



**République Algérienne Démocratique et Populaire**

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la

Recherche Scientifique Université Larbi Tébessi -Tébessa-

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Appliquée

**MEMOIRE DE MASTER**

**Domaine:** Sciences de la Nature et de la Vie

**Filière:** Sciences Biologiques

**Option:** Biochimie Appliquée



## *Thème*

*Investigation de certaines activités biologiques de l'extrait  
éthanolique de Marrubium vulgare L.*

**Présenté par :**

*Aouaichia Ikram*

*Aouaichia Imene*

**Devant le jury :**

<b>Mme. ZIANI</b> Sawssen	MAA	Université de Tébessa	<b>Présidente</b>
<b>Dr. DJABRI</b> Belgacem	Pr.	Université de Tébessa	<b>Rapporteur</b>
<b>Mr. GHERISSI</b> Bilal	MAA.	Université de Tébessa	<b>Examineur</b>

*Date de soutenance:* 08/06/2021



**République Algérienne Démocratique et Populaire**

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche

Scientifique Université Larbi Tébessi -Tébessa-

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Appliquée

**MEMOIRE DE MASTER**

**Domaine:** Sciences de la Nature et de la Vie

**Filière:** Sciences Biologiques

**Option:** Biochimie Appliquée



## *Thème*

*Investigation de certaines activités biologiques de l'extrait  
éthanolique de Marrubium vulgare L.*

**Présenté par :**

*Aouaichia Ikram*

*Aouaichia Imene*

**Devant le jury :**

<b>Mme. ZIANI</b> Sawssen	MAA	Université de Tébessa	<b>Présidente</b>
<b>Dr. DJABRI</b> Belgacem	Pr.	Université de Tébessa	<b>Rapporteur</b>
<b>Mr. GHERISSI</b> Bilal	MAA.	Université de Tébessa	<b>Examineur</b>

*Date de soutenance:* 08/06/2021



## *Dédicaces*

*Nous dédions ce modeste travail à celle qui nous a donné la vie et l'amour, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour notre bonheur et notre réussite, à ma mère.*

*A notre père notre plus haut exemple et notre modèle de persévérance pour aller toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras. Pour son enseignement continu et pour son aide matérielle et morale, vous vous êtes dépensés pour nous sans compter.*

*A nos chers frères Ali, Assad et Akram en reconnaissance de leur affection toujours constante.*

*A notre petite et chère sœur Aya.*

*A l'âme de notre cher grand-père Ali qui n'est pas présent ce jour-là mais qui nous a donné une inestimable aide matérielle et morale, que son âme repose en paix dans le vaste paradis.*

*A toute notre famille.*

*A tous nos amis et à toutes les personnes qui nous aimons*



## **Remerciements**



*Louange à ALLAH le tout puissant qui nous aidons à réaliser ce modeste travail et nous avoir donné la capacité d'accomplir un de nos de rêves.*

*Nous remercions vivement et sincèrement notre encadreur Monsieur Djebri Belgacem n'a ménagé aucun effort pour nous aider, nous orienter de nous conseiller tout au long de la réalisation de ce travail.*

*Nous remercions chaleureusement tous les membres du jury Mme. Ziani Sawssen et Mr. Gherissi Bilal qui nous ont fait l'honneur d'assister à notre soutenance et qui ont bien voulu examiner ce manuscrit et juger ce travail.*

*Par la même occasion, nous exprimons notre vive reconnaissance à tous les techniciens des laboratoires qui ont eu l'amabilité de nous accueillir, de nous conseiller et de nous orienter pendant toute la durée du cycle surtout Mme. Nardjesse qui nous aidons beaucoup dans ce travail.*

*En fin, nous adressons nos derniers remerciements et nos les moindres à tous ceux qui ont contribué, de près ou loin, à l'aboutissement de ce travail.*

*Veillez trouver ici l'expression de notre grand respect et nos vifs remerciements.*

## ملخص

اهتمت عدة دراسات منذ عدة سنوات بالنشاط العلاجي للنباتات الطبية لأنها تحتوي على مصدر لا ينضب من المواد و المركبات الطبيعية النشطة بيولوجيا و ذات الأنشطة المختلفة. وفي هذا السياق أجرينا هذه الدراسة التي استهدفت البحث مخبريا عن الأنشطة المضادة للأكسدة ، ومضادات البكتيريا ، والمضادة للفطريات ، التي يقوم بها المستخلص الميثانولي لأوراق نبات المروبية.

وقد تم الحصول على المستخلص الإيثانولي من أوراق المروبية المجففة عن طريق تمشيط مسحوق 50 ملغ في 500 مل من الايثانول لمدة 72 ساعة تليها تبخر هذا المذيب. ولتحديد العناصر الأيضية الثانوية الرئيسية الموجودة في أوراق هذا النبات ، أجري فحص كيميائي حيوي بواسطة تفاعلات التلوين. و قد تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستخدام تقنية الحد من الجذور الحرة. و تم اختبار الأنشطة المضادة للبكتيريا و الفطريات للمستخلص على 05 سلالات بكتيرية (*E. coli*) من الخمائر (*C. albicans* LV1 and *C. albicans* LV2) بواسطة طريقة الانتشار على القرص.

سمح الاستخراج الايثانولي الحصول على عائد %93, 12. كشف الاختبار النوعي النباتي الكيميائي عن اكتشافات ايجابية flavonoïdes, tanins, quinones, et stéroïdes و قد اثبت النشاط المضاد للأكسدة ان قوة مضاد الأكسدة للفيتامين ج كانت أعلى كثيرا من تلك المستخلصة من المحلول الايثانولي لنبات المروبية  $IC_{50\%} = 7774,71 \mu g/ml$  vs  $102,03 \mu g/ml$  على التوالي. تشير نتائج النشاط المضاد للبكتيريا و الفطريات إلى أن المستخلص يمتلك نشاطاً مثبطاً ملحوظاً على جميع السلالات المختبرة ويختلف تثبيط نمو السلالات باختلاف الأنواع.

تؤكد نتائجنا أن المحلول الايثانولي لنبات المروبية يتمتع بأنشطة بيولوجية تبرر استخدامه كبديل لبعض المواد المضادة للأكسدة وبعض المضادات الحيوية ومضادات الفطريات .

## الكلمات المفتاحية :

المحلول الايثانولي لنبات المروبية ، نشاط مضاد للأكسدة ، نشاط مضاد للجراثيم ، نشاط مضاد للفطريات

## ***Abstract***

For some years, several have been concerned with the therapeutic activity of medicinal plants because they contain an inexhaustible source of natural bioactive substances and compounds with various activities. In this context, we conducted this study which aimed to investigate in vitro the antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the ethanolic extract of leaves of *Marrubium vulgare* (ET-Mv).

ET-Mv was obtained by maceration of 50 mg powder from dried *Marrubium vulgare* leaves in 500 ml ethanol for 72 h followed by evaporation of this solvent. For the identification of the main secondary metabolites present in the leaves of this plant, a phytochemical screening was carried out by reactions. Antioxidant activity was evaluated using the free radical diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) trapping technique. The antibacterial and antifungal activities of ET-Mv were tested on 05 bacterial strains (*E. coli*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli* ATCC8799) and two yeasts (*C. albicans* LV1 and *C. albicans* LV2) by disc diffusion method.

Ethanolic extraction yielded a yield of 12.93%. The qualitative phytochemical test revealed positive detections of flavonoids, tannins, quinones, and steroids. The evaluation of antioxidant activity proves that the antioxidant power of Vit. C was much higher than our White Marrube ethanolic extract (IC<sub>50</sub>% = 7774.71 µg/ml vs 102.03 µg/ml respectively). The results of antibacterial and antifungal activity indicate that the extract has remarkable inhibitory activity on all strains tested and the inhibition of the growth of strains varies according to species.

Our results confirm that ET-Mv is endowed with biological activities that justify its use as an alternative to certain antioxidant substances and certain antibiotics and antifungals.

**Keywords:** ET- Mv, Antioxidant activity, Antibacterial activity, Antifungal activity.

## **Résumé**

Depuis certaines années plusieurs travaux se sont intéressés à l'activité thérapeutique des Plantes médicinales parce qu'elles renferment une source inépuisable de substances et composés naturels bioactifs ayant des activités diverses. Dans ce contexte, nous avons conduit cette étude qui avait pour objectif d'investiguer *in vitro* les activités antioxydante, antibactérienne et antifongique de l'extrait éthanolique des feuilles de feuilles de *Marrubium vulgare* (ET-Mv).

L'ET-Mv a été obtenu par macération de 50 gde poudre des feuilles de *Marrubium vulgare* séché dans 500 ml d'éthanol pendant 72 h suivie par l'évaporation du ce solvant. Pour l'identification des principaux métabolites secondaires présents dans les feuilles de cette plantes, un criblage phytochimique a été réalisé par des réactions spécifiques de coloration. L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant la technique de piégeage du radical libre diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Les activités antibactérienne et antifongique de l'ET-Mv ont été testées sur 05 souches bactériennes (*E. coli*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli* ATCC8799) et deux levures (*C. albicans* LV1 et *C. albicans* LV2) par la méthode de diffusion sur disque.

L'extraction éthanolique a permis d'obtenir un rendement égal à 12,93%. Le test qualitatif phytochimique a révélé des détections positives de flavonoïdes, tanins, quinones, et stéroïdes. L'évaluation de l'activité antioxydante prouvent que le pouvoir antioxydant de la Vit.C était largement supérieur à celui de notre extrait éthanolique de Marrube blanc (IC50% = 7774,71 µg/ml vs 102,03 µg/ml respectivement). Les résultats de l'activité antibactérienne et antifongique indiquent que l'extrait possède une activité inhibitrice remarquable sur toutes les souches testées et l'inhibition de la croissance des souches varie en fonction des espèces.

Nos résultats confirment que l'ET-Mv est doué d'activités biologiques qui justifient son utilisation en alternative à certaines substances antioxydante et certains antibiotiques et antifongique.

Mot clés : ET-Mv, Activité antioxydante, Activité antibactérienne, Activité antifongique.

## Liste des tableaux

No	Liste des tableaux	pages
1	Présentation systématique de la plante	06
2	Répartition et distribution du genre <i>Marrubium</i> en Algérie	07
3	Classe des terpénoïdes	17
4	Espèces réactives radicalaires et non radicalaires	21
5	Système antioxydant enzymatique	27
6	Quelques exemples d'effets des mycètes	37
7	Matériels et produits utilisés pour l'identification des <b>flavonoïdes</b>	49
8	Matériels et méthodes utilisés pour l'identification des <b>quinones</b>	50
9	Matériels et méthodes utilisés pour l'identification des <b>saponines</b>	51
10	Matériels et méthodes utilisés pour l'identification des tanins	52
11	Matériels et méthodes utilisés pour l'identification des terpenoïdes et des stéroïdes	53
12	Liste d'appareils, verreries et produits utilisés pour l'extraction	54
13	Liste d'appareils et réactifs utilisés pour l'activité anti-DPPH	57
14	Matériels et produit utilisés	60
15	Souches bactériennes et fongique utilisées	61
16	Protocole de préparations des Milieux de culture utilisées	62
17	Sensibilité et degré d'activité selon le diamètre du halo d'inhibition	66
18	Rendement de l'extrait des feuilles de <i>Marrubium vulgare</i> L	68
19	Résultats de criblage phytochimique d'extrait éthanolique de <i>M. vulgare</i>	69
20	Comparaison de la contenance en métabolite secondaires de <i>M. vulgare</i> entre différentes publications	71
21	Détermination des diamètres d'inhibition (mm) de l'ET-Mv contre certaines souches bactériennes	76
22	Détermination des diamètres d'inhibition (mm) de l'ET-Mv contre certaines souches fongiques	80



## Liste des figures

No	Liste des figures	Pages
1	<i>Marrubium Vulgare</i>	05
2	<i>Marrubium vulgare</i> (Marrube blanc), plante entière(a), fleures(b), capsule de fruits (c)	08
3	Groupe phénol	09
4	Structure de base des acides hydroxy benzoïques	10
5	Structure de base des acides hydroxycinnamiques	11
6	Structures de l'enchaînement benzo- $\gamma$ -pyrone	12
7	Structure chimique des proanthocyanidins (tanins condensés)	13
8	Principaux acides polyphénoliques des tanins hydrolysables	14
9	Schéma de la structure moléculaire du tanin hydrolysable	14
10	Structure de base des coumarines	15
11	Structures de quelques alcaloïdes	16
12	Structure de la méthyl butadiène	16
13	Balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants	19
14	Quatre étapes de la réduction de l'oxygène et la formation des intermédiaires partiellement réduits sont détaillées	22
15	Chaîne respiratoire mitochondriale dite de « phosphorylation oxydative ». Q : coenzyme Q ou ubiquinone ; CytC : cytochrome <i>c</i>	23
16	Réactions de la peroxydation lipidique	25
17	Aperçu des différentes espèces oxygénées activées (EOA) et des antioxydants. Régulateurs de leurs productions	29
18	Structure d'une cellule procaryote	30
19	Représentation schématique de l'enveloppe cellulaire des bactéries Gram-positives (A) et Gram négatives (B)	31
20	Principaux cibles des antibiotiques	34
21	Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques dans une bactérie Gram négative	36
22	Morphologie d'un hyphe. Représentation schématique de l'extrémité d'un hyphe, montrant les organites typiques et d'autres structures	38
23	Morphologie des cellules de levure et des mycéliums	39
24	Structure cellulaire des levures	39
25	Cibles cellulaires des antifongiques	41
26	Vue générale de la plante de <i>Marrubium vulgare</i> prise à partir du site d'étude	46
27	Région de récolte de la plante (El Ma Laboid, Tébessa)	47
28	Procédure de broyage et l'obtention de poudre de la plante d'étude	48
29	Schéma de différentes étapes suivis lors de l'extraction	55
30	Réaction de test DPPH (2,2- Diphényle- 1- picrylhydrazyl)	57
31	Différentes étapes du test DPPH	59
32	Etapes d'enrichissement des souches dans le bouillon nutritif	62
33	Préparation des suspensions	63
34	Ecoulement de la gélose	63
35	Ensemencement	64

<b>36</b>	Emplacement des disques et l'application de l'extrait éthanolique de <i>Marrubium vulgare</i>	64
<b>37</b>	Courbe d'évaluation du pouvoir antioxydant par la méthode de DPPH d'extrait de <i>Marrubium vulgare</i> avec le temps	71
<b>38</b>	Courbe d'évaluation du pouvoir antioxydant par la méthode de DPPH de l'acide ascorbique avec le temps	71
<b>39</b>	Pourcentage de piégeage de radical DPPH en fonction des concentrations de l'extrait éthanolique de <i>Marrubiumvulgare</i>	72
<b>40</b>	Pourcentage de piégeage de radical DPPH en fonction des concentrations de l'acide ascorbique	73
<b>41</b>	Zones d'hnibitions de l'extrait éthanolique de <i>M. vulgare</i> vis-à-vis les souches bactériennes testés	76
<b>42</b>	Test de l'éthanol sur <i>Salmonella typhi</i> comme exemple	77
<b>43</b>	Zones d'hnibitions de l'extrait éthanolique de <i>M. vulgare</i> vis-à-vis les souches fongiques testés	79

## Liste des abréviations et symboles

<b>M :</b>	<i>Marrubium</i>
<b>HPLC :</b>	Chromatographie en phase liquide à haute performance
<b>UV :</b>	Ultra-violet
<b>LDL :</b>	Low density lipoprotein
<b>C :</b>	Carbone
<b>EOA:</b>	Espèces oxygénées activées
<b>ERO :</b>	Espèces réactives d'oxygène.
<b>Zn :</b>	Zinc
<b>Mn :</b>	Manganèse
<b>Cu :</b>	Cuivre
<b>Se :</b>	sélénium
<b>Pb :</b>	Plomb
<b>Hg :</b>	Mercure
<b>SOD :</b>	Superoxydes dismutases
<b>GPxs :</b>	Glutathion peroxydase
<b>NOX :</b>	NAD(P) H oxydase
<b>ERN :</b>	Espèces réactives d'Azote
<b>NO :</b>	Oxyde nitrique
<b>O<sub>2</sub><sup>•-</sup> :</b>	Anion superoxyde
<b>HO• :</b>	Radical hydroxyle
<b>RO• :</b>	Radical alkoxy
<b>CO<sub>2</sub>•- :</b>	Dioxyde de carbone
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> :</b>	peroxyde d'hydrogène
<b>O<sub>3</sub> :</b>	l'ozone
<b>NO• :</b>	Monoxyde d'azote
<b>ONOO- :</b>	Peroxyde d'hydrogène
<b>FADH<sub>2</sub> :</b>	flavoprotéines réduites
<b>ATP :</b>	adénosine triphosphate
<b>O<sub>2</sub> :</b>	dioxygène
<b>Q :</b>	coenzyme Q ou ubiquinone
<b>CytC :</b>	cytochrome <i>c</i>
<b>NADH :</b>	nicotinamide adénine dinucléotide réduit
<b>NADPH :</b>	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit
<b>XOR :</b>	xanthine oxydoréductase
<b>XDH :</b>	xanthine déshydrogénase
<b>XO :</b>	xanthine oxydase
<b>NOs :</b>	Oxyde nitrique synthases
<b>LOX :</b>	Lipoxygénases
<b>COXs :</b>	cyclo-oxygénases
<b>TNF-<math>\alpha</math> :</b>	Tumor Necrosis Factor alpha
<b>NO•<sub>2</sub> :</b>	Dioxyde d'azote
<b>LH :</b>	Acide gras polyinsaturé
<b>LOO. :</b>	Radical peroxyde lipidique
<b>LOOH :</b>	hydroxyperoxyde lipidique

**ADN :** Acide désoxyribonucléique  
**AOX :** antioxydant  
**CAT :** Catalase  
**TrxR :** La thiorédoxine réductase  
**ROO• :** radical Peroxyde  
**GSH :** Reduced Glutathione  
**GSSG :** Oxidized glutathione  
**Vit C :** Vitamine C  
**Vit E :** Vitamine E  
**Fe<sup>3+</sup> :** ion ferrique  
**Fe<sup>2+</sup> :** ion ferreux  
**RLs :** Réduction de loyer de solidarité  
**PG :** peptidoglycane  
**LPS:** Lipopolysaccharides  
**ARN :** Acide ribonucléique  
**C.** *Candida glabrata*  
**glabrata :**  
**ABC :** ATP-binding cassette  
**MFS :** Major Facilitator Superfamily  
**C.** *Candida albicans*  
**albicans :**  
**Tac1 :** Transcriptional Activator  
**CDR 1 :** cerebellar Degeneration Related Protein 1  
**CDR 2 :** cerebellar Degeneration Related Protein 2  
**FCY 2 :** Purine-cytosine permease  
**FCY 1 :** Cytosine deaminase-Saccharomyces cerevisiae  
**FUR1 :** Uracil phosphoribosyltransferase  
**ERG 11:** Lanosterol 14- alpha demethylase  
**EtOH :** Extrait éthanolique  
**DPPH :** 2,2-diphenyl-1-picryl-hdrazyl  
**ET-Mv :** Extrait éthanolique de *Marrubium vulgare*  
**ET-Mv :** Extrait méthanolique de *Marrubium vulgare*  
**IC50 :** concentration inhibitrice 50%  
**µg :** microgramme  
**Abs :** Absorbance  
**ATCC :** American type culture collection  
**CMI :** concentrations minimales d'inhibitions  
**E. coli :** Escherichia coli  
**g :** gramme  
**h :** heure  
**H+ :** proton  
**mg :** milligramme  
**µl :** microlitre  
**MH :** Mueller-Hinton  
**Min :** minute  
**ml :** millilitre  
**nm :** nanomètre  
**R :** Rendement  
**T :** température  
**°C :** degré Celsius

**5-FC** : 5-fluorocytosine  
**5-FU** : 5-fluorouracile  
**I%**: pourcentage d'inhibition  
**NaOH** : hydroxyde de sodium  
**HCl** : acide chlorhydrique  
**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>**: acide sulfurique  
**K<sub>2</sub>CrO<sub>3</sub>**: chrome de potassium

**Dédicaces**

**Remerciements**

**ملخص**

**Abstract**

**Résumé**

**Liste des tableaux**

**Liste des figures**

**Liste des abréviations et symboles**

**Sommaire**

<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>INTRODUCTION</b>	1
<b>I. APPERÇU BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
I.1. Généralité sur les plantes médicinales	4
I.2. Aperçu bibliographique sur la plante étudiée ( <i>Marrubium vulgare</i> )	5
I.2.1. Présentation de la plante	5
I.2.2. Nom vernaculaire	5
I.2.3. Systématique	5
I.2.4. Famille de lamiacées	6
I.2.5. Genre <i>Marrubium</i>	7
I.2.6. Espèce <i>Marrubium vulgare</i>	7
I.2.6.1. Aspect botanique	7
I.2.6.2. Aspect Phytochimique	8
I.2.6.2.1. Définition de la phytochimie	9
I.2.6.2.2. Principales classes des métabolites secondaires du Marrube	9
I.2.6.2.2.1. Composées phénoliques	9
I.2.6.2.2.2. Alcaloïdes	15
I.2.6.2.2.3. Terpénoïdes	16
I.2.6.3. Localisation et répartition de l'espèce <i>Marrubium vulgare</i>	17
I.2.6.4. Utilisation de la plante	17

I.2.6.5. Forme d'utilisation	18
I.2.6.6. Toxicité	18
I.2.6.7. contre-indications	18
I.3. Activité antioxydant	19
I.3.1. Stress oxydant	19
I.3.1.2. Conséquences de stress oxydant	20
I.3.1.3. Comment lutter contre le stress oxydant ?	20
I.3.2. Radicaux libres	21
I.3.2.1. Espèces réactives d'oxygènes	21
I.3.2.2. Sources des radicaux libres	22
I.3.2.2.1. Sources endogènes	22
I.3.2.2.2. Sources exogènes	24
I.3.2.3. Cibles et conséquences des radicaux libres	25
I.3.3. Antioxydants	26
I.3.3.1. Types et sources des antioxydants	26
I.3.3.1.1. Antioxydants endogènes	26
I.3.3.1.2. Antioxydants exogènes	28
I.4. Activité antibactérienne	29
I.4.1. Définition des bactéries	29
I.4.2. Notion Gram positif et négatif	30
I.4.3. Antibiotiques	31
I.4.3.1. Définition	31
I.4.3.2. Effets des antibiotiques	32
I.4.3.2.1. Effet bactériostatique et bactéricide	32
I.4.3.3. Cibles des antibiotiques	32
I.4.3.4. Résistance aux antibiotiques	34
I.4.3.5. Mécanisme de résistance aux antibiotiques	35
I.5. Activité antifongique	36
I.5.1. Champignons	36
I.5.2. Antifongiques	40
I.5.3. Mode d'action des antifongiques	40
I.5.4. Mécanisme de résistance aux antifongiques	42

<b>II : MATERIELES ET METHODES</b>	
II.1. Matériel végétale	46
II.2. Analyse phytochimique	48
II.2.1. Recherche des flavonoïdes	48
II.2.2. Recherches des quinones	49
II.2.3. Recherche des saponines	50
II.2.4. Recherche des tanins	51
II.2.5. Recherche des terpenoïdes et des stéroïdes	52
II.3. L'Obtention de l'extrait éthanolique	54
II.3.1. Matériel d'extraction	54
II.3.2. Procédé d'extraction	54
II.3.3. Calcul du rendement d'extrait	56
II.4. Evaluation de l'activité antioxydante	56
II.4.1. Test d'activité anti DPPH	56
II.4.1.1. Matériel et réactif	57
II.4.1.2. Mode opératoire	58
II.4.1.3. Détermination de la concentration inhibitrice IC50%	58
II.5. Évaluation des activités antimicrobiennes	60
II.5.1. Matériels et produits	60
II.5.2. Souches testées	61
II.5.3. Mode opératoire	61
II.5.3.1. Préparation de milieu de culture	61
II.5.3.2. Enrichissement	62
II.5.3.3. Préparation des suspensions bactériennes et fongiques	63
II.5.3.4. Préparation des boîtes de pétri	63
II.5.3.5. Ensemencement / Test bactérien	64
II.5.3.6. Déposition des disques	64
II.5.3.7. Lecture	65
<b>III : RESULTATS ET DISCUSION</b>	
III.1. Rendement de l'extrait éthanolique de <i>Marrubium vulgare</i>	67
III.2. Screening phytochimique	68
III.3. Activité antioxydante	71



III.3.1. Pourcentage d'inhibition de radical DPPH	72
III.3. 2. Détermination de l'IC50 (Concentration inhibitrice 50%)	73
III.4. Activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de <i>Marrubium vulgare</i>	74
III.5. Activités antifongique d'extrait éthanolique de <i>Marrubium vulgare</i>	79
<b>CONCLUSION</b>	82
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	84

# **Introduction**

### Introduction

La nature est pleine de ressources aux vertus bénéfiques pour l'homme. En plus de son alimentation, il y trouve des substances actives qui procurent un bienfait à son organisme. La médecine traditionnelle et plus particulièrement les traitements à base de plantes aromatiques et médicinales étaient bien développés (**Rebbas *et al.* 2012**) et tend toujours à se renouveler, car la recherche des nouveaux médicaments est continuelle (**Sadou *et al.* 2015**). L'histoire de ces plantes est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine (**Boutlelis Djahra *et al.* 2012**) car ils constituent une composante fondamentale pour l'avenir du système de santé dans le monde (**Sadou *et al.* 2015**).

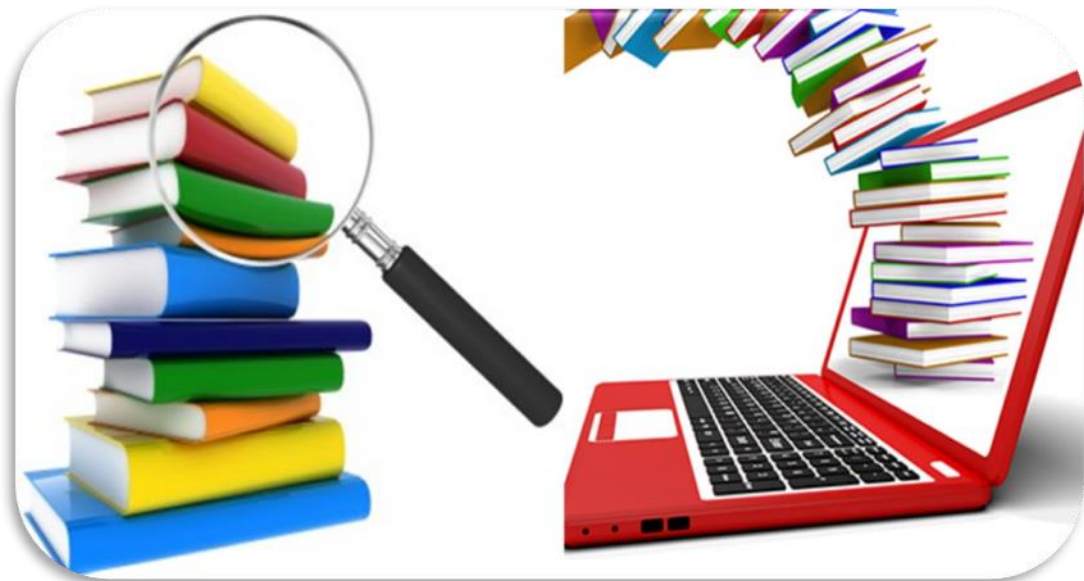
Le stress oxydant a été décrits réellement comme un facteur étiologique crucial impliqué dans diverses maladies chroniques humaines telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires et neurodégénérative, inflammation, diabète et vieillissement. Ces dommages oxydants sont réalisés par l'attaque des radicaux libres sur de divers biomolécules, en particulier les protéines, les lipides et l'ADN, ayant finalement comme conséquence la dégradation et la mort de cellules. Plusieurs antioxydants synthétiques comme l'hydroxyanisole butylé (BHA) peuvent être inadéquats pour la consommation humaine chronique car les publications récentes ont mentionné leurs propriétés toxiques possibles pour la santé humaine (**Ghedadba *et al.* 2015**). De plus au cours de ces dernières années les maladies infectieuses constituent une préoccupation importante de santé publique à cause de leur fréquence et de leur gravité dans les pays (**Yala *et al.* 2016**). Les infections bactériennes sont causées par différents micro-organismes et sont la cause des maladies les plus fatales et des épidémies les plus répandues. De nombreux antibiotiques sont développés pour les traiter, cependant leur utilisation abusive est à l'origine de l'apparition de la multirésistance bactérienne (**Ben Abdallah *et al.* 2019**). Cette résistance aux antibiotiques atteignant le point de crise dans beaucoup d'hôpitaux autour du monde (**Ghedadba *et al.* 2014**). L'activité antifongique des substances médicamenteuses a aussi diminué du fait des phénomènes de résistances (**Bouterfas *et al.* 2016**), il y a des besoins urgents de compléter le niveau de notre arsenal d'agents anti-infectieux. Pour cette raison ils semblent donc importants de trouver de nouveaux composés anti-infectieux et antioxydants. Les plantes médicinales, notamment celle utilisée de façon traditionnelle constituent une source potentielle de ce type de composés (**Ghedadba *et al.* 2014**).

*Marrubium vulgare* L. est une plante herbacée vivace qui appartient à la famille des Lamiacées (Mahmoud *et al.* 2018), utilisé en médecine traditionnelle pour le traitement de diverses affections: infections respiratoires, urinaires, ophtalmie. Dans de plus, il est traditionnellement utilisé pour ses propriétés vaso-relaxantes, anti-hypertensives, anti-inflammatoires, antibactérien, antioxydant (Hayat *et al.* 2020). Les activités des extraits de *M. vulgare* ont été pharmacologiquement démontrées dans plusieurs études modernes (Elberry *et al.* 2015). La partie aérienne du *M. vulgare* contient plusieurs métabolites secondaires tels que les di-terpènes, dont la marrubiine qui est responsable de la plupart des propriétés biologiques de *M. vulgare*, les flavonoïdes (Hayat *et al.* 2020) et les tanins (Bouterfas *et al.* 2016). La composition des produits bioactifs des plantes médicinales et leurs propriétés biologiques peut être affecté par plusieurs facteurs, notamment climatiques et géographiques (Bouterfas *et al.* 2016).

L'objectif principal de notre étude est d'élucider *in vitro* certaines activités biologiques de l'extrait éthanolique des feuilles de *Marrubium vulgare*. Pour atteindre cet objectif, le présent travail sera divisé en deux parties :

- Une partie bibliographique dans laquelle seront rapportées certaines informations de base nécessaires pour la compréhension du travail expérimental relatives à la plante étudiée et les principales des activités biologique.
- Une partie expérimentale dans laquelle seront exposés le matériel utilisé et la méthodologie adoptée ainsi que la présentation des résultats et leur discussion.

# Partie bibliographique



### I.1. Généralité sur les plantes médicinales

Les plantes médicinales ont été considérées depuis longtemps comme une source essentielle de médicaments (**Elisée et al. 2010**), elles furent le principal recours de la médecine de nos grands-parents (**EL Rhaffari et Zaid, 2004**). Aujourd'hui encore, une majorité de la population mondiale, plus particulièrement dans les pays en voie de développement, se soigne uniquement avec des remèdes traditionnels à base de plantes (**Elisée et al. 2010**) pour assurer leurs soins de santé primaires et leurs subsistances (**Salhi et al. 2010**) malgré l'important développement de l'industrie pharmaceutique qui a permis à la médecine moderne de traiter un grand nombre de maladies (**EL Rhaffari et Zaid, 2004**).

L'usage de plantes médicinales peut apporter directement des réponses à certains problèmes de santé ; mais avant de pouvoir recommander l'usage de telle ou telle espèce pour une maladie , il est nécessaire de valider l'usage traditionnel qui en est fait .en d'autres termes , il est convenable d'évaluer scientifiquement l'activité pharmacologique de la plante médicinale retenue, et apprécier si celle-ci confirme sa réputation .de plus, il est impératif de vérifier également l'absence de toxicité des plantes employées (**Barka, 2017**).

On appelle plantes médicinales ou pharmaceutiques, toute plante dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (**Dillemann, 1991**), et qui a été séchée ou traitée selon des méthodes, et employée dans la préparation des médicaments. En effet, elles sont utilisées de différentes manières, décoction, macération et infusion (**N'guessan et al. 2011**).

Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux pour l'humanité (**Bouzid et al. 2016**) et constituent une composante fondamentale pour la venue du système de santé dans le monde; elles demeurent une source inépuisable de substances (**Sadou et al. 2015**) biochimiques : tanins, glucosides, mucilages, flavonoïdes, saponines, résines, gommes ect, et qui procurent des propriétés curatives appréciables et qu'aucune chimie synthétique (**Eddouks et al. 2007**).

En effet, les produits naturels en général et les plantes médicinales en particulier sont des sources importantes de nouveaux composés actifs susceptibles de devenir des molécules clés dans nouvelles préparations médicales. Ils sont une source à fort impact de nouveaux (composés pilotes) pour de nouveaux agents thérapeutiques malgré le développement important de la biotechnologie et la chimie combinatoire (**Edziri et al. 2018**).

## I.2. Aperçu bibliographique sur la plante étudié (*Marrubium vulgare*)

### I.2.1. Présentation de la plante

Le Marrube blanc (*Marrubium vulgare* L) est une espèce très répandue dans le bassin méditerranéen (**Djahra et al. 2013**). C'est une plante appartient à la famille de lamiacée et compte plus de 30 espèces de fleurs différentes (**Bahammou et al. 2019**), connue pour ses vertus médicinales et thérapeutiques, très intéressantes vu les activités pharmacologiques des composés phytochimiques présents dans ses extraits biologiques (**Boutabia et al. 2020**).



**Figure 01 : *Marrubium Vulgare* (photo personnelle).**

### I.2.2. Nom vernaculaire

En Algérie : le *Marrubium vulgare* est connue en arabe par le nom Thimarrioute (**Miara et al. 2013**).

En Tunisie : Marrubia (**Ghazghazi et al. 2013**).

En français : Marrube blanc (**Miara et al. 2013**).

Et en Anglais : White Harehound (**Aouati., Berchi, 2015**).

### I.2.3. Systématique

D'après (**APG III, 2009**).

**Tableau 01** : Présentation systématique de la plante (APG III, 2009).

Règne	Végétal
Sous-règne	Plante vasculaires
Embranchement	Spermatophytes
Division	Magnoliophytes
Classe	Magnolipsides
Sous-classe	Astérides
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées
Genre	Marrubium
Espèce	Marrubiumn vulgare
Nom commun	Marrube blanc

#### I.2.4. Famille de lamiacées

Les lamiacées sont la famille de plantes la plus diversifiées en termes d'ethnomédecine. en raison de sa teneur élevée en matières volatile elle a une grande valeur médicinale (**Lodhi et al. 2017**), (plus utilisée comme source mondiale d'épices et d'extrait à fort pouvoir antimicrobien, antifongique, anti-inflammatoire et antioxydant) (**Gherman et al. 2000 ; Djeddi et al. 2015**).

La famille des Lamiacées ou labiées est une importante famille de plantes dicotylédones, Connue sous le nom de famille de plantes à fleurs. Elle contient près de 7000 espèces et envrant 236 genres (**Lodhi et al. 2017**). Répandus dans le monde entier, mais surtout dans la région méditerranéenne. Des nombreuses espèces de cette famille sont très aromatiques et produit de l'huile essentielle, en raison de la présence de structure glandulaires externes (**Lodhi et al. 2017**).

Les plantes de cette famille sont des arbustes, sous arbrisseaux, ou plante herbacées rarement ligneuses, souvent velues, à tige généralement quadrangulaire. Les feuilles sont opposées et décussées (disposées en paire se croisant d'un nœud à l'autre), dépourvues de stipules, à limbe généralement denté. Les fleurs généralement sont hermaphrodites, à symétrie bilatérale ou parfois presque radiaire. Les sépales (calice) et les pétales (corolle) sont soudés en tube comportant habituellement quatre ou cinq lobes, ou lèvres, forme irrégulière (symétrie



bilatérale). Les deux, quatre ou cinq étamines sont attachées à l'intérieur du tube corollaire. L'ovaire est supère, libre et possède deux carpelles (Zeghib, 2013).

Cette famille est une importante source d'huiles essentielles, d'infusions et d'antibiotiques pour l'aromathérapie, la parfumerie et l'industrie des cosmétiques. On y rencontre beaucoup d'espèces cultivées comme plantes condimentaires (sauge, thym, basilic, menthe, ect....) on y trouve aussi des plantes ornementales (sauge, lavande, etc....) (Lambinon *et al.* 2004).

### I.2.5. Genre *Marrubium*

Le genre *Marrubium* appartient à la famille des lamiacées et comprend environ 75 espèces répandues dans une grande partie du globe et notamment en Europe et en Asie. On compte 50 espèces sur le pourtour méditerranéen (Zaabat *et al.* 2010).

En Algérie, on trouve 06 espèces différentes au sein de ce même genre : (*M. vulgare*, *M. supinum*, *M. peregrinum*, *M. alysson*, *M. alyssoidespomel*, *M. déseti de Noé*) (Quezel et santa, 1963).

**Tableau 02** : Répartition et distribution du genre *Marrubium* en Algérie (Sifi, 2018).

Espèce	Abondance	Distribution en Algérie
<i>M. vulgare</i>	Très commune	Dans tout l'Algérie
<i>M. supinum</i>	Rare	Atlas saharien Oranais et Algérois
<i>M. peregrinum</i>	Très rare	Atlas tellien
<i>M. alysson</i>	Très commune	Partout sauf sur le littoral Algéro-constantinois
<i>M. alyssoidespomel</i>	Rare	Plaines littorale et atlas Tallien
<i>M. déseti de Noé</i>	Commune	Sahara septentrionale et central

### I.2.6. Espèce *Marrubium vulgare*

#### I.2.6.1. Aspect botanique

*Marrubium vulgare* L, est un petit arbuste vivace (0,60m de haut) pousse de manière sauvage dans les sols alcalins / calcaire avec un PH>7. Les feuilles vert-gris sont ovales arrondies et fortement rugueuses (1,5-3,5 cm de longueur), à pubescence blanche. Les branches (tiges) sont dressés, quadrangulaires en coupe transversale et couverts de poils duveteux

(Nedjimi *et al.* 2020). Les racines sont simples, ligneuses, garnies de plusieurs fibres. Le calice est velu et laineux possède 10 dents inégales, dans les cinq commissurales un peu plus courte, toutes terminées en point épineuse (Youssef, 2006). La floraison de cette espèce a lieu à la fin du printemps et au début de l'été. Les inflorescences (grappes) contiennent 10 à 12 petites fleurs blanches tubulaires (3 à 6 mm de longueur) et dotés d'une corolle soyeuse et bilabiées (Cecchini., Ticli, 2008) (la lèvre supérieure est presque plane entière ou bifide alors que la lèvre inférieure est ouverte et trifide (Youssef, 2006). La capsule du fruit (akène) contient environ 3 à 4 graines. Les graines ou nucules brun-noir (1-2,5 mm de longueur) sont ovoïdes, légèrement aplaties dans leur contour avec une surface rugueuse (Nedjimi *et al.* 2020).



**Figure02 :** *Marrubium vulgare* (Marrube blanc), plante entière(a), fleurs(b), capsule de fruits (c) (Nedjimi *et al.* 2020).

### I.2.6.2. Aspect Phytochimique

Les plantes renferment une part importante des composés qui interviennent dans l'ensemble des réactions enzymatiques ou biochimiques ayant lieu dans l'organisme appelées métabolites secondaires. Ils sont mis à profit en thérapie comme anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants, antibactériens, anticancéreux, antifongiques, diurétiques.... (Hartmann, 2007).

### I.2.6.2.1. Définition de la phytochimie

La phytochimie ou chimie de plantes végétales est la science qui étudie la structure, le métabolisme et la fonction ainsi que les méthodes d'analyse, de purification et d'extraction des substances naturelles issues des plantes (Boutlelis, 2014).

Sur le plan chimique, *M. vulgare* est riche en diterpènes, en phenyléthanoides glucosidiques, en tannins et en flavonoïdes (Bouterfas *et al.* 2016). En particulier, la marrubiine lactone diterpène peut être considéré comme un marqueur chimotaxonomique pour cette espèce, il est considéré comme la molécule responsable de la majorité des propriétés biologiques attribuées à la *M. vulgare* (Boudjelal *et al.* 2012).

### I.2.6.2.2. Principales classes des métabolites secondaires du Marrube

#### I.2.6.2.2.1. Composés phénoliques

Les composés phénoliques (8000 molécules connues) sont une des principales classes de métabolites secondaires des plantes. Leurs structures et fonctions sont très diverses. Ils possèdent, au minimum, un cycle aromatique portant un à plusieurs groupements hydroxyles (Mehinagic *et al.* 2011). Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux (racines, tiges, fleurs et fruits). Ces molécules sont impliquées dans de nombreux processus physiologiques tels que la croissance cellulaire, la formation des racines, la germination des graines et la maturation des fruits (Bouterfas *et al.* 2014), aussi ils ont un rôle antioxydant protecteur contre les agressions de l'environnement (température, lumière) ou de pathogènes. Ils assurent d'ailleurs aussi ce rôle dans le corps humain (Mehinagic *et al.* 2011). De plus, les polyphénols présentent diverses activités biologiques telles que des activités anticancéreuses, antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires (Bouterfas *et al.* 2014).

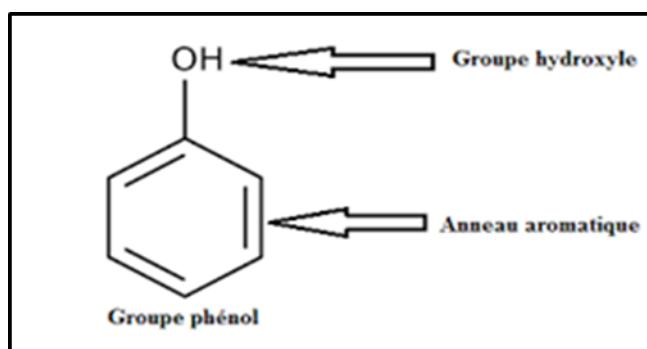


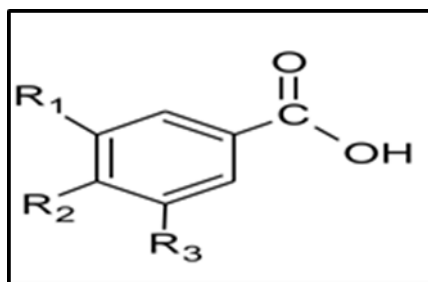
Figure 03 : Groupe phénol (Hopkins, 2003).

## Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont rares dans la nature (Ghnimi, 2015). Ils font partie des formes les plus simples des composés phénoliques (Djedaia, 2017). Ces composés sont formés de deux catégories : la première catégorie contient les acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque, la deuxième catégorie regroupe les acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique (Ghnimi, 2015). Ces acides phénoliques sont rarement présents à l'état libre et ils sont en général combinés à d'autres molécules organiques. Les liaisons impliquent souvent la fonction carboxylique conduisant alors à des esters (avec le glucose ou avec différents alcools-acides : comme les acides quinique, shikimique...). Les liaisons avec les sucres peuvent également se faire par l'intermédiaire de l'une des fonctions phénoliques, conduisant alors à des glucosides (par exemple le glucoside de l'acide p-coumarique) (Macheix *et al.* 2005).

### Acides hydroxybenzoïques (C6-C1)

Les composés en C6-C1 ou (C6 représente le squelette carbonique du cycle phénolique et C1 représente le regroupement latéral mono-carbone), représentent la première famille des phénols simples se sont les dérivés de l'acide benzoïque, répandus largement dans les plantes et les végétaux (Djedaia, 2017).

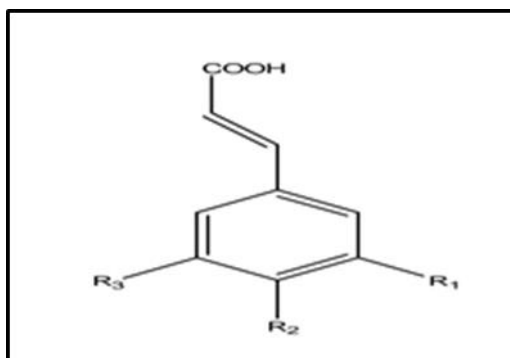


**Figure 04** : Structure de base des acides hydroxy benzoïques (Macheix *et al.* 2005).

### Acides hydroxycinnamiques (C6-C3)

La structure des acides hydroxycinnamiques est de type C6-C3 ou (C6 est le squelette carbonique du cycle phénolique et C3 est la chaîne latérale) (Djedaia, 2017). Les acides les plus répandus chez les végétaux sont l'acide p-coumarique, caféique, férulique et sinapique. On rencontre au moins un d'entre ces quatre acides, dans pratiquement tous les végétaux supérieurs (Yousfi., Djellouli, 2017).

L'analyse HPLC a démontrés que le Marrube blanc contient : l'acide p-coumarique, l'acide caféique, et l'acide férulique (**Boulilaa et al. 2015**).

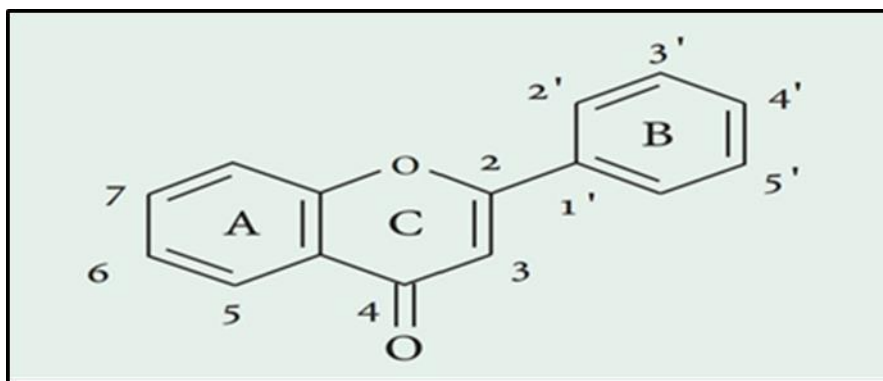


**Figure 05** : Structure de base des acides hydroxycinnamiques (**Macheix et al. 2005**).

### Flavonoïdes

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ce sont des produits largement distribués dans le règne végétal, ils constituent un groupe de plus de 6 000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires. Les flavonoïdes sont des pigments polyphénoliques qui contribuent, entre autres, à colorer des différents organes végétaux en jaune, orange ou en rouge (**Ghedira, 2005**), ils sont présents en fortes concentrations dans l'épiderme des feuilles et la peau des fruits et ont rôles importants et variés en tant que métabolites secondaires. Chez les plantes, ils sont impliqués dans des processus aussi divers que la protection UV, la pigmentation et la résistance aux maladies (**Crozier et al. 2006**). Aussi les flavonoïdes pourraient exercer une multitude d'activités biologiques, notamment des propriétés antioxydantes, anti-allergiques, anti-inflammatoires, anti-ulcéreuses et même antitumorales significatives (**Ghedira, 2005**).

Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, dont les plus importantes sont les flavones, les flavonols, les flavanones, les isoflavones, les isoflavanones, et les anthocyanes (**Crozier et al. 2006**). Tous les flavonoïdes dérivent de l'enchaînement benzo- $\gamma$ -pyrone (**Ghedira, 2005**) comprenant quinze carbones, avec deux cycles aromatiques reliés par un pont à trois carbones (structure en C6-C3-C6) (**Crozier et al. 2006**). Ils peuvent être classés selon la nature des différents substituants présents sur les cycles de la molécule et du degré de saturation du squelette benzo- $\gamma$ -pyrone (**Ghedira, 2005**).



**Figure 06** : Structures de l'enchaînement benzo- $\gamma$ -pyrone (Ghedira, 2005).

### Tanins

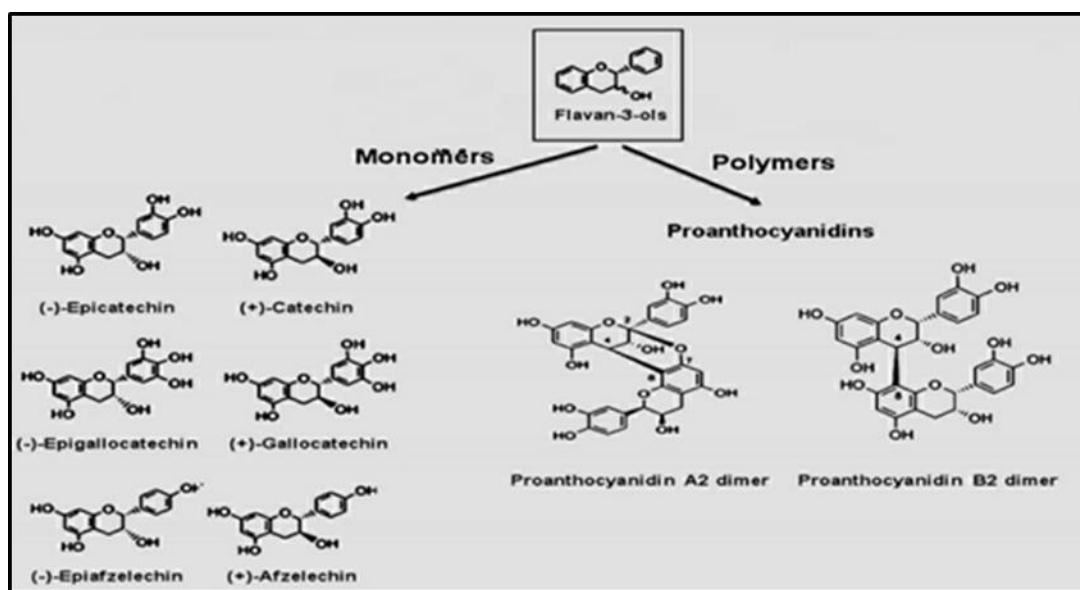
Les tanins sont des métabolites secondaires importants dans le règne végétal ; présents dans de nombreuses plantes ligneuses et herbacées. Ils sont localisés dans les différents organes : tige, feuilles, fruits ou graines, c'est-à-dire situées essentiellement au niveau des épidermes, et sont donc facilement libérés (Zimmer., Cordesse, 1996). Ce sont des polyphénols hydrosolubles qui diffèrent de la plupart des autres composés phénoliques naturels par leur capacité à précipiter des protéines. Cette propriété est la raison de leur utilisation passée et présente dans le tannage des peaux (Scalbert, 1991), ils permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections. Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples et réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure (Iserin, 2001).

Selon leur structure on distingue deux grands groupes de tanins : Les tanins condensés (proanthocyanidines) non hydrolysables, et les tanins hydrolysables (Zimmer., Cordesse, 1996).

### Tanins condensés

Les tanins condensés sont des polymères d'unités flavan-iques, constituées d'un groupe d'oligomères polyhydroxyl-flavan-3-ol (ou flavanol) tels que la catéchine et épicatechine et polymères (jusqu'à 50 unités) reliés par des liaisons carbone-carbone de la position quatre d'une sous-unité flavanol à la huit position (C4-C8) d'un autre (De la Iglesia *et al.* 2010). Cette classe de tanins est la plus représentée dans le monde végétal, aussi bien chez les Angiospermes que les Gymnospermes et les Ptéridophytes (Zimmer., Cordesse, 1996). Les tanins condensés ont un rôle dans les maladies cardiovasculaires par la relaxation des vaisseaux et l'inhibition de l'oxydation LDL. En outre, les proanthocyanidines ont démontré

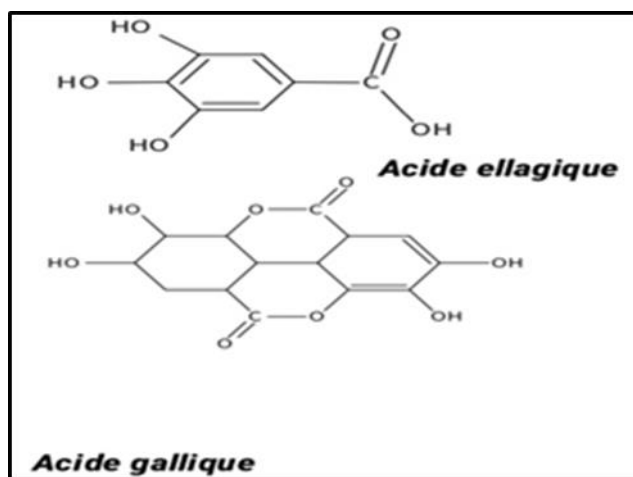
des propriétés anticancéreuses en atténuant le développement de tumeur par l'induction de l'apoptose ou l'inhibition de la prolifération cellulaire. Enfin, ils sont en mesure de produire des actions antiadhésives contre les bactéries dans les infections urinaires et dentaires. Par conséquent, proanthocyanidins sont considérés comme des molécules bénéfiques dans la prévention ou le traitement de nombreuses maladies et conditions pathologiques (De la Iglesia *et al.* 2010).



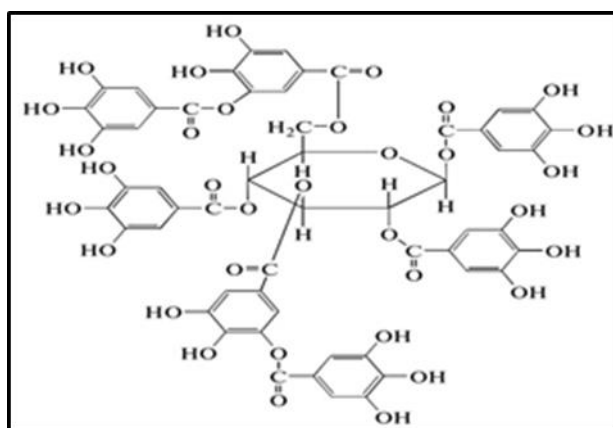
**Figure 07 :** Structure chimique des proanthocyanidins (tanins condensés) (De la Iglesia *et al.* 2010).

### Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des esters de sucre simple (glucose, xylose) et d'acide phénolique. Par hydrolyse les acides phénoliques libérés sont l'acide gallique ou l'acide ellagique ce qui divise ces tanins hydrolysable en deux sous-classes : les tanins galliques et les tanins ellagiques. Contrairement aux tanins condensés, ils ne sont présents que chez les Dicotylédones. Le plus connu est l'acide tannique (Zimmer., Cordesse, 1996).



**Figure 08 :** Principaux acides polyphénoliques des tanins hydrolysables ( **Djedaia, 2017**).



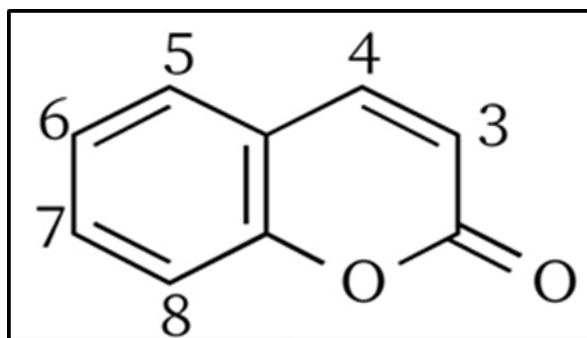
**Figure 09 :** Schéma de la structure moléculaire du tanin hydrolysable (**Borisova et al. 2015**).

### Coumarines

Les coumarines sont très largement distribuées dans le règne végétal. Ce sont des substances naturelles, organiques et aromatiques (**Mpondo et al. 2015**) connus sous le nom (1,2-benzopyrones), constituées de benzène et de pyrone fusionnés (neuf atomes de carbone) constituent un groupe important de composés phénoliques de bas poids moléculaire, et ont une structure variable, en raison des différents types de substitutions dans leur structure de base, qui peuvent influencer leur activité biologiques (**Kostova et al. 2011**).

Les coumarines simples dégagent une agréable odeur, rappelant la vanilline et ont été utilisées pour la conception des parfums et arômes de synthèse (**Mpondo et al. 2015**). Ils possèdent des activités anti-inflammatoires, anticancéreuses, antivirales, anticoagulantes, et antioxydants (agissent comme des puissants piègeurs des radicaux libres) et ont la capacité de prévenir la peroxydation des lipides membranaires (**Kostova et al. 2011**).





**Figure 10** : Structure de base des coumarines (**Kostova et al. 2011**).

#### **I.2.6.2.2.2. Alcaloïdes**

Un alcaloïde est une substance organique azotée d'origine végétale et animale, présentant une structure moléculaire hétérocyclique complexe plus ou moins basiques (**Zenk et Juenger, 2007**). Chez l'homme les alcaloïdes provoques diverses réponses physiologiques et phycologiques parce qu'ils interfèrent avec les neurotransmetteurs. A forte dose les alcaloïdes sont très toxiques par contre à faible dose ils peuvent avoir une valeur thérapeutique. Ils sont utilisés comme médicament, relaxants musculaires, analgésiques, tranquillisants (**Hopkins, 2003**). Aussi ils ont des effets d'inhibition de la croissance sur certaines tumeurs humaines (**Saba et al. 2012**). Leurs biosynthèses ce fait par des principaux mécanismes : la méthylation des acides aminés et des phénols, la condensation des phénols et les alcools (**Zenk et Juenger, 2007**).

Selon l'origine de biosynthétique, on divise les alcaloïdes en trois types (Les alcaloïdes vrais, Les pseudo-alcaloïdes, Les proto-alcaloïdes) (**Fattah, 2019**).

#### **Alcaloïdes vrais**

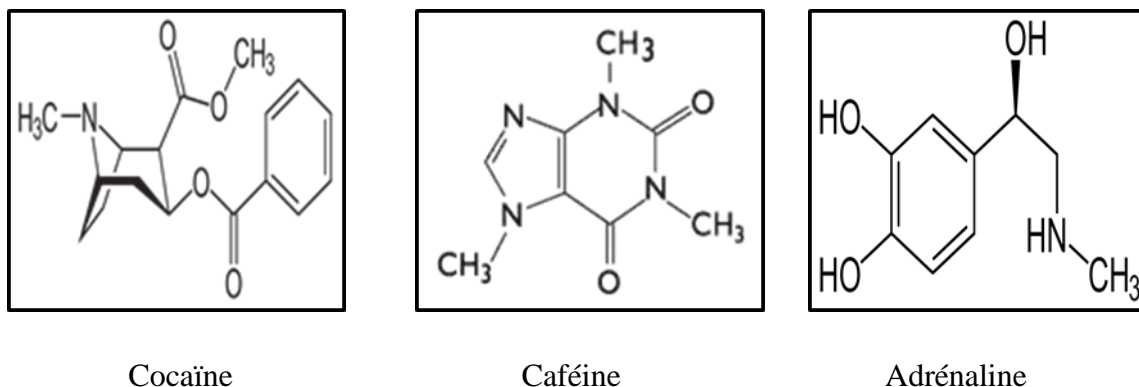
Les alcaloïdes vrais représentent le plus grand nombres d'alcaloïde qui sont toxiques. Ils sont bio synthétiquement formés à partir d'un acide aminé et comporte un atome d'azote dans un système hétérocyclique, exemple cocaïne (**Fattah, 2019**).

#### **Pseudo-alcaloïdes**

Représentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas dérivés des acides aminés, exemple : caféine (**Fattah, 2019**).

#### **Proto-alcaloïdes**

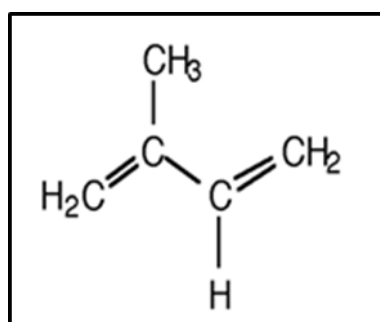
Sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans le système hétérocyclique, exemple : adrénaline (**Fattah, 2019**).



**Figure 11** : Structures de quelques alcaloïdes (**Fattah, 2019**).

#### I.2.6.2.2.3. Terpénoïdes

Parmi les métabolites secondaires végétaux, les terpénoïdes sont un groupe structurellement le plus diversifié et le plus abondants, ils sont couramment présente dans les plantes supérieures et plus de 23000 structures individuelles ont été identifiées. Les terpénoïdes sont produites dans les tissus végétatifs des fleurs et parfois les racines, ils fonctionnent comme phytoalexines dans la défense directe des plantes, jouent un rôle important dans les interactions plante-insecte et plante-pathogène (**Ai-Xia Cheng et al. 2007**). Malgré leur diversité tous les terpènes possèdent en commun une voie de biosynthèse appelé la voie de l'acide mévalonique. Les terpénoïdes sont des substances constituées d'isoprène à 5 atomes de carbones  $C_5H_8$  (5-carbones 2-méthyl 1, 3-butadiène) ; par conséquent ils sont également appelé isoprénoïde (**Hopkins, 2003**).



**Figure 12** : Structure de la méthyl butadiène (**Hopkins, 2003**).

Ils sont divisés sur la base de leur squelette carbonique ; le tableau 3 donne un aperçu : (**Graßmann, 2005**).

Tableau 03 : Classes des terpénoïdes (Graßmann, 2005).

Terpénoïdes	Nombre d'atomes de C	Nombre de sous unités d'isoprènes
Monoterpènes	10	2
Sesquiterpènes	15	3
Diterpènes	20	4
Triterpènes	30	6
Tétraterpènes	40	8
Polyterpènes	>40	>8

#### I.2.6.3. Localisation et répartition de l'espèce *Marrubium vulgare*

Le *Marrubium vulgare* est une plante commune dans toute l'Algérie et presque dans toute l'Europe, Afrique de Nord, Afrique de Sud-ouest et Asie centrale, et surtout très répandue dans toute l'aire méditerranéenne notamment au Maroc (Hayat, 2020), et en Tunisie (Boulila, 2015), Libye (EL-Hawary *et al.* 2013) et Egypte (Said-Al Ahl *et al.* 2015).

En ce qui concerne les paramètres édaphiques *Marrubium vulgare* colonise principalement les sols secs et bien drainés et ne tolère pas les terres gorgées d'eau. On le trouve dans les champs abandonnés, le long des bords des routes (Nedjimi *et al.* 2020), les terrains vagues et prairies chaude et sèches (De Souza *et al.* 1998). Dans la steppe algérienne, cette espèce préfère l'Aridosol (sol calcimagnésique xérique) à croute calcaire (Nedjimi *et al.* 2020), les sols légers, moyennement à fortement riches en matière organique, peut humide à PH légèrement alcalin (Bouterfas *et al.* 2013).

#### I.2.6.4. Utilisation de la plante

*M. vulgare* est une plante médicinale utilisée dans la médecine populaire de nombreux pays pour le traitement d'une variété des maladies, y compris les troubles inflammatoires, gastro-intestinaux et respiratoires (Nawal *et al.* 1996), aussi les maladies urinaire, otites et ophtalmies (Bouterfas *et al.* 2013), et les maladies rénales (Schlempher *et al.* 1996). Elle est

également employée comme antinociceptif (**Dejesus et al. 2000**), antihypertenseur (vasorelaxant) (**El bardai et al. 2004**), antispasmodique (**Rigano et al. 2009**), antioedematogénique (**Stulzer et al. 2006**), analgésique (**Meyre-silva et al. 2005**), insecticide (**Pavela, 2004**), Anti-inflammatoire (**Sahpaz, 2002**), Antimicrobien (**Boutlelis et al. 2012**), antioxydant (**Weelet et al. 1999**), antifongique, et dans de nombreuses autres activités biologiques (**Boutlelis et al. 2012**).

Marrube blanc est caractérisé par plusieurs propriétés. Elle est surtout antitussif connu comme un remède contre la toux, présents dans le sirop et préparations de thé. Encore peut être utilisée comme un lavage ou une préparation de pommade pour désinfecter les plaies (**Karryev et al. 1976 ; Pukalskas et al. 2012 ; Yousefi et al. 2013 ; Bouterfas et al. 2016**).c'est une stimulant général de l'appétit (**Boutlelis et al. 2012**).

En Algérie, cette plante est actuellement utilisée par les guérisseurs traditionnels seuls ou en association avec d'autres herbes pour traiter (**Boudjelal et al. 2012**) : le rhumatisme (**Belhattab et al. 2006**), l'asthme bronchique, la toux et le rhume et d'autres infections respiratoires. Les feuilles et les tiges sont utilisées comme antidiabétique, antiseptique, antispasmodique, diurétique, et dans le cas de dyspepsie fortement expectorante et tonique. (**Boudjelal et al. 2012**).

### **I.2.6.5. Forme d'utilisation**

Le décocté de la plante est employé en inhalation contre la rhinite allergique. La plante en infusion, est utilisée contre les ictères, le cancer et les rhumatismes (**El Azzouzi., Zidane, 2015**).

### **I.2.6.6. Toxicité**

C'est une plante amère à caractère salin et ne peut donc pas être toléré s'il y a une gastroentérite ou des situations de nausées ou de vomissement ou encore en cas de dyspepsie (**Aouadhi, 2010**).

### **I.2.6.7. contre-indications**

Une dose standard de Marrube à un effet normalisant sur les arythmies extrasystoliques, alors que des doses excessivement élevée peuvent perturber le rythme cardiaque.

L'utilisation du Marrube pendant la grossesse n'est pas recommandée sauf sous la supervision d'un professionnel de la santé qualifié parce qu'elle pourrait avoir une action abortive (Gardner., MacGuffin, 2013).

### I.3. Activité antioxydant

#### I.3.1. Stress oxydant

L'oxygène, molécule indispensable à la vie, est susceptible d'entraîner des effets dommageables dans l'organisme via la formation de radicaux libres et d'espèces oxygénées activées (EOA) (Haleng *et al.* 2007). Il peut également se révéler toxique. Cette toxicité porte un nom : le stress oxydant (Dubois, 2015).

Le stress oxydant est une circonstance anormale que traversent parfois nos cellules ou un de nos tissus lorsqu'ils sont soumis à une production, endogène ou exogène, de radicaux libres oxygénés qui dépasse leurs capacités anti oxydantes (Favier, 2006). donc Le stress oxydant se définit par un déséquilibre entre la production d'espèces radicalaires (ou réactives) de l'oxygène (ERO) et les capacités cellulaires anti oxydantes (Migdal., Serres, 2011), en faveur des premières. Notre mode de vie (tabagisme, alcoolisme, obésité, exercice physique intense) et aussi nos mauvaises habitudes alimentaires, augmentent de façon anormale la production des EOA dans notre organisme (Haleng *et al.* 2007).

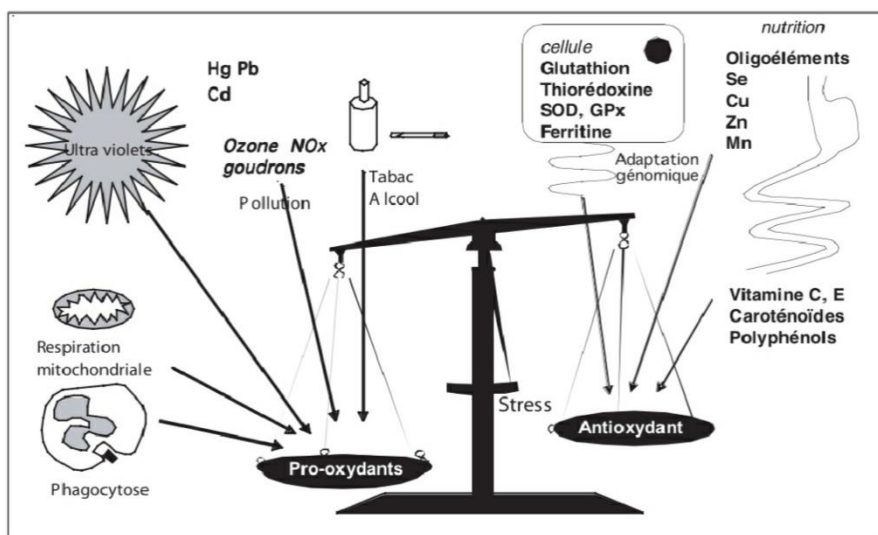


Figure 13 : Balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants (Haleng *et al.* 2007).

### **I.3.1.2. Conséquences de stress oxydant**

L'excès de radicaux libres non neutralisés par les défenses est très dommageable pour les macromolécules essentielles de nos cellules, entraînant anomalies d'expression des gènes et des récepteurs membranaires, prolifération ou mort cellulaire, troubles immunitaires, mutagenèse, dépôts de protéines dans les tissus. Dans plusieurs maladies graves, notamment celles liées au vieillissement, le stress oxydant est le facteur déclenchant originel. C'est le cas des cancers, des pathologies oculaires, des maladies neurodégénératives (ataxies, sclérose latérale, maladie d'Alzheimer). Dans de nombreuses autres maladies, le stress oxydant est secondaire à l'établissement de la pathologie, mais participe à ses complications immunitaires ou vasculaires. C'est le cas de maladies infectieuses comme le sida ou le choc septique, le diabète (Favier, 2006).

### **I.3.1.3. Comment lutter contre le stress oxydant ?**

D'après (Favier, 2003) Le stress oxydant étant à l'origine de nombreuses maladies, il semble logique de chercher à le supprimer soit par la prévention nutritionnelle ou par les antioxydants naturels et de synthèse.

#### **Prévention nutritionnelle**

L'augmentation de l'apport nutritionnel en antioxydants visera donc essentiellement à prévenir ces maladies, L'alimentation contient un grand nombre d'antioxydants, non seulement les vitamines (E, C, Q et  $\beta$  carotène) et les oligo-éléments (sélénium, cuivre, zinc), mais aussi 600 sortes de caroténoïdes, 4 000 polyphénols et flavonoïdes (trouvés dans le thé, le vin, les céréales, les fruits), des alcaloïdes, des acides organiques, des dérivés soufrés de l'ail et de l'oignon.

#### **Antioxydants naturels et de synthèse**

Ces antioxydants non nutritionnels comprennent des produits naturels extraits de plantes, des produits extraits d'animaux et des produits de synthèse imitant les enzymes, chélatant le fer ou piégeant les radicaux. Les dérivés végétaux sont extrêmement nombreux, Ils appartiennent à de nombreuses familles chimiques, Les plus utilisés sont la quercétine (chef de file des flavonoïdes). Les chélateurs du fer ont été très étudiés mais sa faible durée de vie, comparée à celle du médicament, diminue son efficacité. Aussi les chimistes ont fabriqué un grand nombre de molécules à propriétés superoxydes dismutases, dits « SOD likes », basées sur des complexes de cuivre, de fer ou de manganèse.

### I.3.2. Radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique, molécule ou simple atome, capable d'avoir une existence indépendante (libre) en contenant un ou plusieurs électrons célibataire (électron non apparié sur sa couche externe). Cela lui confère une grande réactivité donc une demi-vie très courte. En effet, ce radical libre aura toujours tendance à remplir son orbitale en captant un électron pour devenir plus stable (**Goudable., Favier, 1997**).

#### I.3.2.1. Espèces réactives d'oxygènes

Les ERO sont des espèces chimiques dérivant du dioxygène  $O_2$ , par réduction (**Gardès-Albert, 2006**). Tandis que les ERN sont dérivés de l'azote et l'oxygène, en particulier l'oxyde nitrique (NO) (**Ye et al. 2015**).

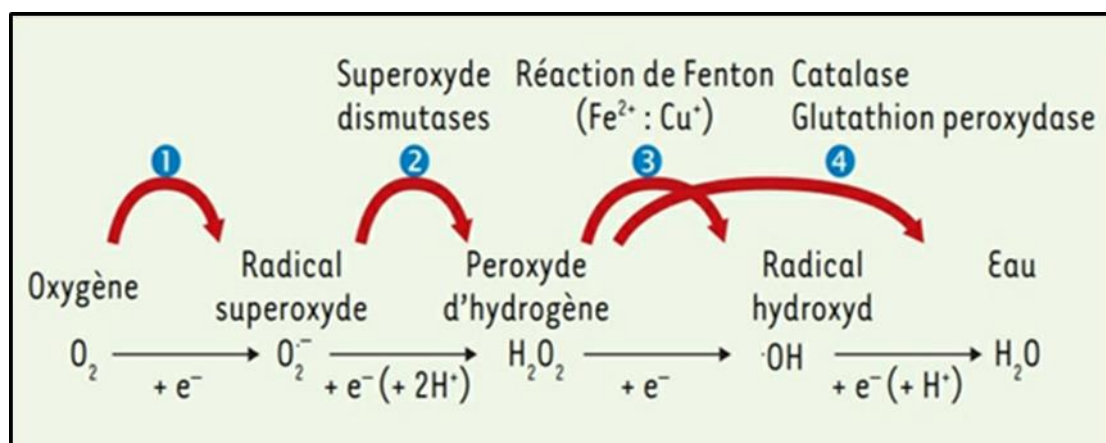
Le terme espèces réactives de l'oxygène (ERO) est un nom collectif qui inclut non seulement les radicaux libres de l'oxygène ( $O_2^{\bullet-}$ ,  $HO^{\bullet}$ ,  $RO^{\bullet}$ ,  $CO_2^{\bullet-}$ ) mais aussi plusieurs espèces non radicalaires ( $H_2O_2$ ,  $O_3$ ,  $ONOO^-$ ) aux capacités oxydantes et contenant un ou plusieurs atomes d'oxygène (**Dubois, 2015**). Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de l'azote (ERN) produites par les cellules ont été longtemps vues comme des produits toxiques du métabolisme pouvant altérer les constituants lipidiques, protéiques ou le DNA de la cellule (**Beaudeau et al. 2006**).

**Tableau 04** : Espèces réactives radicalaires et non radicalaires.

ERO /ERA	Symbole chimique	Propriétés
L'anion superoxyde	$O_2^{\bullet-}$	Les $O_2^{\bullet-}$ sont les principales espèces ROS. Il résulte d'une réduction électronique d' $O_2$ par diverses oxydases telles que la NADPH oxydase. Il peut également se former dans la chaîne du transport d'électron mitochondrial ( <b>Lanciano et al. 2013</b> ).
Le radical hydroxyle	$OH^{\bullet}$	L'espèce radicalaire la plus réactive de l'oxygène, à une demi-vie extrêmement courte, capable de réagir très rapidement avec la plupart des biomolécules ( <b>Bartosz, 2003</b> ).
Monoxyde d'azote (oxyde nitrique)	$NO^{\bullet}$	Synthétisé dans les cellules endothéliales à partir de l'arginine et l' $O_2$ grâce à l'action d'enzymes NO synthase. $NO^{\bullet}$ Peut se combiner rapidement avec $O_2^{\bullet-}$ pour former $ONOO^-$ ( <b>Lismont et al. 2015</b> ).
Le peroxyde d'hydrogène	$H_2O_2$	formé à la dismutation de $O_2^{\bullet-}$ par le superoxyde dismutase. En présence de métaux de transition (fer et cuivre), l' $H_2O_2$

donne naissance via la réaction de Fenton à un radical hydroxyle HO• hautement réactif (Birben *et al.* 2012).

**Peroxydrite** ONOO- Un composé extrêmement réactif et toxique, responsable de l'oxydation de nombreuses biomolécule (Lismont *et al.* 2015).



**Figure 14 :** Quatre étapes de la réduction de l'oxygène et la formation des intermédiaires partiellement réduits sont détaillées (Migdal., Serres, 2011).

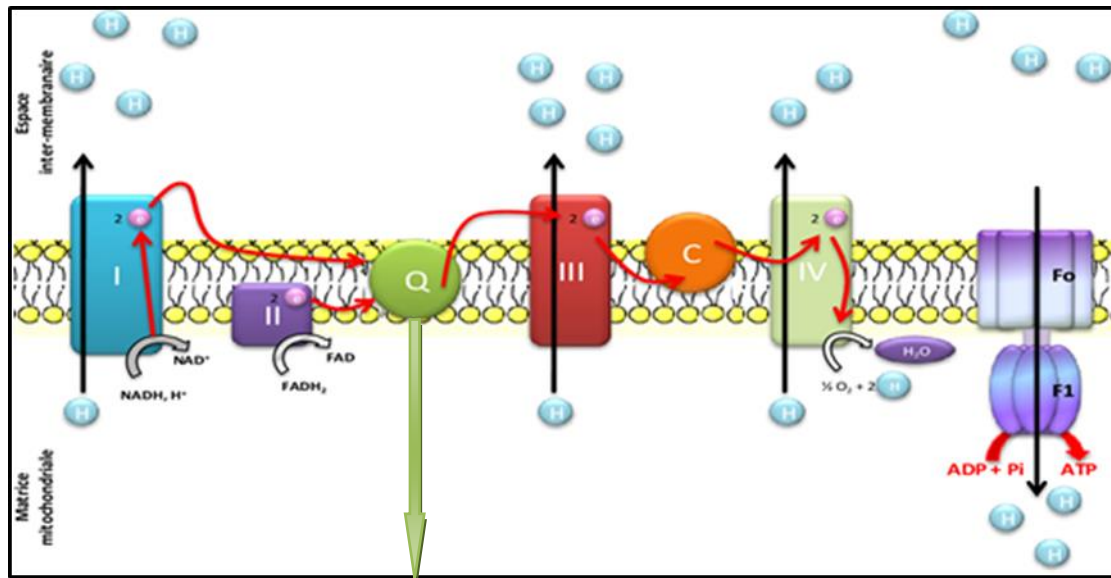
### I.3.2.2. Sources des radicaux libres

#### I.3.2.2.1. Sources endogènes

##### Mitochondries

L'énergie métabolique issue du catabolisme oxydatif des glucides, lipides et protéines est utilisée pour la formation de coenzymes réduits (NADH, H<sup>+</sup>) et de flavoprotéines réduites (FADH<sub>2</sub>). La chaîne mitochondriale de transport des électrons oxyde ces coenzymes réduits et libère de l'énergie servant à la synthèse d'ATP. L'oxydation de ces coenzymes s'accompagne d'une perte de protons et d'électrons qui, par l'intermédiaire de différents complexes la chaîne de transport, sont ensuite transférés à l'oxygène moléculaire O<sub>2</sub>, accepteur terminal de la chaîne. La fuite des électrons dans cette chaîne de transport peut intervenir aux niveaux des complexes I et III, semble être la source majoritaire d'ERO dans la cellule (Beaudeau *et al.* 2006).





ROS

**Figure 15** : Chaîne respiratoire mitochondriale dite de « phosphorylation oxydative ».

Q : coenzyme Q ou ubiquinone ; CytC : cytochrome *c* (**Dubois, 2015**).

### NAD(P) H oxydase (NOX)

La NOX est une enzyme membranaire qui catalyse la réduction mono électronique de l'oxygène en utilisant le NADPH, H<sup>+</sup> ou le NADH, H<sup>+</sup> comme donneur d'électrons (**Migdal., Serres, 2011**). Son niveau d'activité varie selon le type cellulaire et l'activité de la cellule : la production d'anion superoxyde O<sub>2</sub><sup>•-</sup> de la NAD(P) H oxydase granulocytaire est beaucoup plus importante (quasiment instantané) que celle des cellules non phagocytaires (tardive quelque minute à quelque heures) (**Beaudeux et al. 2006**).

### Xanthine oxydoréductase

La xanthine oxydoréductase (XOR) est une molybdo-enzyme qui catalyse l'oxydation de l'hypoxanthine en xanthine au cours du métabolisme des purines.

La XOR, existe sous deux formes : la xanthine deshydrogénase (XDH) qui prédomine *in vivo*, et la xanthine oxydase (XO). La réduction de O<sub>2</sub> par la XO ou la XDH permet la formation de O<sub>2</sub><sup>•-</sup>, secondairement pris en charge par le superoxyde dismutase cytosolique et génère la formation de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, lui-même à l'origine de la formation de radicaux hydroxyle, ou neutralisé par la catalase. Par ailleurs, la XOR peut catalyser, en anaérobiose, la réduction des nitrates en nitrites et des nitrites en NO<sup>•</sup>. La XOR est donc une source potentielle de •NO permettant ainsi, lors de la production concomitante d'O<sub>2</sub><sup>•-</sup>, la formation de peroxy-nitrite (**Beaudeux et al. 2006**).

### **Peroxisomes**

Les peroxysomes sont l'un des principaux sites de production intracellulaire de  $H_2O_2$  car ils contiennent de nombreuses enzymes produisant  $H_2O_2$  (**Del Río et Lopez-Huertas, 2016**) renferment (glycolate oxydase, hydroxyacide oxydase, acylCoA oxydase...) (**Beaudeau et al, 2006**). Aussi les peroxysomes contiennent deux sources de production de  $O^{\bullet-2}$  et le  $NO^{\bullet}$  : la xanthine déshydrogénase (XDH) et la forme inducible de NOS (**Lismont et al. 2015**).

### **NO synthases**

Les NOs sont, quant à elles, à l'origine de la synthèse du radical  $NO^{\bullet}$  par la transformation de la L-arginine en L-citruline en présence de NADPH et de dioxygène. Mais elles peuvent aussi dans certaines conditions (faible concentration en L-arginine) produire des anions superoxyde (**Beaudeau et al, 2006**).

### **Lipoxygénases (LOX) et cyclo-oxygénases (COXs)**

Représentent une autre importante source de ROS. Les lipoxygénases catalysent l'oxydation des acides gras polyinsaturés pour donner des hydroperoxydes d'acides gras insaturés. La 5-LOX intervient dans la formation du  $H_2O_2$  par les lymphocytes T après la ligature du récepteur CD 28 et en réponse à l'interleukine-1  $\beta$ . Aussi les cyclo-oxygénases sont impliquées dans la production des ROS dans les cellules stimulées par le  $TNF-\alpha$ , l'interleukine-1... Le COX2 est inducible notamment pendant une inflammation (**Droge, 2002**).

#### **I.3.2.2.2. Sources exogènes**

En plus des sources endogènes, il existe des sources exogènes liées le plus souvent à une mauvaise hygiène de vie. Parmi ces sources exogènes, on peut citer le tabagisme, l'alcool, ainsi que des agents physiques tels que les UV, la chaleur ou encore divers polluants. (**Pisoschi et Pop, 2015**). Les polluants de l'air, comme le goudron, les émissions des véhicules à moteur et les contaminants industriels (amiante, silice) constituent une importante source de ERN tels que le  $NO^{\bullet}$  et le  $NO^{\bullet-2}$ . Certains métaux (chrome, cuivre et fer) génèrent des radicaux hydroxyles très réactifs (**Koren, 1995**). Le métabolisme in vivo de certains xénobiotiques (toxines, pesticides et herbicides), de nombreux médicaments (antibiotiques, anticancéreux...) peut contribuer à la production des ROS (**Martínez-Cayuela, 1995**).

### I.3.2.3. Cibles et conséquences des radicaux libres

#### Peroxydation lipidique

Les lipides sont la cible privilégiée des ERO : un radical hydroxyle réagit avec une chaîne d'acide gras insaturé (LH) et produit un radical d'acide gras et une molécule d'eau. Le radical d'acide gras n'est pas stable, dans la phase de propagation il a tendance à réagir avec l'O<sub>2</sub> pour produire un radical peroxyde lipidique (LOO•) (Kardeh *et al.* 2014). Suffisamment réactif pour déclencher une réaction en chaîne sur les acides gras voisins : c'est la lipo-péroxydation des membranes cellulaires (Tsimikas *et al.* 2005). Cette molécule générée réagit ensuite avec un autre acide gras insaturé et produit un autre radical d'acide gras et un peroxyde lipidique (LOOH). Ce dernier est très réactif, il fournit une grande variété de produits actifs qui peuvent réagir avec les protéines et l'ADN (Kardeh *et al.* 2014).

La réaction en chaîne de la peroxydation lipidique qui provoque une altération de la fluidité membranaire qui conduit inévitablement à la mort cellulaire (Tsimikas *et al.* 2005) peut être prévenue par la vitamine E intercalée dans la bicouche lipidique des membranes qui joue le rôle de donneur d'hydrogène. En effet, la vitamine E transforme les radicaux peroxydes en hydroperoxydes et met fin à la réaction en chaîne de peroxydation, c'est la phase de terminaison (Badouard, 2006).

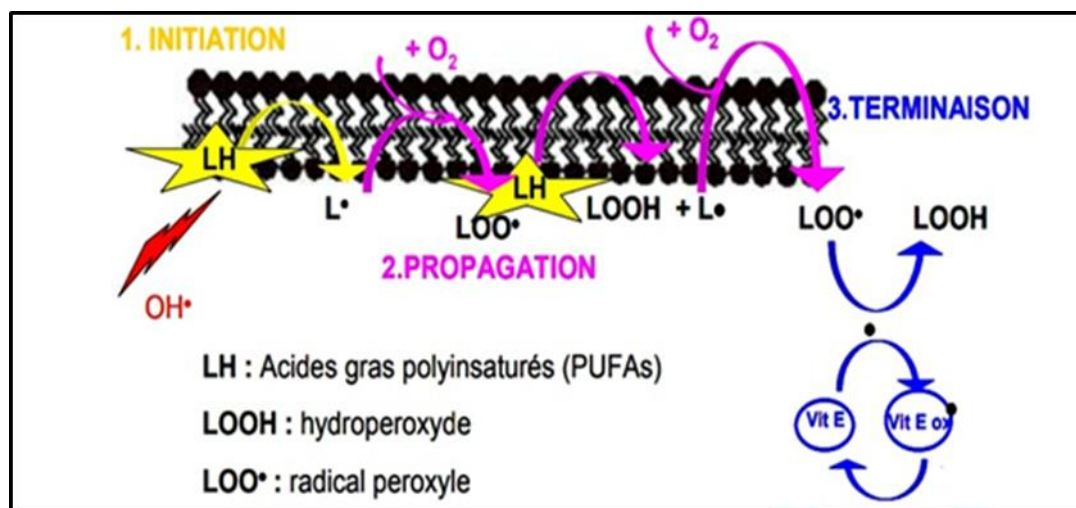


Figure 16 : Réactions de la peroxydation lipidique (Badouard, 2006).

#### Oxydation des protéines

Les protéines sont susceptibles d'être oxydées par les ROS. Cette oxydation peut rompre les liaisons peptidiques modifiant ainsi la chaîne protéique. Le dommage des protéines peut se produire par une carbonylation, une fragmentation ou un mauvais repliement

(Pisoschi et Pop, 2015). La plupart de ces dommages sont irréparables et peuvent entraîner des modifications fonctionnelles importantes (non reconnaissance d'un récepteur par un ligand, perte d'activité enzymatique) (Haleng *et al.* 2007).

Tous les acides aminés sont sensibles à l'oxydation, en particulier, la cystéine et la méthionine sont facilement oxydables (Raedschelders *et al.* 2012; Pisoschi et Pop, 2015). L'oxydation de la lysine, la proline, l'arginine et la thréonine donne des dérivés carbonylés qui sont utilisés comme marqueurs du stress oxydant (Pisoschi et Pop, 2015).

L'oxydation des protéines est impliquée dans plusieurs pathologies telles que les maladies neurodégénératives, la dystrophie musculaire, et le vieillissement (Favier, 2003 ; Goto et Radak, 2013; Bordt et Polster, 2014; Pisoschi et Pop, 2015; Moniczewski *et al.* 2015).

### **Dommages d'ADN**

Bien que l'ADN soit la mémoire de toute la composition biochimique des êtres vivants, il s'agit d'une molécule très sensible à l'attaque par les radicaux de l'oxygène (favier, A., 2003).

L'hydroxylation des bases puriques et pyrimidiques représentent les altérations les plus communes de l'ADN nucléaire et mitochondrial attaqués par les ROS (Raedschelders *et al.* 2012; Kardeh *et al.* 2014). Une des altérations fréquentes de l'ADN est l'oxydation de la guanine par le radical hydroxyle formant la 8- hydroxy-2'-désoxyguanosine (8-OH-dG) qui au lieu de s'apparier avec la cytosine, s'assoiera avec l'Adénine. Entraînant des mutations au sein de l'ADN et conduisant à des altérations du message génétique impliquées dans le déclenchement du cancer et le vieillissement (Haleng *et al.* 2007).

### **I.3.3. Antioxydants**

Notre organisme est équipé de tout un système complexe de défenses antioxydantes enzymatiques et non enzymatiques. Un antioxydant (AOX) est une substance qui inhibe ou retarde significativement l'oxydation d'un substrat, alors qu'elle présente une concentration très faible dans le milieu où elle intervient (Berger, 2006).

#### **I.3.3.1. Types et sources des antioxydants**

##### **I.3.3.1.1. Antioxydants endogènes**

##### **Antioxydants endogènes enzymatiques**

Tableau 05 : Système antioxydant enzymatique.

Enzyme	Mode d'action
Superoxyde dismutases (SOD)	Assurant l'élimination de l'O <sub>2</sub> <sup>•-</sup> par une réaction de dismutation en le transformant en H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> et en O <sub>2</sub> (Fukai et Ushio-Fukai, 2011). $2 O_2^{\bullet-} + 2 H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$
Glutathion peroxydase (GPxs)	Toutes les enzymes GPX catalysent la réduction du H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ou de l'hydroperoxyde organique (ROOH) à l'eau (H <sub>2</sub> O) et l'alcool (ROH) respectivement, en utilisant une le glutathion (GSH) comme donneur d'électrons (Powers., Jackson, 2008). $2GSH + H_2O_2 \rightarrow GSSG + 2H_2O$ $2GSH + ROOH \rightarrow GSSG + ROH + H_2O$
Catalase	La Catalase (CAT) remplit plusieurs fonctions biochimiques, mais le but principal de CAT est de catalyser la dismutation d'H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> en H <sub>2</sub> O et O <sub>2</sub> (Powers., Jackson, 2008). $2 H_2O_2 \rightarrow 2 H_2O + O_2$
La thiorédoxine réductase	La TrxR intervient dans la dégradation des peroxydes lipidiques et du peroxyde d'hydrogène, ainsi que dans la régénération du radical ascorbyl en acide ascorbique (Haleng <i>et al.</i> 2007).

### Antioxydants endogènes non enzymatiques

Cette classe regroupe des composés endogènes de faible poids moléculaire qui peuvent être soit des produits de synthèse comme le (glutathion) ou issus du métabolisme cellulaire (acide urique) (Martinez-Cayuela, 1995).

#### Acide urique

Produit terminal majeur de métabolisme des purines chez l'homme, c'est un piègeur puissant de radicaux (hydroxyles OH<sup>•</sup> et peroxydes ROO<sup>•</sup>) (Haleng *et al.* 2007).

#### Coenzyme Q

Le coenzyme Q est un composé qui se situe dans les membranes cellulaires, il appartient à la chaîne respiratoire mitochondriale. Il inhibe la peroxydation lipidique en empêchant la production des radicaux lipidiques peroxydes (LOO<sup>•</sup>). Son effet antioxydant s'exerce aussi au niveau de l'ADN et des protéines, étant donné que le coenzyme Q est le seul antioxydant liposoluble endogène (Bentinge *et al.* 2010).

### Glutathion

Est un tripeptide (acide glutamique-cystéine-glycine) .il est le thiol (-sh) majoritaire au niveau intracellulaire (l'albumine étant son équivalent plasmatique).le glutathion présent sous forme reduite GSH dans les conditions physiologiques mais lors d'un stress oxydant, le GSH est oxydé en GSSG. Le GSH est considéré comme un excellent biomarqueur de la peroxydation lipidique et possèdent des autres propriétés anti oxydantes telle que : cofacteur de la GPX (**Haleng, et al. 2007**).

#### I.3.3.1.2. Antioxydants exogènes

##### Vitamine C

La vitamine C ou acide L-ascorbique est considérée comme le plus important antioxydant .Elle agit directement sur les ROS (elle peut neutraliser les radicaux superoxydes, hydroxyle, pyroxinitrite et peroxyde) (**Esposito et al. 2002**) et indirectement par son action de régénération de la vitamine E et du GSH. A forte dose, la vitamine C peut exercer une action pro-oxydante via son habilité à réduire l'ion ferrique (Fe<sup>3+</sup>) en ion ferreux (Fe<sup>2+</sup>), qui participe aux réactions de Fenton/Haber-Weiss (**Sayre et al. 2005**).

##### Vitamine E

Ce terme désigne un ensemble d'isomères, les tocophérols. D'un point de vue biologique, deux isomères sont particulièrement intéressants, l' $\alpha$ - et le  $\gamma$ -tocophérol. Leur caractère hydrophobe permet de s'insérer au sein des membranes riches en acides gras polyinsaturés, où ils jouent un rôle protecteur en réagissant avec les radicaux peroxydes (ROO $\bullet$ ) pour former un radical tocophéryle, empêchant ainsi la propagation de la peroxydation lipidique (**Haleng et al. 2007**). La vitamine E peut aussi activer les SOD et les catalases (**Margaritis et al. 2003; Lyn Patrick, 2006**).

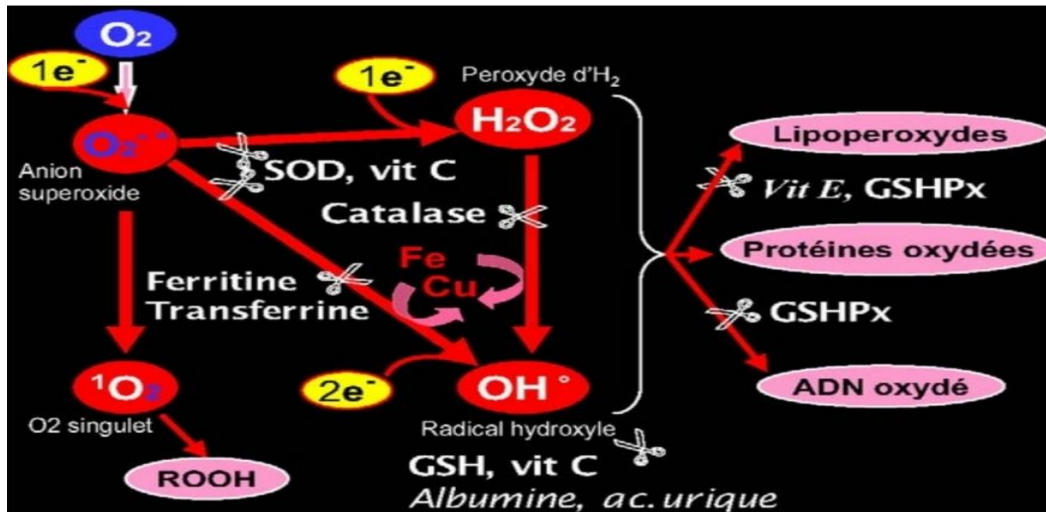
##### Caroténoïdes

Plus de 600 caroténoïdes différents ont été isolés à partir de sources naturelles, mais seul un petit nombre d'entre eux se retrouvent dans le sang et les tissus animaux. Le chef de file des caroténoïdes est cependant le  $\beta$ -carotène, également appelé provitamine A (**Haleng et al. 2007**). Les caroténoïdes sont capables d'inactiver l'O<sub>2</sub> $\bullet$ -et les RLs en neutralisant l'électron non apparié, les transformant ainsi en molécules ou ions stables (**Tanumihardjo, 2013**).

##### Oligoéléments

Le cuivre (Cu), le zinc (Zn) et le sélénium (Se) ce sont des métaux essentiels dans la défonce contre le stress oxydant .toutes les enzymes anti oxydantes besoin un cofacteur pour

maintenir leurs activités catalytiques. Ainsi, la SOD à besoin de zinc (Zn) et Le cuivre (Cu) comme cofacteurs. le cytochrome C oxydase, la dopamine β-hydroxylase ont besoin de cuivre (Cu) et le sélénium est un cofacteur de la GPx (**Haleng et al. 2007**).



**Figure 17** : Aperçu des différentes espèces oxygénées activées (EOA) et des antioxydants Régulateurs de leurs productions (**Berger, 2006**).

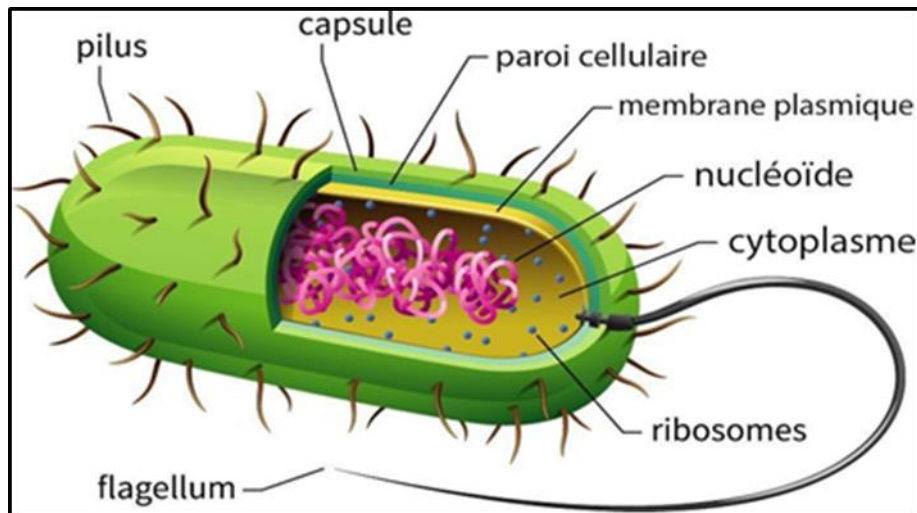
#### I.4. Activité antibactérienne

La relation entre l'homme et les microorganismes est très problématique, elle peut aller de la symbiose à la pathogénèse entraînant comme conséquence majeure la mort (**Kombo, 2017**). La résistance aux antibiotiques atteignant le point de crise dans beaucoup d'hôpitaux autour du monde, il y a des besoins urgents de compléter le niveau de notre arsenal d'agents anti-infectieux (**Ghedadba et al. 2014**) (des composés antimicrobiens et/ou inhibiteurs de mécanisme de résistances au antibiotiques). Les plantes médicinales, constituent une source potentielle de ce type de composés (**Bouharb et al. 2014**).

##### I.4.1. Définition des bactéries

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires, de petite taille (1µm de diamètre) entourées par une paroi complexe, différente selon que la bactérie est à Gram positif ou négatif. Ce sont des cellules procaryotes, c'est à dire des cellules dont le génome est constitué d'ADN. Celui-ci consiste en un seul chromosome et qui est dépourvue de membrane nucléaire, et on note éventuellement la présence de plasmide (petit morceau d'ADN circulaire extra chromosomique). Le cytoplasme des bactéries est également dépourvu d'appareil mitotique. Aussi n'a pas des organites intracellulaires (mitochondrie, pas de réticulum endoplasmique et pas d'appareil de golgi) mais il est contient des ribosomes, des substances

de réserve et des vacuoles. A côté de ces éléments constants, la cellule bactérienne peut posséder des flagelles, des pili et une capsule à l'extérieur de la paroi (**Hart., Shears, 1996**).

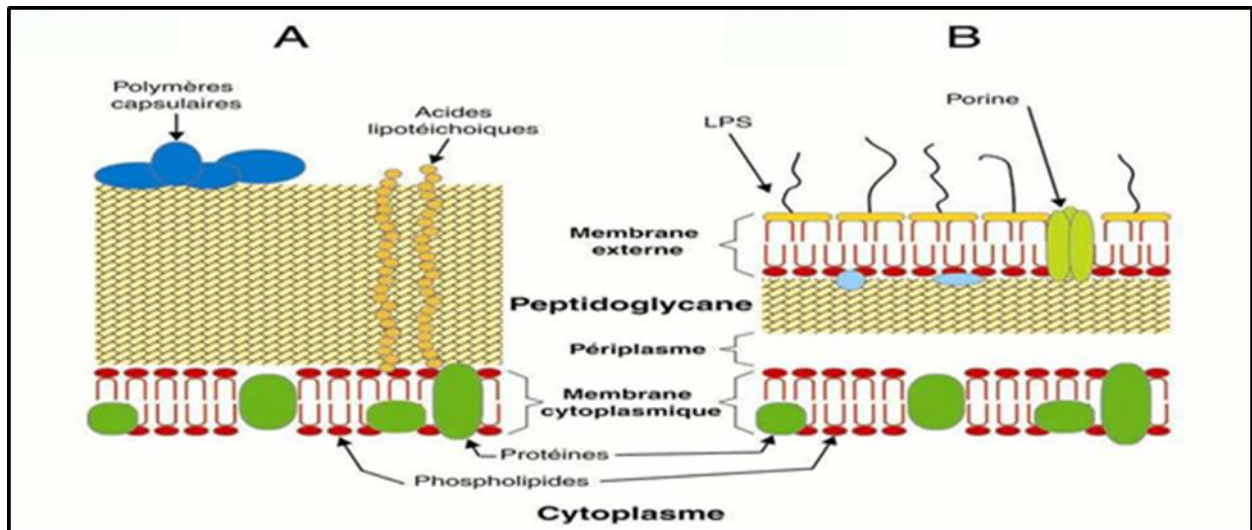


**Figure 18** : Structure d'une cellule procaryote (**Juffé, 2010**).

#### **I.4.2. Notion Gram positif et négatif**

La distinction entre bactéries Gram positif et bactérie Gram négatif repose sur une différence de composition pariétale. La paroi bactérienne est une structure semi-rigide conférant forme et rigidité à la cellule et protégeant la membrane plasmique. Elle est composée d'un réseau macromoléculaire, le peptidoglycane. Le peptidoglycane est constitué d'une répétition d'un disaccharide, formant des chaînes reliées entre elles par des polypeptides. Cette assemblage en treillis enveloppe toute la cellule et lui confère une résistance suffisante. Ainsi l'absence de cette paroi provoque rapidement une lyse cellulaire (**Coumes Florens, 2011**).





**Figure 19** : Représentation schématique de l'enveloppe cellulaire des bactéries Gram-positives (A) et Gram-négatives (B) (Muylaert., Mainil, 2012).

Les deux types d'enveloppe possèdent une membrane cytoplasmique (interne) composée d'une double couche de phospholipides (en rouge) et de protéines (en vert foncé). A : Chez les bactéries Gram positives, des polymères d'acides techoïque traversent l'épaisse couche de peptidoglycane (PG) qui est le composant majoritaire de la paroi, des polymères capsulaires peuvent être présents à sa surface. B : Les bactéries Gram-négatives possèdent une couche plus fine de PG entourée par une membrane externe composée de phospholipides, de lipopolysaccharides (LPS), de lipoprotéines (en bleu clair) et de porines (en vert clair) régulant le passage de molécules à travers cette membrane. L'espace entre la membrane cytoplasmique et le peptidoglycane correspond à l'espace périplasmique (Hart., Shears, 1996).

### I.4.3. Antibiotiques

#### I.4.3.1. Définition

Les composés utilisés à des fins thérapeutiques lors de maladies bactériennes chez l'homme et les animaux sont fréquemment appelés, par les professionnels de la santé ainsi que par les antibiotiques (Muylaert., Mainil, 2012).

Du Grec anti signifiant « contre » et bios « la vie » (Chardon., Brugere, 2014), les antibiotiques sont des substances chimiques d'origine biologique, c'est à dire produite par des micro-organismes (champignons microscopiques et bactéries) ou de synthèse chimique et qui est capable d'inhiber la multiplication bactérienne ou de détruire d'autres micro-organismes

(Yala *et al.* 2001). Les antibiotiques sont des médicaments qui permettent de lutter efficacement contre des infections bactériennes (Chardon., Brugere, 2014).

### I.4.3.2. Effets des antibiotiques

Les agents antibactériens nouvellement découverts sont testés *in vitro* non seulement pour leur capacité à inhiber les bactéries, mais aussi pour déterminer si le nouvel agent a effectivement tué les bactéries (Pankey., Sabath, 2004).

#### I.4.3.2.1. Effet bactériostatique et bactéricide

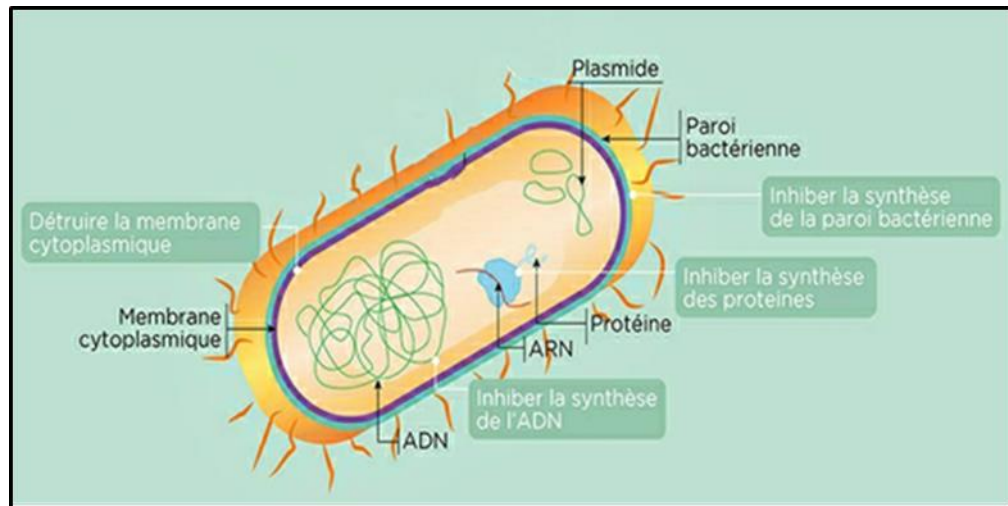
La distinction entre les antibiotiques bactéricides et antibiotiques bactériostatiques est un concept réussi de distinguer les antibiotiques qui tuent les bactéries « bactéricides » à partir d'antibiotiques qui inhibent la croissance bactérienne, c'est-à-dire « bactériostatique ». Le concept intuitivement compréhensible entre les deux groupes d'antibiotiques suggère que les drogues bactéricides ont des antibactériens plus puissants et sont capables de tuer les bactéries. En revanche, on suppose que les antibiotiques bactériostatiques nécessitent des cellules phagocytaires pour éliminer définitivement les bactéries et sont donc considérés comme moins efficaces sans une réponse immunitaire efficace (Nemeth *et al.* 2014).

Ce modèle théorique a conduit à la recommandation selon laquelle gravement malade et immunodéprimées les patients atteints des infections bactériennes devraient être traités avec des antibiotiques bactéricides en outre, certaines conditions spécifiques nécessiteraient également des antibiotiques bactéricides tels que l'endocardite. Les valves cardiaques sont considérées comme focales, régions immunodéprimées mal accessibles pour des cellules phagocytaires. Donc une destruction indépendante des phagocytes par des médicaments bactéricides est généralement recommandée dans de telles circonstances (Nemeth *et al.* 2014).

#### I.4.3.3. Cibles des antibiotiques

- **Paroi bactérienne** : c'est le cas pour les bêtalactamines. Elles entravent la formation de la paroi bactérienne en se fixant sur des enzymes indispensables à la synthèse du peptidoglycane appelées protéines de liaison à la pénicilline (PLP) (Gutmann., Williamson. 1987), cette action entraînant une lyse bactérienne (Yala *et al.* 2001). Les cellules eucaryotes, qui n'ont pas de peptidoglycane, ou des bactéries telles que les Archéobactéries dont la morphologie ne dépend pas de la présence de peptidoglycane, sont insensibles aux bêta-lactamines (Gutmann., Williamson. 1987).

- **Synthèse d'ADN :** La synthèse de l'ADN, la transcription de l'ARNm et la division cellulaire nécessitent la modulation du surenroulement chromosomique par rupture de brin catalysée par la topoisomérase et réactions de réintégration. Ces réactions sont exploitées par la classe des quinolones synthétiques d'antimicrobiens, y compris les fluoroquinolones cliniquement pertinentes, qui ciblent le complexe ADN-topoisomérase (**Kohanski *et al.* 2010**). Les quinolones agissent en bloquant la réplication bactérienne par inhibition de la synthèse d'ADN bactérien. Elles ont deux cibles, enzymatiques : l'ADN gyrase (cible préférentielle chez les bactéries à Gram négatif) et la topoisomérase IV (cible préférentielle chez les bactéries à Gram positif), (**Chaussade *et al.* 2013**), Les quinolones piégeant ces enzymes au stade de clivage de l'ADN et empêchant la réintégration des brins. Donc en raison de la formation du complexe quinolone-ADN- topoisomérase, la machinerie de réplication de l'ADN est arrêtée à des fourches de réplication bloquées, conduisant à l'inhibition de la synthèse de l'ADN, ce qui conduit immédiatement à la bactériostase et éventuellement à la mort cellulaire (**Kohanski *et al.* 2010**).
- **Synthèse des protéines :** Les processus de traduction de l'ARNm se produisent sur trois phases séquentielles (initiation, élongation et terminaison) qui impliquent le ribosome et une gamme des facteurs cytoplasmiques accessoires. Les médicaments qui inhibent la synthèse des protéines font partie des classes les plus larges d'antibiotiques et peut être divisé en deux sous-classes : les inhibiteurs 50S et les inhibiteurs 30S. Les inhibiteurs du ribosome 50S comprennent les macrolides (par exemple, érythromycine) et les lincosamides (par exemple, clindamycine). Ces inhibiteurs agissent en bloquant physiquement la translocation des ARNt peptidiques, qui sert à inhiber la réaction peptidyltransferase qui allonge la chaîne peptidique naissante et tous qui est concerné les inhibiteurs du ribosome 30S, ils comprennent les tétracyclines et les aminocyclitols. Les tétracyclines agissent en bloquant l'accès des ARNt d'aminocycle au ribosome (**Kohanski *et al.* 2010**).



**Figure 20 :** Principaux cibles des antibiotiques (Cisse, 2012).

#### I.4.3.4. Résistance aux antibiotiques

Il existe deux grands types de résistance aux antibiotiques, la résistance intrinsèque et la résistance acquise. La résistance intrinsèque (ou naturelle ou insensibilité) est présente chez toutes les bactéries de la même espèce ou du même genre bactérien. Elle délimite le spectre d'action des antibiotiques. Par exemple, la présence d'une membrane externe chez les bacilles à Gram négatif entraîne la résistance à diverses classes de molécules par imperméabilité (glycopeptides, macrolides, lincosamides, streptogramines, etc.). A l'inverse, la résistance acquise n'est présente que chez certaines souches de la même espèce ou du même genre (n'est pas une propriété de l'espèce, elle résulte de l'acquisition par une partie des souches de l'espèce d'un caractère de résistance) (Courvalin, 2008).

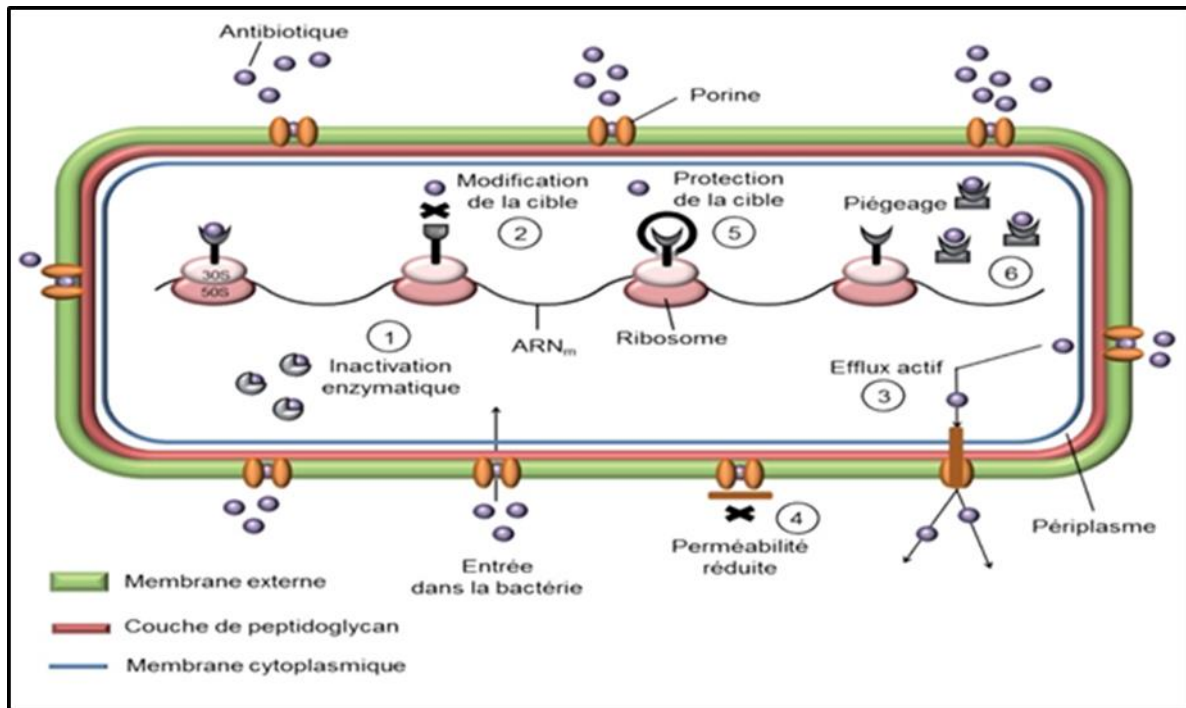
Sur le plan génétique, la résistance peut être acquise par deux voies totalement distinctes. Soit des mutations dans le génome, on parlera alors de transmission verticale à la descendance, c'est-à-dire mutation d'un individu bactérien au sein de la population de l'espèce (il s'agit d'une résistance *de novo*). Soit l'acquisition d'information génétique étrangère, en provenance d'autres bactéries (Courvalin, 2008). Les gènes de résistance, s'ils provenaient vraisemblablement autrefois des bactéries productrices d'antibiotiques, ont pu être acquis, plus récemment, par transfert horizontal par les bactéries pathogènes. Les transposons peuvent comporter des séquences de gènes de résistance, voire coder pour toute une voie métabolique entraînant la résistance (Roy, 1997).

### I.4.3.5. Mécanisme de résistance aux antibiotiques

Les bactéries ont développé plusieurs mécanismes afin de neutraliser l'action des agents antibactériens les plus répandus sont **(Muylaert., Mainil, 2012)** :

- la modification de la cible, qui entraîne une perte d'affinité de l'antibiotique pour cette dernière **(Courvalin, 2008)**
- La production d'une enzyme qui va détoxifier l'antibiotique : production des enzymes qui altèrent chimiquement les antibiotiques et les rendent ainsi inactifs comme le cas des  $\beta$ -lactames hydrolysant l'anneau  $\beta$ -lactame des pénicillines, aussi d'autres enzymes inactivent les antibiotiques en y ajoutant des groupements chimiques comme par exemple les aminosides peuvent être inactivés par phosphorylation **(Roy, 1997)**.
- l'imperméabilité, notamment par diminution du diamètre des porines (pores au niveau de la membrane externe) chez les bacilles à Gram négatif et iv) **(Courvalin, 2008)**.
- l'efflux des antibiotiques à l'extérieur de la cellule par des pompes à efflux énergie dépendantes **(Courvalin, 2008)**.
- Protection de la cible de l'antibiotique, on ne dénombre pas moins de huit protéines de protection ribosomiale qui confèrent une résistance aux tétracyclines en les déplaçant de leur site de fixation par la création d'un encombrement stérique au niveau du ribosome **(Muylaert., Mainil, 2012)**.
- piégeage de l'antibiotique par augmentation de la production de sa cible ou production d'une autre molécule possédant une affinité pour ce dernier. il en résulte une diminution de l'antibiotique à l'état libre au niveau de la cible **(Muylaert., Mainil, 2012)**.

Le motif commun à ces différents mécanismes de résistance est d'empêcher l'interaction de l'antibiotique avec sa cible.



1 : inactivation enzymatique de l'antibiotique, 2 : modification de la cible de l'antibiotique, 3 : efflux actif de l'antibiotique, 4 : perméabilité réduite, 5 : protection de la cible de l'antibiotique, 6 : piégeage de l'antibiotique.

**Figure 21** : Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques dans une bactérie Gram négative (Courvalin, 2008).

## I.5. Activité antifongique

### I.5.1. Champignons

Dans la classification du monde vivant, les champignons constituent un règne à part, distinct de celui des plantes ou des animaux, le règne fongique.

Les champignons, appelés aussi mycètes, sont des organismes eucaryotes uni- ou pluri- cellulaires, incluant des espèces macroscopiques (macromycètes) et d'autres microscopiques (micromycètes), d'aspect filamenteux (moisissures) ou levuriforme (levures). Cosmopolites, ils sont retrouvés partout dans la nature (Dominique *et al.* 2002).

Sur un plan biochimique Leur paroi cellulaire et caractérisés typiquement des  $\beta$  glucanes et de la chitine. Les champignons se nourrissent par l'absorption et l'utilisation du carbone organique comme source de carbone (ce sont des hétérotrophes). Ils peuvent se reproduire de façon sexuée et/ou asexuée (Dufresne, 2018).

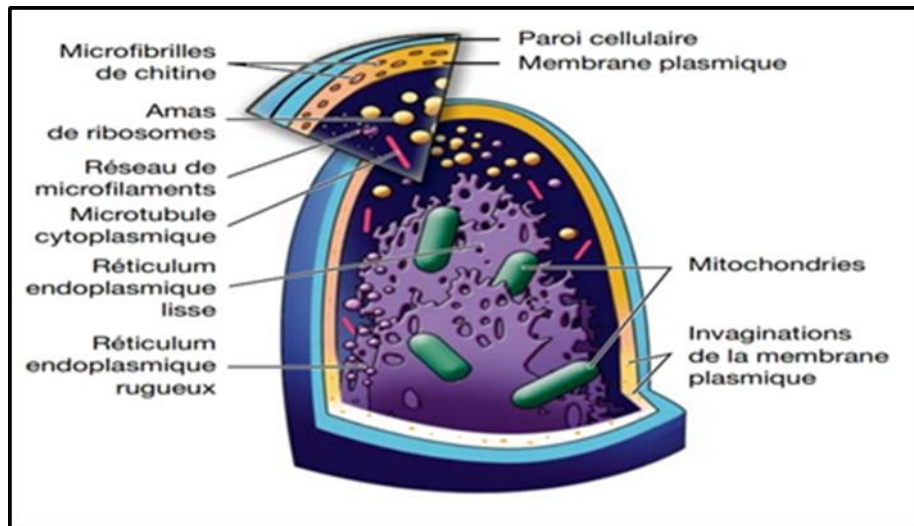
**Tableau 06** : Quelques exemples d'effets des mycètes (**Durand, 2015**).

Effets bénéfiques	Effets nuisibles
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Agents de décomposition des substances organiques de l'environnement en substances inorganiques</li> <li>• Rôle dans la fermentation (fabrication de pain, bière, etc.)</li> <li>• Rôle dans la fabrication des fromages</li> <li>• Rôle dans la production de médicaments</li> <li>• Rôle dans la production d'antibiotiques</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Maladie des végétaux : ils s'attaquent à des cultures économiquement importantes</li> <li>• Maladies humaines (mycoses)</li> </ul>

Les champignons microscopiques se répartissent en deux catégories : les moisissures et les levures (**Durand, 2015**).

### Moisissures

Les moisissures ou champignons filamenteux sont des acteurs importants du monde microbien. Ils peuvent être définis comme des microorganismes hétérotrophes immobiles saprophytes et parfois parasites, dont la structure cellulaire est celle d'une cellule eucaryote (**Hissein et al. 2019**). Les moisissures sont de longs filaments fins et ramifiés à structure cellulaire et qui forment des masses compactes visibles à l'œil nu : le mycélium, parfois visible sous forme de petites taches colorées à la surface des substrats moisis. Un mycélium est un assemblage de très nombreux filaments : les hyphes. Chaque hyphe possède la même structure que toute cellule eucaryote : une membrane plasmique, un noyau (entouré de son enveloppe), le cytoplasme dans lequel baignent des organites. De plus, chaque hyphe est entouré d'une paroi de chitine (**Durand, 2015**).



**Figure 22 :** Morphologie d'un hyphé. Représentation schématique de l'extrémité d'un hyphé, montrant les organites typiques et d'autres structures (Durand, 2015).

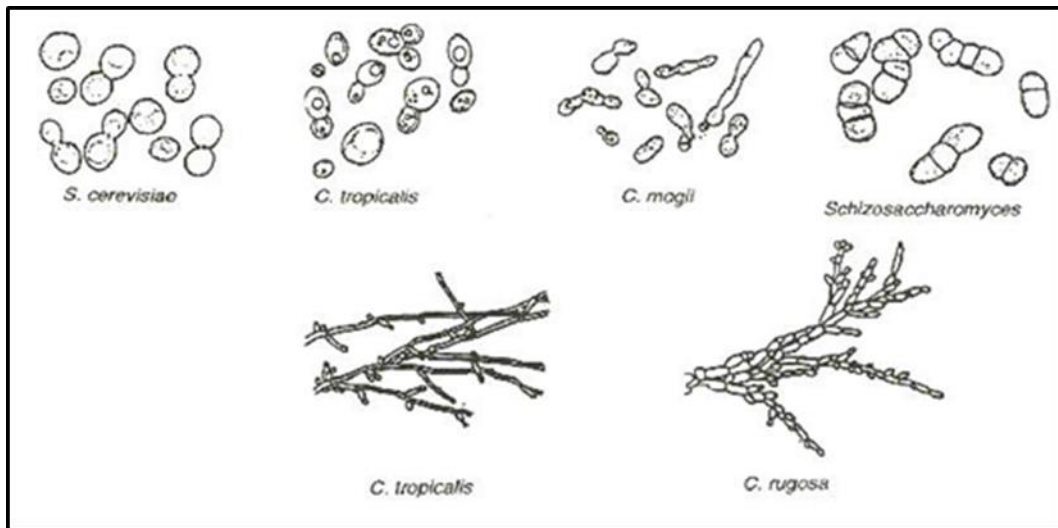
Les moisissures sont impliquées dans une multitude de processus biologiques de l'environnement. Ils présentent, en outre, un intérêt économique, en raison à la fois de leur utilité et de leurs activités néfastes multiples : altérations des produits alimentaires, détériorations dans de nombreux autres domaines, la production de mycotoxines, parasitisme chez l'homme, les animaux et les plantes (Hissein *et al.* 2019).

### Levures

Le mot anglais Yeast (levure) et ses équivalents dans de nombreuses autres langues sont basés sur des mots signifiant (mousse) et (lever), des références directes aux processus de fermentation qui produisent de la bière et du pain (Kurtzman *et al.* 2011).

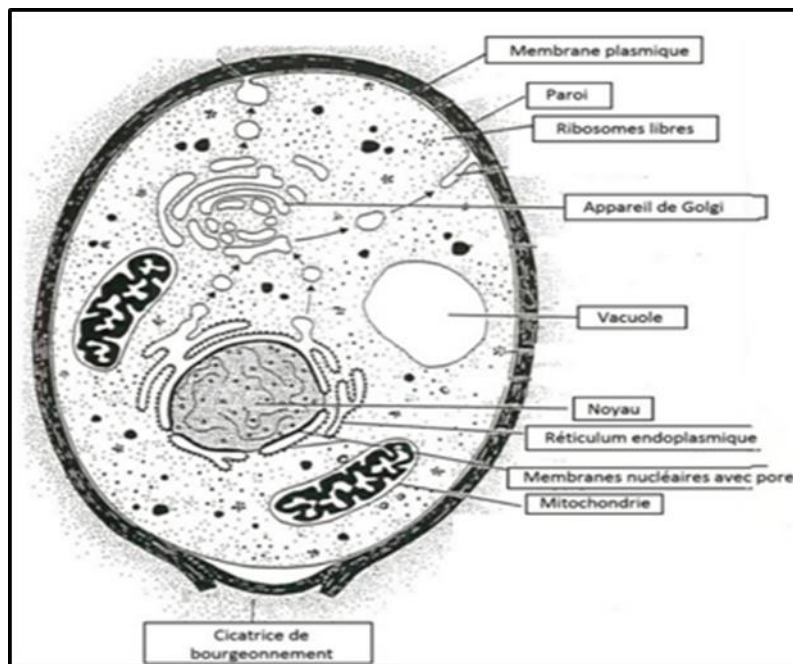
Par définition, les levures sont des champignons qui se trouvent principalement à l'état unicellulaires (Rose, 1975). Sont des micro-organismes eucaryotes (noyau délimité), non photosynthétiques, chimio-hétérotrophes (puisent leur énergie dans la dégradation de substances organiques variées), champignons à thalle immobiles. Le thalle de la levure est l'appareil végétatif le plus simple, sans racine ni tige, sans rameau feuillu et non chlorophyllien. Leur morphologie est d'une grande importance taxonomique. Les cellules sont généralement ovoïdes ou sphériques, parfois cylindriques, allongées, apiculées ou de formes plus spécifiques : ogivales (genre *Dekkera*), en forme de bouteille (genre *Pityrosporum* (= *Malassezia*)), triangulaires (*Trigonopsis*) ou en forme de citron (*Hanseniaspora*) (Hencke, 2000).





**Figure 23 :** Morphologie des cellules de levure et des mycéliums (Hencke, 2000).

La taille des levures est d'environ 20  $\mu\text{m}$  en longueur et de 1 à 10  $\mu\text{m}$  en largeur. Sont de grande taille par rapport aux bactéries. La masse cellulaire des levures est 100 fois plus grande que celle des bactéries et elles se divisent 4 fois moins rapidement. Leur paroi est épaisse constituée de 80 % de polysaccharides et 1 à 2 % de chitine, en plus de conférer à la cellule sa forme caractéristique de par sa rigidité, la paroi assure une protection physique externe et rend la cellule complètement perméable à l'eau, aux minéraux et aux petites molécules (Hencke, 2000).



**Figure 24 :** Structure cellulaire des levures (Hencke, 2000).

### I.5.2. Antifongiques

#### Antifongiques sont des substances

Les antifongiques sont des médicaments destinés à inhiber spécifiquement les champignons, ils sont utilisés pour lutter contre les mycoses qui sont des infections microscopiques (**Carle, 2003**).

D'après (**Denieul, 2009**) on peut diviser les antifongiques selon leurs origines en des antifongiques naturels issues des produits du métabolisme secondaire de divers microorganismes, et des antifongiques synthétiques issues des produits chimiques de synthèse.

Les substances antifongiques sont actuellement utilisées dans trois domaines principaux: en thérapeutique humaine et vétérinaire, dans l'industrie alimentaire (conservateurs) et en alimentation animale, pour la prévention et le traitement des atteintes fongiques des plantes, du bois de construction ou d'autres matériaux (**Bastide et al. 1986**).

### I.5.3. Mode d'action des antifongiques

#### Amphotéricine B

L'amphotéricine B est une molécule à la structure complexe d'origine naturelle. Cette structure est dotée de 2 pôles, l'un hydrophile, l'autre hydrophobe (**Hochart et al. 2008**). Son mécanisme d'action principal est la liaison avec l'ergostérol nécessaire à l'intégrité de la membrane cellulaire, en formant de pores ou de canaux causant une augmentation de la perméabilité cellulaire avec perte du contenu cytoplasmique. La fuite des ions  $K^+$ ,  $Na^+$  et  $H^+$  et des molécules intracellulaires, entraînant la mort de la cellule fongique (**Carle, 2003**).

#### Azols

Les azols agissent tous, quelle que soit la molécule, au niveau de la même cible. Leur mécanisme d'action est l'inhibition de la synthèse de l'ergostérol en se fixant et en inhibant l'activité d'une enzyme importante de cette voie de synthèse, la 14-alpha-déméthylase (**Dannaoui, 2013**) du cytochrome P450 fongique responsables de la conversion du lanostérol en ergostérol. Il s'ensuit d'une disparition de l'ergostérol qui intervient normalement dans la fluidité de la membrane plasmique entraînant des anomalies de la perméabilité membranaire

et l'accumulation d'autres stérols toxiques capable de bloquer la reproduction des champignons (Kettani *et al.* 2006).

### Flucytosine

La flucytosine ou 5-fluorocytosine (5FC) un analogue de pyrimidine produisant une inhibition de la synthèse de l'ARN et de l'ADN (Carle, 2003).

La 5-fluorocytosine est transformée en 5-fluoro-uracile après pénétration dans la cellule fongique par une enzyme cytoplasmique fongique, la cytosine désaminase. Celle-ci est alors incorporée dans l'ARN fongique à la place de l'uracile, altérant ainsi le codage des protéines fongiques (Kettani *et al.* 2006).

### Echinocandines (la caspofongine)

Contrairement à l'amphotéricine B et aux dérivés azolés, la caspofongine agit sur la paroi cellulaire plutôt que sur la membrane cellulaire (Carle, 2003). Ce sont des lipopeptides qui agissent en inhibant l'activité de la bêta-1-3-D-glucane synthase, enzyme permettant la synthèse du beta-1-3-D-glucane qui est un composant essentiel de la paroi fongique (Dannaoui, 2013).

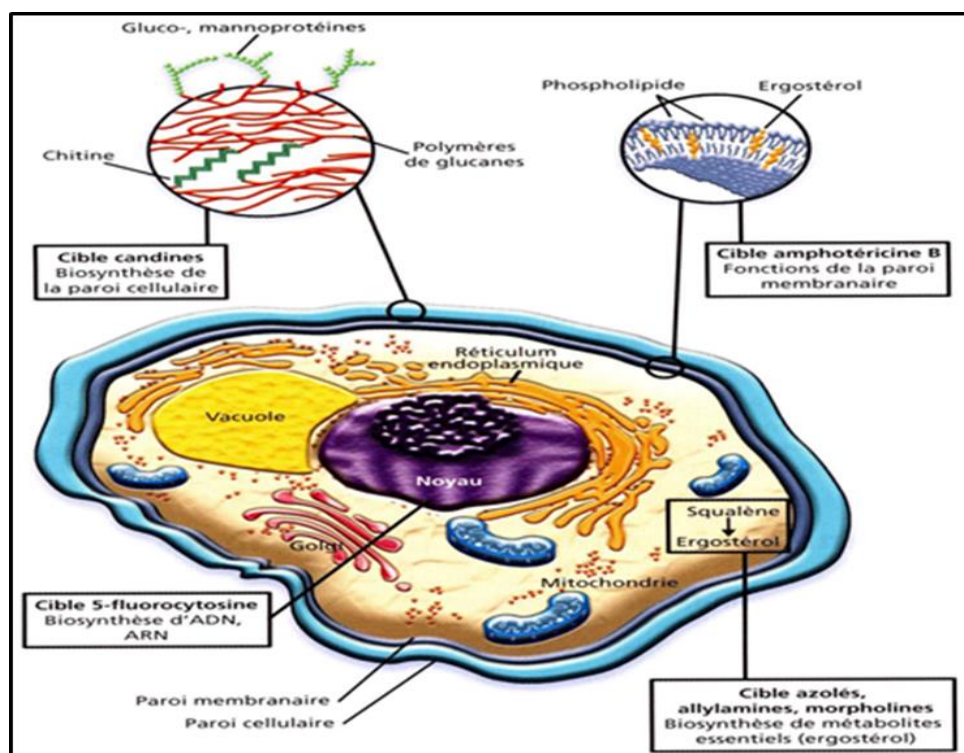


Figure 25 : Cibles cellulaires des antifongiques (Huette & Dupont, 2019).

### I.5.4. Mécanisme de résistance aux antifongiques

En Mycologie médicale et vétérinaire, d'après (Guillot., et Dannaoui., 2016) on distingue deux types de résistance :

- la résistance intrinsèque, naturellement présente chez toutes les souches d'une même espèce ou d'un même genre. Cette résistance peut être due à une absence de concentration de l'antifongique dans la cellule ou à une faible affinité de l'antifongique pour sa cible.
- la résistance acquise, induite par un processus de sélection génétique sous l'effet de l'application répétée d'un antifongique. C'est un processus dynamique qui peut potentiellement être observé chez n'importe quelle espèce fongique et vis-à-vis de n'importe quelle molécule antifongique. Les mécanismes moléculaires qui rendent compte de ce mode de résistance incluent :
  - la modification de la cible de l'antifongique (liée à une ou plusieurs mutations du gène codant pour la cible).
  - la surexpression de la cible de l'antifongique (par exemple liée à une modification du promoteur du gène).
  - la surexpression de pompes membranaires d'efflux (qui réduisent rapidement la concentration d'antifongiques dans la cellule fongique).

### Résistance aux échinocandines

Actuellement le seul mécanisme démontré de la résistance acquise aux échinocandines chez *Candida* correspond à la présence de mutations au niveau des gènes *fks* qui codent pour la cible de cette classe d'antifongiques, la bêta-1-3-D-glucane synthase. Au niveau du gène *fks*, les mutations responsables de la résistance sont confinées dans deux courtes séquences. Ces régions ont été dénommées « hot spot » 1 (HS1) et « hot spot » 2 (HS2). En fonction de la position de la mutation dans le hot spot, le niveau de résistance peut être plus ou moins élevé. Des analyses biochimiques de la bêta-1-3-D-glucane synthase extraite de souches résistantes mutées ont montré que l'affinité de l'enzyme pour les échinocandines était diminuée, confirmant le rôle des mutations dans l'apparition de la résistance microbiologique (Dannaoui, 2013).

### Résistance aux azolés

Les mécanismes de résistance aux azolés sont variés et peuvent être répartis en :

- modification de la cible (la 14-alpha-déméthylase) par mutation du gène codant pour l'enzyme. Ils correspondent à des substitutions d'acides aminés dans la séquence de la protéine. Ces modifications entraînent une diminution de l'affinité de l'enzyme pour les azolés ou des modifications conformationnelles empêchant l'accès de l'antifongique au niveau du site actif (**Morio *et al.* 2017**).
- la surproduction de la cible (la 14-alpha-déméthylase) : généralement par une simple augmentation de la transcription du gène *ERG11*, plus rarement par un phénomène de duplication et d'amplification génique tel que cela a été rapporté pour une souche de *C. glabrata* (**Accoceberry., et Noël, 2006**).
- le phénomène d'efflux, entraînant une diminution de la concentration intracellulaire de l'antifongique : L'efflux est un mécanisme majeur de résistance aux antifongiques azolés par surproduction des transporteurs (pompes à efflux) des superfamilles ABC (ATP-binding cassette) et MFS (Major Facilitator Superfamily). Chez *C. albicans* les transporteurs ABC impliqués dans l'efflux des antifongiques azolés sont : CDR1 et CDR2. Leur niveau d'expression est régulé par les facteurs de transcription Tac1 (Transcriptional Activator of CDR genes - *C. albicans*). Chez les souches résistantes, *Cdr1* et *Cdr2* sont surexprimés, à la suite de mutations « gain de fonction » (GOF) dans le gène *TAC1* (**Garnaud., & Cornet, 2020**).
- altération d'autres étapes de la voie de synthèse de l'ergostérol : En présence d'azolés, l'inhibition de 14-alpha-déméthylase conduit à l'accumulation de stérols méthylés qui sont transformés en produits toxiques par le stérol delta- 5,6-désaturase, enzyme de la voie de biosynthèse de l'ergostérol qui est codée par le gène *erg3*. Si le gène *erg3* est muté, ces produits toxiques ne sont plus synthétisés et la cellule fongique peut survivre et devient donc résistante aux azolés (**Garnaud., & Cornet, 2020**).

### Résistance à l'amphotéricine B

Le principe de la résistance à l'amphotéricine B repose sur un système de disparition de cible en deux étapes : une première étape consiste en un blocage de la voie de biosynthèse de l'ergostérol de façon à soustraire la cible à l'action de l'antifongique. Et une deuxième étape est alors nécessaire pour remplacer l'ergostérol dans les membranes par d'autres stérols viables indispensables à la survie de la cellule fongique. La résistance à l'amphotéricine B ne résulte donc que des seules mutations des gènes de biosynthèse de l'ergostérol. Par ailleurs,

peu de stérols méthylés peuvent remplacer de façon équitable l'ergostérol (**Accoceberry., et Noël, 2006**).

### **Résistance à la 5-fluorocytosine**

Différents mécanismes moléculaires peuvent être à l'origine d'une résistance à la 5-fluorocytosine. Un défaut de la pénétration intracellulaire est possible mutations du gène *FCY2* codant la cytosine perméase (enzyme impliquée dans l'absorption des antifongiques). Des mutations du gène *FCY1* codant la cytosine désaminase (enzyme convertit la 5-fluorocytosine en 5-fluorouracile) sont également possibles. De plus, des mutations du gène *FURI* codant l'uridine phosphorybosyltransférase pourraient empêcher la transformation de la 5-fluorocytosine en métabolites toxiques et donc aboutir à une résistance (**Morio *et al.* 2017**).

# Partie expérimentale



### II. Matériel et méthode

Les différentes recherches effectuées dans cette étude ont été réalisées au niveau du Laboratoire pédagogique de la faculté des sciences exacte et des sciences de la nature et de la vie département de biologie appliquée de l'université l'Arbi Tébessi -Tébessa.

#### II.1. Matériel végétale

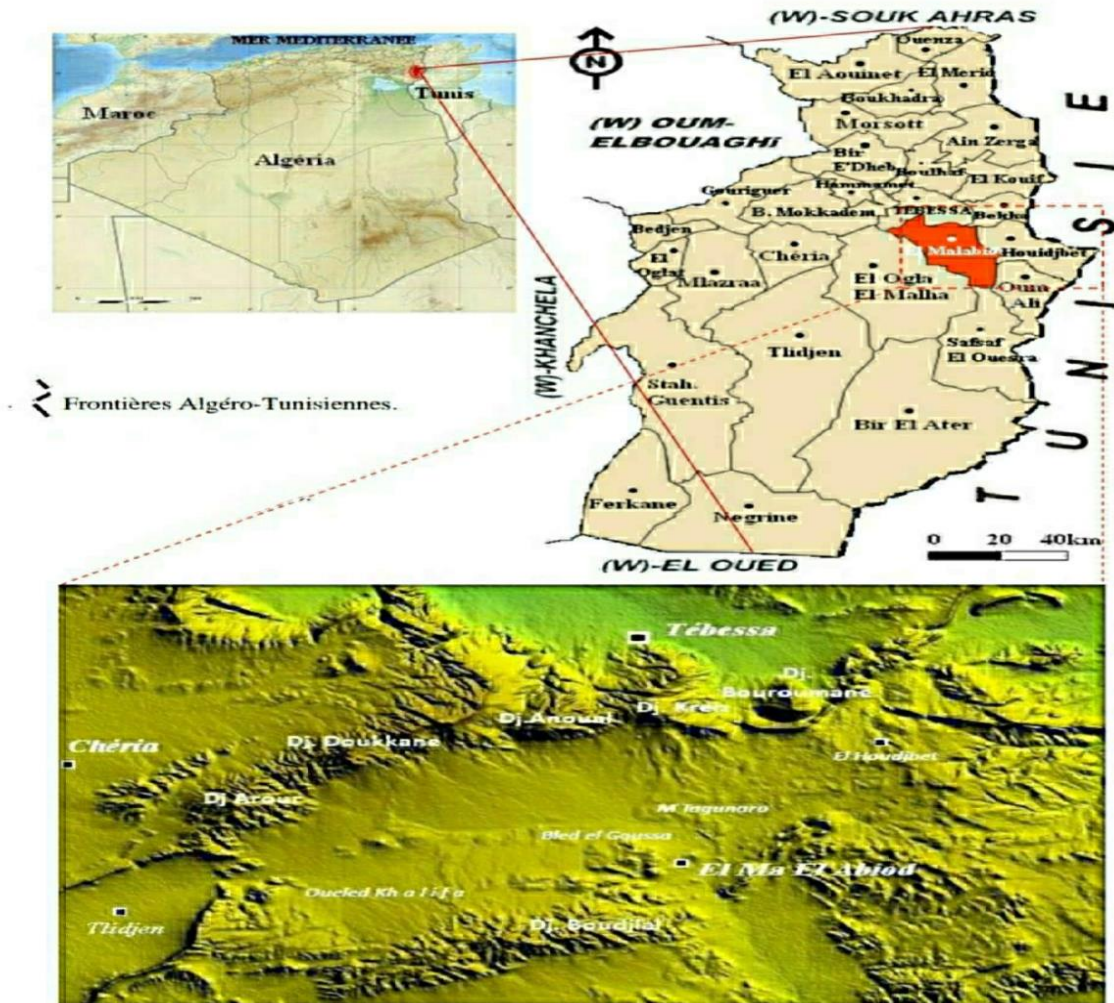
Le matériel végétal utilisé dans cette étude expérimentale est une espèce végétale appartenant à la famille des Lamiacées *Marrubium vulgare*, sa taxonomie et toutes les données la concernant ont été détaillées précédemment. L'organe végétal choisi pour la réalisation des expérimentations de cette étude est la feuille puisque c'est à son niveau que se trouve la majorité des principales substances actives, en d'autre terme, c'est le lieu de synthèse et de la mise en réserve temporaire des principaux composés du métabolisme primaire et secondaire.



**Figure 26 :** Vue générale de la plante de *Marrubium vulgare* prise à partir du site d'étude (photo personnelle).

Les échantillons de notre plante d'étude ont été récoltés manuellement au mois de février 2021 dans la région d'EL Ma Labiod se trouve au nord-est de l'Algérie, dans la Wilaya de Tébessa à environ 40Km au sud-ouest du chef-lieu et à proximité immédiate de la frontière tunisienne.

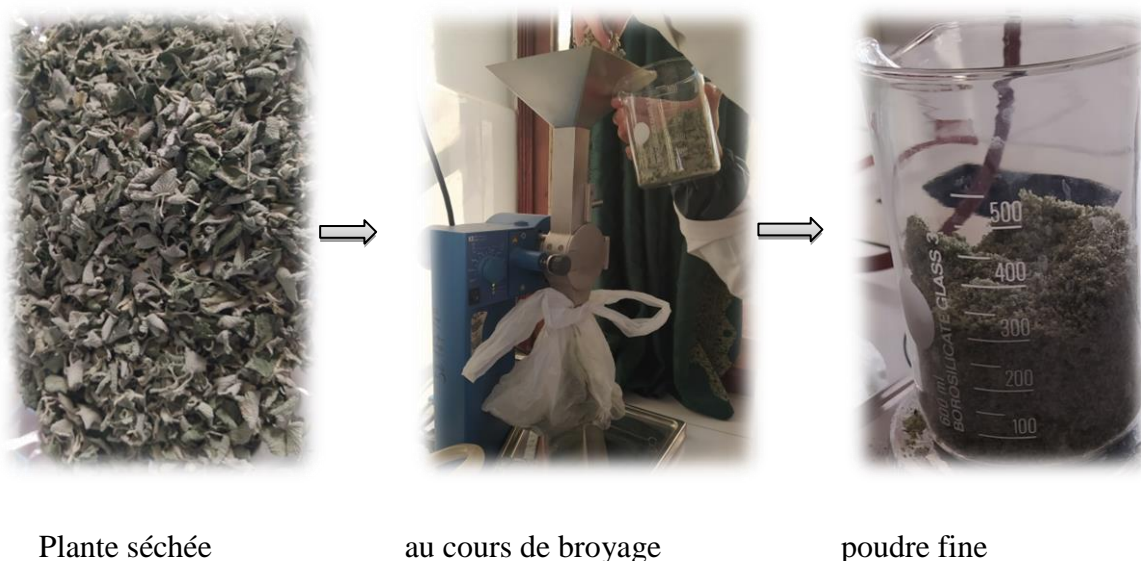




**Figure 27** : Région de récolte de la plante (El Ma Laboid, Tébessa) (Lekrine, 2015).

L'identification botanique de l'espèce a été réalisée au niveau du département des êtres vivants, Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Larbi Tébessi–Tébessa- par Mme Hayoune Soraya (Enseignante de Botanique au département de Biologie).

Après la récupération de la plante, Les feuilles sont soumises à un rinçage à l'eau de robinet pour éliminer les impuretés, puis elles sont bien séchées à l'air libre et à l'abri de la lumière et de l'humidité pendant 15 jours. Une fois séchées, les échantillons sont soumis à un broyage manuel afin d'obtenir une poudre prête à l'emploi.



**Figure 28** : Procédure de broyage et l'obtention de poudre de la plante d'étude (**photo personnelle**).

## II.2. Analyse phytochimique

Un screening chimique ayant pour but la mise en évidence de certaines familles chimiques des différents métabolites secondaires : saponines, tanins, leuco-anthocyanes, flavonoïdes, alcaloïdes, quinones, terpenoïdes et les stéroïdes a été réalisés selon des méthodes standardisées de (**Harborne, 1998**). Il a été déterminé par des réactions de couleurs par des réactifs caractéristiques.

### II.2.1. Recherche des flavonoïdes

#### Principe

En présence de NaOH 1N, de HCl concentré et des coupes de Magnésium, les flavonoïdes donnent les réactions de coloration caractéristique.

#### Mode opératoire

5 g de matériel végétal placés dans un Erlenmeyer sont infusés dans 50 ml d'eau distillée pendant 30 minutes. Après filtration, prélever 6 ml d'infusé et les introduire dans 3 tubes à essai à raison de 2 ml par tube. Additionner respectivement à l'infusé contenu dans les 3 tubes à essai, 1 ml de NaOH, 1ml d'eau distillée et 1ml de HCl concentré et de coupes de Magnésium.

En présence des flavonoïdes, les colorations suivantes : rouge, jaune-rougeâtre, rouge à rouge-violacé, rouge-foncé au violet ou bleu, jaune et rose peuvent être observées. Ces couleurs correspondent respectivement aux anthocyanes, flavones, flavonels, flavonones, isoflavones et leucoanthocyanes.

### Matériels et produits

**Tableaux 07 :** Matériels et produits utilisés pour l'identification des flavonoïdes.

Matériels pour toute l'expérimentation	Matériel végétal	Produits et autres
Balance analytique	5 g de végétal en poudre	Eau distillée
Bain marie		Magnésium
micropipette 1 ml		HcL 1 ml concentré
Erlen meyer 100ml		NaOH 1 N .1 ml (hydroxyde de sodium=soude) ne jamais mettre de l'eau sur la soude mais mettre l'eau puis la soude. Préparation 4 g / 100ml eau distillée= NaOH 1 N
Entonnoir (petit)		
Spatule		
Verre de montre		
3 Tubes à essai		
Porte tubes		
Papier filtre		

### II.2.2. Recherches des quinones

#### Principe

En présence de NaOH à 10 %, les solutions des quinones présentent une coloration caractéristique virant du rouge au violet.

### Mode opératoire

Broyer 5 g de matériel végétal et les humecter de quelques gouttes de HCl. Mettre à macération ce matériel végétal pendant une heure ou 24 heures dans un Erlen Meyer fermé et contenant 10 ml d'éther de pétrole. Après filtration, 2 ml de filtrat sont agités avec 2 ml de NaOH à 10 %. La coloration rouge virant au violet apparaît en présence des quinones.

### Matériels et produits

**Tableau 08 :** Matériels et méthodes utilisés pour l'identification des quinones.

Matériels pour toute l'expérimentation	Matériel végétal	Produits
Balance analytique	5 g poudre végétal	HcL quelques gouttes concentré
micropipette 1 ml		éther de pétrole 10 ml
Tube à essai		NaOH à 10 %. 2 ml (0.4 g / 100 ml)
Verre de montre		
Erlen Meyer avec bouchon ou couvercle		
Compte-goutte		
Spatule		
Entonnoir		
papier filtre		

### II.2.3. Recherche des saponines

#### Principe

Par agitation, une mousse persistante dont la hauteur est mesurable apparaît dans les solutions de saponines.

#### Mode opératoire

5 g de matériel végétal trituré sont mis dans un Erlen Meyer dans lequel on y ajoute 50 ml d'eau distillée pour réaliser une décoction pendant 30 minutes. Après refroidissement, filtrer et prélever 5 ml du décocté et les introduire dans un tube à essai de 16 mm de diamètre et 160 mm de hauteur après agitation. L'apparition d'une mousse persistante indique la présence des saponines. Cependant, en cas d'une faible mousse, le décocté est testé avec un mélange à volume égal de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1N et K<sub>2</sub>CrO<sub>3</sub> à 10 % (chrome de potassium).

### Matériels et produits

**Tableau 09** : Matériels et méthodes utilisés pour l'identification des saponines.

Matériels pour toute l'expérimentation	Matériel végétal	Produits et autres
Balance analytique	5 g poudre végétal	Eau distillée
Plaque chauffante		
micropipette 1 ml		K <sub>2</sub> CrO <sub>3</sub> à 10 % (pas obligatoire)
Erlen Meyer avec bouchon ou couvercle		
Tube à essai en verre		
Entonnoir		H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 1N. (Pour préparer 100ml : 2,78 ml H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> concentré + 97,22 ml H <sub>2</sub> O distillée)
Spatule		
Papier filtre		

#### II.2.4. Recherche des tanins

##### Principe

En présence de Chlorure ferrique à 1% ; les extraits aqueux tanniques donnent des colorations bleu-vert, bleu-sombre et verte ou des précipités.

### Mode opératoire

5 g de matériel végétal sont infusés dans 50 ml d'eau bouillante contenue dans un Erlen Meyer pendant 30 minutes. 2 ml de l'infusé sont prélevés et mis dans un tube à essai dans lequel on ajoute quelques gouttes de chlorure ferrique à 1%. L'apparition d'une coloration verdâtre ou la formation d'un précipité indique la présence des tanins catéchiques.

### Matériels et produits

**Tableau 10** : Matériels et méthodes utilisés pour l'identification des tanins.

Matériels pour toute l'expérimentation	Matériel végétal	Produits et autre
Balance analytique	5 g de matériel végétal	Eau distillée
micropipette 1ml		acétate de sodium jusqu'à saturation
Verre de montre		chlorure ferrique à 1%.
Tube à essai		(iron chloride hexahydraté dans le labo)
Erlen Meyer avec bouchon		
Compte-goutte		
Spatule		

### II.2.5. Recherche des terpenoïdes et des stéroïdes

#### Principe

En présence de l'acide acétique anhydre et de l'acide sulfurique concentré (réactif de LIEBERMAN-BURCHARD), l'extrait organique étheré contenant les stéroïdes donne des colorations mauves et vertes. L'identification des terpenoïdes suit le même schéma en plus de l'ajout du réactif de Hirschson (acide trichloracétique).

La couleur jaune virant au rouge indique la présence de terpenoïdes.

### Mode opératoire

Prendre 1g de matériel végétal qu'on met à macération pendant 24 heures dans l'éther de pétrole ou dans le benzène. Après filtration et introduction dans un Erlen Meyer de 100 ml, le solvant est évaporé au bain de sable. Le résidu est récupéré par 1 ml de chloroforme, 1 ml d'anhydride acétique et 3 gouttes d'acide sulfurique concentré. Il se produit une coloration violette devenant progressivement verte. La coloration verte se stabilise au bout de 30 minutes et indique la présence des stéroïdes.

Par ailleurs, 2 ml de la solution acidifiée sont traités par quelques gouttes de réactif de HIRSCHSON. L'apparition d'une coloration rouge indique la présence des terpénoïdes.

La solution acidifiée c'est ce que vous avez obtenu : Le résidu qui est récupéré par 1 ml de chloroforme, 1 ml d'anhydride acétique et 3 gouttes d'acide sulfurique.

Le réactif de HIRSCHSON : solution aqueuse d'acide trichloroacétique à 20% c'est-à-dire 20 ml du produit avec 80 ml d'eau distillée.

Utiliser le réactif de LIEBERMAN-BUCHARD aussi : le réactif de Liebermann Burchard est constitué de 1,8 ml anhydride acétique concentré et de 0.2 ml d'acide sulfurique concentré.

### Matériels et produits

**Tableau 11** : Matériels et méthodes utilisés pour l'identification des terpenoïdes et des stéroïdes.

Matériels pour toute l'expérimentation	Matériel végétal	Produits par échantillon
Balance analytique	1 g d'échantillon végétal en poudre	l'éther de pétrole
micropipette 1 ml		chloroforme 2 ml
Verre de montre		d'anhydride acétique 0.5ml (sinon chauffé de l'acide acétique avec l'acide sulfurique sous la hotte pour
Tube à essai		
Erlen Meyer		
Entonnoir		
Compte-goutte		

Spatule		que l'acide acétique perde son eau)
Papier filtre		

### II.3. L'Obtention de l'extrait éthanolique

#### II.3.1. Matériel d'extraction

Le Tableau ci-dessous représente les différents matériels et les instruments utilisés pour la Procédure d'extraction.

**Tableau 12** : Liste d'appareils, verreries et produits utilisés pour l'extraction.

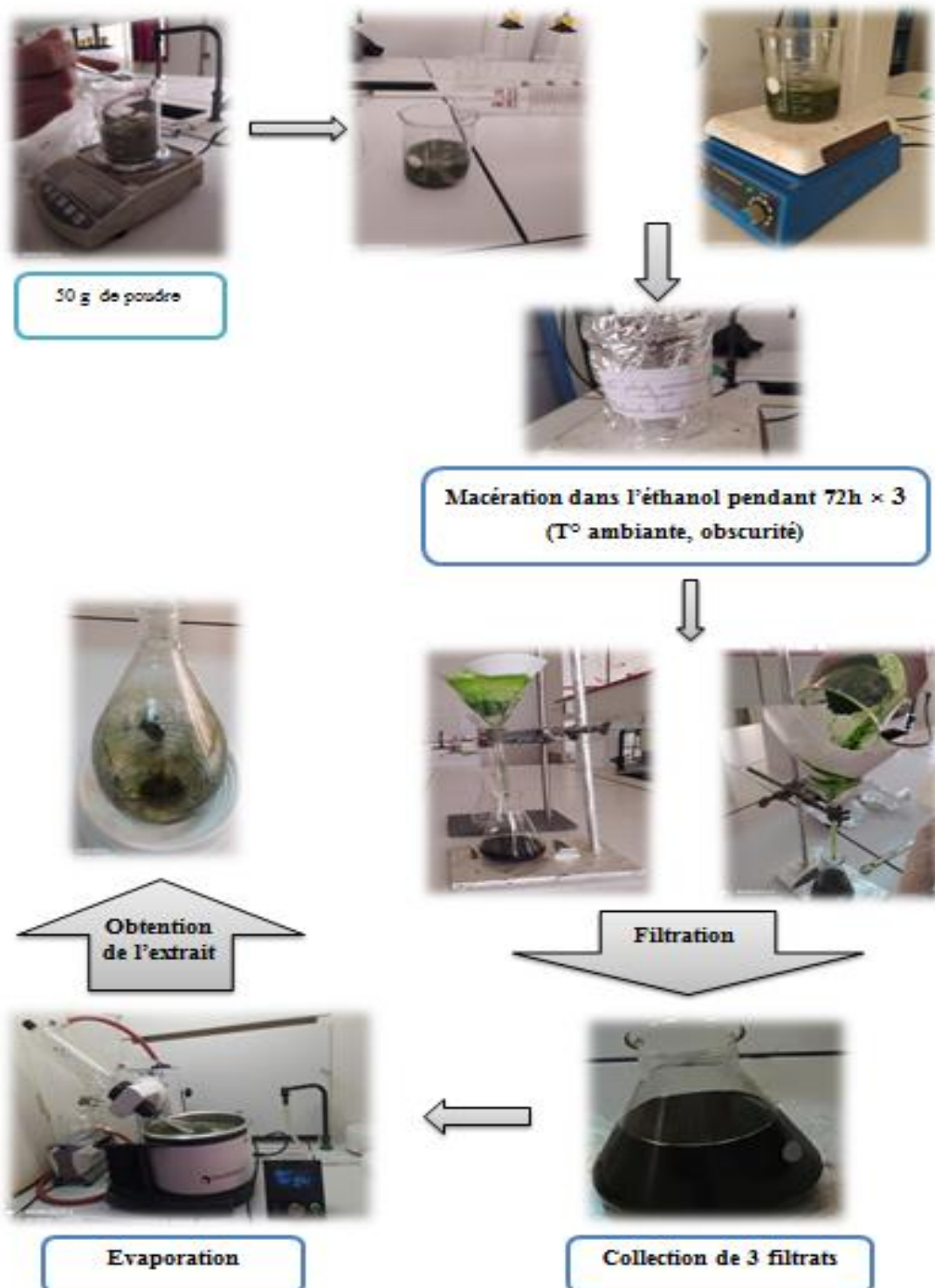
Appareil	Verreries et Autres	Solvant et Soluté
Balance analytique (KERN)	Eprouvette de 500 ml	Eau distillé
Rotavapeur rotatif (Heidoolph) :	Bécher de 500 ml	Ethanol
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bain marie</li> <li>• Un réfrigérant</li> <li>• Chouffe-ballon en verre 500 ml</li> <li>• Ballon collecteur</li> </ul>	Des fioles Erlenmeyer à col étroit de 250 ml	
	Des Entonnoirs en verre	
	Pissette	
Agitateur	Spatule	
	Papier filtre	
	Papier aluminium	

#### II.3.2. Procédé d'extraction

50 g de poudre des feuilles broyées a été macéré dans 500 ml d'éthanol à 96%. après agitation douce Pendant 72h à Température ambiante, la macération a été répétée 3 fois avec renouvellement du solvant. L'extrait a été récupéré après filtration du mélange à l'aide d'un



papier filtre, et l'élimination d'éthanol du filtrat par évaporation à 40°C dans un Evaporateur rotatif Heidoolph. L'extrait a été conservé pour l'utilisation ultérieure (Epa *et al.* 2015).



**Figure 29** : Schéma de différentes étapes suivies lors de l'extraction (photo personnelle).

### II.3.3. Calcul du rendement d'extrait

Le rendement en extrait a été déterminé par le rapport entre la masse d'extrait obtenue et celles de la matière sèche utilisée selon la formule suivante (**Tanoh et al. 2019**) :

$$R \% = \frac{\text{Masse d'extrait (g)}}{\text{La masse de la matière végétale (g)}} \times 100$$

R : Rendement de l'extrait

## II.4. Evaluation de l'activité antioxydante

Afin d'étudier l'activité antiradicalaire de l'extrait éthanolique de feuilles de *Marrubium vulgare* ainsi que celle de standard (vitamine C), plusieurs méthodes sont disponibles pour mesurer cette activité. Parmi ces techniques, nous avons utilisé la méthode de piégeage du radical DPPH (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl).

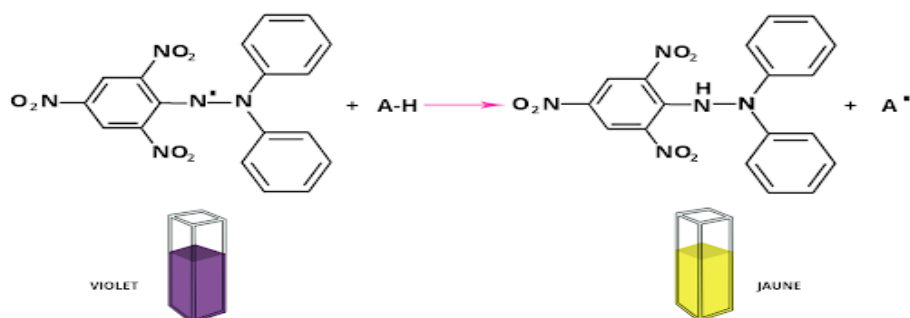
### II.4.1. Test d'activité anti DPPH

- **Principe**

La méthode de mesure du pouvoir antioxydant par le DPPH (2,2-Diphényl-picrylhydrazine) repose sur la capacité d'un antioxydant (AH, composés phénoliques généralement) à réduire le radical chimique DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) par transfert d'un hydrogène. Le DPPH•, initialement violet, se transforme en DPPH-H jaune pâle. L'activité antioxydante d'un système donné (extrait) est alors corrélée à sa capacité à réduire le DPPH• (**Habibou et al. 2019**).

La réaction est alors quantifiée en mesurant l'absorbance de la solution par spectrophotométrie à 517 nm. La réaction sera plus ou moins rapide selon la nature de l'antioxydant, et la quantité de DPPH-H formée dépendra de la concentration en antioxydant (**Habibou et al. 2019**).





**Figure 30** : Réaction de test DPPH (2,2- Diphényle- 1- picrylhydrazyl) (Tanoh *et al.* 2019).

DPPH : 2.2 diphényle- 1- picryl-hydrazyl

AH : un composé capable de céder un H au radical DPPH

A : le composé oxydé après la réduction de DPPH

#### II.4.1.1. Matériel et réactif

Les différents matériels et les réactifs utilisés sont résumés dans le Tableau :

**Tableau 13** : Liste d'appareils et réactifs utilisés pour l'activité anti-DPPH.

Appareil	Verrerie et Autres	Réactifs	Solvant et Solutés
Spectrophotomètre Aqualytique AL 800 330-900 nm	Eprouvettes graduées de 50 ml	le DPPH (2.2 diphényle- 1- picryl hydrazyl)	Ethanol
Micropipettes 5-50ul, 100 µl-1000 µl, 1000-5000ul	Fiole jaugée 100ml	Extrait de <i>Marrubium vulgare</i>	Eau distillé
	Bécher de 50 ml		
Balance de précision (OHAIUS)	Verre de montre	Acide ascorbique	Méthanol
	Tube à aisé en plastique de 5 ml avec un portoir		
	Cônes pour micropipettes		
	Spatule		
	Papier aluminium		

### II.4.1.2. Mode opératoire

Selon la méthode décrite par **Burits et Bucar (2000)**, 25µl de chacune des solutions éthanoliques d'extrait testée préparé à partir d'une solution mère (5g/5ml) à différentes concentrations (200µg/ml, 400µg/ml, 600µg/ml, 800µg/ml et 1000µg/ml) sont mélangées avec 2,5ml d'une solution méthanolique de DPPH (0,004%) qui est préparée par la solubilisation de 0,004g de DPPH poudre dans 100ml de Méthanol. Parallèlement, un contrôle négatif et préparé on mélange 25µl d'éthanol avec 2,5ml de la solution méthanolique de DPPH.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons. Tous les essais ont été effectués en triple. Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (I%).

L'absorbance a été lu à 517nm contre un blanc en utilisant spectrophotomètre UV toutes les minutes et durant 30 minutes.

Le pourcentage d'inhibition du DPPH (I%) est calculé par la formule suivante :

$$\%I = ((\text{Abs}_{\text{control}} - \text{Abs}_{\text{échantillon}}) / \text{Abs}_{\text{control}}) \times 100$$

**Avec :** Abs<sub>control</sub> : Absorbance du blanc.

Abs<sub>échantillon</sub> : Absorbance de l'échantillon.

L'étude cinétique des réactions de l'extrait éthanolique et de l'acide ascorbique avec le DPPH• a été enregistrée pour chaque concentration examinée.

### II.4.1.3. Détermination de la concentration inhibitrice IC50%

La concentration inhibitrice à 50% est la concentration d'antioxydant requise pour réduire 50% de la concentration initiale de DPPH.

Les IC50 ont été déterminée graphiquement par les régressions linéaires ou logarithmiques des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations de chacun des composés testés (**Scherer et Godoy, 2009**).

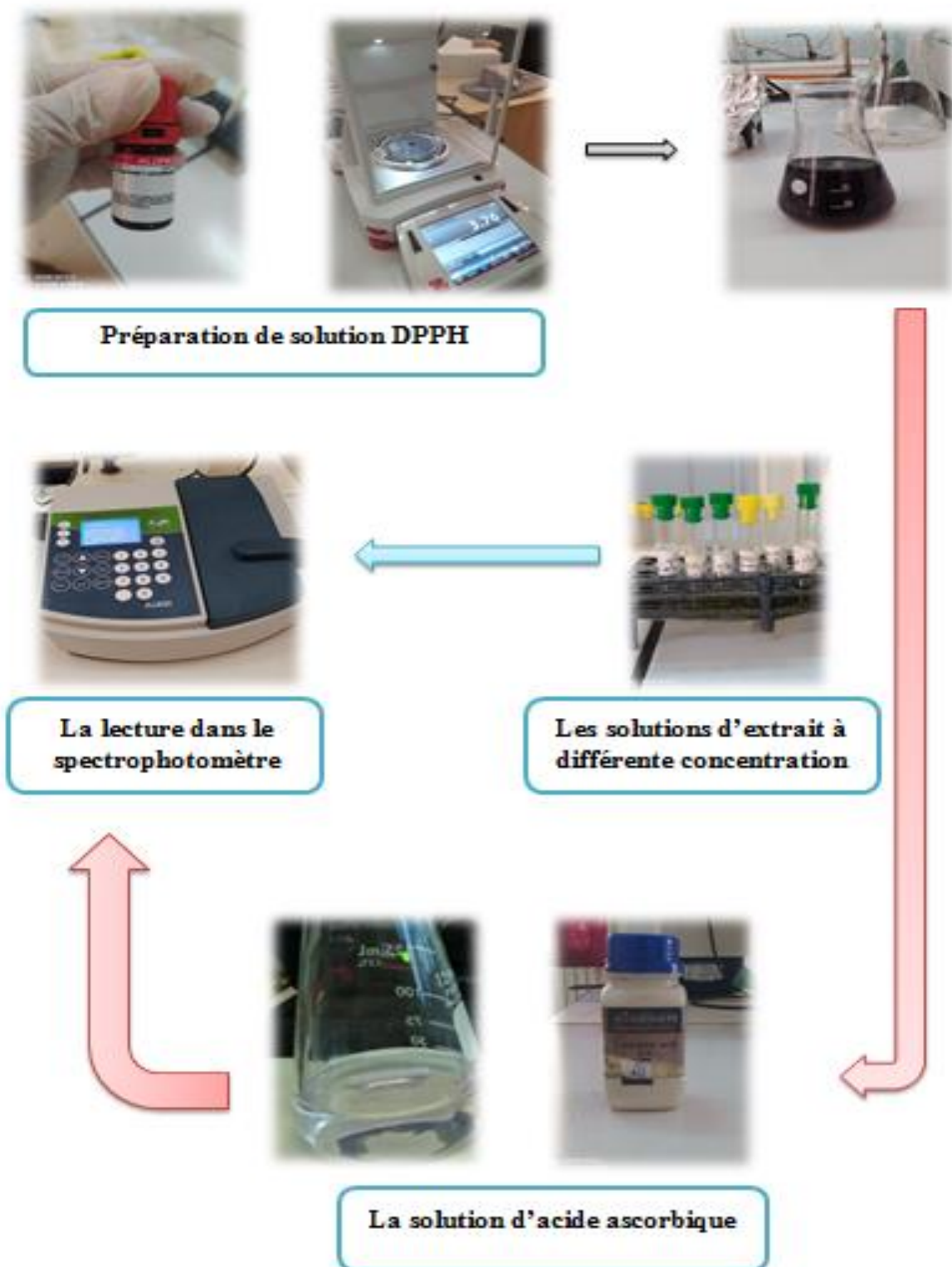


Figure 31 : Différentes étapes du test DPPH (photo personnelle).

## II.5. Évaluation des activités antimicrobiennes

### II.5.1. Matériels et produits

L'ensemble des matériels et produits utilisés pour réaliser cette étude sont résumés dans le Tableau (14).

**Tableau 14 :** Matériels et produit utilisés.

Appareil	Verreries et Autres	Milieux de culture et Autres	Solvants et Solutés
Balance de précision (OHAIUS)	Tube aisé en verre et portoir	Milieu solide Muller-Hinton	Eau physiologique stérile
Micropipette de 5-50ul, 100 µl-1000 µl, 1000-5000ul	Des flacons de 200 ml	Milieu solide sabouraud	Eau distillée
Plaque chauffante	Spatule	Extrait éthanolique des feuilles de <i>Marrubium vulgare</i>	Ethanol
	Cônes pour micropipettes		
agitateur magnétique	Bicher 50ml-10ml		Eau de javel
Autoclave	Pipette pasteur		
Bec benzène	Écouvillons stériles		
Étuve	Boîtes pétris		
Perforateur de trou rond à trou unique	Disques stériles		
	Pince		
	Anse de platine		
	Papier aluminium		

### II.5.2. Souches testées

Dans notre travail, nous avons utilisé des souches octroyées du laboratoire de Microbiologie Appliquée de l'Université de Tébessa.

**Tableau 15 :** Souches bactériennes et fongique utilisées.

	Classification	Souches	Références
<b>Souches bactériennes</b>	Gram négatifs	<i>Salmonella typhi</i>	ATCC 42238
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC XXXX
		<i>Escherichia coli</i>	ATCC8799
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Isolat clinique
		<i>Escherichia coli</i>	
<b>Souches fongiques</b>	Levures	<i>Candida albicans</i> LV1	Isolat clinique
		<i>Candida albicans</i> LV2	Isolat clinique

### II.5.3. Mode opératoire

Pour l'évaluation des activités microbiologiques de notre extrait de *Marrubium vulgare*, nous avons adopté la méthode de diffusion sur disque. C'est une méthode similaire à celle d'antibiogramme (méthode de diffusion en milieu gélosé spécifique (MH, Sabouraud)) qui consiste à déterminer la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou de plusieurs produits c'est-à-dire, c'est une technique qui va nous permet de détecter la présence d'une substance inhibitrice, indiqué par une zone translucide au niveau de la zone de diffusion du composé antimicrobien ou antifongique (Djahra *et al.* 2013).

Nous avons travaillé selon les étapes décrites ci-dessous.

#### II.5.3.1. Préparation de milieu de culture

Pour l'étude de la sensibilité des souches bactériennes et fongiques traitées par notre extrait ethanologique, nous avons utilisé :

- Milieu Muller-Hinton pour l'étude de l'activité antibactérienne.
- Milieu Sabouraud pour étude de l'activité antifongique.

Les compositions et les étapes de la préparation de nos milieux de culture sont données sur le tableau (16).

**Tableau 16:** Protocole de préparations des Milieux de culture utilisées.

Milieux de culture	MH	Sabouraud
<b>Ingrédients</b>	Milieu déjà préparé.	13 g sabouraud en poudre + 200 ml d'eau distillée
<b>Technique de préparation</b>	//////////	Le mélange poudre-eau distillée est chauffé sur plaque chauffante avec agitation à l'aide d'un barreau magnétique pendant 20 min (afin d'assurer une bonne dissolution des cristaux). Ensuit le milieu préparés à reparti dans des flacons stériles, avant d'être autoclavé pendant 20 min à 120°C.

### II.5.3.2. Enrichissement

Quelque colonies (3-5) bien séparées et uniformes des espèces bactériennes et fongiques concernées, ont été prélevés, à l'aide d'une anse de platine, pour être homogénéisées dans 5ml de bouillon nutritif puis portées à l'incubation pendant 18-24h à 37°C dans l'étuve.

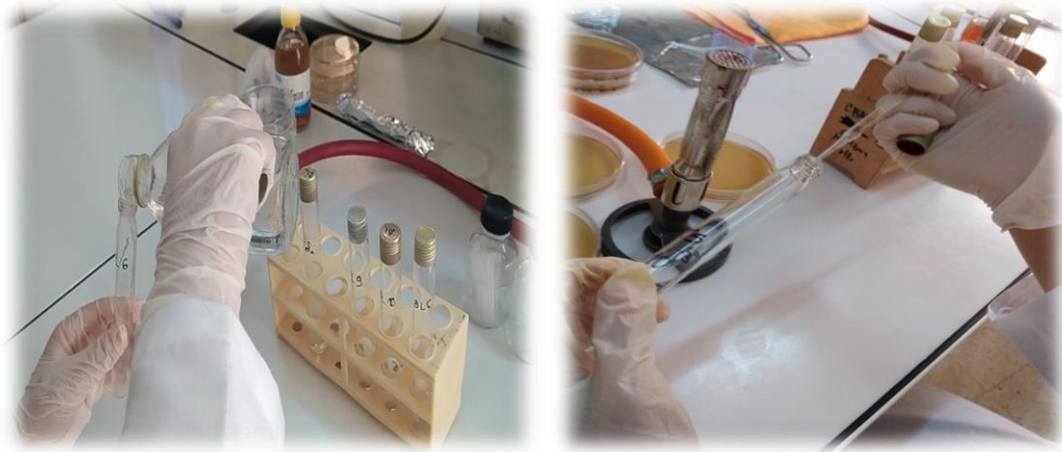


**Figure 32 :** Etapes d'enrichissement des souches dans le bouillon nutritif (photo personnelle).



### II.5.3.3. Préparation des suspensions bactériennes et fongiques

Dans 5ml d'eau physiologique stérile quelques gouttes de la suspension de chacune des souches bactériennes et fongiques enrichie dans le bouillon nutritif ont été mis durant 24h présentant une turbidité élevée. On homogénéise la suspension de façon à obtenir visiblement une opacité équivalente à 0.5 Mac Ferland. La suspension doit être ensemencée dans les 15 min qui suivent sa préparation.



**Figure 33 :** Préparation des suspensions (photo personnelle).

### II.5.3.4. Préparation des boîtes de pétri

Dans les boîtes de pétries stériles, 20ml de gélose (MH) sont coulées et laissées pendant 20min à température ambiante de laboratoire dans la zone stérile du bec bunsen pour se solidifier.



**Figure 34 :** Ecoulement de la gélose (photo personnelle).

### II.5.3.5. Ensemencement / Test bactérien

- Après l'immersion d'un écouvillon stérile dans notre suspension. En doit essorez l'écouvillon doucement sur la paroi du tube.
- Chaque milieu de culture préalablement préparés, doit être ensemencé par étalement, à l'aide d'un écouvillon stérile imbibé dans la suspension bactérienne déjà préparée.
- L'opération est répétée 3 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même et de passer l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.



**Figure 35 : Ensemencement (photo personnelle).**

### II.5.3.6. Déposition des disques

- Des disques en papier Whatman n°1 de 6mm de diamètre sont autoclavés à 120°C pendant 20min, puis disposés à la surface du milieu écouvillonné par la suspension bactérienne. Ensuite en ajoute par une micropipette 15µl de solution d'extrait du *Marrubium vulgare* dissous dans l'éthanol à une concentration de 1000µg/ml.

- Un disque imbibé par l'éthanol a été employé en tant que contrôle négatif.



**Figure 36 :** Emplacement des disques et l'application de l'extrait éthanolique de *Marrubium vulgare* (photo personnelle).

- après l'application de l'extrait, les boîtes de pétrie doivent rester à côté du bec benzène pour quelque seconde pour assurer une bonne diffusion de l'extrait testés dans les milieuxensemencé.

- Les boîtes de parti sont ensuite incubées dans une étuve pendant 24 heures à 37°C.

Pour le test antifongique, il est accompli en suivant les mêmes étapes du test antibactérien en utilisant le sabouraud comme milieu de culture.

Chaque expérience est répétée trois fois, en même temps et en même endroit.

### II.5.3.7. Lecture

Les activités biologiques (antibactériennes, antifongiques) sont déterminées à la fin de la durée d'incubation en mesurant avec précision les diamètres des zones d'inhibition, qui sont apparues autour de chaque disque à l'aide d'une règle et sur un fond sombre sans enlever le couvercle de la boîte. Les résultats représentent la moyenne des 03 lectures.

Un extrait est considéré actif lorsqu'on mesure une zone d'inhibition autour de chaque disque dont le diamètre est supérieur à 8 mm. Les bactéries ont été classé selon le diamètre d'inhibition dans l'une des catégories suivante : non sensible, sensible, très sensible, extrêmement sensible comme le montre le tableau ci-dessous (Ponce *et al.* 2003).

**Tableau 17 :** Sensibilité et degré d'activité selon le diamètre du halo d'inhibition (Ponce *et al.* 2003).

Diamètre du halo d'inhibition (X)	Degré de sensibilité des germes	Résultat
$X \leq 8$ mm	Non sensible	-
$9 \text{ mm} \leq X \leq 14$ mm	Sensible	+
$15 \text{ mm} \leq X \leq 19$ mm	Très sensible	++
$X \geq 20$ mm	Extrêmement sensible	+++



# Résultats et discussions



### III. Résultats et discussions

#### III.1. Rendement de l'extrait éthanolique de *Marrubium vulgare*

Lapréparation de l'extrait à partir des feuilles de *Marrubium vulgare*L. a été effectuée par le solvant éthanolique. Cette extraction a permis d'obtenir un extrait brut: l'extrait éthanolique (EtOH). Dont le rendement est exprimé en pourcentage de masse d'extrait par rapport à la masse de la matière végétale sèche.

Les valeurs de calcul de rendement obtenues lors de l'extraction de 50g de poudre sont représenté sur le tableau (18).

**Tableau 18** :Rendement de l'extrait des feuilles de *Marrubium vulgare* L.

Echantillon de drogue (g)	Rendement (g)	Pourcentage du rendement (%)
50 g	6,466 g	12,93%

L'espèce à donner un rendement de l'ordre de 6,466g, ce qui correspond à un pourcentage de 12,93 %. Cette teneur parait proche comparée à celle rapportée par **Hameg et Taleb(2018)** dans la région Bouzeguene située à la Wilaya de Tizi-Ouzouqui ont trouvé un rendement de 12% en utilisant une masse végétale de 10g.Par contre, notre teneur d'extraction parait plus élevée à celle obtenue par **Boulila et al. (2015)** dans trois régions climatiques tunisiennes qui ont enregistré un rendement de 8,9% en utilisant une masse végétale de 10g.




Des rendements de 17,82%, 24,34% et 26,6% des extraits méthanoliques ont été obtenus à partir des feuilles séchées de la même espèce par les chercheurs **Zahaf et Bahloul (2019)**, **Djahra Boutlelis (2014)** et **Tebti et Zahraoui (2019)** respectivement sont des pourcentages nettement supérieurs à celui obtenu dans notre cas (12,93%) pour l'extrait éthanolique. En revanche, **Bourahla et Chaa (2019)** et **Ghedadba (2018)** ont été enregistré des rendements inférieurs au nôtre (8,15% et 10,9% respectivement).




Ces différences entre les études peuvent être expliquées par le fait que le rendement influencé par plusieurs facteurs lors de leur extraction : soit des facteurs qui concernent la plante (la composition biochimique à savoir leurs teneurs en métabolites secondaires), soit des facteurs liés aux conditions expérimentales (procédé d'extraction, durée d'extraction, etc.) soit en fonction de la nature et des caractéristiques physico-chimiques des solvants utilisés, notamment leur polarité. La période et lieu de la récolte, la durée de séchage, le climat sont des facteurs entre autres qui peuvent avoir un impact direct sur les rendements en extraits (**Ghedadba, 2018**).

### III.2. Screening phytochimique

Les résultats de la mise en évidence des métabolites secondaires sont mentionnés dans le tableau (19).

**Tableau 19** : Résultats de criblage phytochimique d'extrait éthanolique de *M. vulgare*.

Métabolites secondaires	Résultats obtenus	Remarques
Flavonoïdes de type flavones	+	 <p>Apparition de la coloration jaune-rougeâtre</p>
Flavonoïdes de type anthocyanes	+	 <p>Apparition de la coloration rouge</p>
Quinones	+	 <p>Apparition de la coloration virant du rouge</p>

<b>Saponines</b>	+	 <p>Apparition de la mousse</p>
<b>Tanins (tanins catéchiqes)</b>	+	 <p>Apparition de la coloration verdâtre</p>
<b>Terpenoïdes</b>	-	 <p>Absence de la coloration rouge (la coloration reste verte)</p>
<b>Stéroïdes</b>	+	 <p>Apparition de la coloration verte</p>

(+) présence

(-) absence

Les résultats expérimentaux des tests photochimiques des feuilles de *Marrubium vulgare* de notre travail ont mis en évidence la présence de cinq composés du métabolisme



secondaire : les flavonoïdes de type flavones et de type anthocyane, les quinones, les saponines et les stéroïdes. Pour les classes des terpenoïdes le test, s'est révélé négatif pour la plante.

Plusieurs travaux effectués sur *Marrubium vulgare* ont rapporté des résultats comparables aux nôtres (Achouri et Abbas, 2016; Bourahla et Chaa, 2019 ; Zahaf, 2019) sauf que les travaux réalisés par Achouri et Abbas (2016) ont été révélées la présence des terpenoïdes et l'absence des quinones dans les feuilles de *Marrubium vulgare* récoltée dans la région d'Ouenza.

**Tableau 20 :** Comparaison de la teneur en métabolites secondaires de *M. vulgare* entre différentes publications.

Métabolite secondaire	Travaux personnels	(Zahaf, 2019)	(Achouri et Abbas, 2016)	(Bourahla et Chaa, 2019)
Flavonoïdes	(Anthocyanes) +	/	+	+
	(Flavones) +		/	/
Quinones	+	/	-	/
Saponines	+	+	+	+
Tanins (catéchiques)	+	+	+	+
Terpenoïdes	-	/	+	/
Stéroïdes	+	/	+	+

(+) : présence

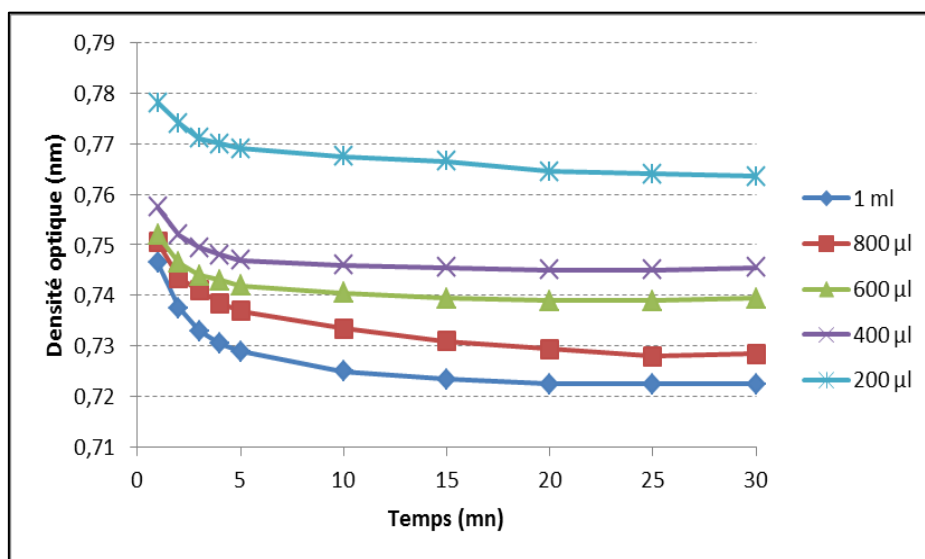
(-) : absence

(/): non déterminé

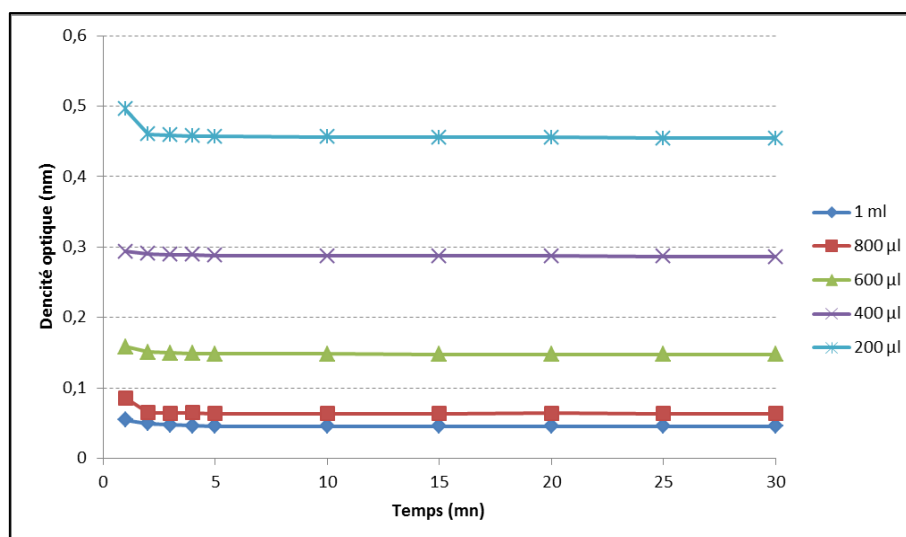
Donc après cette comparaison entre les résultats on peut dire que les facteurs de climat, le type de sol et la région géographique sont impliqués d'une manière importante dans la variation des composés secondaires synthétisés par la plante (Hayat *et al.* 2020).

### III.3. Activité antioxydante

Dans cette étude, la méthode choisie pour l'évaluation de l'activité anti-oxydante de l'extrait éthanolique de *Marrubium vulgare* est le piégeage du radical libre DPPH car cette technique est reconnue comme étant simple, rapide et efficace, en raison de la grande stabilité du radical (Bozinet *al.*2008). Les valeurs de l'absorbance obtenus ont permis de tracer les courbes présentées dans les figures (37, 38).



**Figure 37 :** Courbe d'évaluation du pouvoir antioxydant par la méthode de DPPH d'extrait de *Marrubium vulgare* avec le temps.



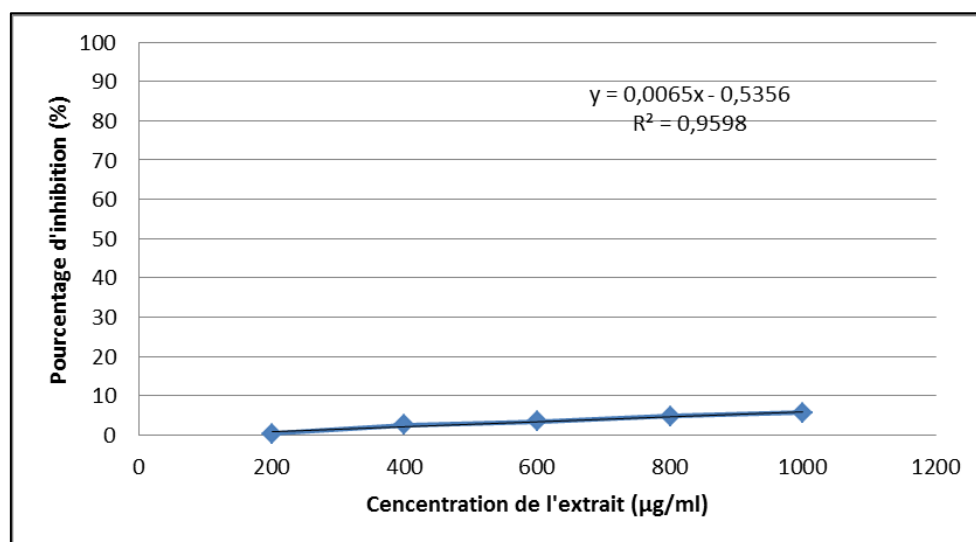
**Figure 38 :** Courbe d'évaluation du pouvoir antioxydant par la méthode de DPPH de l'acide ascorbique avec le temps.

D'une manière générale, les absorbances enregistrées pour l'ET-Mv et le vit.C diminuent en fonction du temps. Quelle que soit la concentration utilisée, la réaction de DPPH et l'acide ascorbique (donneurs d'électron) atteint son minimum rapidement après 5 min. Ensuite la décroissance reconnaît une allure stationnaire jusqu'à 30 min. En ce qui concerne l'ET-Mv on observe une diminution continue jusqu'à 30 min. nous remarquons également que l'intensité de la réaction est dose-dépendante pour la vit.C et pour l'ET-Mv. En effet, les valeurs de l'absorbances diminuent avec l'augmentation de la dose utilisée. Par exemple, après 30 min de réaction avec la vit C, l'absorbance enregistrée pour la dose de 200µg/ml est de 0,454 nm alors qu'elle est de 0,045 nm pour la dose de 1000µg/ml. Pour l'ET-Mv l'absorbance enregistrée après 30 min pour la dose de 200µg/ml est de 0,763 nm alors qu'elle est de 0,722 nm pour la dose de 1000µg/m.

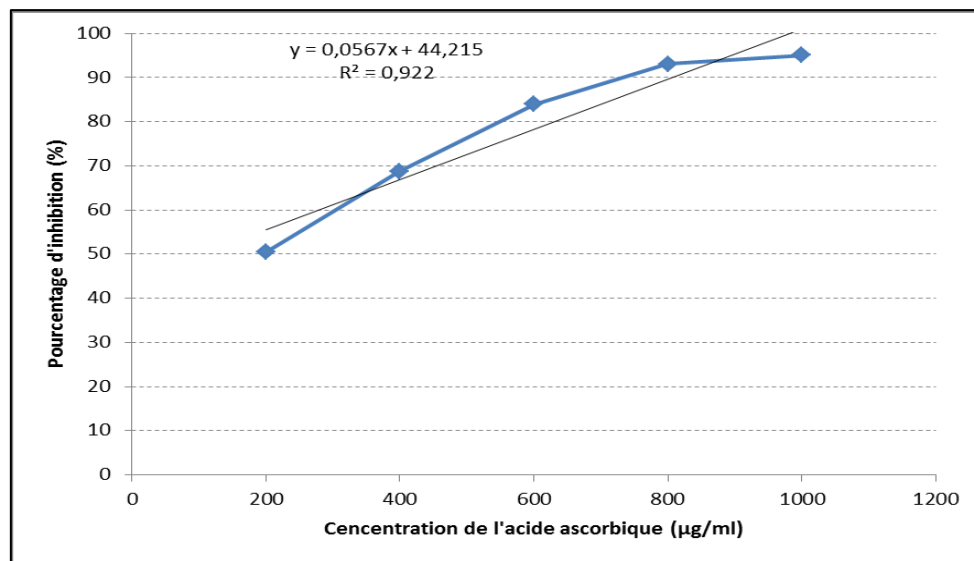
Nos résultats montrent que les valeurs d'absorbance enregistrées pour la Vit.C sont beaucoup plus inférieures que celles enregistrées pour l'extrait et ce quelle que soit la dose utilisée et le temps de réaction écoulé. Par exemple, pour la dose de 1000µg/ml et après 30 min de réaction, l'absorbance enregistrée pour le vit C est de 0,045 nm et de 0,722 nm pour notre extrait. Ces résultats soulignent que le pouvoir antioxydant du vit C est beaucoup plus intense que celui de l'ET-Mv.

### III.3.1. Pourcentage d'inhibition de radical DPPH

Le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH a été examiné pour chaque concentration de l'extrait éthanolique de *Marrubium vulgare* et de l'acide ascorbique portés sur les figures (39, 40).



**Figure 39 :** Pourcentage de piégeage de radical DPPH en fonction des concentrations de l'extrait éthanolique de *Marrubium vulgare*.



**Figure 40 :** Pourcentage de piégeage de radical DPPH en fonction des concentrations de l'acide ascorbique.

D'après ces résultats, on remarque que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation des concentrations (une activité antiradicalaire dose dépendante) que soit pour l'ET-Mv ou pour la vit.C le taux d'inhibition du DPPH enregistré en présence de l'ET-Mv est inférieur à celui de l'acide ascorbique.

On observe que pour la dose de 1000 µg/ml par exemple, le pourcentage d'inhibition du radical libre de DPPH pour la vit C est largement supérieur à celui de l'ET-Mv (95,04 % vs 5,62%) et pour la dose de 200 µg/ml, le pourcentage d'inhibition de la vit C est très élevé (50,43%) comparé à celui de l'ET-Mv (0,26%).

### III.3. 2. Détermination de l'IC50 (Concentration inhibitrice 50%)

À des fins comparatives, nous avons évalué l'IC50 des deux composés (l'ET-Mv et vit.C). Cet indicateur exprime la quantité d'antioxydant nécessaire pour faire décroître la concentration initiale du DPPH• à la moitié (50%). L'IC50 est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé. Cela veut dire qu'une valeur plus faible de l'IC50 indique une activité antioxydante plus élevée.

Les valeurs d'IC50 ont été déterminées graphiquement par la régression linéaire des pourcentages d'inhibition calculés en fonction de différentes concentrations de chacun des composés testés comme c'est illustré dans les figures (39 et 40). Concernant l'ET-Mv, l'IC50

est de 7774,71 µg/ml qui montrent une activité antioxydante très largement inférieure à celle de la vit. C dont l'IC50 était de 102,03 µg/ml. Donc, l'extrait éthanolique de *Marrubium vulgare* révèle une faible activité de piégeage du radical DPPH en comparaison à la vit. C qui reste l'antioxydant le plus efficace.

Nos valeurs de l'IC50 de l'ET-Mv paraissent nettement supérieures à celles rapportées par **Hayat et al. (2020)** dans les deux différentes localités du nord-est du Maroc (la région d'Oulad Daoud Zkhanine et le cap Three Forks). En effet, dans la région d'Oulad Daoud Zkhanine ces auteurs ont rapporté une valeur d'IC50 de l'ET-Mv de 324,55 µg / ml et dans la région de cap Three Forks **Hayat et al. (2020)** rapportent une valeur d'IC50 de 431,81 µg/ml pour l'ET-Mv.

Donc nos résultats sont différents de ceux de **Hayat et al. (2020)** qui ont prouvé que l'extrait éthanolique de *Marubium vulgare* de deux différentes localités du nord-est du Maroc s'est avéré à une activité antioxydante remarquable dans la neutralisation du radical DPPH par rapport aux autres extraits préparés par les solvants modérément polaires comme l'acétate d'éthyle et l'éther de pétrole.

Comparativement à l'étude de **Boulila et al. (2015)** réalisée dans trois régions bioclimatiques tunisiennes, l'IC50 enregistrée dans la présente étude est nettement supérieure à celles rapportées par ces auteurs. En effet ils ont rapporté une valeur d'IC50 de l'ET-Mv de 118,20 µg / ml. Cette valeur est bien inférieure à la valeur que nous avons trouvée pour le même extrait et qui est de 7774,71 µg/ml.

La différence de l'activité antioxydante observée entre ces différentes études peut être expliquée par la variabilité des emplacements (**Boulila et al. 2015**), le moment de récolte des feuilles et la composition en différents composés phénoliques (La réduction du DPPH n'est généralement pas due à l'action d'un seul composé mais à l'interaction entre plusieurs composés) (**Hayat et al. 2020**).

### III.4. Activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de *Marrubium vulgare*

Les résultats de test de l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de *Marrubium vulgare* sont présentés dans le tableau (21).

**Tableau 21** : Détermination des diamètres d'inhibition (mm) de l'ET-Mv contre certaines souches bactériennes.

Bactéries	Répétitions	Diamètre d'inhibition (mm)	Moyenne des diamètres d'inhibition $\pm$ écart-type (mm)
<i>Salmonella typhi</i> (ATCC 42238)	1	16	16 $\pm$ 0
	2	16	
	3	16	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC XXXX)	1	16	16 $\pm$ 1
	2	15	
	3	17	
<i>Escherichia coli</i> (ATCC8799)	1	13	13,33 $\pm$ 0,57
	2	14	
	3	13	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Isolat clinique)	1	18	17 $\pm$ 1
	2	17	
	3	16	
<i>Escherichia coli</i>	1	15	14 $\pm$ 1
	2	14	
	3	13	

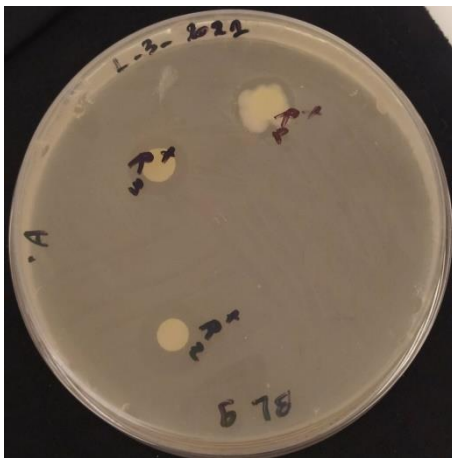
Les résultats de l'activité antibactérienne obtenue *in vitro* à l'aide de la méthode de diffusion sur gélose montrent que l'activité antibactérienne de l'ET-Mv varie en fonction des bactéries testées.



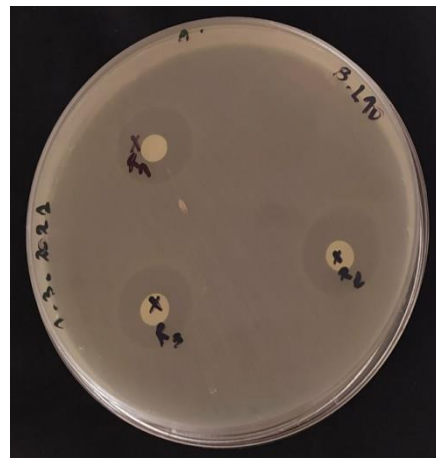
*Salmonella typhi*



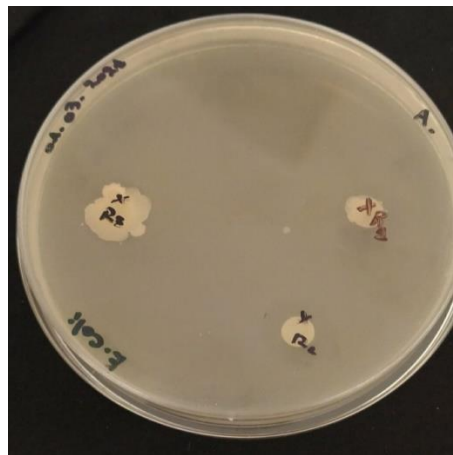
*Klebsiella pneumoniae*



*Escherichia coli* (ATCC8799)



*Pseudomonas aeruginosa*



*Escherichia coli*

**Figure 41** : Zones d'inhibitions de l'extrait éthanolique de *M. vulgare* vis-à-vis les souches bactériennes testés.

L'éthanol constitue le témoin négatif testé sur les cinq souches bactériennes ou aucune zone d'inhibition n'a été signalée.



**Figure 42 :** Test de l'éthanol sur *Salmonella typhi* comme exemple.

Les résultats montrent que l'ET-Mv possède une activité antibactérienne remarquable sur toutes les souches étudiées. En effet, l'activité la plus intense a été enregistrée pour les souches *Pseudomonas aeruginosa* avec un diamètre d'inhibition de 17 mm suivi par *Salmonella typhi* et *Klebsiella pneumoniae* avec des diamètres d'inhibition de 16 mm. Ces souches se sont donc avérées très sensibles vis-à-vis l'ET-Mv (Tableau 17).

Pour les souches *Escherichia coli* (ATCC8799) et *Escherichia coli*, l'ET-Mv enregistre une activité antibactérienne moyenne avec des diamètres d'inhibition de 14 mm et de 13,33 mm respectivement.

Nos résultats sont légèrement supérieurs à ceux rapportés dans la littérature. En effet **Hameg et Taleb (2018)** ont enregistré un diamètre d'inhibition de 10 mm pour *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae* avec l'ET-Mv. Ces auteurs ont prouvé que les deux souches *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae* sont moyennement sensibles vis-à-vis l'ET-Mv par contre nos résultats montrent qu'elles sont très sensibles. Par ailleurs, pour la souche *Escherichia coli*, nos résultats sont en accord avec ceux rapportés par ces auteurs (**Hameg et Taleb, 2018**) qui ont rapporté un diamètre proche que le nôtre (12,5 vs 14 mm).

Une étude récente établie par **Elbashiti et al. (2011)** a montré que l'extrait éthanolique des feuilles de *M. vulgare* collecté dans les champs d'Alzawaida, dans la bande de Gaza en Palestine n'avait aucun effet antibactérien contre la souche *E. coli*.

L'effet de l'ET-Mv sur le germe *Pseudomonas aeruginosa* obtenu dans notre cas est en parfaite concordance avec l'étude réalisée par **Achouri et Abbas (2016)** sur l'extrait méthanolique des feuilles de *Marrubium vulgare*. En effet ces auteurs ont montré que l'extrait



méthanolique présente une activité antibactérienne importante vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* dont le diamètre d'inhibition est de 18,4mm. D'autre part **Boudjelal (2013)** a montré que les deux souches *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25853 et *Escherichia* ATCC 25922 étaient sensibles à l'extrait méthanolique de la plante étudiée, dont les diamètres d'inhibition de 9mm et 12 mm respectivement.

**Kanyonga et al. (2011)** ont prouvé que l'extrait méthanolique de *M. vulgare* n'avait aucun effet antibactérien contre les souches *E. coli* et *Pseudomonas aeruginosa* en utilisant une concentration de 50 mg/ml. Comparativement à l'étude d'**Al-Tohamy et al. (2018)** réalisée sur l'effet de l'extrait méthanolique de *M. vulgare* contre la souche *Klebsiella pneumoniae*, le diamètre d'inhibition enregistré dans la présente étude est supérieur à celles rapportées par ces auteurs. En effet, ces auteurs ont rapporté un diamètre de 13 mm. Des résultats similaires ont été obtenus par **Aouadhi et al. (2014)** qui ont montré que l'EM-Mv a un effet puissant sur la souche *Salmonella typhi* NCTC 6017 avec un diamètre d'inhibition de 15 mm.

La littérature souligne que plusieurs paramètres peuvent influencer l'intensité de l'activité antibactérienne comme : le type des microorganismes ciblés, la concentration, la nature et le type de l'extrait et particulièrement la nature et la structure moléculaire des molécules bioactives des métabolites secondaires (**Ghedadba et al. 2014**). Des travaux antérieurs montrent également que l'effet d'un extrait est probablement due à la synergie entre le nombre de composants, qui lorsqu'ils sont séparés deviennent inactifs individuellement (**Djahra, 2014**).

III.5. Activités antifongique de l'extrait éthanolique de *Marrubium vulgare*

Les résultats de test de l'activité antifongique de l'extrait éthanolique de *Marrubium vulgare* sont présentés dans le Tableau 22 et la Figure 43.

**Tableau 22** : Détermination des diamètres d'inhibition (mm) de l'ET-Mv contre certaines souches fongiques.

Levures	Répétitions	Diamètre d'inhibition (mm)	Moyenne des diamètres d'inhibition ± écart-type (mm)
<i>Candida albicans</i> LV1	1	19,5	19,66 ± 0,288
	2	19,5	
	3	20	
<i>Candida albicans</i> LV2	1	18	17,83 ± 1,26
	2	16,5	
	3	19	

L'extrait éthanolique de *M. vulgare* possède un effet antifongique très élevé et variable sur les 2 souches étudiées (LV1 et LV2). En effet, nous avons enregistré une activité plus intense vis-à-vis de la souche *Candida albicans* LV1 avec un diamètre d'inhibition de 19,66 mm. Par contre le diamètre d'inhibition est seulement 17,83 mm contre la souche *Candida albicans* LV2.



*Candida albicans* LV1



*Candida albicans* LV2

**Figure 43** : Zones d'hnibitions de l'extrait éthanolique de *M. vulgare* vis-à-vis les souches fongiques testés.

En particulier, nous n'avons pas trouvé des études similaires à notre travail. Par conséquent, notre étude peut être considérée comme le premier rapport sur l'effet antifongique de l'extrait éthanolique préparés à partir de feuilles de Marrube blanc sur la souche *Cnadida albicans*.

Une étude réalisée par **Aouadhi et al. (2013)** sur l'extrait méthanolique de *M. vulgare* a montré que la souche *Candida albicans* était sensible vis-à-vis cet extrait dont la zone d'inhibition est de 11 mm de diamètre. Nos résultats sont nettement supérieures que celle obtenu par ces auteurs. Par contre **Kanyonga et al. (2011)** ont prouvé que l'EM-Mv n'avait aucun effet contre la souche fongique *Candida albicans* en utilisant une concentration de 50 mg/ml.

Les résultats de l'activité antifongique présentés dans les études d'**Al-Tohamy et al. (2018)** ; **Tebti et Zahraoui (2019)** ont montré que l'extrait méthanolique de *M. vulgare* produise des zones d'inhibition de 9 mm et 8 mm de diamètre contre la souche *Candida albicans* respectivement. Ces valeurs sont très inférieures à celle que nous avons trouvée pour l'extrait éthanolique.

Les recherches réalisées sur l'activité antifongique des extraits naturels isolés des plantes sont relativement peu nombreuses, notamment vis-à-vis de la plupart des souches telles que *Candidas albicans* (**Tebti et Zahraoui, 2019**), nos résultats confirment l'efficience de l'activité antifongique de l'extrait éthanolique de l'espèce *Marrubium vulgare*.

# **Conclusion**

### Conclusion

De nos jours, un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales possède des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine. La phytothérapie peut constituer une médecine alternative ou au moins comme un complément à la pharmacie classique. La nécessité de trouver de nouvelles molécules reste une priorité de santé publique.

Dans le cadre de notre recherche a été axée sur l'évaluation des activités antioxydante et antimicrobiennes de l'extrait éthanolique des feuilles du *Marrubium vulgare*. Au terme de cette étude, nous avons pu conclure que :

- L'extraction a permis d'obtenir un bon rendement en termes d'extrait brut sec (12,93%).
- Les essais phytochimiques ont révélé la présence de nombreux métabolites secondaires : flavonoïdes, tanins, saponines, quinones et les stéroïdes.
- L'évaluation de l'activité antioxydante de l'ET-Mv par la méthode de piégeage du radical libre DPPH, a permis de conclure que le pouvoir antiradicalaire de la vit C est très supérieur à celui de l'ET-Mv (  $IC_{50} = 102,03 \mu\text{g/ml}$  vs  $7774,71 \mu\text{g/ml}$ ). On souligne que la vit.C reste l'antioxydant le plus efficace.
- L'activité antibactérienne et antifongique de l'ET-Mv montre que l'inhibition de la croissance varie en fonction des espèces. Les zones d'inhibitions varient entre 13,33mm et 17 mm pour les bactéries, et entre 17,83mm et 19,66 mm pour les levures.

Les résultats de cette étude sont importants et ont soutenu l'utilisation de *Marrubium vulgare* contre les maladies infectieuses mais il sera intéressant de poursuivre ces recherches par d'autres études complémentaires, approfondir les recherches sur une large gamme de souches microbiennes et identifier les constituants actifs responsables de l'activité antimicrobienne.

# References bibliographiques



### A

**Accoceberry, I., & Noël, T.** (2006). *Antifongiques : cibles cellulaires et mécanismes de résistance. Thérapie*, 61(3), 195–199.

**ACHOURI, L., ABBAS, S.** Contribution à l'étude du potentiel biologique d'une plante médicinale du genre *Marrubium*. 2016. Université de Larbi Tébessi –Tébessa.

**Ai-Xia Cheng., Yong-Gen Lou., Ying-Bo Mao., Shan Lu., Ling-Jian Wang., and Xiao-Ya Chen.** Plant Terpenoids: Biosynthesis and Ecological Functions. *Journal of Integrative Plant Biology* 2007, 49 (2): 179–186.

**Al-Tohamy, R., Ali, S. S., Saad-Allah, K., Fareed, M., Ali, A., El-Badry, A., ... Rupani, P. F.** (2018). *Phytochemical analysis and assessment of antioxidant and antimicrobial activities of some medicinal plant species from Egyptian flora. Journal of Applied Biomedicine.*

**Aouadhi S.** (2010). Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle. Étude de 57 plantes recommandées par les herboristes. Thèse magistère : toxicologie. TUNIS : Faculté de médecine.196p

**Aouadhi, C., Ghazghazi, H., Hasnaoui, B., Maaroufi, A.** comparaison de l'activité antifongique d'extraits méthanoliques de trois olantes collectées du nord-ouest de la Tunisie. (4<sup>ème</sup> Journée GEDIV 4 et 5 mai 2013).

**Aouadhi, C., Ghazghazi, H., Hasnaoui, B., Maaroufi, A.** Total phenolic content, antioxidant and antibacterial activities of *Marrubium vulgare* methanolic extract. Tunis. J. Med. Plants Nat. Prod. 2014; 11(1): xx-xx.

**Aouati, A., Berchi, S.** Larvicidal effect of *Marrubium Vulgare* on Culexpipiens in eastern Algeria. *Energy Procedia*, 74 (2015) 1026–1031.

**APG III, 2009:** An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. Bot. J. Linn. Soc.161: 105-121.

### B

**Badouard, C.,** 2006. Les lésions des acides nucléiques: détection par CLHP-SM/SM dans les milieux biologiques humains et intérêt comme biomarqueurs du stress oxydant et de l'inflammation. Biochimie [q-bio.BM]. Université Joseph-Fourier - Grenoble I, 2006. Français.

**Bahammou, Y., Tagnamas, Z., Lamharrar, A., Idlimam, A.** Thin-layer solar drying characteristics of Moroccan horehound leaves (*Marrubium vulgare L.*) under natural and forced convection solar drying. *Solar Energy* 188 (2019) –Elsevier. 958-969.

- BARKA, I.** Inventaire des plantes médicinales de la réserve de Chasse de Moutas (Tlemcen). 2017.
- Bartosz G.,** 2003 : Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on Toxicology* 9,5-21.
- Bastide, A., Méo, M., Andriantsoa, M., Laget, M., & Duménil, G.** (1986). *Isolement et sélection de souches d'actinomycètes productrices de substances antifongiques de structure non-polyénique. MIRCEN Journal of Applied Microbiology and Biotechnology*, 2(4), 453–466.
- Beaudeau, J.L., Peynet, J., Bonnefont-Rousselot, D., Therond, P., Delattre, J., Legrand, A.** Stress oxydant. Sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote. Implication dans la transcription et la régulation des gènes. 2006. Elsevier Masson SAS. *Ann Pharm Fr* 2006, 64 : 373-381.
- Belhattab, R., Larous, L., Figueiredo, A. C., Santos, P.A.G., Costa, M.M., Barroso, J. G. & Pedro, L.G.,** 2006: Essential Oil Composition and Glandular Trichomes of *Marrubium vulgare*L. Growing Wild inAlgeria. *Journal of Essential Oil Research* 18(4), 369–373.
- Ben Abdallah, R., Frikha, D., Maalej, S., Sassi, S.**Evaluation in vitro de l'activité antibacterienne et antifongique de quatre espèces algales marines. *J.I. M. Sfax, N°31; Février 19 ; 38 – 44.*
- Benchiha, W.** (2016). *La localité d'échantillonnage influence-t-elle l'activité antifongique des flavonoïdes de Marrubium vulgare vis-à-vis d'Aspergillus niger et Candida albicans ? Journal de Mycologie Médicale / Journal of Medical Mycology*, 26(3), 201–211.
- Bentinger, M., Tekle, M., & Dallner, G.** (2010). *Coenzyme Q – Biosynthesis and functions. Biochemical and Biophysical Research Communications*, 396(1), 74–79.
- Berger M.M** (2006). Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nut Clin Metabol*, 20,48-53.
- Birben E., Sahiner U.M., Sackesen C., Erzurum S. & Kalayci O.,** 2012 : Oxidative stress and antioxidant defense. *WAO J* 5, 9-19.
- Bleibtreu, A.** (2016). *Déterminants de la virulence extra-intestinale de Escherichia coli : de la microbiologie à la clinique. Journal Des Anti-Infectieux*, 18(2), 45–51.
- Bordt, E. A., & Polster, B. M.** (2014). *NADPH oxydase- and mitochondria-derived reactive oxygen species in proinflammatory microglial activation: a bipartisan affair? Free Radical Biology and Médecine*, 76, 34–46.



- Borisovaa, M.P., Kataevb, A.A., Mavlyanovc, S.M., and Abdullajanovac, N.G.** Effects of Hydrolysable Tannins on Native and Artificial Biological Membranes. *Biochemistry (Moscow) Supplement Series A: Membrane and Cell Biology*, 2015, Vol. 9, No. 1, pp. 53–60.
- Boudjelal, A.** Extraction, identification et détermination des activités biologiques de quelques extraits actifs de plantes spontanées (*Ajuga iva*, *Artemisia herba alba* et *Marrubium vulgare*) de la région de MSila, Algérie. 2013. Université Badji Mokhtar Annaba.
- Boudjelal, A., HENCHIRI, C., SIRACUSA, L., SARI, M., & RUBERTO, G.** (2012). *Compositional analysis and in vivo anti-diabetic activity of wild Algerian Marrubium vulgare L. infusion. Fitoterapia*, 83(2), 286–292.
- Boudjelal, A., HENCHIRI, C., SIRACUSA, L., SARI, M., & RUBERTO, G.** (2012). *Compositional analysis and in vivo anti-diabetic activity of wild Algerian Marrubium vulgare L. infusion. Fitoterapia*, 83(2), 286–292.
- Bouharb, H., El Badaoui, K., Zair, T., El amri, J., Chakir, S., & Alaoui, T.** (2014). *Sélection de quelques plantes médicinales du Zerhoun (Maroc centrale) pour l'activité antibactérienne contre Pseudomonas aeruginosa. Journal of Applied Biosciences*, 78(1), 6685.
- Boulila, A., Sanaa, A., Salem, I. B., Rokbeni, N., M'rabet, Y., Hosni, K., & Fernandez, X.** (2015). *Antioxydant properties and phenolic variation in Wild populations of Marrubium vulgare L. (Lamiaceae). Industrial Crops and Products*, 76, 616–622.
- Boulila, A., Sanaa, A., Salem, I. B., Rokbeni, N., M'rabet, Y., Hosni, K., & Fernandez, X.** (2015). *Antioxidant properties and phenolic variation in wild populations of Marrubium vulgare L. (Lamiaceae). Industrial Crops and Products*, 76, 616–622.
- Boulilaa, A., Sanaa, A., Ben Salem, I., Rokbeni, N., M'rabet, Y., Hosni, K., Fernandez, X.**, 2015. *Antioxidant properties and phenolic variation in wild populations of Marrubium vulgare L. (Lamiaceae). Industrial Crops and Products*, 76,616-622.
- Bourahla, N. El H., Chaa, A.** effet des extraits de *marrubium Mulgare* sur la croissance de *Pseudomonas aeruginosa* responsable des infections nosocomiales. 2019. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.
- Boutabia, L., Telailia, S., Mena, M.** 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 région (Souk Ahras, Algeria). Ethnobotany Research and Applications (2020) - ethnobotanyjournal.org.

**Bouterfas K., Mehdadi, Z., Benmansour, D., Meghit Boumedién, K., Bouterfas, M., Latreche, A.** Optimization of Extraction Conditions of Some Phenolic Compounds from White Horehound (*Marrubium vulgare L.*) Leaves. International Journal of Organic Chemistry, 2014, 4, 292-308.

**Bouterfas, K., Mehdadi, Z., Aouad, L., Elaoufi, M. M., Khaled, M. B., Latreche, A., & Boutlelis Djahra, A., Bordjiba, O., Benkherara, S.** Activité antibactérienne des flavonoïdes d'une plante médicinale spontanée *Marrubium vulgare L.* de la région d'El Tarf (Nord-Est Algérien). *Rev. Sci. Technol., Synthèse 24* : 29-37 (2012).

**Bouterfas, K., Mehdadi, Z., Elaoufi, M. M., Latreche, A., & Benchiha, W.** (2016). Antioxidant activity and total phenolic and flavonoids content variations of leaves extracts of white Horehound (*Marrubium vulgare Linné*) from three geographical origins. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 74(6), 453–462.

**Bouterfas.K., Mehdadi.Z.,Latreche. A., Cherifi.K.** 2013. Autoécologie du Marrube blanc (*Marrubium Vulgare L*) et caractérisation de la biodiversité végétale dans le Djebel de Tessala (Algérie nord-occidentale). *Ecologia Mediterranea/39-2/pp.39-57*.

**Bouterfas.K., Mahdadi.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 39 (2)*, 39-57, 2013.

**Boutlelis, A.D.** 2014. Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare L.*

**Boutlelis,A. Djahra., Bordjiba,O., & Benkherara.S., 2012.** Activité antibactérienne des flavonoïdes d'une plante médicinale spontanée *Marrubium vulgare L.* de la région d'El Tarf (Nord-Est Algérien). *Rev.Sci. Technol., Synthèse 24* :29-37.

**Bouziid, A., Chadli, R., Bouziid, K.** Étude ethnobotanique de la plante médicinale *Arbutus unedo L.* dans la région de Sidi Bel Abbés en Algérie occidentale. *Phytothérapie*. Lavoisier SAS 2016.

**Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., Goran, A., & Igić, R.** (2008). *Phenolics as antioxidants in garlic (Allium sativum L., Alliaceae)*. *Food Chemistry*, 111(4), 925–929.

**Burits, M., et Bucar, F.** (2000). Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research*, 14(5), 323–328.

### C

- Carle, S.** (2003). Les antifongiques dans le traitement des infections invasives. *Pharmacothérapie*, 36(1), 1-17.
- Cecchini, T., Ticli, B.** Les plantes médicinales .Ed : De Vecchi, P : 192-193,2008.
- Chardon, H., Brugere, H.** Usages des antibiotiques en élevage et filières viandes. *Cahiers SÉCURITÉ SANITAIRE SANTÉ ANIMALE*. 2014.
- Chaussade, H., Sunder, S., Bernard, L., Coloby, P., Guy, L., Karsenty, G., Bruyère, F.** (2013). Les médicaments antibiotiques en urologie. *Progrès En Urologie*, 23(15), 1327–1341.
- Cheickna, C.** Etude structurale des aptamères peptidiques anti-Fur et de leur interaction avec leur cible. *Sciences agricoles*. Université de Grenoble, 2012. Français.
- COMBINAISONS DE MÉCANISMES BICHIMIQUES ET GÉNÉTIQUES. *Bull. Acad. Vét. France* — 2008 - Tome 161 - N°1.
- COURVALIN, P.** LA RÉSISTANCE DES BACTÉRIES AUX ANTIBIOTIQUES:
- Crozier, A., Clifford, M.N., Ashihara, H.** 2006. Plant secondary metabolites. Occurrence, structure and Role in the Human Diet. By Blackwell Publishing Ltd. 383p.

### D

- Dannaoui, É.** (2013). *Résistance des Candida aux antifongiques : détection et mécanismes*. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2013(450), 71–77.
- De Jesus, R. A. P., Cechinel-Filho, V., Oliveira, A. E., & Schlemper, V.** (2000). Analysis of the antinociceptive properties of marrubiin isolated from *Marrubium vulgare*. *Phytomedicine*, 7(2), 111–115.
- De la Iglesia, R., Milagro, F. I., Campión, J., Boqué, N., & Martínez, J. A.** (2010). *Healthy properties of proanthocyanidins*. *BioFactors*, 36(3), 159–168.
- De Souza, M. M., de Jesus, R. A. P., Cechinel-Filho, V., & Schlemper, V.** (1998). *Analgesic profile of hydroalcoholic extract obtained from Marrubium vulgare*. *Phytomedicine*, 5(2), 103–107.
- Del Río L.A. & López-Huertas E.**, 2016. ROS generation in peroxisomes and its role in cell signaling. *Plant Cell Physiol* 57, 1364-1376.
- Denieul, A., & Faure, S.** (2009). *Les traitements antifongiques*. *Actualités Pharmaceutiques*, 48(484), 14–18.
- Des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique* 2003.
- Dillemann Georges.** Des « plantes médicinales » parmi les arbres d'alignement des rues de Paris. In: *Revue d'histoire de la pharmacie*, 79<sup>e</sup> année, n°288, 1991. pp. 36-38.

**DJAHRA Boutlelis, A.** Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L. 2014. Université Badji Mokhtar-Annaba.

**Djahra, A.B., Bordjiba, O., Benkherara, S.** Extraction, séparation et activité antibactérienne des tanins de Marrube blanc (*Marrubium vulgare* L.). *Phytothérapie* (2013) 11:348-352. Springer-Verlag France 2013.

**Djahra, A.B., Bordjiba, O., Benkherara, S.** Extraction, séparation et activité antibactérienne des tanins de Marrube blanc (*Marrubium vulgare* L.). *Phytothérapie* (2013) -Springer-Verlag France. 11:348-352.

**DJEDAIA, S.** 2017. ETUDE PHYSICO-CHIMIQUE ET CARACTERISATION DU FRUIT DE LA PLANTE LENTISQUE (*Pistacia Lentiscus* L.). UNIVERSITÉ BADJI MOKHTAR-ANNABA. 103P.

**Djeddi, S., Karioti, A., Yannakopoulou, E., Papadopoulos, K., Chatter, R., Helen, S.** (2015). Analgesic and Antioxidant Activities of Algerian *Retama raetam* (Forssk.) Webb & Berthel *Rec. Nat. Prod.* 7: 169-176 pp.

**Dominique, C., Jean-philippe, B., Ludovic, G., Sophie, B., Bernard, C., Pascale, P.** (2002). Les moisissures d'intérêt médical. Cahier de formation en biologie médicale N°25. Bioforma. 1-159.

**Droge, W.,** (2002). Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiological Reviews*, 82, (1) 47-95.

**Dubois, B.** IMPLICATION DU STRESS OXYDANT DANS PLUSIEURS AFFECTIONS DU CHEVAL ATHLETE : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE. (2015). L'UNIVERSITÉ CLAUDE-BERNARD - LYON I (Médecine - Pharmacie). VETAGRO SUP.

**Dufresne, P.** (2018). Identification des champignons d'importance médicale. Stage de laboratoire. Institut national de santé publique, Québec. 1-64.

**Durand, S.** (2015). La diversité du monde microbien. 71-82.

### **E**

**Eddouks, M., Ouahidi, M.L., Farid, A., Moufid, A., Khalidi, A. Lemhadri.** L'utilisation, des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. *Phytothérapie*. Springer 2007. 5 : 194-203.

- Edziri, H., Marzouk, B., Mabrouk, H., Garreb, M., Douki, W., Mahjoub, A., ... Mastouri, M.**(2018). Phytochemical screening, butyrylcholinesterase inhibitory activity and anti-inflammatory effect of some Tunisian medicinal plants. *South African Journal of Botany*, 114, 84–88.
- El Azzouzi, F., Zidane, L.,** (2015).La flore médicinale traditionnelle de la région de BéniMellal (Maroc). *Journal of Applied Biosciences* 91:8493 – 8502.
- El bardai S., Lyoussi B., Wibo M. & Morel N.,** 2004. Comparative Study of the antihypertensive activity of *Marrubiumvulgare* and of the dihydropyridine calcium antagonist amlodipine in spontaneously hypertensive rat, *Clin. Exp. Hyprtens.*, Vol. 26 (6), 465-474.
- Elbashiti, T. A., Elmanama, A. A., et Masad, A. A.** (2011).The antibacterial and synergistic effects of some Palestinian plants extracts on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Functional Plant Science and Biotechnology*, 5, pp 57-62.
- Elberry, A. A., Harraz, F. M., Ghareib, S. A., Gabr, S. A., Nagy, A. A., & Abdel-Sattar, E.** (2015). *Methanolic extract of Marrubium vulgare ameliorates hyperglycemia and dyslipidemia in streptozotocin-induced diabetic rats. International Journal of Diabetes Mellitus*, 3(1), 37–44.
- EL-Hawary, S., EL-Shabrawy, A., Ezzat, S., and EL-Shibany, F.** Gas chromatography-mass spectrometry analysis, hepatoprotective and antioxidant activities of the essential oils of four Libyan herbs. *Journal of Medicinal Plants Research*. Vol. 7(24), pp. 1746-1753, 25 June, 2013.
- Elisée, K.K ., Mathieu, K.A.K ., Sitapha, O., et Frédéric, G-G .** (2010). Evaluation de l'activité antifongique de *Mitracarpus Scaber*, une rubiaceae codifiée MISCA sur *Candida glabrata*
- El-Rhaffari L., Zaid A.,** 2004.Pratique de la phytothérapie dans le sud-est du Maroc (Tafilalet). Un savoir empirique pour une pharmacopée rénovée. Origine des pharmacopées traditionnelles et élaboration des pharmacopées savantes.
- Epa, C., Attibayeba, Agbonon, A., Morabandza, C. J., Okiemy-AKeli, M. G., Ongoka, R. P., ... Gbeassor, M.** (2015). Effet de l'extrait éthanolique des écorces du tronc de *Buchholzia coriacea* sur quelques paramètres asthmatiques chez le rat. *Phytothérapie*, 14(5), 309–314.

**ESPOSITO, E., ROTILIO, D., DIMATTEO, V., DIGIULIO, C., CACCHIO, M., & ALGERI, S.** (2002). A review of specific dietary antioxidants and the effects on biochemical mechanisms related to neurodegenerative processes. *Neurobiology of Aging*, 23(5), 719–735.

### F

**Favier, A., 2003.** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension  
**Favier, A., 2006.** Stress oxydant et pathologies humaines. Elsevier Masson SAS. Ann Pharm. Fr 2006, 64 : 390-396.

**Fettah, A., 2019.** Étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique (antioxydante - antibactérienne) des extraits de la plante *Teucrium polium* L. sous espèce Thymoïdes de la région Beni Souik, Biskra. UNIVERSITE MOHAMED KHIDER BISKRA.

**Fukai T. & Ushio-Fukai M., 2011:** Superoxide dismutases: role in redox signaling, vascular function, and diseases. *Antioxidants & Redox Signaling* 15(6), 1583-1606.

### G

**Gardès-Albert., M.**(2006). Stress oxydant Aspects physico-chimiques des espèces réactives de l'oxygène. Elsevier Masson SAS. Ann Pharm Fr 2006, 64 : 365-372.

**Gardner.Z., McGuffin.M.** 2013. BOTANICAL SAFETY. HAND BOOK .Second Edition. American Herbal Products Association's. 1-1029.

**Garnaud, C., & Cornet, M.** (2020). *Membrane et paroi fongiques : des rôles clés dans la résistance aux antifongiques.* *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2020(519), 50–58.

**Ghazghazia, H., Aouadhi, C., Maaroufi, A., et Hasnaoui, B.** Comparaison des contenus en polyphénols et de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de quatre plantes collectées du nord de Tunisie. *Microbiol. Hyg. Alim.-Vol 25, N° 73 – juillet 2013-* academia.edu.

**Ghedadba, N.** contribution à l'étude de l'activité biologique des deux espèces de *Marrubium vulgare* L et *Marrubium deserti* de Noé in vitro et in vivo. 2018. Université Mustapha Ben-Boulaïd, Batna 2.

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

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

**Ghedadba, N., Hambaba, L., Ayachi, A., Aberkane, M. C., Bousselsela, H., & Oueld-Mokhtar, S. M.** (2015). *Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de Marrubium deserti de Noé. Phytothérapie, 13(2), 118–129.*

**Ghedira, K.** Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie* (2005) Numéro 4: 162-169.

**Gherman, C.,** (2000). Comparative analysis of some active principles of herb plants by GC/MS. *Talanta, 53(1), 253–262.*

**Ghnimi, W.** Étude phytochimique des extraits de deux Euphorbiaceae : *Ricinus communis* et *Jatropha curcas*. Évaluation de leur propriété anti-oxydante et de leur action inhibitrice sur l'activité de l'acétylcholinestérase. Autre. Université de Lorraine, 2015. Français.

**Gomes, T. A. T., Elias, W. P., Scaletsky, I. C. A., Guth, B. E. C., Rodrigues, J. F., Piazza, R. M. F., ... Martinez, M. B.** (2016). *Diarrheagenic Escherichia coli. Brazilian Journal of Microbiology, 47, 3–30.*

**Goto, S., & Radak, Z.** (2013). *Implications of oxidative damage to proteins and DNA in aging and its intervention by caloric restriction and exercise. Journal of Sport and Health Science, 2(2), 75–80.*

**Goudable, J., Favier, A.** (1997). *Radicaux libres oxygénés et antioxydants. Nutrition Clinique et Métabolisme, 11(2), 115–120.*

**Graßmann, J. Terpenoids as Plant Antioxidants.** Institute of Vegetable Science—Quality of Vegetal Foodstuff Life Science Center Weihenstephan, Durnast 2, 85350 Freising, Germany. Vitamins and Hormones, Copyright 2005, Elsevier Inc. All rights reserved.

**Guillot, J., & Dannaoui, E.** (2016). *La résistance aux antifongiques : importance en médecine humaine et vétérinaire. Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France, (4), 314.*

**Gutmann, L., Williamson, R.** Paroi bactérienne et bêta-lactamines. *Médecine Sciences* 1987 ; 3: 75-81.

## H

**Habibou, H.H., Idrissa, M., Ikhiri Khalid, P., Benjamin, O.** Activité Antioxydante des Extraits Méthanoliques de Différents Organes de *Detarium microcarpum* Guill. & Perr. *European Scientific Journal* April 2019 Edition Vol.15, No.12 ISSN: 1857 – 7881 (Print) e - ISSN 1857- 7431.

- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.O., Charlier, C., & Chapelle, J.P.**, 2007. Le stress oxydant Rev Med Liege 62, 628-638.
- Hameg, T., Taleb, D.** Evaluation de l'activité antimicrobienne, et antioxydante des composés phénoliques du Marrube blanc (*Marrubium vulgare*). 2018. UNIVERSITE MOULOUDE MAMMERI DE TIZI-OUZOU.
- Harada, S., & Doi, Y.** (2018). Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*: a Call for Consensus Definition and International Collaboration. Journal of Clinical Microbiology, 56(9).
- Hartmann, T.**, (2007). From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*, 68(22-24), 2831–2846.
- Hartmann, T., Shears, P.** (1996). Atlas de poche de microbiologie. Mosby-Wolfe. 1-317.
- Hayat, J., Akodad, M., Moumen, A., Baghour, M., Skalli, A., Ezrari, S., & Belmalha, S.** (2020). Phytochemical screening, polyphenols, flavonoids and tannin content, antioxidant activities and FTIR characterization of *Marrubium vulgare L.* from 2 different localities of Northeast of Morocco. *Heliyon*, 6(11), e05609.
- Hayat, J., Akodad, M., Moumen, A., Baghour, M., Skalli, A., Ezrari, S., & Belmalha, S.** (2020). *Phytochemical screening, polyphenols, flavonoids and tannin content, antioxidant activities and FTIR characterization of Marrubium vulgare L. from 2 different localities of Northeast of Morocco. Heliyon, 6(11), e05609.*
- Hencke, S.** Utilisation alimentaire des levures. Sciences pharmaceutiques. 2000.
- Hissein, A.O., Abdelsalam, T., Adama, S., Bakary, T., Lawane, I.A., Hama, C., Yves, T., Aly, S.**(2019). Isolement et caractérisation de souches fongiques à partir de poissons fumés/sechés du lac Fitri au Tchad. American Journal of Innovative Research and Applied Sciences. ISSN 2429-539.
- Hochart, S., Barrier, F., Durand-Joly, I., Horrent, S., Decaudin, B., & Odou, P.** (2008). Les antifongiques systémiques. Le Pharmacien Hospitalier, 43(173), 103–109.
- Holt, K. E., Wertheim, H., Zadoks, R. N., Baker, S., Whitehouse, C. A., Dance, D., ... Thomson, N. R.** (2015). Genomic analysis of diversity, population structure, virulence, and antimicrobial resistance in *Klebsiella pneumoniae*, an urgent threat to public health. Proceedings of the National Academy of Sciences, 112(27), E3574–E3581.
- Hopkins. G.M.**,2003. Physiologie végétale. John Wiley and Sons. 1-514.
- Huette, P., & Dupont, H.** (2019). Indication des traitements antifongiques (hors hématologie). Que montrent les données ? Anesthésie & Réanimation.



### I

**Iserin, P.2001.** Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation, soin. Edition LAROUSSE, Paris. 1-335.

### J

**Juffé, M.** LA DESCENDANCE DES BACTÉRIES. 2010/2 N° 73 | pages 99 à 110. ISSN 0986-6035.

### K

**Kanyonga, P.M., Faouzi, M.A., Meddah, B., Mpona, M, Essassi, E.M and Cherrah, Y.** Assessment of methanolic extract of Marrubium vulgare for antiinflammatory, analgesic and anti-microbiologic activities. J. Chem. Pharm. Res., 2011, 3(1):199-204.

**Kaper., J. B., Nataro,J. P., Mobley,HLT.**PATHOGENIC ESCHERICHIA COLI .Nature reviews microbiology **volume 2**, pages 123–140 (2004).

**Kardeh S, Ashkani-Esfahani S, Alizadeh A M.** (2014). Paradoxical action of reactive oxygen species in creation and therapy of cancer. Eur J Pharmacol, **735**, 150- 168.

**Kardeh, S., Ashkani-Esfahani, S., & Alizadeh, A. M.** (2014). Paradoxical action of reactive oxygen species in creation and therapy of cancer. European Journal of Pharmacology, 735, 150–168.

**Karryev, M. O., Bairyev, C. B., et Ataeva, A. S., 1976.** Some therapeutic properties and phytochemistry of common horehound. *Seriya Biologicheskikh Nauk*, **3**, pp 86–88.

**Kettani, A., Belkhadir, Z. H., Mosadik, A., Faroudy, M., Ababou, A., Lazreq, C., & Sbihi, A.** (2006). *Traitement antifongique des candidoses systémiques en réanimation. Journal de Mycologie Médicale*, 16(1), 16–25.

**Kettani, A., Belkhadir, Z. H., Mosadik, A., Faroudy, M., Ababou, A., Lazreq, C., & Sbihi, A.** (2006). *Traitement antifongique des candidoses systémiques en réanimation. Journal de Mycologie Médicale*, 16(1), 16–25.

**Kohanski, M. A., Dwyer, D. J., & Collins, J. J. (2010).** How antibiotics kill bacteria: from targets to networks. *Nature Reviews Microbiology*, 8(6), 423–435.

**KOMBO, G.M.N., 2017.** Evaluation de l'activité antibactérienne de polyphénols totaux de Ficus chlamydocarpa. Pharmacognosie et Chimie Pharmaceutique, Université de Yaoundé I June, 2017.

**Koren, H. S., (1995).** Associations between criteria air pollutants and asthma. *Environmental Health Perspectives*, 103,235–242.

**Kostova, I., Bhatia, S., Grigorov, P., Balkansky, S., Parmar, V.S., Prasad, A.K., and Saso, L.** Coumarins as Antioxidants. *Current Medicinal Chemistry*, 2011, 18, 3929-3951.

**Kurtzman, C.P., Fell, J.W., Boekhout, T.** (2011). *The Yeasts, a Taxonomic Study*. Elsevier. 1-537.

### L

**Lahlou Amine, I., Sekhsokh, Y., Lkassmi, H.** Emergence d'isolats cliniques de *Pseudomonas aeruginosa* producteurs de bêta-lactamases à spectre étendu en milieu hospitalier. *LES TECHNOLOGIES DE LABORATOIRE - N°7 Novembre-Décembre 2007*.

**Lambinon J., Delvosalle, L., Duvigneaud, J.**(2004). *La nouvelle flore de la Belgique du Grand-Duché de Luxembourg, du Nord de la France et des régions voisines*, 5ème édition, Jardin Botanique National de Belgique.

**Lanciano, P., Khalfaoui-Hassani, B., Selamoglu, N., Ghelli, A., Rugolo, M., & Daldal, F.** (2013). Molecular mechanisms of superoxide production by complex III: A bacterial versus human mitochondrial comparative case study. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1827(11-12), 1332–1339.

**Lekrine, Y.** hydrodynamisme et minéralisation du complexe aquifère du bassin frontalier d'El Ma El Abiod Wilaya de Tébessa (S-E Algérien). 2015. Université Mentouri 1 Constantine.

**Lismont C., Nordgren M., Van Veldhoven P.P.& Fransen M.**,2015. Redox interplay between mitochondria and peroxisomes. *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 3, 1-19.

**Lismont, C., Nordgren, M., Van Veldhoven, P. P., & Fransen, M.** (2015). *Redox interplay between mitochondria and peroxisomes. Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 3.

**Lodhi, S., Vadnere, G.P., Sharma, V.K., Usman, M.R., 2017.** *Marrubium Vulgare L* : A review on phytochemical and pharmacological aspects. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology* 6, 429-452.

**Lyn Patrick N.D** (2006). Lead Toxicity Part II: The Role of Free Radical Damage and the Use of Antioxidants in the Pathology and Treatment of Lead Toxicity. *Altern Med Rev*, **11**, (2) 114-127.

### M

**Macheix, J.J., Fleuriet, A., Jay-Allemand, C., 2005.** Les composés phénoliques des végétaux un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes.

**Mahmoud, A. A., Gendy, A. S. H., Said-Al Ahl, H. A. H., Grulova, D., Astatkie, T., & Abdelrazik, T. M. (2018).** *Impacts of harvest time and water stress on the growth and essential oil components of horehound (Marrubium vulgare).* *Scientia Horticulturae*, 232, 139–144.

**Margaritis I, Palazzetti S, Rousseau AS, Richard MJ, Favier A (2003).** Antioxidant supplementation and tapering exercise improve exercise- induced antioxidant response. *J Am Coll Nutr*, 22, (2) 147-156.

**Martinez-Cayuela M., 1995 :** Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie*, 77, 147-161.

**Martínez-Cayuela, M., (1995).** Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie*, 77, 147–161.

**MEHINAGIC, E., BOURLES, E., et JOURJON, F.** Composés des fruits d'intérêt nutritionnel: impact des procédés de transformation sur les polyphénols. (2011). Ecole supérieure d'agriculture d'Angers. *Revue suisse Viticulture, Arboriculture, Horticulture* | Vol. 43 (6): 364–368, 2011.

**Meyre-Silva, C., Yunes, R. A., Schlemper, V., Campos-Buzzi, F., & Cechinel-Filho, V. (2005).** *Analgesic potential of marrubiin derivatives, a bioactive diterpene present in Marrubium vulgare (Lamiaceae).* *Il Farmaco*, 60(4), 321–326.

**Miara, M.D., Ait Hammou, M., Hadjadj Aoul, S.** Phytothérapie et taxonomie des plantes médicinales spontanées dans la région de Tiaret (Algérie). *Phytothérapie* (2013) -Springer-Verlag France 2013. 11:206-218.

**Migdal, C., Serres, M.** Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences* (2011) ; 27 : 405-12.

**Moniczewski, A., Gawlik, M., Smaga, I., Niedzielska, E., Krzek, J., Przegaliński, E., ... Filip, M. (2015).** *Oxidative stress as an etiological factor and a potential treatment target of psychiatric disorders. Part I. Chemical aspects and biological sources of oxidative stress in the brain.* *Pharmacological Reports*, 67(3), 560–568.

**Morio, F., Jensen, R. H., Le Pape, P., & Arendrup, M. C.** *Molecular basis of antifungal drug resistance in yeasts.* *International Journal of Antimicrobial Agents* 50 (2017) 599–606.

**Mpondo Mpondo, E., YINYANG, J., DIBONG, S.D.** Valorisation des plantes médicinales à coumarines des marchés de Douala Est (Cameroun). 2015. *Journal of Applied Biosciences* 85:7804– 7823.

**Muylaert A., Mainil J.G.** Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité ». *Ann. Méd. Vét.*, 2012, 156, 109- 123.

### N

**N'guessan, K., Soro, D., Amon, A.D.E.** Plantes utilisées en médecine traditionnelle dans le traitement des maladies cardiovasculaires, en pays Abbey et Krobou, dans le Sud de la Côte-d'Ivoire. *Phytothérapie* (2011). Springer-Verlag France. 9:199-208.

**Nawel, C.A., Anderson, L.A., Philipson, J.D., 1996.** *Herbal medicines : a guide for health care professionals.* The pharmaceutical Press, London.

**Nedjimi, B., Souissi, Z. E., Guit, B., & Daoud, Y.** (2020). Differential effects of soluble salts on seed germination of *Marrubium vulgare* L. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 100250.

**Nemeth, J., Oesch, G., & Kuster.** (2014). Bacteriostatic versus bactericidal antibiotics for patients with serious bacterial, S. P infections: systematic review and meta-analysis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 70(2), 382–395.

### P

**Palencia, Sixta L., García, A., Palencia,M.** Multiple surface interaction mechanisms direct the anchoring, co-aggregation and formation of dual-species biofilm between *Candida albicans* and *Helicobacter pylori*.2021. *Journal of Advanced Research* xxx (xxxx) xxx. Contents lists available at. ScienceDirect.

**Pankey, G. A., & Sabath, L. D.** (2004). *Clinical Relevance of Bacteriostatic versus Bactericidal Mechanisms of Action in the Treatment of Gram- Positive Bacterial Infections.* *Clinical Infectious Diseases*, 38(6), 864–870.

**Pavela R., 2004.** Insecticidal activity of certain medicinal plants, *Fitoterapia.*, Vol. 75, 745–749.

**Pisoschi, A. M., & Pop, A.** (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, 55–74.

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

**Powers, S.K., Jackson, M.J.**, 2008. Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production. *Physiol Rev* 88: 1243–1276, 2008.

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

### Q

**Quezel, P., Santa, S.** (1993). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II. Editions du centre National de la Recherche scientifique. 15, quai Anatole-France-Paris.

### R

**Raedschelders, K., Ansley, D. M., & Chen, D. D. Y.** (2012). *The cellular and molecular origin of reactive oxygen species generation during myocardial ischemia and reperfusion. Pharmacology & Therapeutics*, 133(2), 230–255.

**Rebbas, K., Bounar, R., Gharzouli, R., Ramdani, M., Djellouli, Y., & Alatou, D.** (2012). *Plantes d'intérêt médicinale et écologique dans la région d'Ouanougha (M'sila, Algérie). Phytothérapie*, 10(2), 131–142.

**Rigano D., Aviello G., Bruno M., Formisano C., Rosselli S., Capasso R., Senatore F., Izzo A.A. & Borrelli F., 2009.** Antispasmodic Effects and Structure–Activity Relationships of Labdane Diterpenoids from *Marrubium globosum ssp. Libanoticum*, *J. Nat. Prod.*, Vol. 72, 1477-1481.

**Rose, A. H.** (1975). *Chapter 1 Growth and Handling of Yeasts. Yeast Cells*, 1–16.

**Roy, PH**, Dissémination de la résistance aux antibiotiques : le génie génétique à l'oeuvre chez les bactéries, *Med Sci (Paris)*, 1997, Vol. 13, N° 8-9; p.927-33

### S

**Saba, H., Vibhash, D., Manisha, M., Prashant K. S., Farhan, H., Tauseef, A.** Anti epileptic activity of some medicinal plants. *Int. J. Med. Arom. Plants*, ISSN 2249 – 4340. Vol. 2, No. 2, pp. 354-360, June 2012.

**Sadou, N., Seridi, R., Djahoudi, A., HadeF, Y.** Composition chimique et activité antibactérienne des Huiles Essentielles des aiguilles de *Pinus halepensis* Mill. Du Nord est Algérien. *Rev. Sci. Technol., Synthèse* 30: 33-39 (2015).

**Sadou,N., Seridi, R., Djahoudi, A., HadeF,Y.,**2015.Composition chimique et activité antibactérienne des Huiles Essentielles des aiguilles de *Pinus halepensis* Mill. Du Nord est Algérien.*Rev. Sci. Technol., Synthèse* 30: 33-39.

**Sahpaz, S., Garbacki, N., Tits, M., & Bailleul, F.** (2002). Isolation and pharmacological activity of phenylpropanoid esters from *Marrubium vulgare*. *Journal of Ethnopharmacology*, 79(3), 389–392.

**Said-Al Ahl, HAH., Gendy, A.S.H, Mahmoud, A.A., Mohamed, H.F.Y.** Essential Oil Composition of *Marrubium vulgare* L. Cultivated in Egypt. *International Journal of Plant Science and Ecology* Vol. 1, No. 4, 2015, pp. 138-141.

**Salhi, S., Fadli, M., Zidane, L. & Douira, A.** Etudes floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville de Kénitra (Maroc). *Lazaroa* 31: 133-146 (2010).

**Sayre L.M, Moreira P.I, Smith M.A, Perry G** (2005). Metal ions and oxidative protein modification in neurological disease. *Ann Ist Super Sanità*, **41**, (2) 143- 164.

**Scalbert, A.** (1991). *Antimicrobial properties of tannins. Phytochemistry*, 30(12), 3875–3883.

**Scherer, R., et Godoy, H. T.**(2009). Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*, 112(3), 654–658.

**Schlemper, V., Ribas, A., Nicolau, M., & Cechinel Filho, V.** (1996). Antispasmodic effects of hydroalcoholic extract of *Marrubium vulgare* on isolated tissues. *Phytomedicine*, 3(2), 211–216.

**SIFI, M. El A.** Caractérisation chimique et étude toxico-biologique de l’huile essentielle et de l’hydrolat du *Marrubium vulgare* de la région de Tlemcen.2018. Université Aboubakr Belkaïd – Tlemcen.

**Stéphanie Coumes Florens.** Les modules de ” détection /résistance ” aux antibiotiques peptidiques chez les Firmicutes. *Biologie cellulaire*. Université de la Méditerranée - Aix-Marseille II, 2011. Français.

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

## T

**Tanoha, S. K., N’Gaman-Kouassia,C.C., Boab,D., MAMYRBEKOVA-Békroa,J.A., Békroa,Y.A.**, Activité antioxydante des extraits bruts hydroéthanoliques et hydroacétoniques des organes de quatre plantes de Côte d’Ivoire médicinales.2019.Nature et Technologie. ISSN : 1112-9778 – EISSN : 2437-0312.

**Tanumihardjo S.A.**, 2013: Carotenoids and Human Health. *Humana Press, Springer. USA.*

**Tebti, M. C., Zahraoui, A.** effet des extraits de *Marrubium vulgare* sur la croissance de *Candida Albicans* responsable des infections nosocomiales. 2019. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.

**Tebti, M.C., Zahraoui, A.** Effet des extraits de *Marrubium Vulgare* sur la croissance de *Candida Albicans* responsable des infections nosocomiales. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem. 2019.

**Tsimikas S., Brilakis E.S. & Miller ER.**,2005. Oxidized phospholipids, Lp(a) lipoprotein, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 353, 46-57.

### W

**Weel, K. G. C., Venskutonis, P. R., Pukalskas, A., Gruzdiene, D., & Linssen, J. P. H.** (1999). *Antioxidant activity of horehound (Marrubium vulgare L.) grown in Lithuania. Lipid - Fett, 101(10), 395–400.*

### Y

**YALA, D., MERAD, A.S., MOHAMEDI, D., OUAR KORICH, M.N.** CLASSIFICATION ET MODE D’ACTION DES ANTIBIOTIQUES. *Médecine du Maghreb* 2001 n°91.

**Yala, J.F., MBA, N.M., Issembe, Y.A., Lepengue, N.A., Souza, A.**(2016). Evaluation in vitro de l’activité antimicrobienne de l’extrait aqueux d’eryngium foetidum récolté dans la ville de Franceville. *Journal of applied biosciences.* 1997-5902.

**Ye, Z.-W., Zhang, J., Townsend, D. M., & Tew, K. D.** (2015). Oxidative stress, redox regulation and diseases of cellular differentiation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1850(8), 1607–1621.

**Yousefi, K., Soraya, H., Fathiazad, F., Khorrami, A., Hamedeyazdan, S., Maleki-Dizaji, N., et Garjani, A.** (2013). Cardioprotective effect of *Marrubium vulgare L.* on isoproterenol induced acute myocardial infarction in rats. *Indian J Exp Biol*, **51**, pp 653-660.

**Yousfi, Y., Djellouli, N.**,2017.Etude quantitative des composés phénoliques des extraits de quatre cultivars de dattes du « *Phoenix dactylifera L.* ». UNIVERSITE d’ADRAR. 69p.

**Youssef, A. M.** plants médicinales de Kabylie. Ed : Ibis press (Paris), P : 349, 2006.

**Zaabat, N., Darbour, N., Bayet, C., Michalet, S., Doléans-Jordheim, A., Chekir-Ghedira, L., Akkal, S., Dijoux-Franca, M-G.** 2010. Etude préliminaire de *Marrubium deserti de Noé*, une Lamiaceae endémique algérienne. *Phytothérapie* .8 (6) : 353-358.

### **Z**

**Zahaf, K., Bahloul, M.** Etude phytochimique et évaluation de l'activité anticorrosion des extraits des plantes *Tlapsia garganica* L et *Marrubium vulgare*. 2019. Université Larbi Ben M'hidi Oum El Bouaghi.

**ZEGHIB, A.** Etude phytochimique et activités antioxydante, antiproliférative, antibactérienne et antivirale d'extraits d'huiles essentielles de quatre espèces endémiques de genre *Thymus*. 2013.

**Zenk, M.H., Juenger, M.** 2007. Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds. *Phytochemistry Review*, 68, 2757-2772.

**Zimmer, N., Cordesse, R.** Influence des tanins sur la valeur nutritive des aliments des ruminants. *Productions animales*, Institut National de la Recherche Agronomique, 1996, 9 (3), pp.167-179.







Université Larbi Tébessi- Tébessa

Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie

Département ..... *Biologie* .....

Filière : .. *Sciences de la nature et de la vie* .....

Spécialité : .. *Biochimie* .....

Année universitaire 2020/2021



## Formulaire de levée de réserves après soutenance d'un Mémoire de Master

### Données d'identification du candidats(es) :

Nom et prénom du candidat : .. *Aouachia Ikram* .....

Intitulé du Sujet : .. *Aouachia I.H.E.N.E* ..  
..... *Investigation de certaines activités biologiques* ..  
..... *de l'extrait éthanolique de *Marrubium** ..  
..... *vulgare L.* .....

### Données d'identification du membre de jury :

Nom et prénom : .. *Liani Sawssen / Gherissi Bilal / Djebri Belgacem* ..

Grade : .. *M.A.A / M.A.A / pr* ..

Lieu d'exercice : Université Larbi Tébessi- Tébessa

Vu le procès-verbal de soutenance de la thèse sus citée comportant les réserves suivantes :

.....  
.....  
.....  
.....

Et après constatation des modifications et corrections suivantes :

.....  
.....  
.....  
.....

Je déclare en ma qualité de président de jury de soutenance que le mémoire cité remplit toutes les conditions exigées et permet au candidat de déposer son mémoire en vue de l'obtention de l'attestation de succès.

Le.....

Président de jury de soutenance : (Nom/Prénom et signature)

*Liani Sawssen*



**Déclaration sur l'honneur de non-plagiat**  
 (à joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)

Je soussigné(e),  
 Nom, Prénom : Aouachia I.H.E.N.E.  
 Régulièrement inscrit(e) en **Master** au département : biologie  
 N° de carte d'étudiant : 161634220120  
 Année universitaire : 2021/2022  
 Domaine : Sciences de la nature et de la vie  
 Filière : Biologie Appliquée  
 Spécialité : Biotechnie  
 Intitulé du mémoire : Investigation de certaines activités biologiques de l'extrait éthanolique de Marubium vulgare

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Je certifie également que je n'ai ni recopié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

**Sanctions en cas de plagiat prouvé :**

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité du plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent ;
- L'exclusion d'une année du master ;
- L'exclusion définitive.



Fait à Tébessa, le 11 2 JUL 2021

Signature de l'étudiant(e) : [Signature]



### Déclaration sur l'honneur de non-plagiat (à joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)

Je soussigné(e),

Nom, Prénom : Aravachian Ikrum

Régulièrement inscrit(e) en **Master** au département : Biologie

N° de carte d'étudiant : 16.1634020168

Année universitaire : 2021/2020

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Biologie appliquée

Spécialité : Biochimie

Intitulé du mémoire : Investigation de certaines activités biologiques de l'extrait éthanolique de *Strobilium vulgare* L.

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Je certifie également que je n'ai ni recopié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

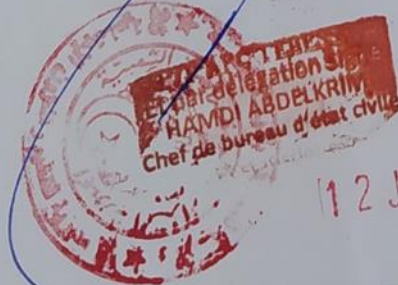
#### Sanctions en cas de plagiat prouvé :

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité du plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent ;
- L'exclusion d'une année du master ;
- L'exclusion définitive.

Fait à Tébessa, le : 12 JUL 2021

Signature de l'étudiant(e) :



12 JUL 2021