (isomère)diminuait l'expression de Bc-2 et de Bcl-xL tout en induisant la phosphorylation de la protéine p53 tout en induisant la phosphorylation de la protéine p53 et l'expression de Bax. Plusieurs terpènes et terpénoïdes tels que le Borneol et Limonene ont rapporté un effet antinociceptif et réducteur de tumeurs(62).

Les dernières décennies ont montré que les terpènes et les terpénoïdes sont physiologiquement importants pour soulager divers symptômes causés par l'inflammation, très probablement en inhibant de multiples étapes pathologiques du processus. D'autres études montrent que les mon terpène comme Borneol et Hinokitiol contribuent à l'inhibition du TNF- α , de l'IL-1 β et de l'IL-6, et modulation de la voie Nrf2/NF- κ B et aussi blocage de la régulation à la hausse des facteurs pro-inflammatoires médiée par le LPS, des facteurs pro-inflammatoires notamment le facteur de nécrose tumorale alpha, l'IL-6 et la prostaglandine E2 (PGE2), la prostaglandine E2 (PGE2), et l'activation de Sirt1(62).

Certains terpènes et terpénoïdes ont été étudiés pour leur activité antiallergiques. L'atractylone (Atr), l'un des composants sesquiterpéniques de *Atractylodes japonica*, peut inhiber les mastocytes péritonéaux de rat. Ils réduisent également la libération de tryptase et d'histamine par les mastocytes H stimulés par PMA plus a conduire à une diminution de l'activité et de l'expression de l'histidine décarboxylée.dans les cellules HMC-1 activées. L'Atr a diminué les taux d'histamine, d'IgE, d'IL-4, d'IL-5, d'IL-6, de facteur de croissance de l'endothélium vasculaire,et IL-13 dans le sérum des souris induites par l'ACP. L'Atr est actif en tant que traitement des réactions allergiques médiées par les mastocytes(62).

II.2.1. Huiles essentielles (HE)

II.2.1.1. Généralités sur l'aromathérapie et les huiles essentielles.

- **Qu'est-ce qu'une aromathérapie ? et Comment peut-on définir une huile essentielle ? : une définition et une réglementation !**

CHAPITRE II : METABOLITES SECONDAIRES ET LEURS ACTIVITES BIOLOGIQUES

Le mot « aromathérapie » dérive de la combinaison des termes grecs aroma, qui signifie odeur, et therapia, qui signifie soins(63), Ce terme a été créé par un pharmacien, chimiste et chercheur français. français, René- Maurice GATEFOSSE en 1928(64).

L'aromathérapie fait partie intégrante de la phytothérapie. « qui fait appel à toutes les plantes dotées de vertus médicinales »(65). Elle permet de traiter, à titre préventif ou curatif, des affections physiques et psychosomatiques par le biais des huiles essentielles végétales soit par voie interne ou par voie externe. On distingue deux approches en aromathérapie : l'aromathérapie médicale, qui encourage fortement l'ingestion d'huiles essentielles par voie orale ou rectale, et l'aromathérapie grand public, qui recommande l'application d'huiles essentielles sur la peau (massage, bains) ou leur diffusion dans l'air ambiant (utilisation de brûle-parfum, inhalation)(63).

En règle générale, l'aromathérapie scientifique, ou aromatologie, peut être décrite comme une approche thérapeutique naturelle qui se penche sur les huiles essentielles et qui utilise les extraits de plantes aromatiques pour le traitement ou la prévention des maladies. Cette discipline se fonde sur une méthodologie précise et est étayée par des données scientifiques robustes, validées par de multiples essais cliniques(63).

Alors le terme « aromathérapie » est le plus souvent associé au terme huile essentielle(65).

L'article L5311-1 du Code de Santé Publique (CSP) précise que les HE sont des « produits à finalités sanitaires » assimilés aux plantes médicinales(66) .Autrement dit, ce sont des produits de santé ; et L'ANSM indique les « huiles essentielles médicinales » comme « des huiles essentielles au sens de la Pharmacopée Européenne, possédant des propriétés médicamenteuses »(63).

Pour trouver une définition ayant des valeurs réglementaires, il convient de se référer à la Pharmacopée Européenne VIe édition. Elle définit une huile essentielle comme « un produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par extraction à la vapeur, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition ». L'huile essentielle définie par la Pharmacopée Européenne « ne doit être ni partiellement, ni totalement déterpénée ou dé-sesquiterpénée. Elle ne doit pas être rectifiée par distillation fractionnée, ce qui serait susceptible de modifier sa composition. Elle ne doit

CHAPITRE II : METABOLITES SECONDAIRES ET LEURS ACTIVITES BIOLOGIQUES

pas avoir été modifiée par suppression, ni partielle, ni totale, de l'un ou de plusieurs de ses constituants »(66).

Depuis la IX^e édition de la Pharmacopée française ; Les matières premières se réfèrent aux extraits d'essences provenant de certaines plantes médicinales, officiellement désignées.
« Huiles essentielles ».

On dit que l'HE est à la fois un parfum et un remède naturel. Les principes actifs étant très concentrés, ils doivent être utilisés à très faibles doses. La majorité des plantes renferment ces composés, mais souvent en quantités limitées. Seules les plantes appelées « aromatiques » produisent des quantités suffisantes. Ces plantes appartiennent aux plusieurs familles ; parmi eux la famille des lamiacées(67).

Donc :« *Les huiles essentielles sont les substances odorantes, volatiles et de consistance huileuse, contenues dans les plantes* »(65).

Les HE sont des substances odorantes, huileuses, volatiles, produites essentiellement en tant que mécanisme de protection contre les insectes nuisibles aux plantes(68).

Il est important de suivre des directives spécifiques pour l'application de certaines huiles essentielles. Il est donc conseillé aux pharmaciens qui souhaitent s'intéresser à l'aromathérapie de suivre une formation et d'acquérir des compétences pratiques dans un domaine où les utilisateurs potentiels ne disposent souvent pas de suffisamment d'informations(63).

Dans le temps actuel, près de 3000 huiles essentielles ont été décrites, dont environ 300 ont une importance commerciale en lien avec des applications pharmaceutiques, cosmétiques, alimentaires, agricoles ou de parfumerie(69) .

Cinq HE sont inscrits sur les listes des substances vénéneuses :

- sur la liste I, les HE de Sabine, de rue et de *Juniperus phoenicea*..
- sur la liste II, les HE de chénopode et de moutarde.

II.2.1.2. Caractéristiques physico-chimiques et compositions chimiques des HE

Les schémas (1) et (2) illustrent les structures chimiques de certains composants des huiles essentielles.

CHAPITRE II : METABOLITES SECONDAIRES ET LEURS ACTIVITES BIOLOGIQUES

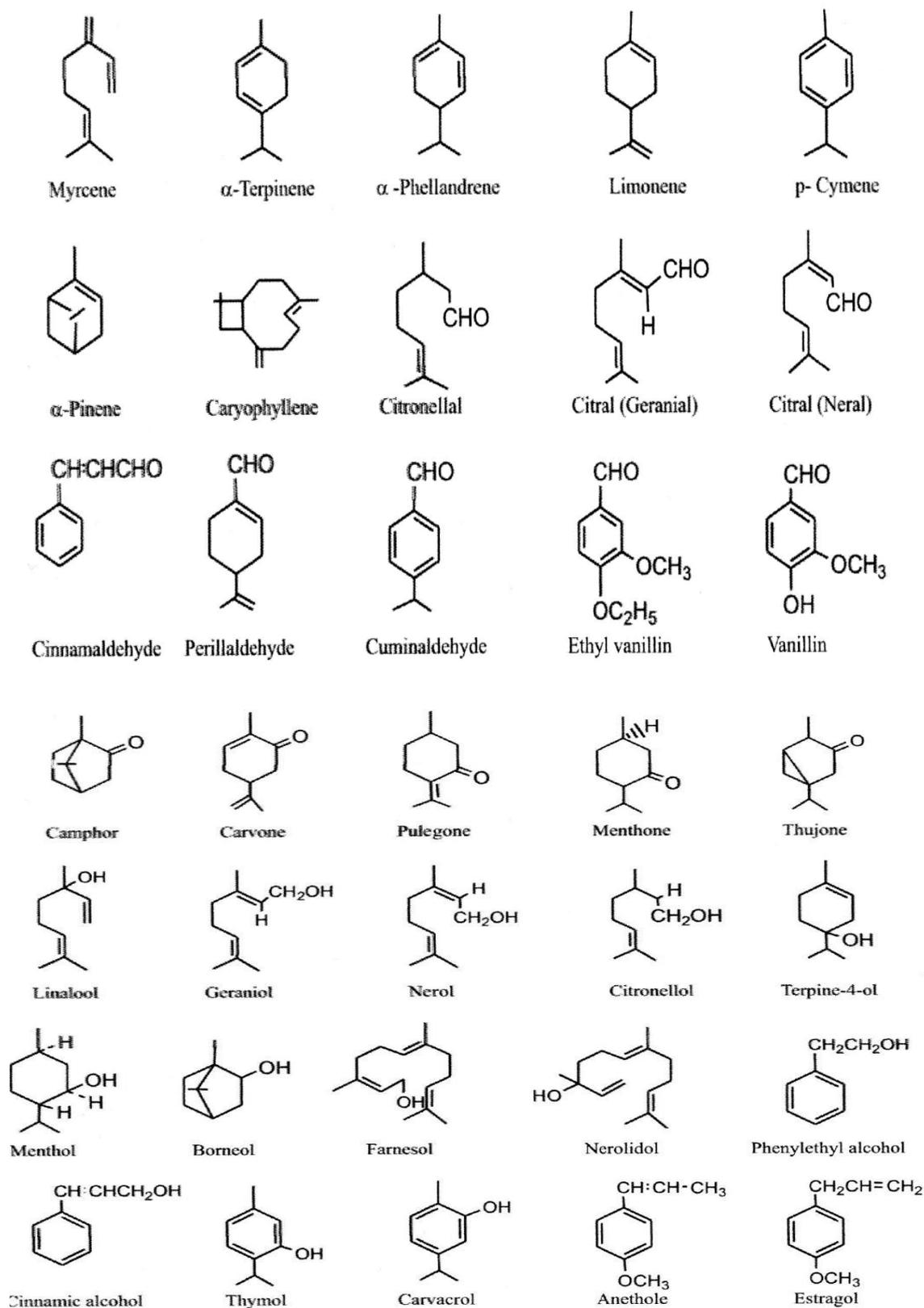


Figure 19 :Structures chimiques de quelques constituants des huiles essentielles(68).

CHAPITRE II : METABOLITES SECONDAIRES ET LEURS ACTIVITES BIOLOGIQUES

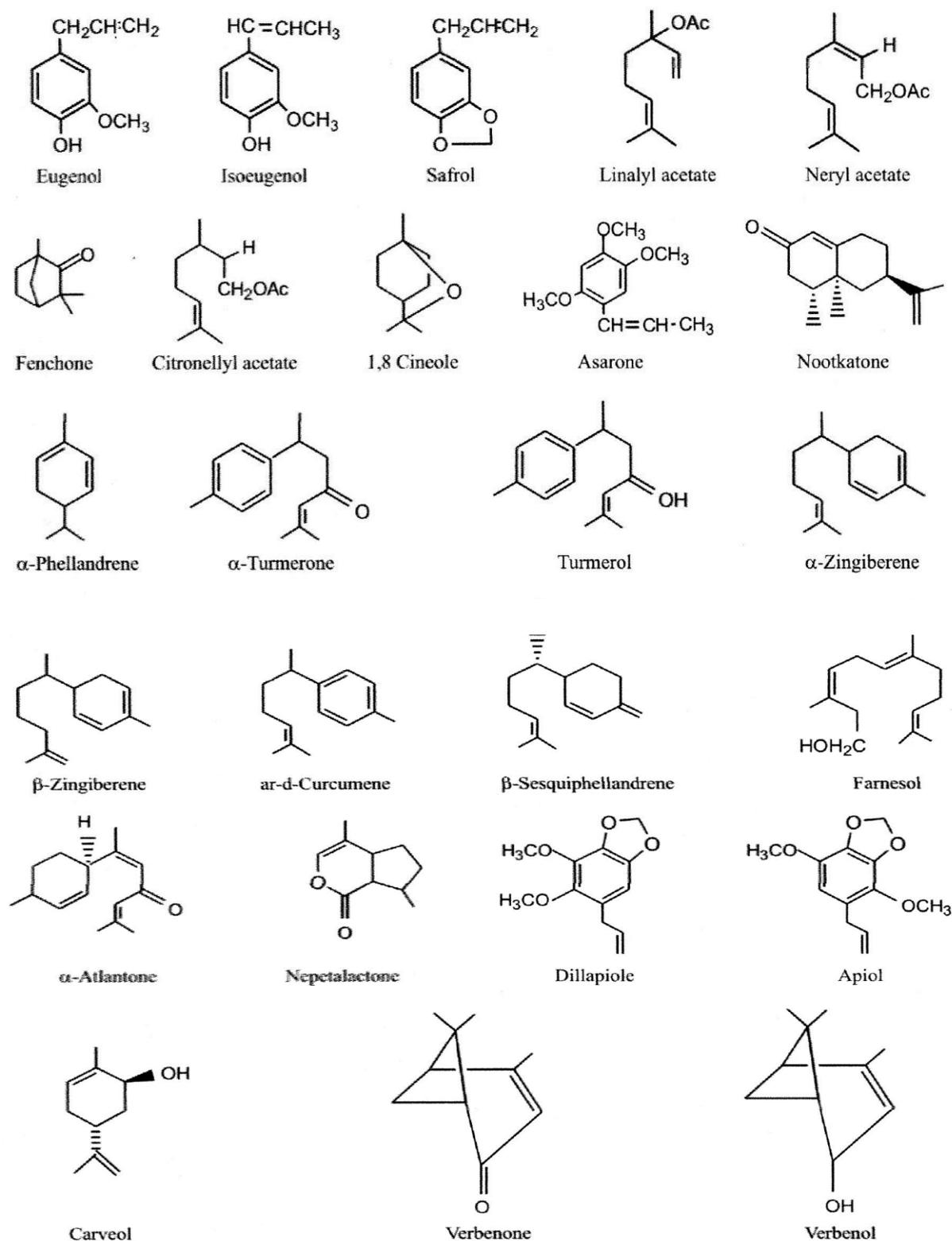


Figure 20 : Structures chimiques de quelques constituants des huiles essentielles(68)

CHAPITRE II : METABOLITES SECONDAIRES ET LEURS ACTIVITES BIOLOGIQUES

L'huile essentielle possède une composition moléculaire complexe et difficile à standardiser, ce qui lui donne des propriétés uniques. Elle est produite à partir des sucres issus de la photosynthèse, par des cellules spécialisées appelées cellules sécrétrices, principalement situées dans les fleurs et les feuilles. (61). La plupart des huiles essentielles sont un mélange d'hydrocarbures et de dérivés oxygénés des hydrocarbures. À des températures comprises entre 35 °C et 40 °C, elles sont liquides, leur densité est généralement inférieure à celle de l'eau, à l'exception de quelques huiles (64). Elles n'ont aucune valeur nutritionnelle, étant dépourvues de tout élément protéique, lipidique, glucidique, minéral ou vitaminique. Selon l'organe de production, les HE peuvent avoir des propriétés et des usages complètement différents, mais aussi c'est le mode d'obtention qui impose la composition. Malgré qu'elles soient très peu solubles dans l'eau, elles sont entraînées à la vapeur d'eau. Par contre, les huiles essentielles sont liposolubles (64).

a. Principales familles biochimiques constituant les huiles essentielles

➤ **Terpènes :**

Ces molécules sont les plus courantes dans les huiles essentielles et sont sensibles aux conditions environnementales externes, qui peut induire des restructurations, et entraîner des modifications dans leur activité biologique(63).

➤ **Monoterpènes (C10)**

On cite quelques activités biologiques des monoterpènes (63):

- Lymphotoniques
- Antiseptiques, expectorants, décongestionnants respiratoires.
- Possédant des propriétés similaires à la cortisone, il est utile dans les cas d'inflammation
- Immunostimulants

➤ **Sesquiterpènes (C15)**

Ils sont présents en quantités limitées dans les plantes, à l'exception du bois des arbres, qui est utilisé pour traiter les affections artérielles. Ils agissent également comme anti-inflammatoires, décongestionnants veineux et lymphatiques, ainsi que comme calmants et légèrement hypotenseurs(63).

➤ **Phénols et terpénols**

Les phénols mais aussi les terpénols possèdent une fonction hydroxyle, après les terpènes, Ces composés sont les plus abondants dans les huiles essentielles(63).

CHAPITRE II : METABOLITES SECONDAIRES ET LEURS ACTIVITES BIOLOGIQUES

➤ **Phénols**

Ce sont des anti-infectieux très puissants, mais aussi virucides, fongicides et antiparasitaires. Ont des propriétés immunostimulantes, toniques et ce sont aussi des stimulants généraux du SNC, hypertensives...(63)

➤ **Monoterpènes (C10)**

➤ **Aldéhydes**

➤ **Aldéhydes terpéniques**

Leurs propriétés se situent entre celles des alcools et celles des cétones.

➤ **Aldéhydes aromatiques**

➤ **Acides**

Les acides sont solubles dans l'eau, ils sont donc rarement présents dans les huiles essentielles, ils sont encore très actifs. Parmi les caractéristiques biologiques des acides : (63)

- Antalgiques

- Anti-inflammatoires très puissants

- Hypotenseurs

➤ **Esters**

➤ **Éthers**

➤ **Cétones**

Oxydes terpéniques

Les oxydes de terpène sont largement présents dans les huiles essentielles en grande quantité (63).

➤ **Coumarines**

Les coumarines se retrouvent beaucoup dans les essences. Celles-ci sont toujours présentes en concentrations minimales dans les huiles essentielles et ont néanmoins des effets puissants(63).

➤ **Autres composants**

On retrouve d'autres familles biochimiques dans les compositions d'huiles essentielles, ces familles sont présentes dans les huiles essentielles en petite quantité, parfois même à l'état de traces. On peut citer les lactones, les composés azotés et aussi les composés soufrés(63).

II.2.1.3 Principaux constituants des HE du genre *Marrubium* :

Une analyse des informations disponibles dans la littérature a révélé une grande diversité chimique dans les huiles essentielles du genre *Marrubium*. L'examen chimique des échantillons

CHAPITRE II : METABOLITES SECONDAIRES ET LEURS ACTIVITES BIOLOGIQUES

d'huiles essentielles provenant de plusieurs espèces du genre *Marrubium* a mis en évidence la présence de composants très abondants :

le Germacène D, le β -caryophyllène, l'oxyde de caryophyllène, le bicyclogermacène et le spathuléol, tous très présents, comme illustré dans la (Figure 3)(70).

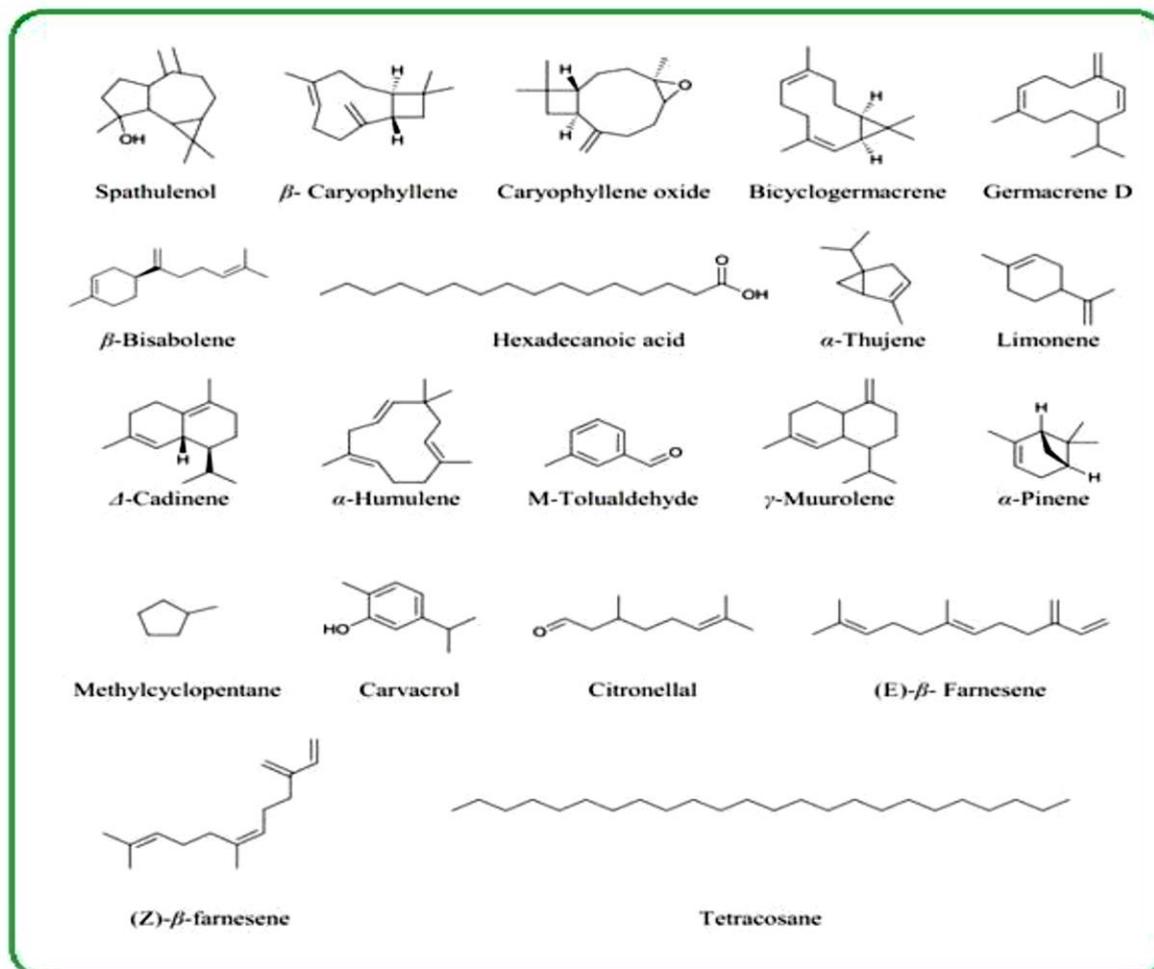


Figure 21 :Les principaux composants des huiles essentielles du Genre *Marrubium*(70)

II.2.1.4. MÉTHODES D'EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES

La Pharmacopée Européenne indique :

L'entraînement à la vapeur d'eau : « l'huile essentielle est obtenue par passage de la vapeur d'eau à travers la matière première végétale, dans un appareil approprié. La vapeur d'eau peut être générée par une source externe ou par de l'eau portée à ébullition en dessous de la matière première, ou par de l'eau portée à ébullition dans laquelle la matière végétale est immergée. Les vapeurs d'eau et d'huile essentielle sont condensées. L'eau et l'huile essentielle sont séparées par décantation ». La distillation sèche requiert que l'huile essentielle soit « obtenue

CHAPITRE II : METABOLITES SECONDAIRES ET LEURS ACTIVITES BIOLOGIQUES

par chauffage à température élevée de tige ou d'écorce, sans addition d'eau ou de vapeur d'eau, dans un appareil approprié » Un procédé mécanique : « l'huile essentielle « d'expression à froid » est obtenue par un procédé mécanique sans chauffage. Il concerne généralement les fruits de Citrus et implique l'expression de l'huile essentielle du péricarpe suivi d'une séparation par un procédé physique »(63).

D'ailleurs, on peut citer deux types de techniques d'extraction des HE organisés en fonction de leur date de découverte :

Voici quelques méthodes classiques utilisées en extraction : hydrodistillation, distillation à la vapeur d'eau, hydro diffusion, et extraction par des solvants volatils. ...etc.

D'autres méthodes d'extraction innovantes sont mentionnées. : extraction par des fluides supercritique, extraction assistée par micro-onde ou par ultrasons ... et autres.

II.2.1.4.1 Entraînement à la vapeur d'eau = distillation à la vapeur d'eau

Ceci représente l'une des méthodes officielles pour obtenir l'HE (Figure 22). Ce processus d'extraction implique l'exposition de la matière végétale à un flux de vapeur sans macération préliminaire. La vapeur, saturée en composés volatils, est ensuite condensée et séparée en une phase aqueuse (HA) et une phase organique (HE) après décantation dans un essencier(71).

L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, ainsi qu'entre l'eau et les molécules aromatiques, permet d'éviter certains processus d'hydrolyse et de détérioration qui pourraient altérer la qualité de l'huile. De plus, la méthode de distillation régulière et rapide permet d'obtenir une huile essentielle avec un arôme plus délicat, où les notes de tête sont riches en esters(71).

La fraction dite « de tête » est une fragrance très volatile du fait de ses molécules légères, apparaît en premier. Dans la plupart des cas, 95% des molécules volatiles peuvent être collectées en 30 minutes. Cela répond aux besoins des industries et des fabricants de parfums. Lorsqu'elle est utilisée en aromathérapie, la procédure doit être prolongée aussi longtemps que nécessaire pour récupérer tous les composants aromatiques volatils(71).

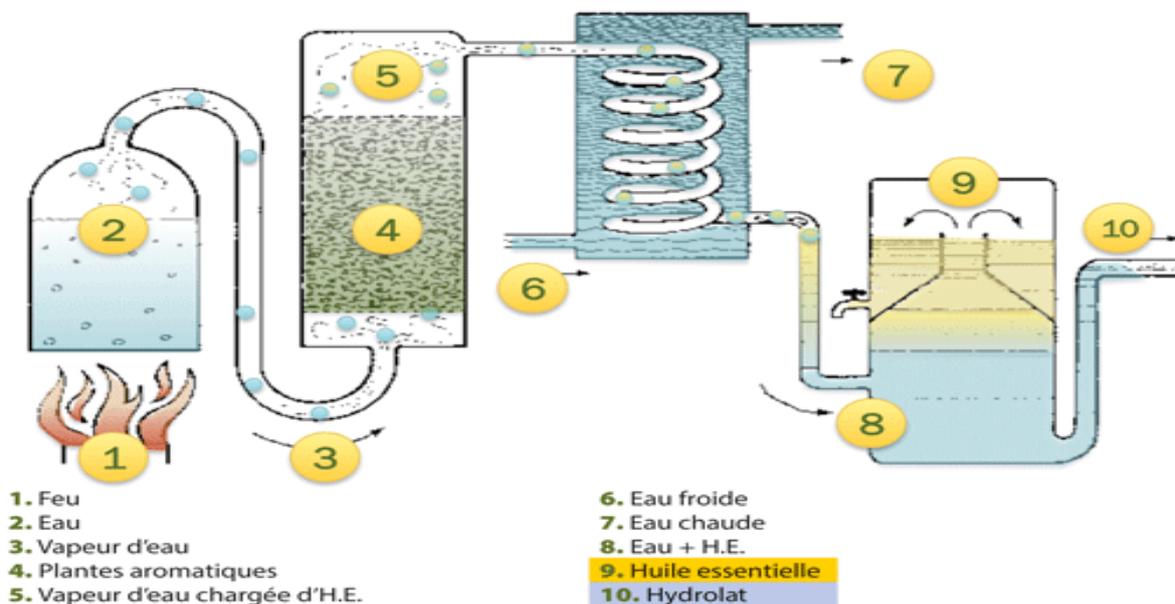


Figure 22 : Principe schématisé de l'extraction par entraînement à la vapeur (EVE)(72)

II.2.1.4.2. Extraction par hydrodistillation :

Il s'agit de la méthode la plus rudimentaire et historiquement la plus employée. Son principe repose sur l'immersion de la matière première dans de l'eau bouillante (voir Figure 23)(71).

En général, cette opération se déroule sous pression atmosphérique. La distillation peut s'effectuer avec ou sans réintroduction des eaux aromatiques résultant de la séparation. Cependant, ce processus présente des désavantages, notamment en raison des effets de la vapeur et de l'eau bouillante. Certains organes végétaux, en particulier les fleurs, sont très délicats et ne tolèrent pas les méthodes de distillation à la vapeur d'eau ou par hydrodistillation (HD)(71).

Toutefois, dès que les constituants de l'huile essentielle entrent en contact direct avec l'eau, une réaction chimique se déclenche, modifiant ainsi la composition finale de l'extrait.

Les conditions opératoires, surtout la durée de distillation, ont un impact significatif sur la composition et le rendement de l'HE. Pour cette raison, des modèles mathématiques sont actuellement développés qui permettent l'optimisation de ces conditions, au maximum, et dans le but de produire de l'HE de manière reproductible(71).

La labilité des composants des huiles essentielles explique pourquoi la composition des produits obtenus par hydrodistillation diffère dans la plupart des cas de la composition du mélange initialement présent dans les organes sécrétoires des plantes. L'hydrodistillation a ses limites. Un chauffage intense et prolongé peut entraîner la détérioration de certaines plantes et l'endommagement de certaines molécules aromatiques. Cependant, l'eau, les acides et la

CHAPITRE II : METABOLITES SECONDAIRES ET LEURS ACTIVITES BIOLOGIQUES

température peuvent provoquer l'hydrolyse des esters. Sont également inclus les réarrangements, les isomérisations, les racémisations et/ou les oxydations(71).

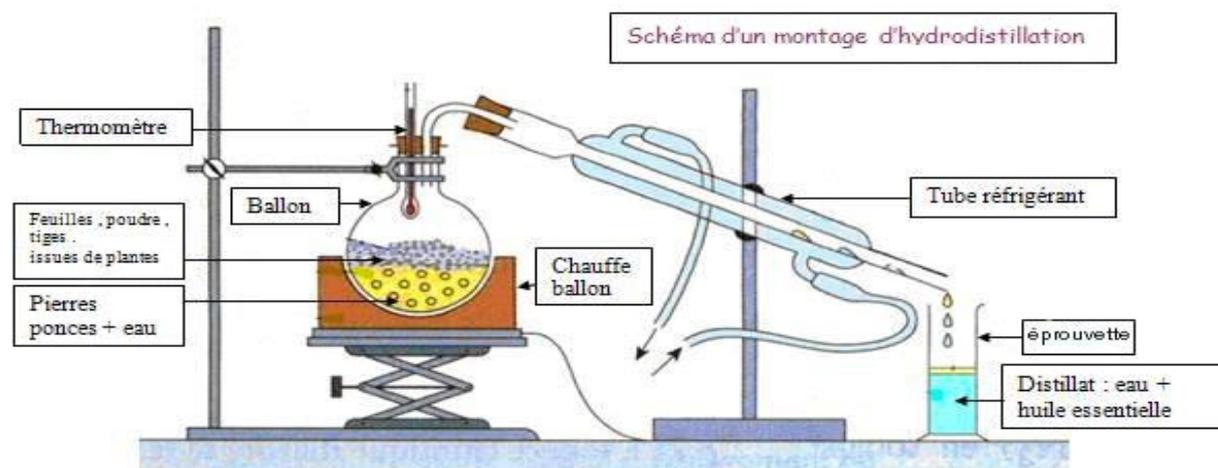


Figure 23 : principe schématisé de l'hydrodistillation (HD)(73)

II.2.1.4.3. Procédé mécanique = expression à froid :

L'expression à froid est une méthode simple mais limitée qui s'applique exclusivement à l'extraction de l'essence présente dans les zestes frais des agrumes de la famille des Rutacées, tels que le citron, la mandarine, le pamplemousse, l'orange douce, l'orange amère, la bergamote, et d'autres encore. Dans ce cas, le produit obtenu est appelé une "essence" plutôt qu'une "huile essentielle". Cette distinction est due au fait qu'aucune modification biochimique n'a lieu lors de la rupture mécanique des poches à essence pour collecter l'essence, car aucune distillation à la vapeur n'est effectuée(63).

II.2.1.5. Analyses et contrôles réalisés en laboratoire (Faucon et Lobstein, 2015)

Plusieurs éléments peuvent influencer les extraits obtenus à partir des plantes. Les huiles essentielles sont particulièrement sensibles aux altérations car elles contiennent des composés susceptibles de s'oxyder au contact de l'air et de la lumière. Ces composés peuvent se transformer en résines, ce qui modifie leur odeur, leur goût ainsi que leurs propriétés physiques et chimiques, les rendant ainsi inadaptés à une utilisation(69)

D'abord, les caractéristiques organoleptiques telles que la couleur, l'odeur, l'aspect et la viscosité sont vérifiées. Le goût est évalué uniquement en cas de suspicion(9).

CHAPITRE II : METABOLITES SECONDAIRES ET LEURS ACTIVITES BIOLOGIQUES

A propos des types d'analyse ; on a plusieurs : physique, chimique qui comprend l'indice d'acide et d'ester, le profil chromatographique et la quantification relative des différents constituants(9).

➤ Chromatographie en phase gazeuse (NF ISO 7608 et 7609) :

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une méthode utilisée pour séparer les composants d'un mélange et déterminer la composition des huiles essentielles, ce qui permet d'identifier leur profil biochimique et leur chémotype. Un faible volume de l'échantillon (entre 0,2 et 5 µl) est injecté dans l'appareil, où il est vaporisé en gaz par la chaleur du four. Ce gaz est ensuite transporté à travers une colonne capillaire par un gaz vecteur. Les molécules sont séparées dans cette colonne en fonction de leur affinité avec la phase stationnaire. Un composé restera plus longtemps dans la colonne s'il a une plus grande affinité avec la phase stationnaire, ce qui augmente son temps de rétention. Le temps de rétention est défini comme la période entre l'injection de l'échantillon et l'apparition du pic maximal du composé sur le chromatogramme, détecté par le détecteur(9).

Pour identifier les pics, le chromatographe est couplé à un ou plusieurs autres équipements analytiques, tels qu'un spectromètre de masse ou un spectroscopie infrarouge. Cela permet d'obtenir un chromatogramme caractéristique de chaque huile essentielle (un exemple est présenté ci-dessous)(9).

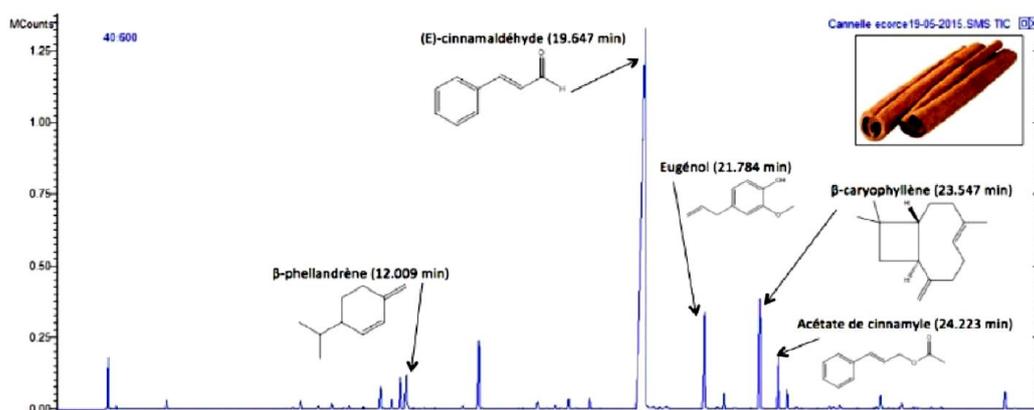


Figure 24 : Chromatogramme d'une huile essentielle de cannelle(74)

II.2.1.6. Conservation

Pour éviter la détérioration des huiles essentielles, il est important de suivre certaines règles de conservation et de stockage afin de préserver leur composition et d'éviter tout changement. En

CHAPITRE II : METABOLITES SECONDAIRES ET LEURS ACTIVITES BIOLOGIQUES

général, les huiles essentielles ont une durée de conservation de deux à cinq ans après ouverture, si elles sont conservées dans leur emballage d'origine. Cependant, les huiles essentielles d'agrumes ne se conservent que d'un à deux ans. Étant sensibles à l'oxydation et susceptibles de se détériorer, elles doivent être protégées de la lumière et de la chaleur. Il est recommandé de les conserver dans des flacons en verre coloré (bleu ou marron), étanches et bien fermés, car leurs composants sont très volatils. La conservation doit se faire dans un environnement humide et à une température adéquate de 20-25°C(68).

II.2.1.7. L'aromathérapie dans le domaine pharmaceutique :

II.2.1.7.1. Rôle du pharmacien dans l'aromathérapie :

On n'a pas une réglementation spécifique aux huiles essentielles La plupart sont disponibles en vente libre dans tous les réseaux de distribution. Cependant, certaines sont soumises à des restrictions de délivrance définies par l'article L.4211-1 6 du Code de la Santé Publique :

“Est réservé aux pharmaciens [...] la vente au détail et toute dispensation au public des huiles essentielles dont la liste est fixée par décret ainsi que de leurs dilutions et préparations ne constituant ni des produits cosmétiques, ni des produits à usage ménager, ni des denrées ou boissons alimentaires.” (63)

Le rôle du pharmacien dans le domaine de l'aromathérapie est très important, grâce à ses conseils, ce dernier a gagné la confiance de ses patients en proposant des produits de qualité, efficaces et sûrs(63).

Premièrement, les pharmaciens doivent sélectionner avec soin des fournisseurs sérieux et honnêtes, capables de fournir des huiles essentielles avec leurs numéros de lot et leurs profils de chromatographie en phase gazeuse ; Cela assure la livraison de produits de haute qualité. Bien que les huiles essentielles soient naturelles, elles contiennent des principes actifs très puissants et doivent être manipulées avec précaution. À l'instar des médicaments, la vente d'huiles essentielles requiert des conseils spécialisés. Ainsi, les pharmaciens informent les patients sur l'utilisation, la posologie et les précautions à prendre avec ces produits pour garantir un traitement à la fois efficace et sûr(63).

Les pharmaciens doivent régulièrement actualiser leurs connaissances grâce à des formations et des ouvrages spécialisés pour fournir des conseils précis et efficaces. Bien que les huiles essentielles soient naturelles, elles possèdent des propriétés puissantes, ce qui les rend délicates à utiliser. La réglementation sur les huiles essentielles en contrôle souvent l'utilisation pour en limiter les risques(63).

CHAPITRE II : METABOLITES SECONDAIRES ET LEURS ACTIVITES BIOLOGIQUES

II.2.1.7.2. Les huiles essentielles et médicaments :

Il n'existe pas de réglementation spécifique concernant l'utilisation des huiles essentielles dans la fabrication de médicaments. On considère que les préparations pharmaceutiques contenant des huiles essentielles répondent à la définition des médicaments à base de plantes : *“Les médicaments à base de plantes sont des médicaments dont les principes actifs sont exclusivement des drogues végétales et/ou des préparations à base de drogue(s) végétale(s).”*

Par conséquent, les médicaments à base d'huiles essentielles doivent se conformer à la réglementation en vigueur. S'ils répondent aux critères définis par l'ordonnance n°2007-613 du 26 avril 2007 (Chapitre 1er, article 2), ils doivent être enregistrés en conséquence « médicament traditionnel à base de plantes »(63).



Figure 25 : Les huiles essentielles deviennent de plus en plus populaires en pharmacie(75)

ETUDE EXPERIMENTALE

MATERIEL ET METHODES

1. Objectifs de l'étude :

- Effectuer une étude phytochimique sur *Marrubium vulgare L.*
- Réaliser une enquête ethnobotanique sur cette plante.
- Evaluer les activités biologiques des extraits de *Marrubium vulgare L.*

2. Etude ethnobotanique de *Marrubium vulgare L*

2.1. Type de l'étude :

Nous avons commencé la partie pratique par la réalisation d'une enquête ethnobotanique descriptive transversale.

2.2. Matériels :

- Un formulaire, incluant 14 variables (**voir annexes I et II**), a été utilisé comme outil dans notre enquête et validé par **Docteur Nazim BELIFA** (pharmacien spécialiste en pharmacognosie).
- Le logiciel **Excel STAT version 2016** a été employé pour l'analyse des données.

2.3. Méthode :

L'enquête ethnobotanique s'est déroulée du 5 novembre 2023 au 31 mars 2024. Nous avons collecté des informations à l'aide de fiches questionnaires en français et en arabe (**voir annexe D**), diffusées en ligne via **Google Forms®**. Les données recueillies ont ensuite été transférées dans une base de données et analysées à l'aide du logiciel de traitement statistique Excel STAT Version 2016.

3. Etude phytochimique de *Marrubium vulgare L* :

3.1. Matériels :

3.1.1. Lieu et durée de l'étude :

L'étude phytochimique de *Marrubium vulgare L* a été effectuée sur la partie aérienne au niveau du laboratoire d'électrochimie et de chimie analytique de l'Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen (extraction de l'huile essentielle) et laboratoire de chimie minérale de la faculté de médecine Tlemcen du 28 mars au 5 mai 2024.

3.1.2. Réactifs :

- Réactif de Stiasny (**voir annexe VI**)
- Réactif de Dragendorff (**voir annexe VI**)
- Chlorure ferrique (FeCl_3).
- Acide chlorhydrique (HCl).
- Ammoniaque (NH_4OH).
- Acide sulfurique (H_2SO_4).
- Anhydride acétique ($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_3$).
- Acide acétique (CH_3COOH).
- Ferrocyanure de potassium ($\text{K}_3 [\text{Fe} (\text{CN})_6]$).
- Chloroforme (CHCl_3).
- n-butanol ($\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}$).
- Liqueur de Fehling
- Rognures de magnésium.

3.1.3. Matériel végétal :

Notre recherche a été menée sur les parties aériennes de la plante *Marrubium vulgare L.*



Figure 26 : Photo originale de la plante *Marrubium vulgare* L. prise le jour de la récolte.

◆ **Zone de cueillette :**

L'espèce a été cueillie à la commune d'Ain Fezza wilaya de Tlemcen.



Figure 27 : Localisation géographique de la zone de cueillette de *Marrubium vulgare* L.

◆ Période de cueillette :

La récolte des parties aériennes de l'espèce *Marrubium vulgare L* a été réalisée en moment de printemps 21 mars 2024.

◆ Préparation des échantillons :

Une fois la récolte terminée les parties aériennes de la plante ont été séchées à l'air libre dans un endroit sec à l'abri de la lumière, pendant une semaine à température ambiante, puis conservées dans des sacs en papier kraft jusqu'au jour de l'extraction.



Figure 28 : Forme séchée et broyée de *Marrubium vulgare L*.

3.1.4. Matériel biologique :

- Souches bactériennes :

Les souches bactériennes utilisées sont mentionnées dans le tableau ci-dessous :

Tableau I : Présentation des souches bactériennes testées.

Souche bactérienne	Caractère bactériologique	Famille	Référence
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cocci Gram+	Staphylococcaceae	ATCC 25923
<i>Escherichia coli</i>	Bacille Gram-	Enterobacteriaceae	ATCC 25922

- Milieux de culture :

Les milieux de culture utilisés :

- Une gélose nutritive pour le repiquage.
- Une gélose de Mueller Hinton.

3.1.5. Matériel du laboratoire

Le tableau ci-dessus présente le matériel utilisé :

Tableau II : Présentation du matériel utilisé.

Appareillage	Verrerie
<ul style="list-style-type: none"> - Balance analytique OHAUS PIONEER. - Etuve Gallenkamp incubator size 2, model no. IH-100. - Hydro distillateur type Clevenger. - Spectrophotomètre Biotech engineering management Co.Ltd. (UK) model Vis7220G. - Bain marie Memmert GmbH Co.KG. - Réfractomètre ATAGO CO., LTD. RX- 5000 i. - Centrifugeuse Sigma 1-6 - Vortex type IKA Vibrofix VF1. - Bec bunsen. - Plaque chauffante. - Lampe à rayons ultraviolets. - Micropipettes. 	<ul style="list-style-type: none"> - Erlenmeyers, - Béchers, - Fioles jaugées - tubes à essai - Verres de montre - Ampoule à décanté - Spatules, - Éprouvettes, - Cuves, - Flacons ombrés, - Pipettes, - Pipettes Pasteur, - Entonnoirs, capsules en porcelaine, tube à vis, tubes Eppendorf.

3.2. Méthodes :

3.2.1. Screening/criblage phytochimique de *Marrubium vulgare L* :

Le criblage représente une méthode fondamentale pour repérer les familles de composés chimiques présentes dans un médicament spécifique. Cependant, cette approche ne fournit pas de détails approfondis sur la nature précise des molécules chimiques. Il est crucial de noter que les tests de caractérisation phytochimique peuvent parfois être imprécis, car ils reposent en partie sur des analyses qualitatives. Ce principe se fonde soit sur la formation de complexes

insolubles via des réactions de précipitation, soit sur la création de complexes colorés grâce à des réactions de coloration (74).

3.2.1.1. Préparation des extraits :

Trois extraits aux polarités variées ont été préparés à partir de la poudre de la partie aérienne : aqueux, méthanolique et chloroformique. Pour cela, 5 g de poudre végétale ont été dissous dans 100 ml de chaque solvant respectif. Les mélanges ainsi obtenus ont été placés à l'abri de l'oxygène et de la lumière, puis soigneusement recouverts d'un film plastique pendant une période de 72 heures (75).

3.2.1.2. Protocole de screening/criblage phytochimique :

- **Tests sur les trois extraits :(aqueux, méthanolique et chloroformique) :**

-Test des polyphénols (Réaction générale des polyphénols) :

À 1 ml de chaque extrait, ajouter quelques gouttes d'une solution de FeCl_3 à 10%. La présence de polyphénols est révélée par le développement d'une coloration allant du vert au bleu-noirâtre, signalant ainsi leur présence (76).

-Test des Flavonoïdes (Test de Shinoda avec la poudre de magnésium) :

Les flavonoïdes ont été détectés à l'aide de la réaction à la cyanidine, qui implique le transfert de 5 ml de chaque extrait dans une capsule suivie d'une évaporation à sec. Le résidu sec obtenu est ensuite dissous dans environ 5 ml d'eau distillée chaude.

À cette solution aqueuse, nous ajoutons 3 ml d'un mélange d'acétate d'éthyle et de butanol (3V-2V), nous agitons, puis nous laissons décanter avant de prélever la phase organique dans un autre tube. Ensuite, nous ajoutons 1 ml d'acide chlorhydrique (12N) et 1 à 2 rognures de magnésium.

L'apparition d'une des colorations suivantes (Rouge cerise, Orange, Rouge violacé) indique la présence de flavonoïdes (76).

- Test des Tanins :

Pour le test au FeCl_3 , nous avons ajouté entre 2 et 3 gouttes de FeCl_3 (1%) à 1 ml de chaque extrait. La présence de tanins galliques fait virer la couleur au bleu noir tandis que celle des tanins catéchiques la fait passer au brun verdâtre (77). Le réactif de Stiasny a été utilisé pour

distinguer ces tanins. Pour cela, 15 ml du réactif de Stiasny (10 ml de formaldéhyde + 5 ml d'HCl concentré) ont été ajoutés à 5 ml de chaque extrait. Après une incubation au bain-marie à 80°C pendant 30 minutes, la formation d'un précipité en gros flocons indique la présence de tanins catéchiques. Pour les tanins galliques, la solution a été filtrée, le filtrat recueilli et saturé d'acétate de sodium. L'addition de 3 gouttes de FeCl₃ produit une coloration bleu-noir intense, confirmant la présence de tanins galliques (78).

-Test des Coumarines (réaction de fluorescence) :

Dans une capsule, faire évaporer 5 ml de chaque extrait à l'air libre. Après refroidissement, ajouter 2 ml d'eau chaude au résidu sec. Ensuite, répartir la solution entre deux tubes à essai :

- Tube (1) : Témoin
- Tube (2) : Ajouter 0,5 ml d'ammoniaque à 25%. Mélanger.

La présence des coumarines est détectée en observant la fluorescence dans le tube (2) sous une lampe UV à 366 nm (79).

-Test des Stérols et tri terpènes (réaction de Liebermann Burchard) :

Les stérols et les terpènes ont été détectés en utilisant la réaction de Liebermann. Pour ce faire, (5) ml de chacun des trois extraits ont été évaporés sur bain de sable. Le résidu obtenu a été dissous à chaud dans 1 ml d'anhydride acétique, puis 0,5 ml d'acide sulfurique concentré ont été ajoutés au triturât. L'apparition d'un anneau pourpre ou violet à l'interphase, qui vire ensuite au bleu puis au vert, a confirmé une réaction positive (74).

-Test des Alcaloïdes (réaction de précipitation) :

Ce test exploite le phénomène de précipitation avec un réactif spécifique nommé le Dragendorff, reconnu pour sa capacité à mettre en évidence la présence d'alcaloïdes. Dans des tubes à essai, 5 ml de l'extrait sont déposés, auxquels on incorpore 2 ml d'HCl et 1 ml de réactif de Dragendorff. La formation d'un précipité rouge ou orange confirme la présence d'alcaloïdes dans l'extrait (80).

-Test des Glycosides cardiaques :

Après avoir ajouté 2 ml de chloroforme à 1 ml de l'extrait, l'observation d'une coloration brun-rougeâtre suite à l'addition de H₂SO₄ signale la présence de glycosides cardiaques (74).

-Test Composés réducteurs :

La méthode de détection implique l'incorporation de 2 ml de l'extrait aqueux dans un tube à essai, suivi de l'ajout de 2 ml de la liqueur de Fehling. La solution résultante est ensuite chauffée au bain-marie bouillant pendant 8 minutes. L'apparition d'un précipité rouge brique révèle la présence de composés réducteurs (74).

-Test des Anthocyanes :

La détection des anthocyanes se fait en ajoutant 1 ml d'extrait (aqueux, chloroformique, méthanolique) 3 ml d'H₂SO₄ concentré et 1 ml de NH₄OH. Si la coloration s'intensifie lors de l'acidification puis vire au bleu en milieu basique, la présence des anthocyanes peut être conclue (81).

- Test des Saponosides (indice de mousse) :

À partir de la poudre, nous avons élaboré une solution diluée à 1%, suivie d'une série de dilutions. Chaque tube a été agité pendant 15 secondes puis laissé au repos pendant 15 minutes. Nous avons ensuite calculé l'indice de mousse à partir du tube où la hauteur de la mousse atteint 1 cm (79).

3.2.2. Extraction et analyse de l'HE de *Marrubium vulgare* L :

3.2.2.1. Extraction de l'HE par hydrodistillation :

La distillation est une technique d'extraction ancienne, connue depuis l'Antiquité. Actuellement, elle est normalisée comme méthode d'extraction des huiles essentielles et également pour garantir leur qualité. Nous avons suivi ce procédé classique en utilisant un dispositif d'extraction par hydrodistillation de type Clevenger (82). Tout d'abord, les parties aériennes du Marrube blanc sont nettoyées de leurs impuretés, séchées, puis réduites en petits morceaux pour faciliter leur introduction dans un ballon en verre préalablement rempli d'eau distillée. Il est essentiel de bien fermer le montage pour éviter les fuites de vapeur, et de maintenir la température stable à l'aide d'un thermostat. Ensuite, l'eau est chauffée dans un chauffe-ballon jusqu'à ébullition, générant ainsi de la vapeur qui transporte les composants volatils. Ces vapeurs montent et traversent le réfrigérant, qui est refroidi de manière constante. Des températures trop basses peuvent entraîner la formation de cristaux dans le réfrigérant, retardant ainsi la condensation des gouttelettes d'eau. Si la température est trop élevée, aucun phénomène de condensation ne se produira (83). Après 3 heures, à la sortie du réfrigérant, l'huile essentielle se sépare de l'eau

en raison de leur différence de densité. Nous avons récupéré l'huile essentielle extraite à l'aide d'un solvant organique (éther diéthylique), qui sera ensuite évaporé (84).



Figure 29 : Photo originale d'un dispositif d'hydrodistillation type Clevenger.

- Conservation de l'huile essentielle :

La conservation de l'huile essentielle dépend de plusieurs facteurs, tels que la qualité de la plante d'origine, les conditions de récolte, le processus de distillation et d'embouteillage. Étant sensible aux rayons UV, à l'humidité et à la chaleur, nous avons choisi de conditionner notre huile essentielle dans des flacons ambrés hermétiquement fermés et stockés à basse température afin de prolonger sa durée de conservation et de préserver sa qualité en limitant l'oxydation(76).

- Calcul du rendement :

Nous décrivons le rendement comme la quantité maximale d'huile essentielle produite par une masse spécifique de végétal sur une période donnée, et nous l'avons évalué à l'aide de la formule suivante (77)

$$\boxed{\text{RHE (\%)} = (\text{mHE} / \text{m MVs}) \times 100}$$

RHE (%) : Rendement en huile essentielle en %.

mHE : masse de l'HE extraite en g.

mMVs : masse de la matière végétale sèche utilisée en g.

2.2.2.2. Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle :

L'évaluation des caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle, notamment son odeur, son apparence, sa couleur et son aspect physique à différentes températures, fournit des informations initiales mais limitées sur sa qualité. Cette étape est considérée comme préliminaire dans l'évaluation de l'huile(77,78). Ces paramètres ont été déterminés en collaboration avec notre enseignant encadrant.

2.2.3.3. Caractérisation physique de l'huile essentielle :

Les propriétés physiques d'une huile essentielle ont été appréciées par plusieurs organisations connus à l'échelle mondiale comme : (77)

L'ISO : correspond à l'Organisation internationale de normalisation.

L'AFNOR : est l'Association française de normalisation.

L'AOAC représente : Association of Official Agricultural Chemist.

Dans notre contexte, nous avons évalué deux paramètres physiques conformément à la norme AFNOR :

- **L'indice de réfraction** : mesuré à l'aide d'un réfractomètre à une température de 25 °C.

- **La densité relative** : Après avoir déterminé la densité absolue de l'huile essentielle selon la norme NF T 75-111, 1982/ISO 279-1998 (calculée en comparant la masse d'un volume d'échantillon d'huile essentielle à 20 °C avec le même volume), nous avons calculé la densité relative par rapport à la masse volumique de l'eau pure à 4 °C.

- Densité relative:

$$d = \frac{\rho_{\text{corps}}}{\rho_{\text{ref}}}$$

ρ_{corps} : masse volumique de l'huile essentielle.

ρ_{ref} : masse volumique de l'eau.

3.2.3. Evaluation des activités biologiques de *Marrubium vulgare* L

3.2.3.1. Evaluation de l'activité antioxydant de l'HE de *Marrubium vulgare* L

3.2.3.1.1. Test de la réduction du fer (FRAP) :

Cette technique examine la capacité de l'échantillon à convertir les ions ferriques (Fe^{3+}) d'un complexe jaune de ferricyanure de potassium K3 [Fe (CN)6] en ions ferreux (Fe^{2+}) d'une teinte bleu-vert en présence d'un antioxydant. La densité de cette couleur est évaluée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 700 nm. (79). Cette réaction est représentée dans le schéma suivant :

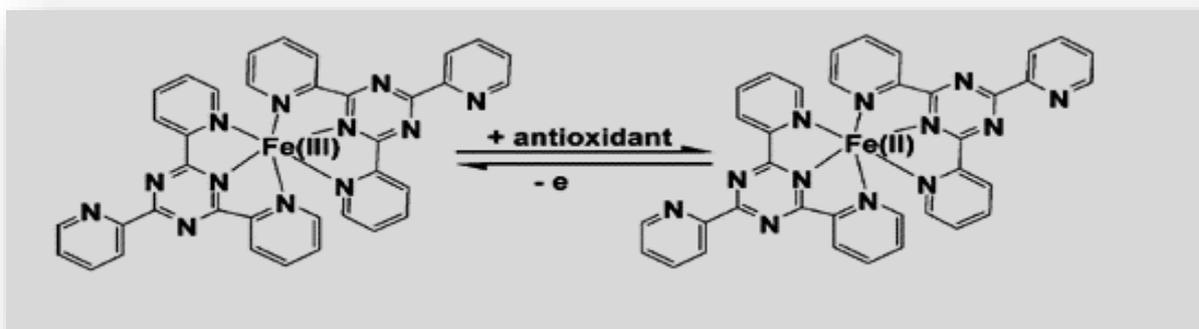


Figure 30 : Processus réactionnel du test FRAP.

◆ Mode opératoire :

Le protocole ci-dessous repose sur la méthode développée par OYAIKU (1986) (80)

- FRAP sur l'huile essentielle :

Prenez 100 μ l de la solution méthanolique de l'huile essentielle à diverses concentrations et ajoutez-y 0,5 ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) ainsi que 0,5 ml d'une solution de K3Fe (CN)6 à 1%. (Voir annexe IV)

Tableau III : Dilutions de l'huile essentielle (test de FRAP).

Tube	1	2	3	4	5	6
Concentration (μ g/ml)	404,5	202,25	101,125	50,5625	25,2825	12,640625

Les solutions sont placées dans un bain-marie et incubées à 50°C pendant une durée de 30 minutes. Ensuite, 0,5 ml d'acide trichloracétique (10%) est ajouté, suivi d'une centrifugation des tubes à 3000 tours par minute pendant 10 minutes. Après cela, 0,5 ml d'eau distillée et 0,1 ml d'une solution aqueuse de FeCl₃ à 0,1% sont ajoutés à 0,5 ml du surnageant.

- FRAP sur l'acide ascorbique

La solution d'un antioxydant standard, l'acide ascorbique, a été préparée à différentes dilutions (voir tableau 2) et utilisée comme contrôle positif. L'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que celles utilisées pour les échantillons. (Voir annexe III).

Tableau IV : Dilutions de l'acide ascorbique (test de FRAP)

N° de tube	1	2	3	4	5	6
Concentration (µg/ml)	1000	500	250	125	62,5	31,25

3.2.4. Evaluation de l'activité antibactérienne de l'HE de *Marrubium vulgare* L :

3.2.4.1. Méthode de diffusion en milieu gélosé ou aromatoگرامme :

- **Principe** : cette technique consiste à déposer des disques de papier imprégnés d'une concentration connue d'antibiotique, sur une géloseensemencée avec la bactérie à étudier.
- **Préparation de inoculum bactérien** :
- Préparer l'inoculum bactérien constitue une étape essentielle dans de nombreuses expériences microbiologiques, notamment pour la culture bactérienne en vue de tests, d'analyses ou de production de biomasse. Dans notre approche, les souches bactériennes ont été revitalisées dans une gélose nutritive à 37 °C pendant 24 heures. Ensuite, nous avons prélevé 3 à 5 colonies bien isolées et les avons déposées dans un volume d'eau physiologique stérile, puis le mélange a été agité au vortex. La turbidité a été ajustée à 0,5 de l'échelle de McFarland (90).
 - **Ensemencement** :
 - L'ensemencement a été effectué de manière à assurer une répartition homogène des bactéries sur toute la surface des boîtes (90).

- Mode opératoire :

La gélose de Muller Hinton stérile a été coulée dans des boîtes de Pétri à raison de 15 ml par boîte, puis laissée refroidir. L'inoculum bactérien, ajusté à 0,5 de l'échelle de McFarland et avec une concentration de 10⁷ UFC/ml, a été frotté sur toute la surface de la gélose de Muller Hinton, de haut en bas, en stries serrées (90).

Des disques de papier Whatman n° 1 de 6 mm de diamètre ont été stérilisés dans du papier aluminium à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.

À l'aide d'une pince stérile, les disques imprégnés d'une quantité d'huile essentielle (brute) et d'une solution méthanolique préalablement dissous dans le Diméthylsulfoxyde (DMSO) ont été déposés à la surface des boîtes de Pétriensemencées par les souches à tester (90). (**Voir annexe V**)

Les boîtes ont ensuite été fermées et laissées à diffuser à température ambiante pendant 30 minutes, puis mises à l'étuve pendant 24 heures à une température de 37 °C.

La lecture s'est faite en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque, en millimètres.

Tableau V : La sensibilité des souches bactériennes en fonction du diamètre des zones d'inhibition.

Sensibilité	Zone d'inhibition
Résistante -	Diamètre < 8 mm
Sensible +	Diamètre entre [9 à 14 mm]
Très sensible ++	Diamètre entre [15 à 19 mm]
Extrêmement sensible +++	Diamètre > 20 mm

RÉSULTATS

1. Résultat de l'enquête ethnobotanique sur *Marrubium vulgare* L :

L'étude a inclus 128 participants au total, et les résultats ont été analysés statistiquement à l'aide de diagrammes circulaires et en barres.

1.1. Caractéristiques de la population étudiée :

- **Distribution par sexe:**

L'étude ethnobotanique menée a impliqué l'interrogation de 107 femmes, représentant 83,6%, et 21 hommes, représentant 16,4%. Le rapport entre les sexes (femmes/hommes) était de 5.

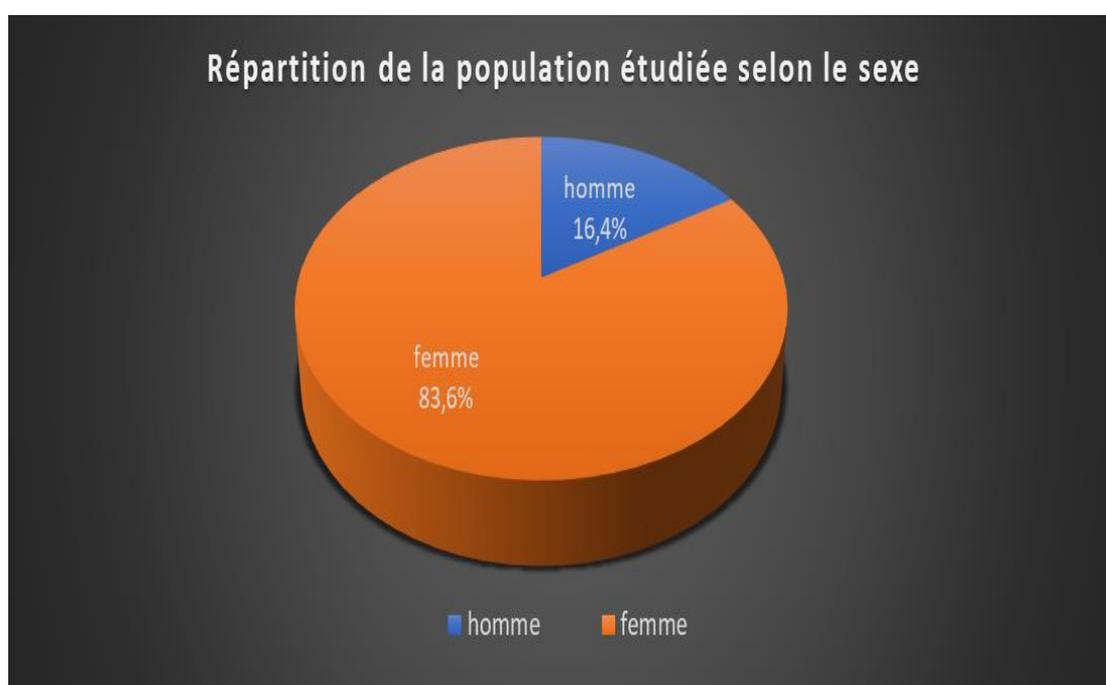


Figure 31 : Distribution par sexe.

- **Distribution de la population étudiée selon l'âge :**

L'étude ethnobotanique a porté sur des participants de moins de 20 ans jusqu'à plus de 60 ans.

Parmi les participants, 20 étaient âgés de moins de 20 ans, représentant ainsi 15,6% de l'échantillon. La tranche d'âge la plus représentée était celle de 20 à 40 ans, comprenant un total de 105 personnes, soit 82% de l'échantillon. La proportion de participants âgés de 40 à

60 ans était d'environ 2,3%, tandis qu'aucun participant de l'échantillon n'avait plus de 60 ans.

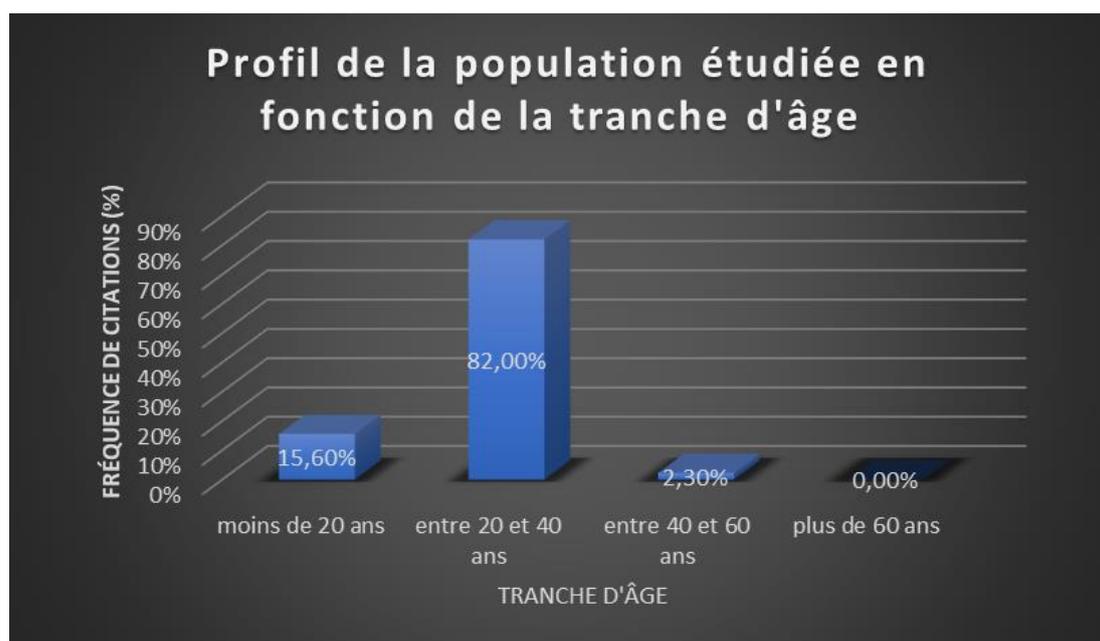


Figure 32 : Distribution de la population étudiée selon l'âge.

- **Répartition de la population étudiée selon le lieu de résidence :**

L'étude a couvert deux régions en Algérie : la zone urbaine, représentant 84,3% de l'échantillon (107 personnes), et la zone rurale, représentant 15,7% de l'échantillon (20 personnes).

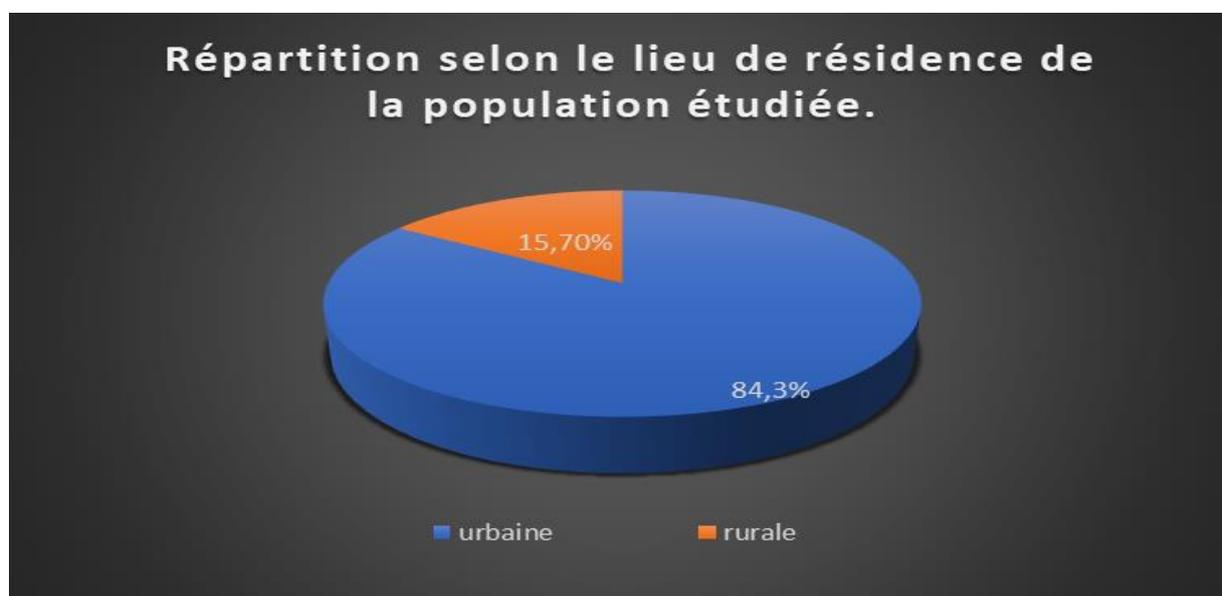


Figure 33 : Répartition de la population étudiée selon le lieu de résidence.

- **Niveau d'éducation de la population étudiée :**

En ce qui concerne le niveau d'éducation, la grande majorité de la population avait un niveau universitaire, comptant 126 personnes (98,4%). Seule une personne avait un niveau moyen (0,8%) et une autre personne avait un niveau secondaire (0,8%).

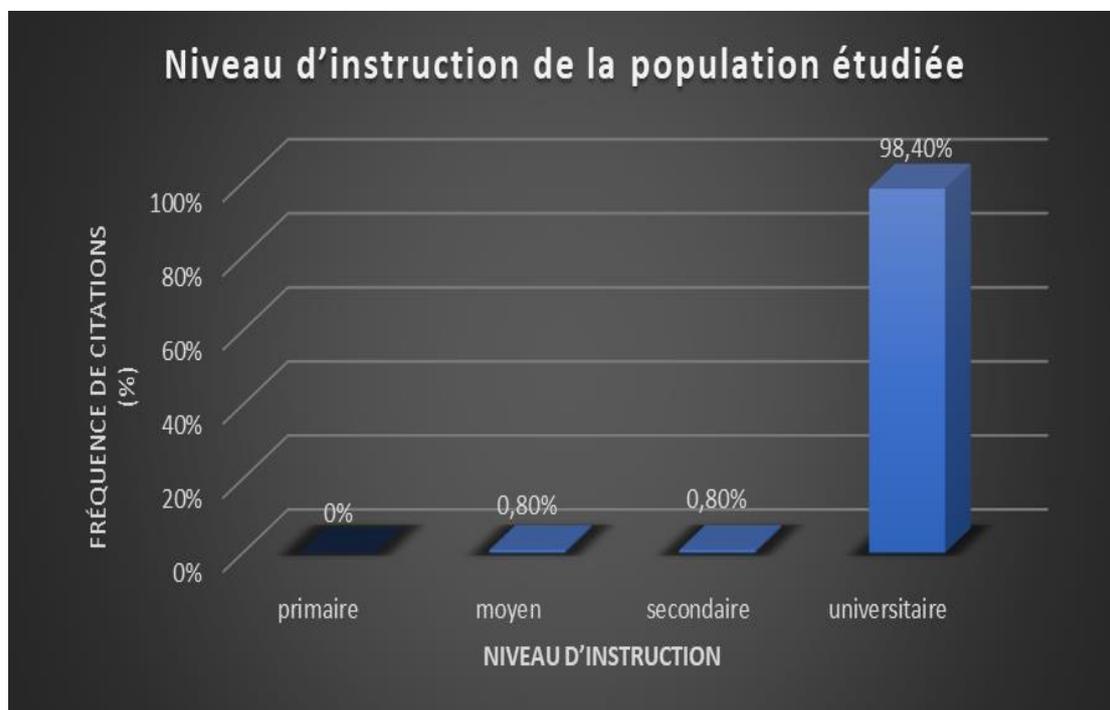


Figure 34 : Niveau d'éducation de la population étudiée.

- **Catégorie socio-professionnelle de la population étudiée :**

Pour évaluer le niveau socio-professionnel des participants, nous avons regroupé les réponses collectées en quatre catégories : la majorité de la population ne travaille pas, représentant environ 61,80%, suivie des fonctionnaires avec environ 28,50%, ceux exerçant une profession libérale avec environ 8,9%, et les artisans avec environ 0,80%.

Ces données sont illustrées dans le graphique ci-dessous.

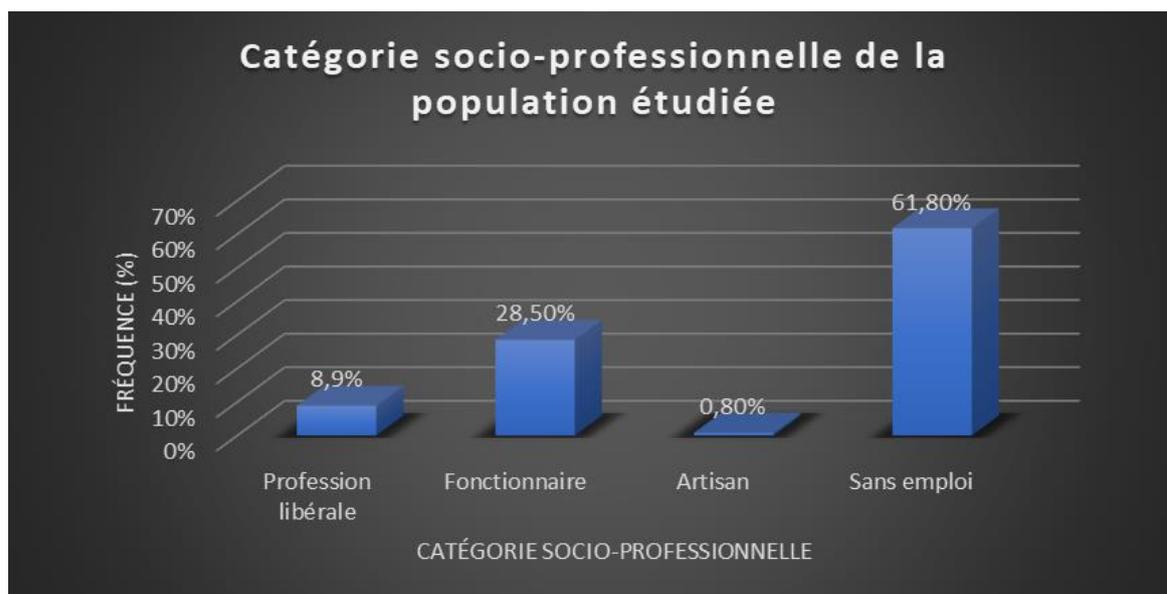


Figure 35 : Catégorie socio-professionnelle de la population étudiée.

1.2. Utilisation de *Marrubium vulgare L.* en médecine traditionnelle :

- **Connaissance de l'espèce *Marrubium vulgare L.* :**

Une proportion significative de la population étudiée est familière avec le marrube blanc, représentant environ 74,8%.

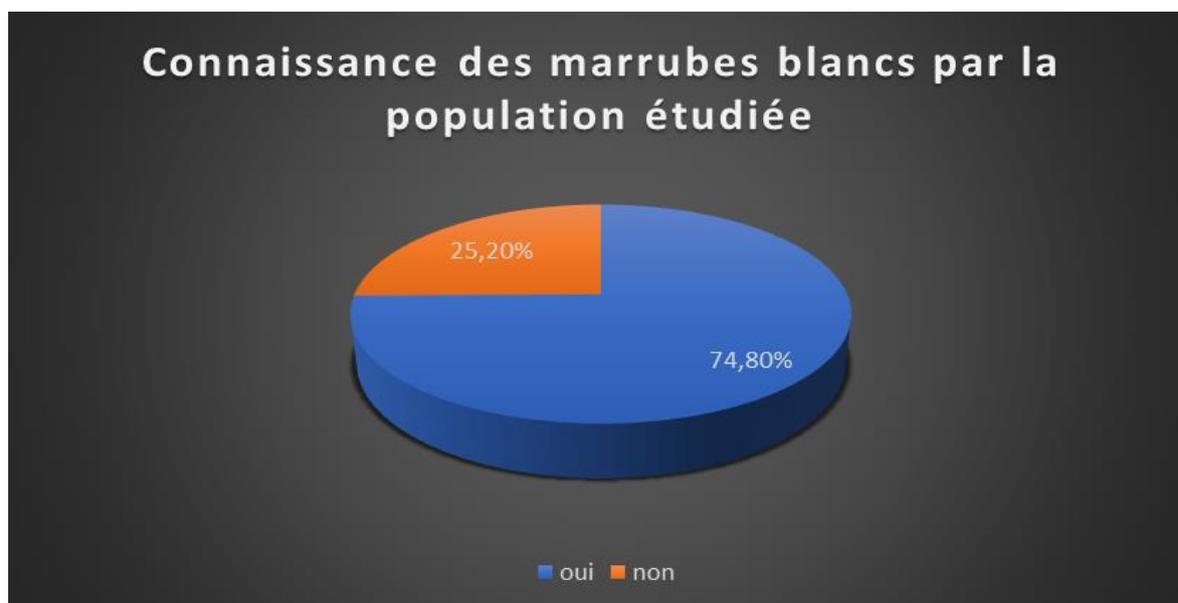


Figure 36 : Connaissance des marrubes blancs par la population étudiée.

- **Usage de l'espèce *Marrubium vulgare* L :**

L'usage de notre plante étudiée par la population ne dépasse pas un pourcentage de 43,7%.

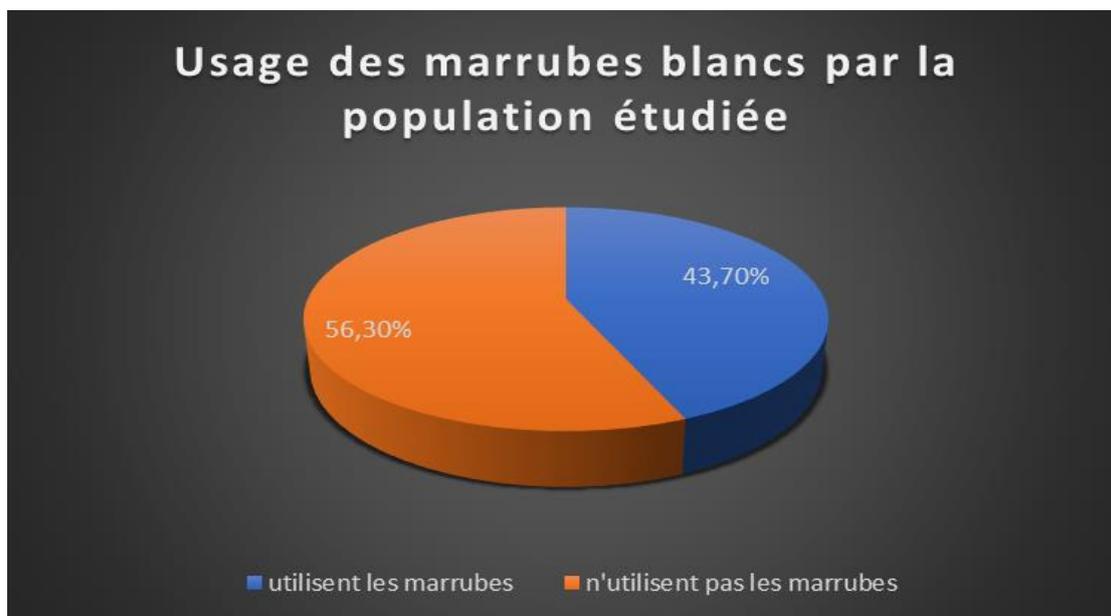


Figure 37 : Usage des marrubes blancs par la population étudiée.

- **Approvisionnement des marrubes:**

Les données obtenues nous renseignent sur la présence des marrubes en Algérie, que ce soit dans les magasins d'herboristerie (47,8% avec 44 citations), les pharmacies (3,3% avec 3 citations), les jardins domestiques (12% avec 11 citations), ou encore dans la nature pour la cueillette (54,3% avec 50 citations).

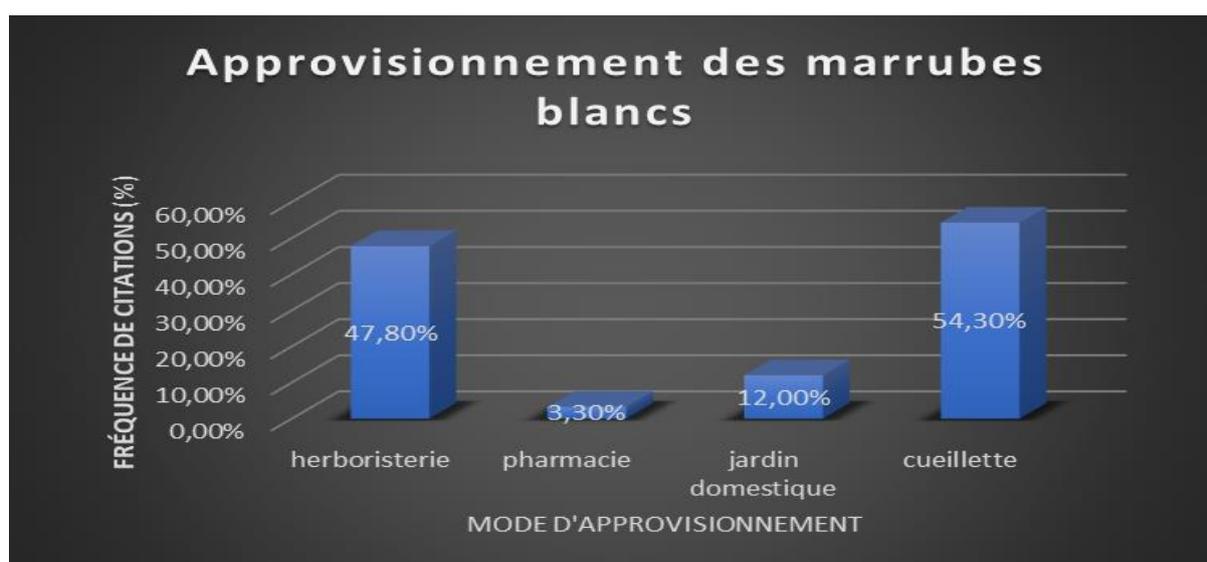


Figure 38 : Approvisionnement des marrubes blancs

- **Différentes méthodes de préparation de *Marrubium vulgare L* :**

Les résultats ont souligné le pourcentage d'utilisation des diverses méthodes de préparation des marrubes blancs. L'infusion est principalement utilisée, représentant 50,6% (42 citations), suivie de la décoction avec 43,4% (36 citations), puis la macération avec environ 12% (10 citations), et enfin la fumigation avec 10,8% (9 citations)

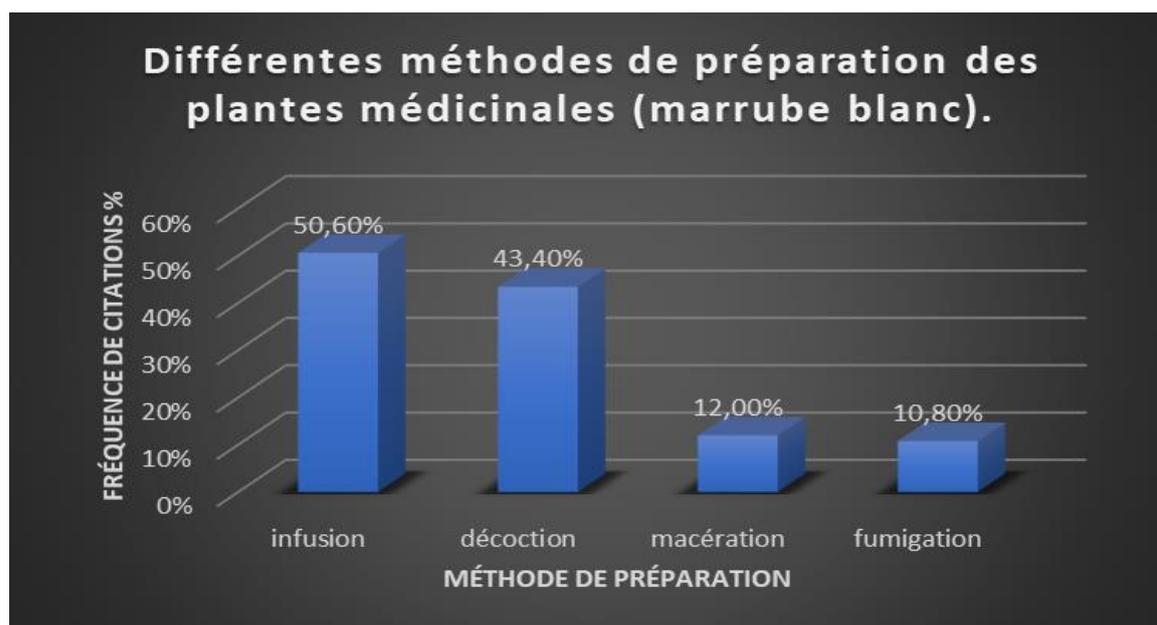


Figure 39 : Différentes méthodes de préparation des plantes médicinales (marrube blanc).

- **Usage thérapeutique de *Marrubium vulgare L* :**

Sur la totalité des citations, l'indication thérapeutique de *Marrubium vulgare L*. la plus citée était Troubles digestifs avec 41 citations (50%), suivi par les Affections dermatologiques avec 28 citations (34,1%), Affections respiratoires avec 16 citations (19,5%), Pour combattre le stress avec 11 citations (13,4%), diabète avec 7 citations (8,5%), enfin les affections cardio-vasculaires avec 1 citation (1,2%).

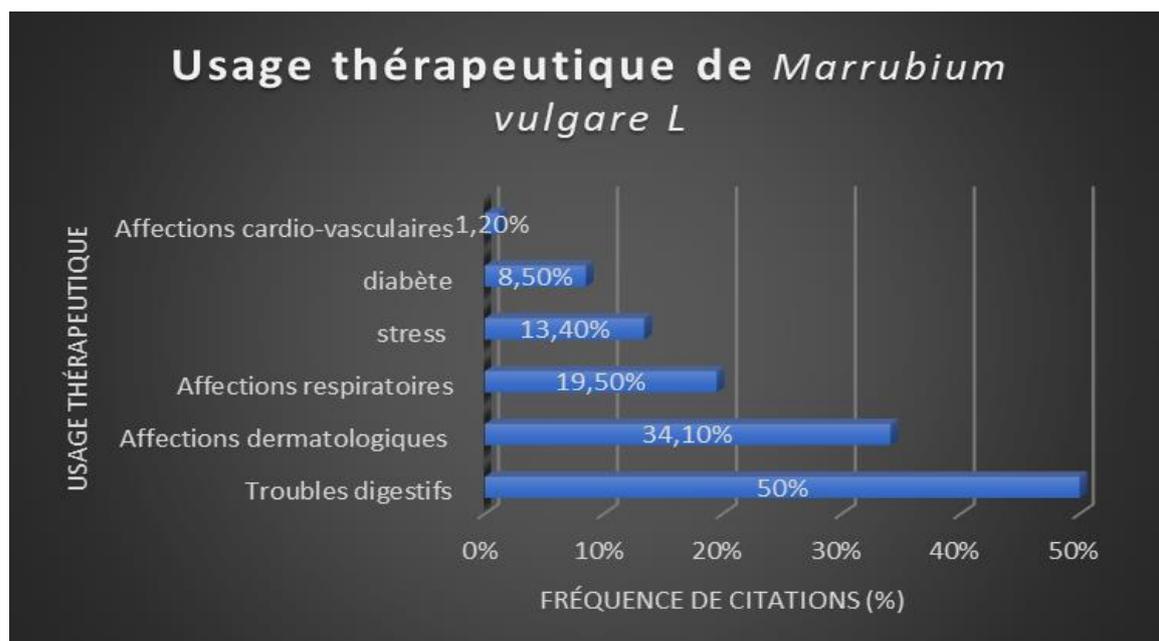


Figure 40 : Usage thérapeutique de *Marrubium vulgare L.*

- **Formes d'utilisation de *Marrubium vulgare L.* :**

Parmi toutes les citations recueillies, la tisane était la forme la plus fréquemment mentionnée, avec 66 citations (77,6%), suivie de la poudre avec 19 citations (22,4%), et enfin les huiles essentielles avec 12 citations (14,1%).

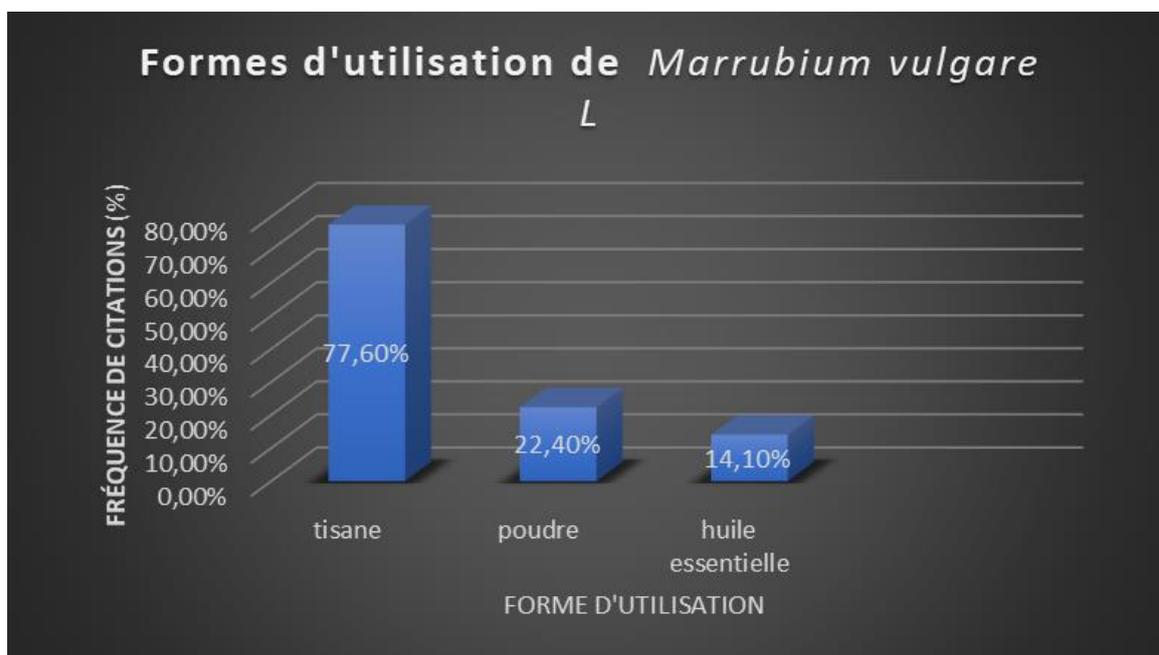


Figure 41 : Formes d'utilisation de *Marrubium vulgare L.*

• **Parties utilisées de *Marrubium vulgare L* :**

Parmi toutes les citations recueillies, les feuilles représentaient la partie de la plante la plus utilisée (78,7%), suivies par la plante entière (32,6%), les tiges (7,9%), et enfin les fleurs (1,1%).

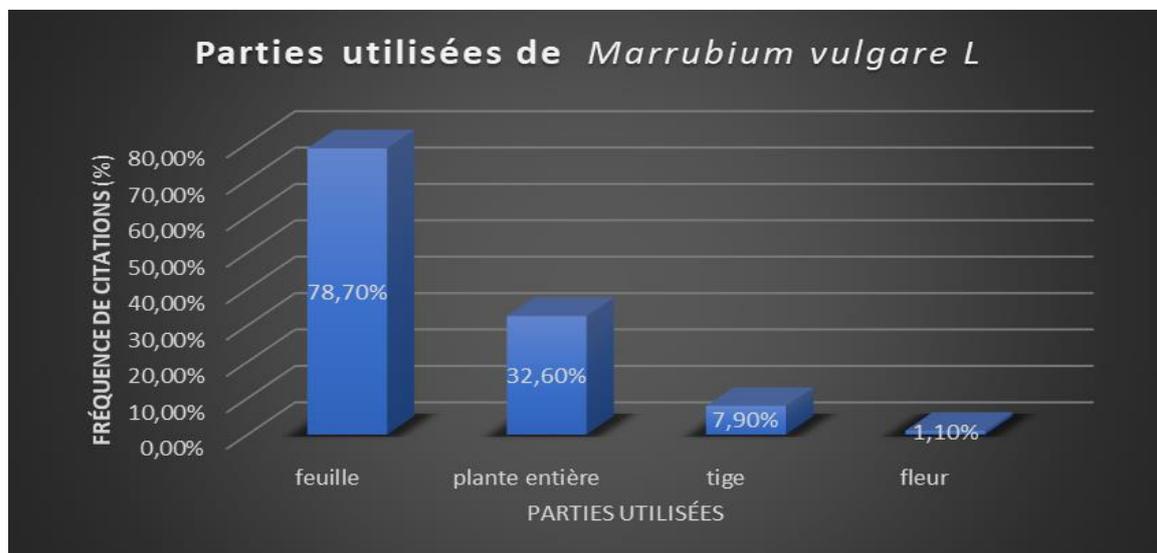


Figure 42 : Parties utilisées de *Marrubium vulgare L*.

• **La modalité d'utilisation de Marrube Blanc :**

Sur la totalité des citations, la modalité la plus utilisée était : per os avec 60 citations (67,4%), suivie par la modalité locale avec 34 citations (38,2%).

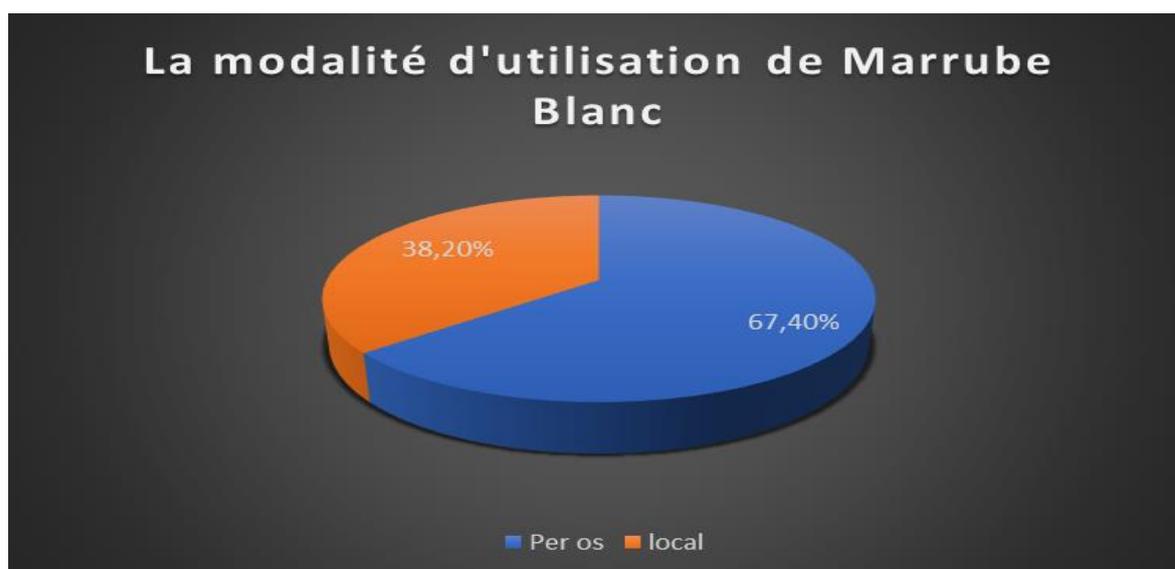


Figure 43 : modalité d'utilisation de Marrube Blanc

• **Les effets indésirables de Marrube blanc :**

La majorité des enquêtés ne présentent pas des effets indésirables avec 73 citations (85,9%), suivie par l'hypoglycémie avec 5 citations (5,9%), l'allergie avec 4 citations (4,7%), autres effets indésirables avec 3 citations (3,5%), enfin les troubles gastriques et les troubles d'hormones avec 2 citations pour les deux (2,4%).

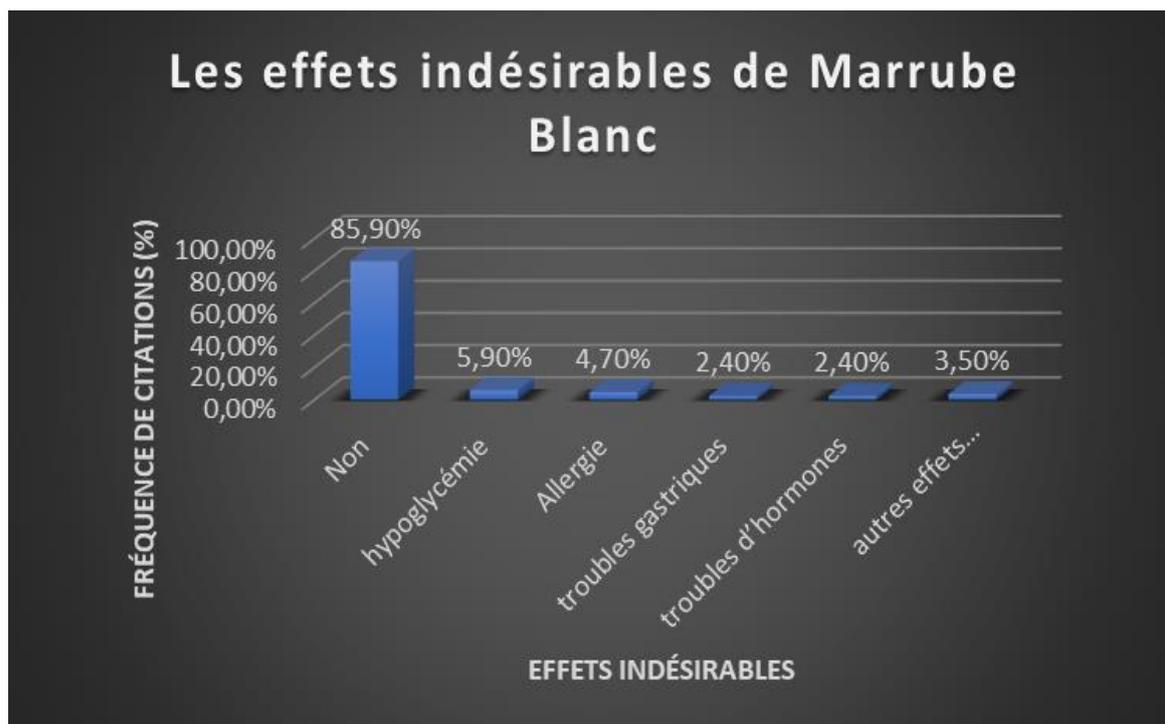


Figure 44 : Les effets indésirables de Marrube blanc.

2. Résultats du Screening/criblage phytochimique de *Marrubium vulgare L* :

- Résultat de la réaction générale des polyphénols :

L'apparition d'une coloration foncée noirâtre indique l'existence des polyphénols.

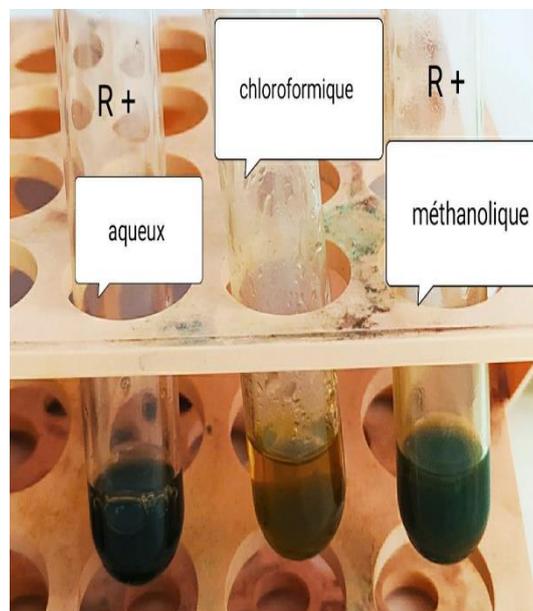


Figure 45 : Résultat après l'ajout de $FeCl_3$.

- Résultat de la recherche des flavonoïdes :

Le changement de couleur été remarquée que dans l'extrait aqueux (coloration orange). Ce qui suggère la présence des flavonoïdes et plus précisément des flavones.

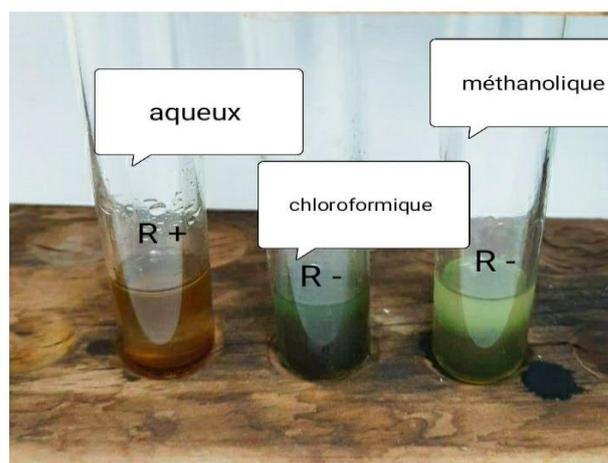


Figure 46 : Résultat après l'ajout du réactif de Shinoda.

- Résultat de la recherche des coumarines :

La détection d'une fluorescence bleue dans l'extrait chloroformique suggère la présence de coumarines dans notre drogue végétale.

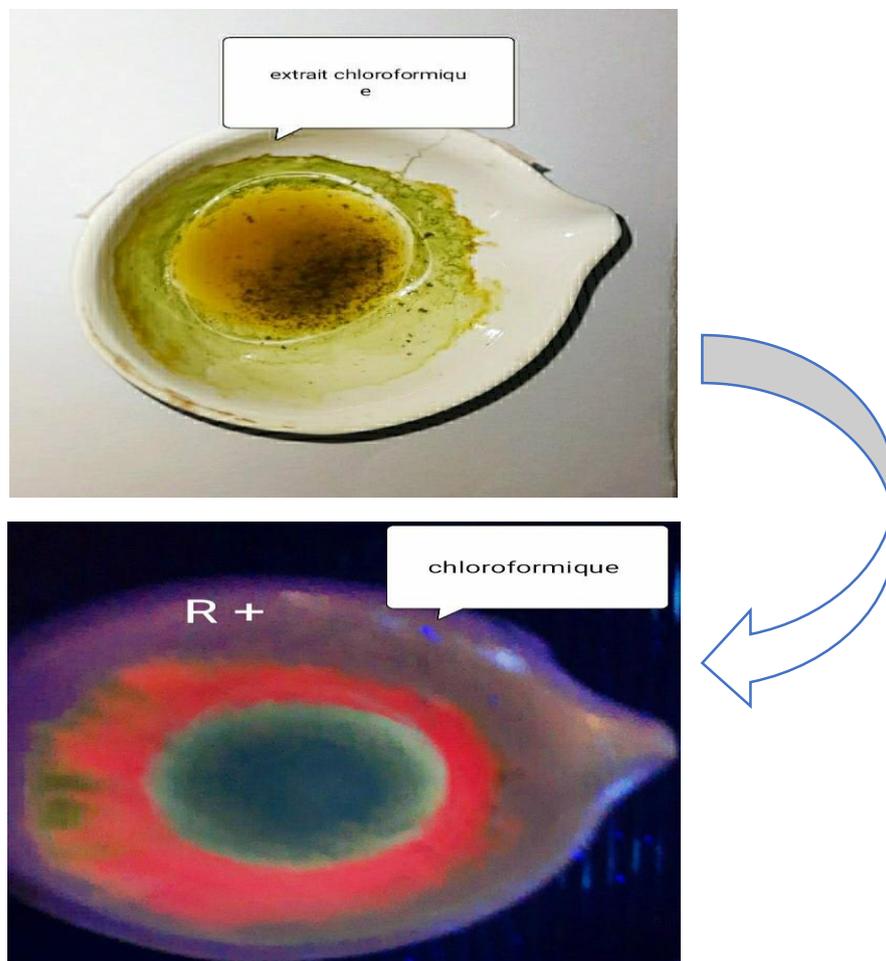


Figure 47 : Réaction de fluorescence.

- Résultat de la recherche des tanins :

L'apparition d'une coloration noirâtre (**Figure 48**) avec le FeCl_3 (1%) dans les deux extraits (aqueux et méthanolique). Ainsi la formation d'un précipité on gros flocons avec le réactif de Stiasny reflète la présence des tanins catechiques (**Figure 49**), l'existence de ces derniers étés confirmés après filtration et l'ajout d'acétate de sodium (en excès) et FeCl_3 où il y a absence d'une coloration bleu-noir. (**Figure 50**).

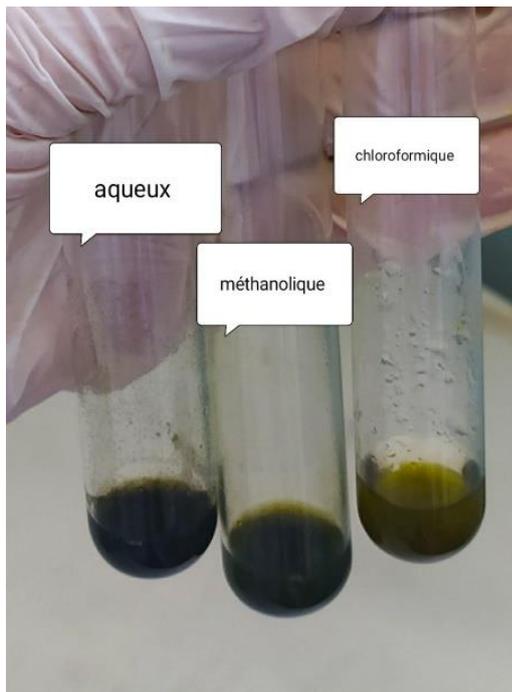


Figure 48 : Résultat après l'ajout
FeCl₃

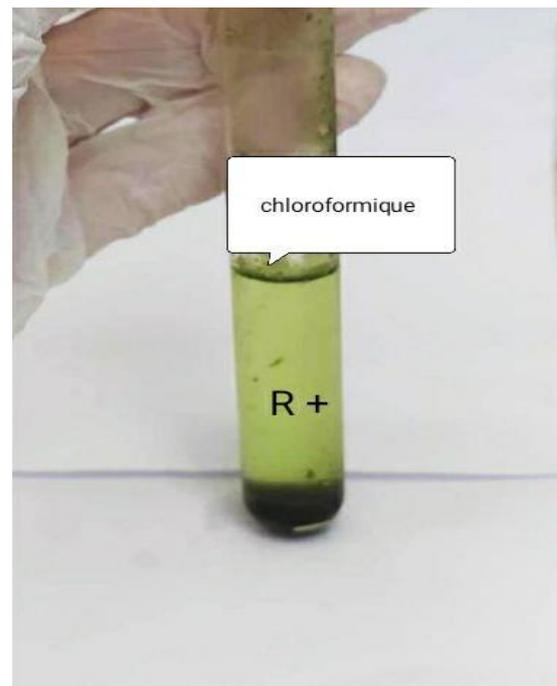


Figure 49 : Résultat après l'ajout du
Stiasny.

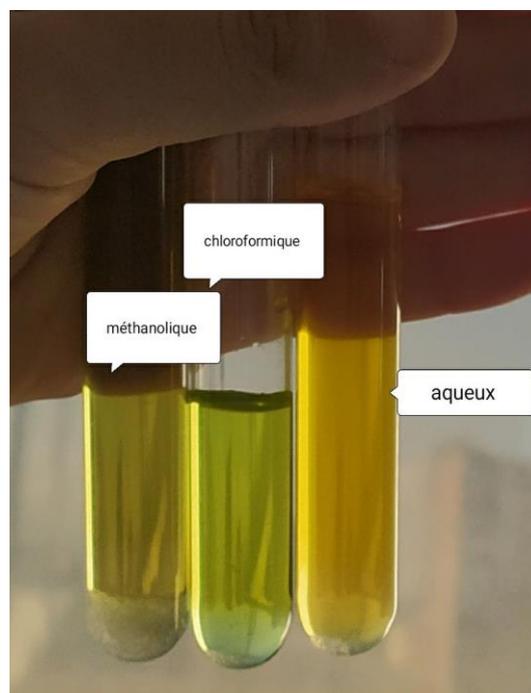


Figure 50 : Résultat obtenu Après filtration et l'ajout d'acétate de sodium
(En excès) et FeCl₃.

- Résultat de la recherche des alcaloïdes :

L'absence de précipitation avec le réactif de Dragendorff indique que la drogue végétale ne contient pas d'alcaloïdes.

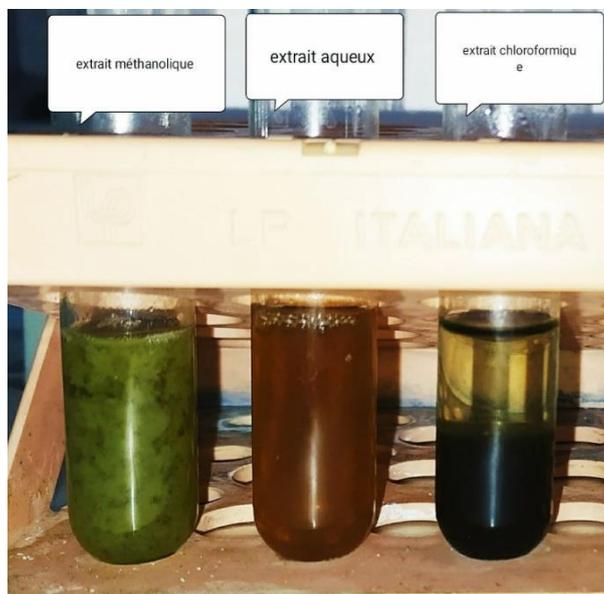


Figure 51 : Résultat obtenu après l'ajout du réactif de Dragendorff.

- Résultat de la recherche des Saponosides :

Développement de mousse dans tous les tubes avec des hauteurs différentes qui ne dépasse pas 2 cm. Le résultat montre que la drogue végétale contient des saponosides.

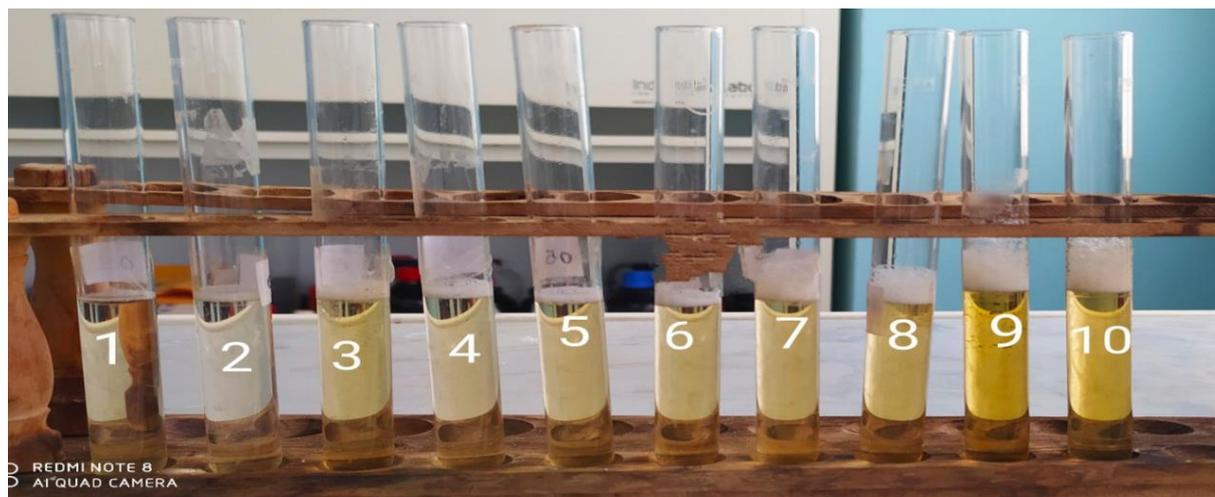


Figure 52 : Série de dilutions d'un extrait de plante pour la détection des saponosides.

- Résultat de la recherche des tri terpènes et stérols :

L'observation d'un anneau vert dans l'extrait méthanolique et le passage à une teinte verte olive dans l'extrait chloroformique sont des indices de la présence de stérols et de triterpènes.

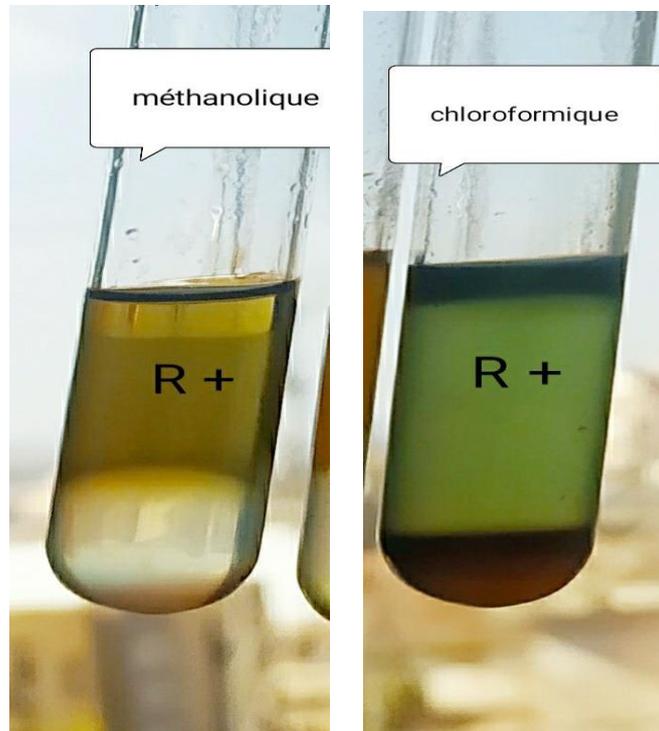


Figure 53 : Réaction de Libermann-Burchard.

- Résultat de la recherche des sucres réducteurs :

Formation d'un précipité rouge brique qui indique la présence des sucres réducteurs.

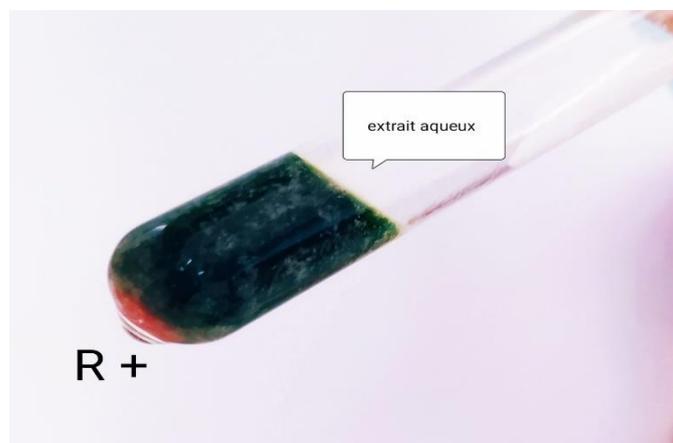


Figure 54 : Résultat après l'ajout de liqueur de Fehling.

- Résultat de la recherche des Anthocyanes :

L'apparition d'une coloration bleue dans extrait chloroformique en milieu basique reflète la présence des anthocyanes.

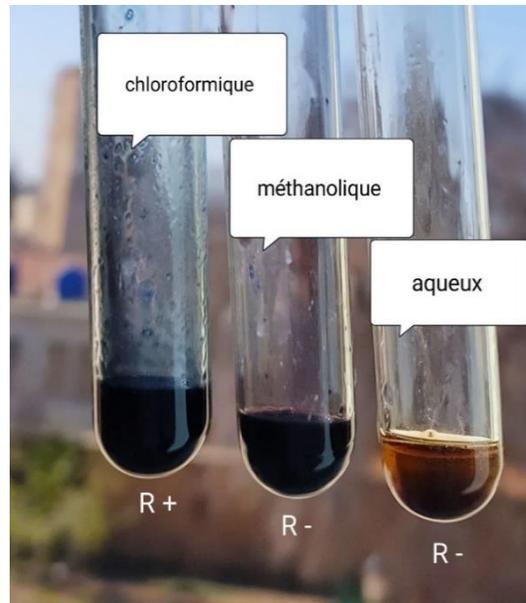


Figure 55 : Réaction en milieu basique.

- Résultat de la recherche des glycosides cardiaque :

L'absence de coloration brun-rougeâtre après l'addition de H_2SO_4 indique que notre drogue végétale ne renferme pas des glycosides cardiaques.

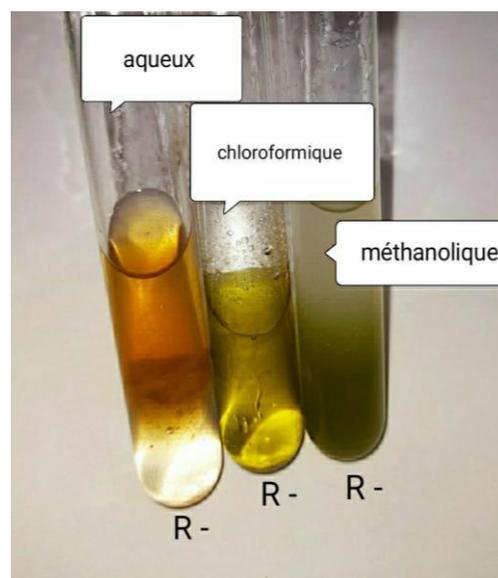


Figure 56 : Résultat après l'ajout du réactif de H_2SO_4 .

3.Calcul du rendement en HE :

Le taux d'extraction d'huile essentielle des parties aériennes de *Marrubium vulgare L* est de 0,1%.

4. Résultats de la caractérisation organoleptique de l'HE :

Les propriétés organoleptiques de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation sont présentées de manière synthétique dans le tableau ci-dessous :

Tableau VI : Caractères organoleptiques de l'HE de *Marrubium vulgare L*.

Caractère organoleptique	Couleur	Odeur	Aspect
HE de <i>Marrubium vulgare L</i>	Jaune pâle	Propre à la matière végétale	Liquide à température ambiante

5.Résultats de la caractérisation physique de l'HE :

Voici un récapitulatif des caractéristiques physiques de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation, présenté dans le tableau ci-dessous :

Tableau VII : Caractères physiques de l'HE de *Marrubium vulgare L* (**Voir Annexe II**).

Caractère physique de l'HE	Densité relative	Indice de réfraction
HE de <i>Marrubium vulgare L</i>	0,903	1,333

6. Résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante de l'HE :

6.1. Le résultat de test FRAP effectuée sur l'huile essentielle :

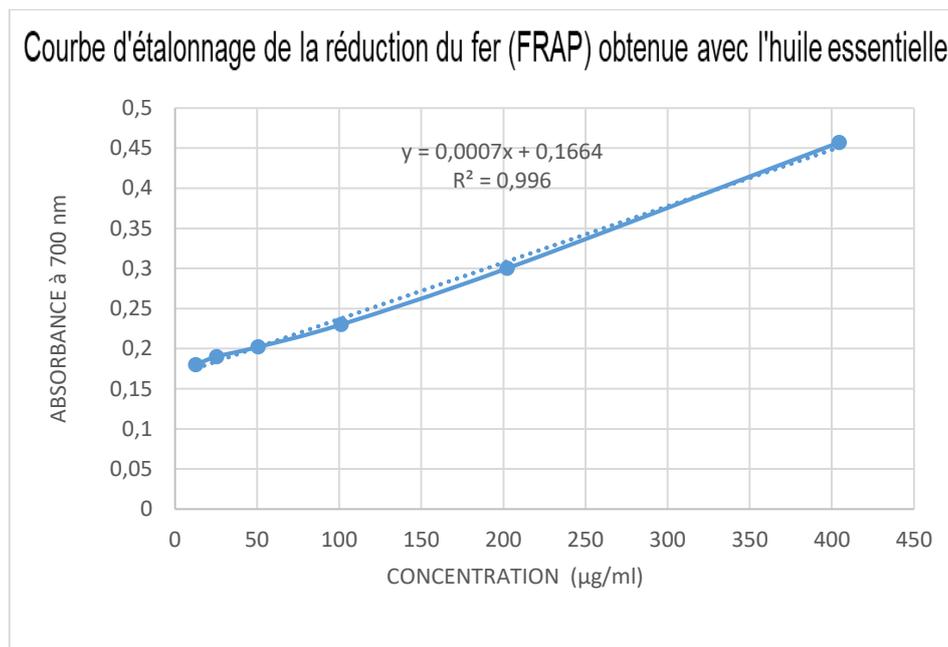


Figure 57 : Courbe d'étalonnage de la réduction du fer (FRAP) obtenue avec l'huile essentielle.

6.2. Résultat du test FRAP effectuée sur acide ascorbique :

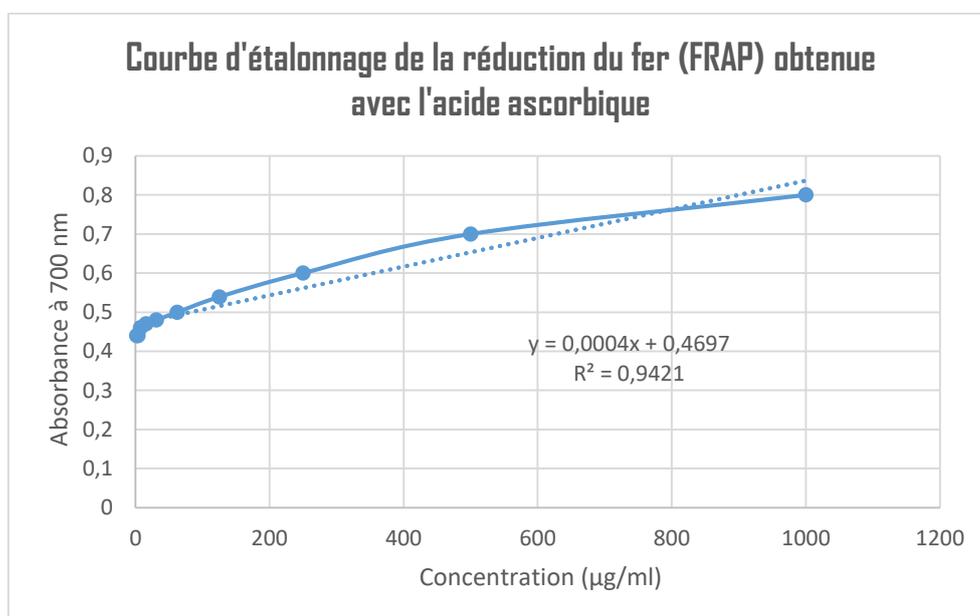


Figure 58 : Courbe d'étalonnage de la réduction du fer (FRAP) obtenue avec l'acide ascorbique

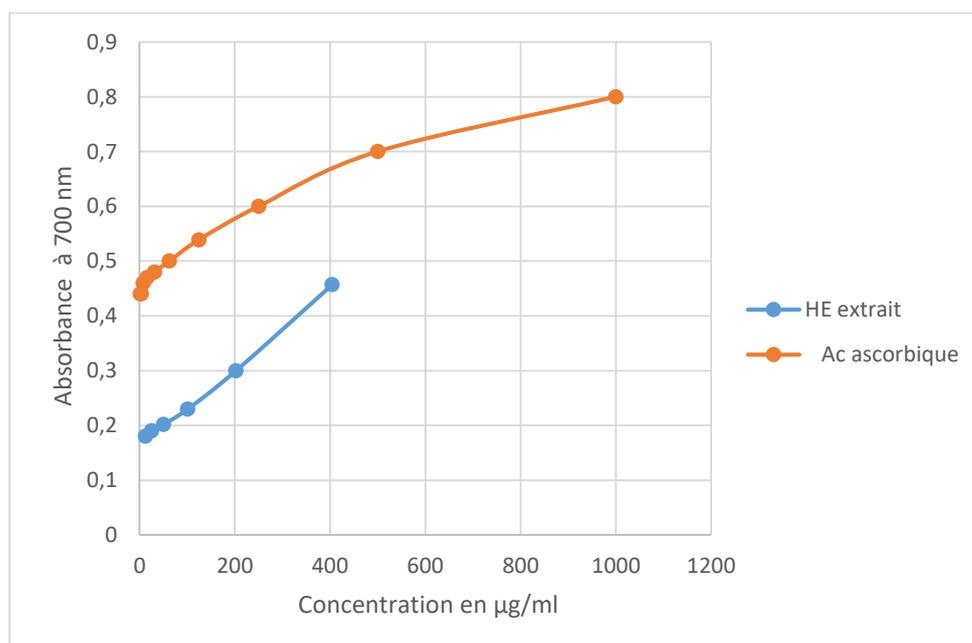


Figure 59 : Pouvoir réducteur des huiles essentielles de *Marrubium vulgare L* extraite et d'AC ascorbique en fonction des concentrations.

7. Résultat de l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'HE :

L'huile essentielle n'a démontré aucune activité antibactérienne ; aucune zone d'inhibition n'a été observée. Les résultats sont présentés dans la figure et le tableau ci-dessous.

Tableau VIII : Sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis l'HE du marrube blanc.

	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-

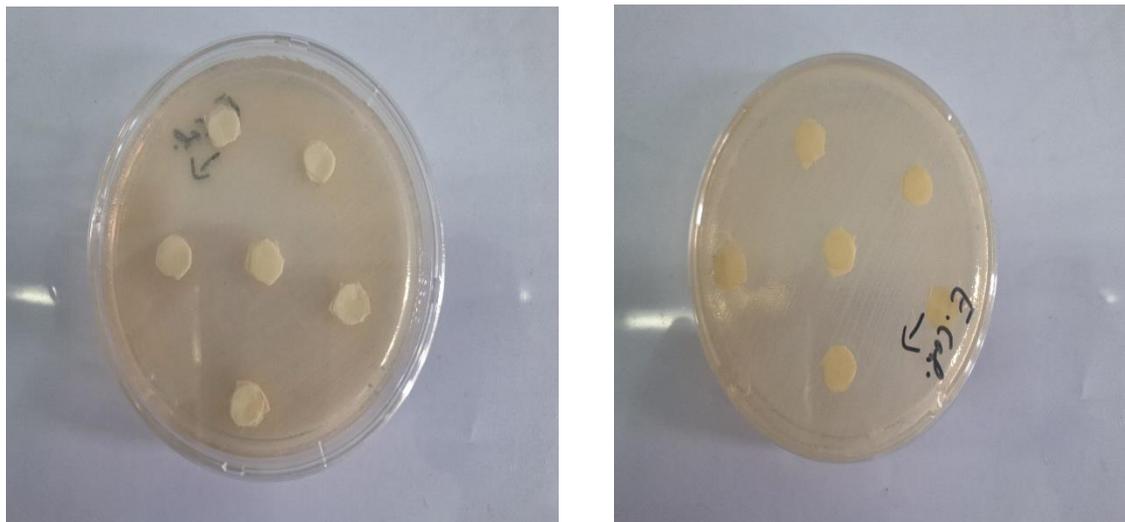


Figure 60 : Test de pouvoir antibactérien de l'HE de *Marrubium vulgare L* sur *Staphylococcus aureus* et *E. coli*.

DISCUSSION

1. Discussion des résultats de l'enquête ethnobotanique :

Les résultats de notre recherche ethnobotanique indiquent une forte prévalence du sexe féminin (83,6%), en cohérence avec les résultats de **Mehdiaoui et Kahouadji (2007)**. Ce phénomène peut s'expliquer par, le rôle prépondérant des femmes dans la transmission du savoir traditionnel en phytothérapie, ainsi que leur responsabilité en tant que mères(81).

Nos résultats montrent que la tranche d'âge de [20 ans-40 ans] (82%) est prédominante, ce qui contraste avec les travaux d'**El Hassani M, (2004)** ; **Jdaidi et Hasnaoui, 2016** ; **Ghourri et al. 2012**. Cette divergence peut s'expliquer par le fait que notre étude a été diffusée en ligne, touchant ainsi principalement un public jeune sur les réseaux sociaux(82).

Les résultats de notre enquête indiquent que 74,8% de la population étudiée connaissent cette espèce, ce qui est en accord avec l'étude menée par **Slimani (2016)**. La connaissance de cette plante peut s'expliquer par sa disponibilité généralisée, sa croissance dans toute l'Afrique du Nord, sa popularité en lien avec les traditions d'utilisation, son efficacité potentielle, son faible coût et sa facilité d'approvisionnement (93).

43,7% des personnes étudiées utilisent le marrube vulgaire. Ce résultat est cohérent avec les études de **Slimani, (2016)**. Nous pouvons expliquer cela par le fait que cette plante est largement utilisée pour soigner de nombreuses maladies. De plus, elle est facilement accessible, même en milieu urbain, avec un taux d'accessibilité de l'ordre de 84,3%, ce qui facilite leur récolte tout au long de l'année (93).

D'après notre analyse, toutes les parties aériennes de *Marrubium vulgare* L sont exploitées, principalement les feuilles, représentant environ 78,7% du total. Ces constatations sont en accord avec les conclusions de l'étude de Taheri et al. en 2012. Cette concordance s'explique par la facilité de la récolte des feuilles, leur durée de persistance plus longue par rapport aux fleurs, ainsi que par le fait que les feuilles sont le principal site de production et de stockage des métabolites secondaires responsables des propriétés thérapeutiques de la plante (83).

Après nos recherches, nous avons observé que le *Marrubium vulgare* L est le plus souvent préparé sous forme d'infusion (50,6 %). Cette observation est en cohérence avec ce qui a été rapporté dans les études sur les plantes médicinales en Algérie, notamment dans la péninsule de l'Edough de la wilaya d'Annaba (**Hamel et al., 2018**) et dans la wilaya de Tlemcen, à l'extrême ouest de l'Algérie (**Allali et al., 2008**). Ces conclusions s'expliquent par le fait que la feuille est la partie la plus utilisée en raison de sa teneur élevée en métabolites secondaires, et

la méthode de préparation dépend de la fragilité de la partie utilisée. Nous tenons également à souligner que l'intensité et la durée de la température influencent l'extraction des composés contenus dans les plantes (95,96).

Notre étude met en lumière le fait que le *Marrubium vulgare L* est principalement consommé sous forme de tisane (77,6 %), ce qui est cohérent avec les recherches de **Salhi et al. 2010**. Cette préférence s'explique par le fait que la tisane représente le mode d'utilisation le plus rapide, simple et efficace (97).

D'après nos résultats, le marrube blanc est principalement employé pour atténuer les troubles digestifs (50 %), ainsi que pour traiter les problèmes de peau (34,1%), les affections respiratoires (19,5%), la gestion du stress (13,4%), le diabète (8,5%) et les problèmes cardiovasculaires (1,2%). Ces résultats correspondent à des études menées au Maghreb (**Allali et al. 2008, Ben Hajjilani et al. 2007**), à l'étude **d'Amri et al. (2017)**, ainsi qu'à une enquête ethnobotanique réalisée dans la région de Haddada, dans la wilaya de Souk Ahras, au nord-est de l'Algérie. Cette concordance s'explique par l'abondance de métabolites secondaires de cette plante, lui conférant de nombreuses utilisations thérapeutiques (84–86).

La majorité des personnes interrogées n'ont pas subi d'effets indésirables après avoir utilisé le Marrube blanc (85,9%). Cependant, un faible pourcentage de personnes ont connu des hypoglycémies (5,9%), des allergies (4,7%), des problèmes gastriques et des déséquilibres hormonaux (2,4%). Les résultats de cette étude sont comparables à ceux rapportés par **Yahiaoui et son équipe en 2022**, et par **Bebal et Benaabed en 2022**.; Nous expliquons les effets secondaires et néfastes par une utilisation inappropriée de cette plante, que ce soit en pratiquant l'automédication avec des plantes médicinales cueillies sans respecter les doses recommandées par les herboristes ou en en faisant un usage prolongé (87).

2. Discussion des résultats de screening phytochimique de *Marrubium vulgare L* :

Les résultats obtenus des tests phytochimiques des différentes préparations aqueuses, méthanoliques et chloroformiques de la partie aérienne du *Marrubium vulgare L*, ont révélé la richesse de cette plante en polyphénols, tanins catéchiques, flavonoïdes, terpénoïdes, stéroïdes, anthocyanes, coumarines, saponosides et sucres réducteurs, par contre les glycosides cardiaques et les alcaloïdes sont marqués négatifs dans les différents extraits. Nos résultats sont en accord

avec ceux obtenus par **Djahra et al en 2010 Akther et al en 2013, Bouziane Wafa et Gharbi Meriem en 2016, Linda et Sara 2016, Azzi et al 2014** (101–105).

Le résultat de notre étude est en disconcordance avec l'étude de **DIF Ikram BOUTALEB et Maroua Rajaa en 2023**, qui ont observé une absence d'Anthocyanes, de Coumarine et de Composant réducteur dans leurs extraits (106). Cela peut s'expliquer par des variations dans de nombreux paramètres, qu'ils soient géographiques, physico-chimiques ou biologiques. Ces paramètres incluent la localisation de la récolte, y compris l'environnement de la plante, la lumière, les précipitations, la topographie, la saison, le type de sol, le moment de la récolte, le patrimoine génétique, la méthode d'extraction utilisée et la partie de la plante étudiée.

À partir de ces résultats, nous avons observé que notre plante contient diverses substances potentiellement actives sur le plan biologique, telles que des composés phénoliques et des composés terpéniques, qui pourraient être utilisées dans différents domaines, tels que la pharmacie, l'alimentation et la cosmétique.

3. Discussion des résultats de l'analyse de l'HE de *Marrubium vulgare L* :

L'analyse physique de notre huile essentielle de *Marrubium vulgare L* révèle un indice de réfraction de 1,333, ce qui est similaire à celui de **Rached 2022** qui était de 1,343(107).

Nous avons remarqué que la densité de notre HE est légèrement inférieure à celle reportée par **BENDRISS 2003**, soit de 0,942 (88).

La HE obtenue présente une teinte jaune clair et une odeur très prononcée, se solidifiant dès que la température descend en dessous de 4 °C. Il semble que ces caractères soient semblables à ceux décrits par l'étude **Imatra 2022**(89).

Dans la présente étude, le rendement en huile essentielle des parties aériennes de *Marrubium vulgare L* était de 0,1 %, notre résultat est en accord avec celui obtenu dans l'étude **Asadipour 2005 (Iran)** cependant, notre rendement est supérieur à ceux trouvés dans la littérature par **Zawislak, G. (Lublin, Pologne), El-Leithy, A.S. et al. (Égypte)** et **Khanavi et al. (Iran)** qui ont trouvé respectivement des rendements de 0,03 %, 0,06 % et 0,09 % (89,90).

Cette différence pourrait être expliquée par un certain nombre de facteurs, notamment la variation d'origine botanique, les facteurs de l'environnement et les pratiques culturelles, le degré

de maturité de la plante, la partie de la plante qui a été cultivée, la partie de la plante utilisée, les facteurs extrinsèques (température, humidité, sécheresse, etc.), la saisonnalité(89).

4. Discussion des résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante d'huile essentielle :

Les résultats obtenus à travers les deux courbes ont montré que l'activité antioxydante d'huile essentielle de *Marrubium vulgare L* est dose-dépendante, où le pouvoir réducteur augmente avec la concentration. La capacité de HE à réduire le fer est bien inférieure à celle de l'acide ascorbique. Selon nos résultats, la densité optique du témoin (acide ascorbique) augmente de manière proportionnelle à partir d'une concentration de 1,9531 µg/ml (DO = 0,44) jusqu'à (DO = 0,8) à 1000 µg/ml, tandis que la densité optique de l'huile essentielle augmente de manière proportionnelle à partir de 12,640625 µg/ml (DO = 0,18) jusqu'à (DO = 0,457) à 404,5 µg/ml, Le résultat obtenu est en contradiction avec l'étude de **Khaldi et ses collègues en 2013**, qui ont trouvé que la densité optique d'huile essentielle de *Marrubium vulgare L* augmente de manière proportionnelle à partir de 10 µg/ml (DO= 0,05) jusqu'à (DO= 0,45) à 70 µg/ml(91), ceci peut être dû à plusieurs facteurs tels que : la méthode d'extraction, la nature des composés phénoliques extraits, le lieu et la période de cueillette de la plante

La mise en évidence de l'activité antioxydante peut être due à la présence de certains composés chimiques qui interviennent dans différents mécanismes, tels que l'élimination des radicaux libres, la donation d'hydrogène, l'atténuation de l'oxygène singulet, la chélation des ions métalliques (92).

5. Discussion des résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles :

Les résultats de notre étude ont montré que l'huile essentielle de *Marrubium vulgare L* n'avait aucune activité antibactérienne contre les deux souches choisies, quelle que soit la concentration. Ces résultats divergent de l'étude de **Wahiba Elbali, et al. 2018** qui a montré que *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* étaient sensibles à l'huile essentielle de *Marrubium vulgare L*, avec des zones d'inhibition ≥ 20 mm et $>15-17$ mm, respectivement. Cette différence d'activité pourrait être attribuée aux chémotype spécifiques de chaque huile essentielle examinée, ainsi qu'à l'influence de la période de cueillette, des conditions géographiques et des facteurs environnementaux sur une huile essentielle de la même espèce. (92).

Nos résultats concordent partiellement avec l'étude de **Zarai et al, 2011** (Tunisie), qui a mis en évidence des zones d'inhibition d'*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* de 00 ± 00 mm et $12,0 \pm 0,5$ mm, respectivement ; Les huiles essentielles agissent différemment selon le type de micro-organisme. Les bactéries gram négatif sont moins sensibles que les bactéries gram positif en raison de la présence de LPS dans leur membrane externe, limitant la diffusion des molécules aromatiques et donc l'activité antibactérienne des huiles essentielles sur ces bactéries, expliquant ainsi la résistance d'*Escherichia coli*(93).

La variabilité des profils et des quantités des composants des HE résulte une sélectivité de ces HE envers certaines souches de bactérie, sachant que les huiles essentielles présentent souvent une action synergique.

En se référant à la littérature, nos résultats divergent de ceux d'autres auteurs mentionnés précédemment en raison des différentes origines des huiles essentielles et les différentes méthodes d'extractions, ce qui a un impact direct sur le chémotype spécifique de chaque HE, la composition chimique et l'activité biologique.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Dans le cadre de la valorisation de la flore algérienne nous avons effectué une étude l'ethnobotanique et phytochimique de *Marrubium vulgare L* qui appartient à la famille des Lamiacées récolté de la région de Ain Fezza située en Algérie Wilaya de Tlemcen.

D'une part nous avons effectué une étude ethnobotanique menée auprès de 128 enquêtés de la population algérienne qui nous a permis de connaître l'importante place de la phytothérapie dans la vie des enquêtés.

La caractérisation des principaux métabolites secondaires par un criblage phytochimique a montré la richesse de cette plante en substance biologiquement active notamment les : polyphénols, flavones, tanins catéchiques, stérols, tri- terpènes, coumarines et saponosides.

D'autre part, les résultats du test FRAP montrent que notre huile essentielle possède une activité antioxydante faible par rapport à l'antioxydant de référence (acide ascorbique).

En revanche, selon les résultats de l'étude microbiologique, notre huile essentielle n'a aucune activité antibactérienne sur les deux souches bactériennes examinées.

Il est important de noter que notre étude n'est qu'une étape préliminaire dans ce domaine de recherche ; nous espérons qu'elle pourrait contribuer à comprendre le mécanisme d'action des plantes afin de développer des nouveaux médicaments ou des compléments alimentaires.

Dans cette perspective ; Il est possible d'envisager et d'explorer diverses nouvelles pistes de recherche, telles que :

- L'analyse de la composition chimique des huiles essentielles par CPG/SM et RMN.
- L'évaluation de l'activité antioxydante par d'autres méthodes (ABTS ; ORAC ; bêta-carotène CUPRAC).
- L'évaluation de l'activité antimicrobienne sur d'autres souches bactériennes et des souches fongiques.
- L'élargissement du spectre d'activité biologique in vivo.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Karthala [Internet]. [cité 23 mai 2024]. Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Nouvelle édition. Disponible sur: <https://www.karthala.com/accueil/2200-plantes-medicinales-et-medecine-traditionnelle-dafrique-nouvelle-edition-9782811103309.html>
2. Mouheb S., Khali M., Rouibi A. et Saidi F., 2018. Antimicrobial and analgesic activity of aqueous extract of Algerian *Ajugaiva* (L.)Schreb (LAMIACEAE). *Revue Agrobiologia*. 8(1). - Recherche Google [Internet]. [cité 23 mai 2024]. Disponible sur: [https://www.google.com/search?q=Mouheb+S.%2C+Khali+M.%2C+Rouibi+A.+et+Saidi+F.%2C+2018.+Antimicrobial+and+analgesic+activity+of+aqueous+extract+of+Algerian+Ajugaiva+\(L.\)Schreb+\(LAMIACEAE\).+Revue+Agrobiologia.+8\(1\).&aq=chrome&oeq=Mouheb+S.%2C+Khali+M.%2C+Rouibi+A.+et+Saidi+F.%2C+2018.+Antimicrobial+and+analgesic+activity+of+aqueous+extract+of+Algerian+Ajugaiva+\(L.\)Schreb+\(LAMIACEAE\).+Revue+Agrobiologia.+8\(1\).&gs_lcrp=EgZjaHJvbWUyBggAEEUYOdIBCDI0MzJqMGo3qAIAAsAIA&sourceid=chrome&ie=UTF-8](https://www.google.com/search?q=Mouheb+S.%2C+Khali+M.%2C+Rouibi+A.+et+Saidi+F.%2C+2018.+Antimicrobial+and+analgesic+activity+of+aqueous+extract+of+Algerian+Ajugaiva+(L.)Schreb+(LAMIACEAE).+Revue+Agrobiologia.+8(1).&aq=chrome&oeq=Mouheb+S.%2C+Khali+M.%2C+Rouibi+A.+et+Saidi+F.%2C+2018.+Antimicrobial+and+analgesic+activity+of+aqueous+extract+of+Algerian+Ajugaiva+(L.)Schreb+(LAMIACEAE).+Revue+Agrobiologia.+8(1).&gs_lcrp=EgZjaHJvbWUyBggAEEUYOdIBCDI0MzJqMGo3qAIAAsAIA&sourceid=chrome&ie=UTF-8)
3. Chafia et Imen, « Effets antifongiques d'une plante médicinale *Marrubium vulgare* », s. d. - Recherche Google [Internet]. [cité 23 mai 2024]. Disponible sur: https://www.google.com/search?q=Chafia+et+Imen%2C+%C2%AB+Effets+antifongiques+d%E2%80%99une+plante+m%C3%A9dicinale+Marrubium+vulgare+%C2%BB%2C+s.+d.&oeq=chrome&oeq=Chafia+et+Imen%2C+%C2%AB+Effets+antifongiques+d%E2%80%99une+plante+m%C3%A9dicinale+Marrubium+vulgare+%C2%BB%2C+s.+d.&gs_lcrp=EgZjaHJvbWUyBggAEEUYOdIBBzg5MWowajeoAgiwAgE&sourceid=chrome&ie=UTF-8#vhid=zephyr:0&vssid=atritem-https://dspace.univ-guelma.dz/jspui/handle/123456789/1637
4. Ahmed HM. Ethnopharmacobotanical study on the medicinal plants used by herbalists in Sulaymaniyah Province, Kurdistan, Iraq. *J Ethnobiol Ethnomed*. 28 janv 2016;12:8.
5. Botanique systématique des plantes & fleurs [Multimédia multisupport]: une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales / Rodolphe-Edouard Spichiger, Vincent V. Savolainen, Murielle Figeat ... [et al.]; avec la collaboration de Mathieu Perret - Université de Lorraine [Internet]. [cité 5 mai 2024]. Disponible sur: https://ulyse.univ-lorraine.fr/discovery/fulldisplay/alma991004634129705596/33UDL_INST:UDL
6. Plantes médicinales de Kabylie - Mohand Ait yousef - Ibis Press - Grand format - Le Hall du Livre NANCY [Internet]. [cité 5 mai 2024]. Disponible sur: <https://halldulivre.com/livre/9782910728571-plantes-medicinales-de-kabylie-mohand-ait-youssef/>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

7. Hennebelle T. INVESTIGATION CHIMIQUE, CHIMIOTAXONOMIQUE ET PHARMACOLOGIQUE DE LAMIALES PRODUCTRICES D'ANTIOXYDANTS : Marrubium peregrinum, Ballota larendana, Ballota pseudodictamnus (Lamiacées) et Lippia alba (Verbénacées). 2006;
8. Farzaneh N, Mosaddegh M, Mohammadi Motamed S, Ghorbani A. Labiatae Family in Folk Medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology. Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 1 janv 2005;2.
9. Bendif Hamdi. Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques in vitro des extraits actifs de quelques Lamiaceae: Ajuga iva (L.) Schreb., Teucrium polium L., Thymus munbyanus subsp. coloratus (Boiss. & Reut.) Greuter & Burdet et Rosmarinus eriocalyx Jord & Fourr. 2017 [cité 24 nov 2023]; Disponible sur: <http://rgdoi.net/10.13140/RG.2.2.18904.49920>
10. Botanique | Livre | 9782294741173 [Internet]. [cité 5 mai 2024]. Disponible sur: <https://www.elsevier-masson.fr/botanique-9782294741173.html>
11. Quezel, P. et Santa, S. — Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I, 1962. Editions du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris - Persée [Internet]. [cité 5 mai 2024]. Disponible sur: https://www.persee.fr/doc/revec_0040-3865_1962_num_16_4_4313_t1_0459_0000_6
12. Judd Walter S. Botanique systématique: une perspective phylogénétique / Walter S. Judd,... Christopher S. Campbell,... Elizabeth A. Kellogg,... [et al.]; traduction et révision scientifique de la 1re édition américaine par Jules Bouharmont et Charles-Marie Evrard. Paris Bruxelles: De Boeck Université; 2002. xviii+467.
13. Savolainen VVA. Botanique systématique des plantes à fleurs : une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales. Presses polytechniques et universitaires romandes. Lausanne; 2004.
14. Dupont F, Guignard JL. Botanique: Les familles des plantes. Elsevier Masson; 2012. 354 p.
15. Menoura K, Mostefaoui M, Mouaz R. Enquête Ethnobotanique des Lamiaceae utilisées en médecine traditionnelle dans la wilaya de Tiaret [Internet] [Thesis]. Université Ibn Khaldoun; 2023 [cité 11 juin 2024]. Disponible sur: <http://dspace.univ-tiaret.dz:80/handle/123456789/13814>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

16. Rigano D, Arnold NA, Bruno M, Formisano C, Grassia A, Piacente S, et al. Phenolic compounds of *Marrubium globosum* ssp. *libanoticum* from Lebanon. *Biochemical Systematics and Ecology*. mars 2006;34(3):256-8.
17. D. Ali Boutelis, “Etude phytochimique et activité antimicrobienne , antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L.,” 2014.Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar – Annaba. - Recherche Google [Internet]. [cité 6 mai 2024]. Disponible sur: https://www.google.com/search?q=D.+Ali+Boutelis%2C+%E2%80%9CEtude+phytochimique+et+activit%C3%A9+antimicrobienne+%2C+antioxydante%2C+antih%C3%A9patotoxique+du+Marrube+blanc+ou+Marrubium+vulgare+L.%2C%E2%80%9D+2014.Th%C3%A8se+de+doctorat%2C+Universit%C3%A9+Badji+Mokhtar+%E2%80%93+Annaba.&oeq=D.+Ali+Boutelis%2C+%E2%80%9CEtude+phytochimique+et+activit%C3%A9+antimicrobienne+%2C+antioxydante%2C+antih%C3%A9patotoxique+du+Marrube+blanc+ou+Marrubium+vulgare+L.%2C%E2%80%9D+2014.Th%C3%A8se+de+doctorat%2C+Universit%C3%A9+Badji+Mokhtar+%E2%80%93+Annaba.&gs_lcrp=EgZjaHJvbWUyBggAEEUYOdIBBzc0M2owajeoAgCwAgA&sourceid=chrome&ie=UTF-8
18. Schlemper V, Ribas A, Nicolau M, Cechinel Filho V. Antispasmodic effects of hydroalcoholic extract of *Marrubium vulgare* on isolated tissues. *Phytomedicine*. sept 1996;3(2):211-6.
19. Bouterfas K, Mehdadi Z, Latrèche A, Cherifi K. Autoécologie du Marrube blanc (*Marrubium vulgare* L.) et caractérisation de la biodiversité végétale dans le Djebel de Tessala (Algérie nord-occidentale). *Ecologia Mediterranea*. 2013;39(2):39-57.
20. Molecules | Free Full-Text | *Marrubium vulgare* L.: A Phytochemical and Pharmacological Overview [Internet]. [cité 5 nov 2023]. Disponible sur: <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/12/2898>
21. Le guide de la flore de Tlemcen (Algérie) - Google Books [Internet]. [cité 5 nov 2023]. Disponible sur: [https://www.google.dz/books/edition/Le_guide_de_la_flore_de_Tlemcen_Alg%C3%A9rie/ZJE4EAAAQBAJ?hl=fr&gbpv=1&dq=%E2%80%A2%09Le+guide+de+la+flore+de+Tlemcen+\(Alg%C3%A9rie\)+Par+Isma%C3%AFI+El-Amine+Henaoui+%C2%B7+2015&printsec=frontcover](https://www.google.dz/books/edition/Le_guide_de_la_flore_de_Tlemcen_Alg%C3%A9rie/ZJE4EAAAQBAJ?hl=fr&gbpv=1&dq=%E2%80%A2%09Le+guide+de+la+flore+de+Tlemcen+(Alg%C3%A9rie)+Par+Isma%C3%AFI+El-Amine+Henaoui+%C2%B7+2015&printsec=frontcover)

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

22. Le marrube (*Marrubium vulgare*): dépuratif, indigestions, bronchites, palpitations [Internet]. [cité 11 juin 2024]. Disponible sur: <https://www.altheaprovence.com/marrube-marrubium-vulgare-depuratif-indigestions-bronchites-palpitations/>
23. Ahvazi M, Balali GR, Jamzad Z, Saeidi H. A Taxonomical, Morphological and Pharmacological Review of *Marrubium vulgare* L., An Old Medicinal Plant in Iran. فصلنامه علمی پژوهشی گیاهان دارویی. mars 2018;17(65):7-24.
24. Lodhi S, Vadnere G, Sharma V, Md. Usman. *Marrubium vulgare* L.: A review on phytochemical and pharmacological aspects. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*. 1 déc 2017;6:429.
25. FLOREALPES : *Marrubium vulgare* / Marrube / Lamiaceae / Fiche détaillée Fleurs des Hautes-Alpes [Internet]. [cité 11 juin 2024]. Disponible sur: https://www.florealpes.com/fiche_Marrube.php
26. Les vertus et bienfaits du Marrube blanc - *Marrubium vulgare* [Internet]. [cité 27 nov 2023]. Disponible sur: <https://www.herboristerieduvalmont.com/blog/les-vertus-et-bienfaits-du-marrube-blanc-marrubium-vulgare-n117>
27. Popoola OK, Elbagory AM, Ameer F, Hussein AA. Marrubiin. *Molecules*. 29 juill 2013;18(8):9049-60.
28. Mnonopi N, Levendal RA, Mzilikazi N, Frost CL. Marrubiin, a constituent of *Leonotis leonurus*, alleviates diabetic symptoms. *Phytomedicine*. 15 avr 2012;19(6):488-93.
29. Aćimović M, Jeremić K, Salaj N, Gavarić N, Kiproviski B, Sikora V, et al. *Marrubium vulgare* L.: A Phytochemical and Pharmacological Overview. *Molecules*. 24 juin 2020;25(12):2898.
30. Rezgui M, Majdoub N, Mabrouk B, Baldisserotto A, Bino A, Ben Kaab LB, et al. Antioxidant and antifungal activities of marrubiin, extracts and essential oil from *Marrubium vulgare* L. against pathogenic dermatophyte strains. *Journal de Mycologie Médicale*. 1 avr 2020;30(1):100927.
31. Essential Oil Composition and Glandular Trichomes of *Marrubium vulgare* L. Growing Wild in Algeria: *Journal of Essential Oil Research*: Vol 18, No 4 [Internet]. [cité 5 nov 2023]. Disponible sur: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10412905.2006.9699116>
32. Polycopie de cours: Métabolisme secondaire chez les végétaux, L3 Biotechnologie et génomique végétale [Internet]. [cité 7 déc 2023]. Disponible sur: https://staff.univ-batna2.dz/ghedadba_nabil/classes/polycopie-de-cours-m%C3%A9tabolisme-secondaire-chez-les-v%C3%A9g%C3%A9taux-l3-biotechnologie-et-g%C3%A9nomique-v%C3%A9g%C3%A9tale

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

33. Hennebelle T. INVESTIGATION CHIMIQUE, CHIMIOTAXONOMIQUE ET PHARMACOLOGIQUE DE LAMIALES PRODUCTRICES D'ANTIOXYDANTS : Marrubium peregrinum, Ballota larendana, Ballota pseudodictamnus (Lamiacées) et Lippia alba (Verbénacées). 2006;
34. Laguna O. Valorisation des composés phénoliques des tourteaux de colza et tournesol : du fractionnement des matières premières vers la synthèse de molécules multifonctionnelles. In 2019 [cité 16 mai 2024]. Disponible sur: <https://www.semanticscholar.org/paper/Valorisation-des-compos%C3%A9s-ph%C3%A9noliques-des-tourteaux-Laguna/f14564d8167633963726dcb23e5c9ab952bc2144>
35. Jean CS CROUZET. Polyphénols et procédés. Lavoisier; 2011. 353 p.
36. ACIDE HYDROXYBENZOIQUE W398608 - 1KG - Laboratoires Humeau [Internet]. [cité 11 juin 2024]. Disponible sur: <https://www.humeau.com/acide-hydroxybenzoique-w398608-1kg-24339860860.html>
37. Ajila CM, Brar SK, Verma M, Tyagi RD, Godbout S, Valéro JR. Extraction and analysis of polyphenols: recent trends. Crit Rev Biotechnol. sept 2011;31(3):227-49.
38. (PDF) Phenolic compounds and their health benefits: A review [Internet]. [cité 6 déc 2023]. Disponible sur: https://www.researchgate.net/publication/350966390_Phenolic_compounds_and_their_health_benefits_A_review?enrichId=rgreq-50fefc3d8724d76bfdfb464ac2268e19-XXX&enrichSource=Y292ZXJQYWdlOzM1MDk2NjM5MDtBUzoXMDE0MjQ0MjI1MDczMTU2QDE2MTg4MjYwNzU4NTI%3D&el=1_x_2&_esc=publicationCoverPdf
39. 4-Hydroxycinnamic acid CAS 7400-08-0 | 800237 [Internet]. [cité 11 juin 2024]. Disponible sur: https://www.merckmillipore.com/INTL/en/product/4-Hydroxycinnamic-acid,MDA_CHEM-800237?ReferrerURL=https%3A%2F%2Fwww.google.com%2F
40. Dugrand-Judek A. Contribution à l'étude phytochimique et moléculaire de la synthèse des coumarines et furocoumarines chez diverses variétés d'agrumes du genre Citrus [Internet] [phdthesis]. Université de Lorraine; 2015 [cité 6 déc 2023]. Disponible sur: <https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01754500>
41. Chemical structure of coumarin | Download Scientific Diagram [Internet]. [cité 11 juin 2024]. Disponible sur: https://www.researchgate.net/figure/Chemical-structure-of-coumarin_fig1_321773200

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

42. The major subclasses of flavonoids. Classification is based on... | Download Scientific Diagram [Internet]. [cité 6 mai 2024]. Disponible sur: https://www.researchgate.net/figure/The-major-subclasses-of-flavonoids-Classification-is-based-on-variations-in-the_fig1_40131098
43. Acide gallique | Fisher Scientific [Internet]. [cité 12 juin 2024]. Disponible sur: <https://www.fishersci.fr/fr/fr/browse/80013719/acide-gallique?page=1>
44. ResearchGate [Internet]. [cité 12 juin 2024]. Figure 2-28 Structure chimique des tanins (a) hydrolysables (b)... Disponible sur: https://www.researchgate.net/figure/28-Structure-chimique-des-tanins-a-hydrolysables-b-condenses-97-Les-principales_fig20_336603986
45. Structure des tannins condensés. Pour les tannins à proanthocyanidine,... | Download Scientific Diagram [Internet]. [cité 12 juin 2024]. Disponible sur: https://www.researchgate.net/figure/Structure-des-tannins-condenses-Pour-les-tannins-a-proanthocyanidine-le-radical-R-est_fig1_341819671
46. ResearchGate [Internet]. [cité 12 juin 2024]. Figure 1. The basic structure of lignans. Disponible sur: https://www.researchgate.net/figure/The-basic-structure-of-lignans_fig1_242249128
47. The chemical structures of the cis-and trans-isomers of Resveratrol... | Download Scientific Diagram [Internet]. [cité 16 mai 2024]. Disponible sur: https://www.researchgate.net/figure/The-chemical-structures-of-the-cis-and-trans-isomers-of-Resveratrol-rendered-in-BIOVIA_fig1_327708731
48. Bergman ME, Davis B, Phillips MA. Medically Useful Plant Terpenoids: Biosynthesis, Occurrence, and Mechanism of Action. *Molecules*. 1 nov 2019;24(21):3961.
49. Krief S. Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées [Internet] [phdthesis]. Museum national d'histoire naturelle - MNHN PARIS; 2003 [cité 18 déc 2023]. Disponible sur: <https://theses.hal.science/tel-00006170>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

50. structure de isoprene - Recherche Google [Internet]. [cité 14 mai 2024]. Disponible sur: https://www.google.com/search?q=structure+de+isoprene&sca_esv=288495b509fb3774&udm=2&biw=1600&bih=783&ei=v7RDZv-_OeHxc8Pwbyh0AM&ved=0ahUKEwi_m5fm6Y2GAxVhbvEDHUFcDoQ4dUDCBA&act=5&oq=structure+de+isoprene&gs_lp=Egxnd3Mtd2l6LXNlcnAiFXN0cnVjdHVyZSBkZSBpc29wcmVuZUjvVFDhBliPTXACeACQAQCYAcEOoAGXPqoBETAuMS4xLjEuMS42LjAuMS4xuAEDyAEA-AEBmAlFoALxIMICBRAAGIAEwgIGEAAYCBgewgIHEAAYgAQYgJgDAIgGAZIHCzEuMy0xLjEuNy0yoAeJIw&scient=gws-wiz-serp#vhid=bOCI8sP4U5x1dM&vssid=mosaic
51. Ajila CM, Brar SK, Verma M, Tyagi RD, Godbout S, Valéro JR. Extraction and Analysis of Polyphenols: Recent trends. *Critical Reviews in Biotechnology*. sept 2011;31(3):227-49.
52. montage extraction supercritiqu - Recherche Google [Internet]. [cité 14 mai 2024]. Disponible sur: https://www.google.com/imgres?q=montage%20extraction%20supercritiqu&imgurl=https%3A%2F%2Fwww.researchgate.net%2Fpublication%2F343615181%2Ffigure%2Ffig8%2FAS%3A923805761425410%401597263865609%2FMontage-dextraction-par-les-fluides-supercritiques.png&imgrefurl=https%3A%2F%2Fwww.researchgate.net%2Ffigure%2FMontage-dextraction-par-les-fluides-supercritiques_fig8_343615181&docid=7EBplXki3zwyM&tbnid=_DWeAz5VMVpsOM&vet=1&w=850&h=566&hcb=2&ved=2ahUKEwiXrfvi642GAxWdZ_EDHYHsDpQQM3oECBkQAA
53. Bodoira R, Maestri D. Phenolic Compounds from Nuts: Extraction, Chemical Profiles, and Bioactivity. *J Agric Food Chem*. 29 janv 2020;68(4):927-42.
54. montage d"extraction assistée par micro-onde L"avantage essentiel de ce... | Download Scientific Diagram [Internet]. [cité 14 mai 2024]. Disponible sur: https://www.researchgate.net/figure/montage-dextraction-assistee-par-micro-onde-Lavantage-essentiel-de-ce-procede-est-de_fig6_325202773
55. Extraction par ultrasons - Polyvalente et utilisable pour tout matériau botanique [Internet]. [cité 14 mai 2024]. Disponible sur: <https://www.hielscher.com/fr/ultrasonic-extraction-versatile-and-usable-for-any-botanical-material.htm>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

56. (PDF) Effects of Polyphenol-Rich Foods on Human Health [Internet]. [cité 20 mai 2024]. Disponible sur: https://www.researchgate.net/publication/327026428_Effects_of_Polyphenol-Rich_Foods_on_Human_Health
57. Tsao R. Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients*. 10 déc 2010;2(12):1231-46.
58. Ullah A, Munir S, Badshah SL, Khan N, Ghani L, Poulson BG, et al. Important Flavonoids and Their Role as a Therapeutic Agent. *Molecules*. 11 nov 2020;25(22):5243.
59. Dzah CS, Duan Y, Zhang H, Wen C, Zhang J, Chen G, et al. The effects of ultrasound assisted extraction on yield, antioxidant, anticancer and antimicrobial activity of polyphenol extracts: A review. *Food Bioscience*. 1 juin 2020;35:100547.
60. Bengmark S. Acute and “chronic” phase reaction—a mother of disease. *Clinical Nutrition*. 1 déc 2004;23(6):1256-66.
61. González-Gallego J, García-Mediavilla MV, Sánchez-Campos S, Tuñón MJ. Fruit polyphenols, immunity and inflammation. *Br J Nutr*. oct 2010;104 Suppl 3:S15-27.
62. Masyita A, Mustika Sari R, Dwi Astuti A, Yasir B, Rahma Rumata N, Emran TB, et al. Terpenes and terpenoids as main bioactive compounds of essential oils, their roles in human health and potential application as natural food preservatives. *Food Chem X*. 19 janv 2022;13:100217.
63. Socasau C. Les huiles essentielles référencées à l’Agence Européenne du Médicament.
64. Autard M. Place et intérêt de l’aromathérapie en cancérologie.
65. Lardry JM, Haberkorn V. L’aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinésithérapie, la Revue*. janv 2007;7(61):14-7.
66. Guerriaud M. Réglementation des huiles essentielles, un besoin de sécurité. *Actualités Pharmaceutiques*. nov 2018;57(580):21-5.
67. République Algérienne Démocratique et Populaire | Union africaine [Internet]. [cité 12 juin 2024]. Disponible sur: <https://au.int/fr/countryprofiles/republique-algerienne-democratique-et-populaire>
68. THESE huiles ess.pdf.
69. Aicha T. Etude chimique et microbiologique des composants des huiles essentielles de différents genres *Thymus* récoltées dans les régions de l’Est Algérien pendant les deux périodes de développement.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

70. DIPLOME DE DOCTORAT etude phytochimique de marrubium.pdf.
71. Nadjib BM, Amine F. MÉTHODES D'EXTRACTION ET DE DISTILLATION DES HUILES ESSENTIELLES : REVUE DE LITTÉRATURE. 2019;
72. Pranarôm FR [Internet]. [cité 26 mai 2024]. La distillation des huiles essentielles. Disponible sur: <https://pranarom.fr/pages/distillation-des-huiles-essentielles>
73. L'Hydrodistillation | Maroc végétal [Internet]. [cité 26 mai 2024]. Disponible sur: <https://marocvegetal.wordpress.com/les-methodes-d'extraction/lhydrodistillation/>
74. INSA Rouen, 2015. Mise au point d'une technique de séparation et de quantification des composés présents dans une huile essentielle. - Recherche Google [Internet]. [cité 26 mai 2024]. Disponible sur: https://www.google.com/search?sca_esv=802af0fa366b15fd&q=INSA+Rouen,+2015.+Mise+au+point+d%E2%80%99une+technique+de+s%C3%A9paration+et+de+quantification+des+compos%C3%A9s+pr%C3%A9sents+dans+une+huile+essentielle.&source=lnms&uds=ADvn gMg7tC1-z0sYrjcqj-BDvVADIRGgLU06-I22UmUPTrtJKWtD6qlzoiUSEhEW4BfGQTOWxejDrEws3JLPtP8n8mRth96ozmyvAfsExOAV3kGDGnXMGHdJ9vn5MhNgomz43-ZZMgPIXYHljExg6hWFOfOLj9qHLO1hoIgya9rYm6ynmvecc1Ws0RkAdZDej-fLcX-0FCT9JIGIW9KZx0fcj5RPRGUuLqgcvlvvn-1xxA9tiSYQcNbwQvAWf4ZhbOgipWUfvvdLxYSY1vqKga-UkgCeAjl5sngEJBfLZ8JoYPx9n1Nhn5Bz9x-j7VloSu9tEaJ3c2fMt26Cyc_4xv_kYBSe2Z1qbNdLaj3_RPAjXWcOkjAAdN0XCSaVB35HDfTG10L51KuQAk7W-mrlFEF3unoIiY83z9T9i0Uyz1YG8d7IFwlQOFDZojDti09e--W4NIgA7aJxqNsTcqRdjthovksL3NsZf4UNpJonURJskfZ4fAyWmk&sa=X&ved=2ahUKEw iqz73SkquGAxVrVPEDHSd6AEoQ0pQJegQIDBAB&biw=1600&bih=783&dpr=1
75. Santé au naturel | Pharmacie de la Mairie Bron (69) [Internet]. [cité 26 mai 2024]. Disponible sur: <https://www.pharmacie-mairie-bron.com/sante-au-naturel>
76. Taleb-Toudert Karima PDF | PDF | Huile essentielle | Plantes [Internet]. [cité 2 mai 2024]. Disponible sur: <https://fr.scribd.com/document/371794566/Taleb-Toudert-Karima-pdf>
77. Boudjit D, El-hadi D, Announ M. ÉTUDE DE L'INFLUENCE DE LA TAILLE DES PARTICULES DE LA POUDRE DES ECORCES DES FRUITS DE MANDARINE : CITRUS RETICULATA BLANCO L. SUR LE RENDEMENT ET LA QUALITE DE L'HUILE ESSENTIELLE. LRBPV. 9 mai 2022;12(1):2862-9.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

78. Ghanmi M, Satrani B, Aafi A, Isamili MR, Houti H, El Monfalouti H, et al. Effet de la date de récolte sur le rendement, la composition chimique et la bioactivité des huiles essentielles de l'armoise blanche (*Artemisia herba-alba*) de la région de Guerçif (Maroc oriental). *Phytothérapie*. 1 oct 2010;8(5):295-301.
79. Kadri A, Zied Z, Bekir A, Gharsallah N, Mohamed D, Gdoura R. Chemical composition and antioxidant activity of *Marrubium vulgare* L. essential oil from Tunisia. *AFRICAN JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY*. 9 mai 2011;10:3908-14.
80. Didi MA. aaaaaaa. Scientific Study and Research [Internet]. 2020 [cité 17 avr 2024]; Disponible sur: <https://hal.science/hal-02513965>
81. Mehdioui R, Kahouadji A. Etude ethnobotanique auprès de la population riveraine de la forêt d'Amsittène : cas de la Commune d'Imi n'Tlit (Province d'Essaouira).
82. (PDF) Etude floristique et ethnobotanique des plantes médicinales au nord-ouest de la Tunisie: cas de communauté d'Ouled Sedra [Internet]. [cité 17 mai 2024]. Disponible sur: https://www.researchgate.net/publication/319270512_Etude_floristique_et_ethnobotanique_d_es_plantes_medicinales_au_nord-ouest_de_la_Tunisie_cas_de_communite_d'Ouled_Sedra
83. Tahri N, Basti AE, Zidane L, Rochdi A, Douira A. Etude Ethnobotanique Des Plantes Médicinales Dans La Province De Settat (Maroc). 2012;
84. (PDF) Pratique traditionnelle d'utilisation des plantes médicinales dans la population de la péninsule de l'Edough (nord-est algérien) [Internet]. [cité 17 mai 2024]. Disponible sur: https://www.researchgate.net/publication/321474449_Pratique_traditionnelle_d'utilisation_de_s_plantes_medicinales_dans_la_population_de_la_peninsule_de_l'Edough_nord-est_algerien
85. (PDF) Utilisations thérapeutiques traditionnelles du *Marrubium vulgare* L. par les populations locales de la région de Haddada (Souk Ahras, Algérie) Traditional therapeutic uses of *Marrubium vulgare* L. by local populations in the Haddada region (Souk Ahras, Algeria) Correspondence [Internet]. [cité 23 avr 2024]. Disponible sur: https://www.researchgate.net/publication/341283871_Utilisations_therapeutiques_traditionnelles_du_Marrubium_vulgare_L_par_les_populations_locales_de_la_region_de_Haddada_Souk_Ahras_Algerie_Traditional_therapeutic_uses_of_Marrubium_vulgare_L_by_local_p
86. *Marrubium vulgare* L. Leave Extract: Phytochemical Composition, Antioxidant and Wound Healing Properties - PubMed [Internet]. [cité 17 mai 2024]. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29143793/>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

87. Boutabia L, Telailia S, Menea M. Traditional therapeutic uses of *Marrubium vulgare* L. by local populations in the Haddada region (Souk Ahras, Algeria). *Ethnobotany Research and Applications*. 9 mai 2020;19:1-11.
88. Houari BENDRISS valorisation - Recherche Google [Internet]. [cité 17 mai 2024]. Disponible sur: https://www.google.com/search?q=Houari+BENDRISS+valorisation+&sca_esv=6965cced8725ff61&ei=lqJHZsfZMLivkdUPsaKj4Aw&ved=0ahUKEwjH_KWFqZWGAxW4V6QEHTHRCMwQ4dUDCBA&uact=5&oq=Houari+BENDRISS+valorisation+&gs_lp=Egxnd3Mtd2l6LXNlcnAiHUhdWFyaSBCRU5EUklTUyB2YWxvcmlzYXRpb24gMgUQIRigATIFECEYoAEyBRAhGKABSOB8UKA7WPdpcAF4AJABAjgBzAmgAZJNqgEJNC00LjQuNC4yuAEDyAEA-AEBmAlOoALCTcICBxAhGKABGAqYAwCIBgGSBwk0LTYuMy40LjGgB_gg&scient=gws-wiz-serp
89. Imtara H. Characterization, Chemical Compounds and Biological Activities of *Marrubium vulgare* L. Essential Oil. *Processes*. 18 oct 2022;10.
90. Rached S, Imtara H, Habsaoui A, Mzioud K, Haida S, Saleh A, et al. Characterization, Chemical Compounds and Biological Activities of *Marrubium vulgare* L. Essential Oil. *Processes*. 18 oct 2022;10(10):2110.
91. Khaldi G, Samir M, Bouguerra V. Antioxidant activities and Chemical composition of *Marrubium vulgare* L. essential oil from Tunisia. *Frontiers of Agriculture and Food Technology*. 2 déc 2013;1(12):1-7.
92. Elbali W, Djouahri A, Djerrad Z, Saka B, Aberrane S, Sabaou N, et al. Chemical variability and biological activities of *Marrubium vulgare* L. essential oil, depending on geographic variation and environmental factors. *Journal of Essential Oil Research*. 2 nov 2018;30(6):470-87.
93. The in-vitro evaluation of antibacterial, antifungal and cytotoxic properties of *Marrubium vulgare* L. essential oil grown in Tunisia - PMC [Internet]. [cité 17 mai 2024]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3196909/>

ANNEXES

Enquête **ethnobotanique sur la** **plante Marrubium** **vulgare L.**

Dans le cadre de la réalisation d'un projet de fin d'étude porté sur une étude phytochimique de la plante **Marrubium vulgare L** (marrube blanc), nous les internes en pharmacie de département de Tlemcen, avons lancé ce questionnaire afin d'avoir des informations pouvant nous aider dans notre travail.

Merci de votre participation !

في اطار اعداد مذكرة التخرج للحصول على شهادة دكتوراه .
في الصيدلة؛ قمنا بهذا الاستبيان حول استعمال نبات المريوة
من طرف سكان الجزائر
نرجو من سيادتكم التكرم بالاجابة عليه؛ وشكرا على
مساهمتمكم

ANNEXE I : Questionnaire de l'enquête ethnobotanique (suite)

Marrubium vulgare L (marrube blanc) مريوة



Sexe : (الجنس) *

Homme (ذكر)

Femme (أنثى)

Age: (العمر)

Moins de 20 ans

Entre 20 et 40 ans

Entre 40 et 60 ans

plus de 60 ans



ANNEXE I : Questionnaire de l'enquête ethnobotanique (suite)

Vous vivez dans une zone: (مكان السكن)

- Urbaine (الحضر)
- Rurale (الريف)

Votre niveau intellectuel: (مستواك الدراسي)

- Non scolarisé (غير متعلم)
- Primaire (ابتدائي)
- Moyen (متوسط)
- Secondaire (ثانوي)
- Universitaire (جامعي)

Profession: (المهنة)

- Profession libérale (مهنة حرة)
- Fonctionnaire (موظف عمومي)
- Artisan (حرفي)
- Sans emploi (لا أعمل)

ANNEXE I : Questionnaire de l'enquête ethnobotanique (suite)

Connaissez-vous le Marrube blanc: هل تعرف

نبات المريوة

Oui (نعم)

Non (لا)

Avez vous déjà utilisé le Marrube blanc: هل

استعملت نبات المريوة من قبل

Oui (نعم)

Non (لا)

Mode d'obtention: (من أين تحصلت عليها)

Herboriste (العشاب)

En cueillette (قطفها)

Votre jardin (من حديقتكم)

Pharmacie (الصيدلية)

ANNEXE I : Questionnaire de l'enquête ethnobotanique (suite)

Mode de préparation: (طريقة التحضير)

- Décoction (الغلي)
- Fumigation (التبخير)
- Macération (النقع في الماء البارد)
- Infusion (النقع في الماء الساخن)

.pour quelle indication thérapeutique avez vous utilisé cette plante: (لأي غرض علاجي)
(استعملت نبات المريوة)

- Affections respiratoires (أمراض الجهاز التنفسي)
- Troubles digestifs (اضطرابات الجهاز الهضمي)
- Affections dermatologiques (مرض جلدي)
- Affections cardio-vasculaires (أمراض القلب)
- le diabète (حالة مرض السكري)
- Pour combattre le stress (لعلاج التوتر)

ANNEXE I : Questionnaire de l'enquête ethnobotanique (suite)

Forme d'emploi : (تستخدم المريوة على شكل)

- Tisane (شاي الأعشاب)
- Poudre (مسحوق)
- Huile essentielle (زيت أساسي)

Partie utilisée: (الجزء المستخدم)

- Feuille (الأوراق)
- Tige (الساق)
- Fleur (الزهرة)
- Plante entière (نبته كاملة)

Quelle est la modalité d'utilisation de Marrube Blanc que vous avez utilisé (كيف تستخدم نبات المريوة)

- Per os (عن طريق الفم)
- Local (استعمال موضعي)

Quelle est la modalité d'utilisation de Marrube Blanc que vous avez utilisé (كيف تستخدم نبات المريوة)

- Per os (عن طريق الفم)
- Local (استعمال موضعي)

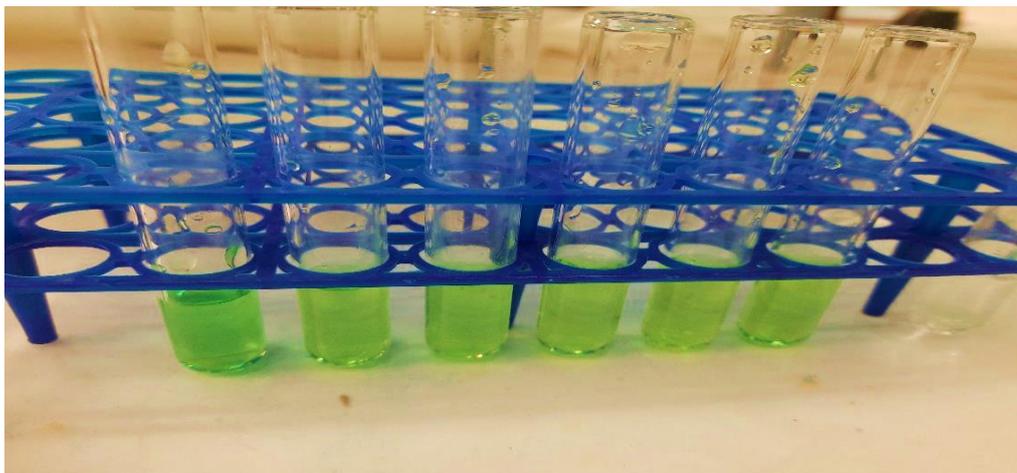
Est ce que vous avez déjà présenté des effets indésirables (الأثار الجانبية)

- Non (لا)
- Allergie (حساسية الجلد)
- Troubles gastriques (مشاكل في الجهاز الهضمي)
- Hypoglycémie (إنخفاض نسبة السكر في الدم)
- Trouble d'hormone (خلل في الهرمونات)
- Autre : _____

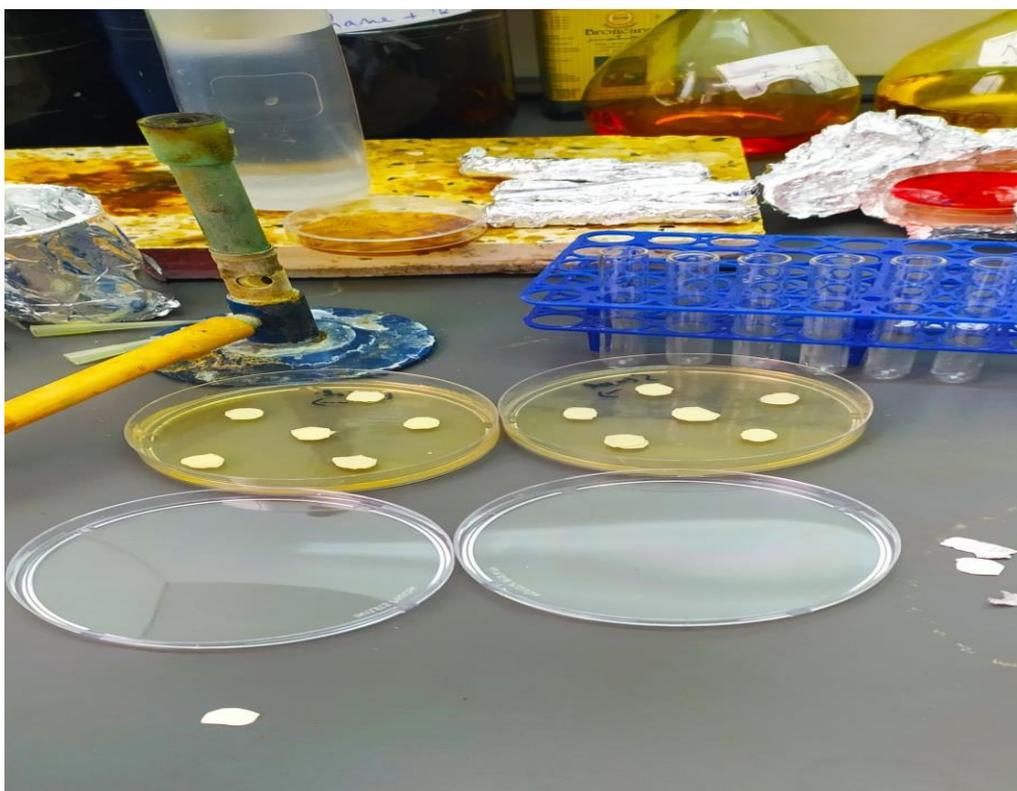
Envoyer

Effacer le formulaire

ANNEXE IV : Test FRAP (HE extraite de *Marrubium vulgare L*)



ANNEXE V : Test antibactérien.



ANNEXE VI : Préparation des réactifs

- Réactif de Stiasny

Solution de formol chlorhydrique :

1. Dissoudre 40 g de formaldéhyde dans 100 ml d'eau distillée.
2. Ajouter un double volume de HCl concentré (200 ml) à la solution de formaldéhyde.

- Réactif de Dragendorff

Solution A :

1. Dissoudre 1,7 g de nitrate de bismuth dans 20 ml d'acide tartrique concentré.
2. Rajouter de l'eau distillée jusqu'à obtenir un volume final de 100 ml.

Solution B :

1. Dissoudre 10 g d'iodure de potassium dans un volume d'eau distillée pour atteindre 100 ml.
2. Ajouter 10 g d'acide tartrique dans la solution de l'iodure de potassium.
3. Compléter avec de l'eau distillée jusqu'à obtenir un volume final de 100 ml.

Résumé

L'Algérie possède une flore extrêmement riche et variée représentée par des plantes aromatiques et médicinales dont la plupart existent à l'état spontané. Le marrube blanc ou *Marrubium vulgare L* est une plante utilisée dans la médecine traditionnelle, pour le traitement de diverses maladies. Cette étude vise à fournir de nouvelles informations sur cette espèce afin de la protéger et de la valoriser, dont l'objectif principal est d'établir un profil phytochimique de *Marrubium vulgare L* de la région de Tlemcen. Ce travail a débuté par une enquête ethnobotanique afin d'évaluer les connaissances sur l'utilisation de marrube blanc par la population algérienne, suivi par une étude phytochimique des parties aériennes de *Marrubium vulgare L*. Les résultats des tests phytochimiques confirment la richesse de cette plante en : polyphénols, tanins catéchiques flavonoïdes, terpénoïdes, stéroïdes, anthocyanes, coumarines, saponosides.

L'extraction par hydrodistillation de l'huile essentielle des parties aériennes de *Marrubium vulgare L* a donné un rendement acceptable il est de l'ordre de 0,1%.

L'activité antioxydante a été mesurée à l'aide du test de réduction de fer, les résultats démontrent que l'huile essentielle présente une activité antioxydante faible par rapport à l'antioxydant de référence (acide ascorbique). L'évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode d'aromatogramme a révélé une résistance chez les deux souches testées : *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*.

Mots clé : *Marrubium vulgare L.*, Huiles essentielles, activité antioxydante, activité antibactérienne

ABSTRACT

Algeria has an extremely rich and varied flora of aromatic and medicinal plants, most of which grow wild. White Horehound or *Marrubium vulgare L* is a plant used in traditional medicine to treat various illnesses. This study aims to provide new information on this species, with a view to protecting and developing it. The main objective is to establish a phytochemical profile of *Marrubium vulgare L* from the Tlemcen region. This work began with an ethnobotanical survey to assess knowledge of the use of white Horehound by the Algerian population, followed by a phytochemical study of the aerial parts of *Marrubium vulgare*. The results of the phytochemical tests confirmed that this plant is rich in: polyphenols, flavonoids, terpenoids, steroids, anthocyanins, coumarins and saponosides. Extraction of the essential oil from the aerial parts of *Marrubium vulgare L* by hydrodistillation gave an acceptable yield of around 0.1%.

Antioxidant activity was measured using the iron reduction test, and the results showed that the essential oil had low antioxidant activity compared with the reference antioxidant (ascorbic acid). Evaluation of antibacterial activity using the aromatogram method revealed resistance in the two strains tested: *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*.

Key words: *Marrubium vulgare L.*, Essential oils, antioxidant activity, antibacterial activity

ملخص

تمتلك الجزائر نباتات غنية ومتنوعة للغاية من النباتات العطرية والطبية ونبات عشبة المريوت هو نبات يستخدم في الطب التقليدي لعلاج الأمراض المختلفة

تهدف هذه الدراسة إلى تقديم معلومات جديدة عن هذا النوع من أجل حمايته وتطويره الهدف الرئيسي هو إنشاء ملف تعريف كيميائي نبات المريوت من منطقة تلمسان. بدأ هذا العمل بمسح عرقي نباتي لتقييم معرفة السكان الجزائريين لهذا النبات تلتها دراسة كيميائية نباتية للأجزاء الهوائية من نبات المريوت. أكدت نتائج الاختبارات الكيميائية النباتية أن هذا النبات غني بما يلي: البوليفينول، والفلافونويد، والترابينويد، والستيرويدات، والأنثوسيانين، والكومارين، والسابونوسيدات. وأعطى استخلاص الزيت العطري من لنبات عشبة المريوت المائي محصولا مقبولا يبلغ حوالي 0,1% للأجزاء الهوائية عن طريق التقطير المائي

الأسكوربيك). تم قياس النشاط المضاد للأكسدة باستخدام مقارنة بمضادات الأكسدة المرجعية وظهرت النتائج ان زيت العطري كان له نشاط مضاد للأكسدة منخفض. كشف تقييم النشاط المضاد للبكتيريا باستخدام طريقة الأروماتوغرام عن مقاومة في السلالتين اللتين تم اختبارهما: الإشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية

الكلمات المفتاحية:

الزيوت العطرية، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للبكتيريا، عشبة المريوت