



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

القسم: **Département : Biologie et Ecologie Végétale**

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master**

**Domaine : Sciences biologiques**

**Filière : Biologie et Physiologie Végétale**

**Spécialité : Métabolisme secondaire et molécules bioactives**

**Intitulé :**

---

**Etudes Biologique et phytochimique de quelques extraits actifs  
De deux espèces de la Famille des Labiées  
(Ajuga iva L.– Marrubium vulgare L.)**

---

**Présenté par : HASSIN BOUKAL CHAOUKI**

**Soutenu Le : 24/06/2015**

**Jury d'évaluation :**

- **Président du jury :** KARA Youcef (Pr - UFM Constantine).
- **Rapporteur :** BOUZID Salha (MAA- UFM Constantine).
- **Examineurs :** NEBBACHE Saloua (MAA- UFM Constantine).

**Année universitaire 2014 - 2015**

## **Remerciement**

*Comme le veut la tradition, la page des remerciements, est une tâche difficile. Qu'aucune expression, ni aucun geste, ne peut combler mes sentiments envers les gens, à qui cette thèse n'aurait vu le jour sans la confiance, la patience et la générosité.*

*En préambule à ce mémoire je remercie ALLAH qui m'a aidé et m'a donné la patience et le courage durant ces longues années d'études*

*En premier lieu je remercie mon encadreur Mme «BOUZID Salha» pour ses conseils et son orientation pendant toute la période du travail*

*En second lieu je remercie vivement Pr. KARA Youcef d'avoir accepté de présider le jury, et Mme NEBBACHE Saloua d'avoir accepté d'examiner notre travail, et de l'intérêt qu'ils ont apporté à notre recherche et de l'enrichir par leurs propositions.*

*J'adresse mon travail à*

*-ous mes enseignants de 2<sup>ème</sup> master métabolisme*

*Et à tous nos enseignants de biologie et physiologie Végétale*

*En fin, Je commence par adresser mes plus chaleureux remerciements à ceux dont le nom n'apparaît pas dans cette page et qui m'ont aidé d'une manière ou d'une autre à réaliser ce travail.*

*Merci*

## ***Dédicaces***

*Un merci spécial à ma mère pour son intarissable amour, sans toi je ne serais jamais arrivée, ce diplôme, et pour sa tendresse et son sacrifice,*

*Je dédie ce travail à mon père RABEH*

*A mon frère RAMZI*

*Pour leur encouragement et leur compréhension*

### ***Ma famille***

*Ma tante Nacéra et ces enfants, ma cousine Ryme et ces enfants*

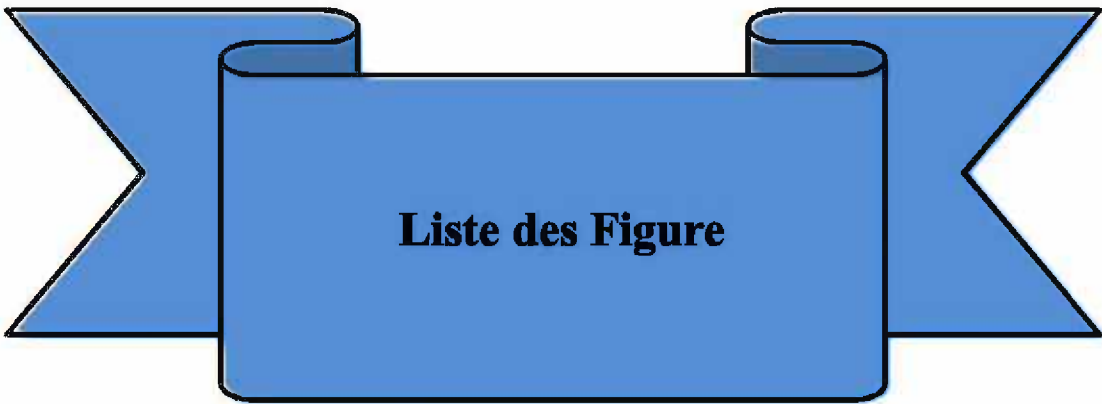
*A toutes la famille*

### ***A Mes amies***

*Safeh, Isslem, Bilef, Lamine, Saber, Chouaib,*

*Amina, Kawter, Amel,*

*Et Finalement à toute de la promotion de 2014/2015*



**Liste des Figure**

<b>Figure 01 : Carte de répartition géographique de la famille des Labiées (en rouge) .....</b>	<b>11</b>
<b>Figure 02: représentation d'une fleur de la famille des Labiées.....</b>	<b>12</b>
<b>Figure 03 : plantes <i>Marrubium vulgare</i>.....</b>	<b>19</b>
<b>Figure 04 : Espèce de <i>Marrubium vulgare</i>.....</b>	<b>20</b>
<b>Figure 05 : Espèce du <i>Ajuga iva</i>.....</b>	<b>24</b>
<b>Figure 06 : structure chimique du noyau aromatique.....</b>	<b>27</b>
<b>Figure 07 : la voie de schikimate.....</b>	<b>28</b>
<b>Figure 08 : la voie de phénolpropanoïde.....</b>	<b>29</b>
<b>Figure 09 : la voie de biosynthèse des flavonoïdes .....</b>	<b>30</b>
<b>Figure10 : Structure chimique de quelques coumarines.....</b>	<b>38</b>
<b>Figure 11 : Squelette de base des flavonoïdes.....</b>	<b>40</b>
<b>Figure 12 : les classes des flavonoïdes.....</b>	<b>41</b>
<b>Figure 13 : la zone de SALAH BEY (El gherabe).....</b>	<b>52</b>
<b>Figure 14: filtration des extraits.....</b>	<b>62</b>
<b>Figure 15 : agitation magnétique sur les 02 plantes (partie aérienne).....</b>	<b>62</b>
<b>Figure 16 : évaporation rotatif .....</b>	<b>62</b>
<b>Figure 17: récapitulatif des étapes de l'extraction, séparation et identification des polyphénols.....</b>	<b>64</b>
<b><u>Les Affrontement de la plante <i>Marrubium vulgare</i></u></b>	
<b>Figure 18: phase Ether de pétrole.....</b>	<b>65</b>
<b>Figure 19: phase Ether di éthylique.....</b>	<b>65</b>
<b>Figure 20: phase Ether de pétrole.....</b>	<b>65</b>
<b><u>Les Affrontement de la plante <i>Ajuga iva</i></u></b>	
<b>Figure 21: phase Ether de pétrole.....</b>	<b>67</b>
<b>Figure 22: phase Ether di éthylique.....</b>	<b>67</b>
<b>Figure 23: phase Ether de pétrole.....</b>	<b>67</b>
<b>Figure 24 : Forme libre et réduite du DPPH.....</b>	<b>73</b>
<b>Figure 25: Résultat de criblage de flavonoïdes.....</b>	<b>75</b>
<b>Figure 26 : Résultat de criblage de Tanins.....</b>	<b>76</b>
<b>Figure 27 : Résultat de criblage des Anthraquinones .....</b>	<b>77</b>
<b>Figure 28: Résultat de criblage de Quinone.....</b>	<b>78</b>
<b>Figure 29 : Résultat de criblage des Alcaloïdes.....</b>	<b>79</b>

<b>Figure 30: Teneur en phénols de <i>Marrubium vulgare</i> et de <i>Ajuga iva</i>.....</b>	<b>83</b>
<b>Figure 31: Teneur en Flavonoïdes de <i>Marrubium vulgare</i> et de <i>Ajuga iva</i>.....</b>	<b>84</b>
<b>Figure 32 : Teneur en phénols et en Flavonoïdes de <i>Ajuga iva</i>.....</b>	<b>84</b>
<b>Figure 33 : Teneur en phénols et en Flavonoïdes de <i>Marrubium vulgare</i>.....</b>	<b>80</b>
<b>Figure 34 : Teneur en phénols et en Flavonoïdes de <i>Ajuga iva</i> et <i>Marrubium vulgare</i>.....</b>	<b>85</b>
<b>Figure 35 : pourcentage de l'activité antioxydant d'espèce <i>Ajuga iva</i> a concentration 1 mg/ml.....</b>	<b>88</b>
<b>Figure 36 : pourcentage de l'activité antioxydant d'espèce <i>Marrubium vulgare</i> a concentration 1 mg/ml.....</b>	<b>88</b>
<b>Figure 37 : pourcentage de l'activité antioxydant d'espèce <i>Ajuga iva</i> a concentration 5 mg/ml.....</b>	<b>88</b>
<b>Figure 38 : pourcentage de l'activité antioxydant d'espèce <i>Marrubium vulgare</i> a concentration 5 mg/ml.....</b>	<b>89</b>
<b>Figure 39 : pourcentage de l'activité antioxydant d'espèce <i>Ajuga iva</i> et <i>Marrubium vulgare</i> a concentration 1 mg/ml.....</b>	<b>89</b>
<b>Figure 40 : pourcentage de l'activité antioxydant d'espèce <i>Ajuga iva</i> et <i>Marrubium vulgare</i> a concentration 1 mg/ml.....</b>	<b>90</b>
<b>Figure 41: Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.....</b>	<b>91</b>
<b>Figure 42: Schéma de transformation du DPPH de sa forme active à celle inactive.....</b>	<b>92</b>



**Liste tableaux**

<b>Tableau 1 : Quelques Plantes Médicinales de la Famille des <i>Labiées</i>.....</b>	<b>13</b>
<b>Tableau 02 : Utilisations traditionnelles des diverses <i>Labiées</i>.....</b>	<b>15</b>
<b>Tableau 03 : Répartition et distribution du genre <i>Marrubium</i> en Algérie.....</b>	<b>17</b>
<b>Tableau 04 : Quelques végétaux alimentaire riches en composés phénoliques....</b>	<b>32</b>
<b>Tableau 05 : classification des composés phénoliques.....</b>	<b>33</b>
<b>Tableau 06 : structure de différentes classes des phénols.....</b>	<b>34</b>
<b>Tableau 07 : principaux Acide hydroxy benzoïque.....</b>	<b>36</b>
<b>Tableau 08 : principaux Acide hydroxycinnamique.....</b>	<b>37</b>
<b>Tableau 09 : exemples d'antioxydants retrouvés dans les aliments</b>	<b>49</b>
<b>Tableau 10 : liste des principes radicaux libres</b>	<b>51</b>
<b>Tableau 11 : Quelques plantes à activité antioxydante</b>	<b>51</b>
<b>Tableau 12 : présente les dates de récoltes et les parties utilisées.....</b>	<b>52</b>
<b>Tableau 13 : Coefficient de duitions Des extraits d'échantillon (phénols).....</b>	<b>69</b>
<b>Tableau 14 : Coefficient de duitions Des extraits d'échantillon (Flavonoïdes)....</b>	<b>71</b>
<b>Tableau 15: présente les déferont concentration et volume de préparations.....</b>	<b>74</b>
<b>Tableau 16: Récapitulatif des résultats du screening phytochimique des deux espèces.....</b>	<b>80</b>
<b>Tableau 17: Les phases obtenues des affrontements entre trois solvants successifs (stade Montaison).....</b>	<b>81</b>
<b>Tableau 18 : les résultats des dosages des phénols.....</b>	<b>82</b>
<b>Tableau 19 : les résultats des dosages des Flavonoïdes.....</b>	<b>83</b>
<b>Tableau 20 : résultat des activités antioxydant méthodes de DPPH.....</b>	<b>87</b>





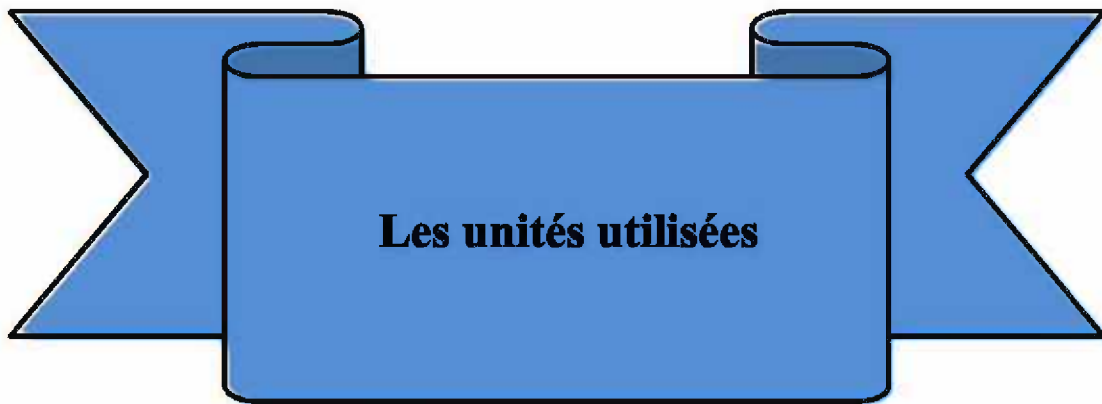
**Liste des schémas**

<b>Schéma 1 : Effets biologiques des polyphénols.....</b>	<b>31</b>
<b>Schéma 02 : Classification des différent classe et structure des polyphénols...</b>	<b>35</b>
<b>Schéma 03 : Criblage de flavonoïdes.....</b>	<b>56</b>
<b>Schéma 04 : Criblage des Tanins.....</b>	<b>57</b>
<b>Schéma 05 : Criblage des Anthraquinones.....</b>	<b>57</b>
<b>Schéma 06 : Criblage des Quinone.....</b>	<b>58</b>
<b>Schéma 07 : Criblage des Alcaloïdes.....</b>	<b>60</b>
<b>Schéma 08 : protocole d'extraction des flavonoïdes.....</b>	<b>68</b>
<b>Schéma 09 : Criblage de flavonoïdes.....</b>	<b>75</b>
<b>Schéma 10 : Criblage des Tanins.....</b>	<b>76</b>
<b>Schéma 11 : Criblage des Anthraquinones.....</b>	<b>77</b>
<b>Schéma 12: Criblage des Quinones.....</b>	<b>78</b>
<b>Schéma 13: Criblage des Alcaloïdes.....</b>	<b>79</b>



**Abréviations**

<b>AcOet :</b>	<b>Acétate d'éthyle</b>
<b>CH<sub>3</sub>COOH:</b>	<b>Acide Acétique</b>
<b>HCl:</b>	<b>Acide chlorhydrique</b>
<b>CHCl<sub>3</sub>:</b>	<b>Chloroforme</b>
<b>FeCl<sub>3</sub>:</b>	<b>Chlorure Ferrique</b>
<b>KOH:</b>	<b>Hydroxyde de potassium</b>
<b>MeOH:</b>	<b>Méthanol</b>
<b>Mg:</b>	<b>Magnésium</b>
<b>NaCl:</b>	<b>Chlorure de sodium</b>
<b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>:</b>	<b>Carbonate sodium</b>
<b>AlCl<sub>3</sub> :</b>	<b>Trichlorure d'Aluminium</b>
<b>DPPH :</b>	<b>1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl</b>
<b>ERO :</b>	<b>Espèces réactives de l'oxygène</b>



**Les unités utilisées**

<b>h</b>	<b>Heure</b>
<b>mn</b>	<b>Minute</b>
<b>l</b>	<b>Litres</b>
<b>ml</b>	<b>millilitre</b>
<b>mm</b>	<b>Mili mitre</b>
<b>mg</b>	<b>Milligramme</b>
<b>G</b>	<b>Gramme</b>
<b>%</b>	<b>Pourcentage</b>
<b>UV</b>	<b>Ultra-violet</b>
<b>mg EGA/ml E :</b>	<b>Microgramme d'équivalent acide gallique par millilitre d'extrait</b>



**Quelque glossaire**

**Lactones** : ester interne (perte d'une molécule d'eau intramoléculaire) d'un acide-alcool ou d'un acide –phénol.

**Coumarine** : composé hétérocyclique oxygéné insaturé comportant une fonction cétone et un noyau benzénique.

**Diterpène** : composé formé de vingt atomes de carbone.

**Alcaloïdes** : Substances azotées basiques très actives, mais souvent trop toxiques pour être utilisées en phytothérapie.

**Analgésique** : apaise ou supprime la douleur.

**Anthocyane** : composé hétérocyclique oxygéné lié à deux noyaux benzéniques.

**Antispasmodique** : cesse les spasmes, contractions involontaires des muscles et des organes, d'origine nerveuse.

**Monoterpènes** : se sont une classe de terpènes constitués de deux molécules d'isoprène  $C_5H_8$

**Phénols** : carbure aromatique (cycle benzénique) portant un ou plusieurs groupements Hydroxyles

**Saponine** : substance hétérosidique moussante agissant sur la perméabilité des membranes.

**Tanins** : substance polyphénolique non azotée.

**Triterpènes** : constituant végétal composé de trente atomes de carbone et dont la structure chimique possède quatre ou cinq cycles.





# Sommaire

## Introduction

### 1ère partie : Synthèse bibliographique

#### Chapitre I : La phytothérapie

1. la Phytothérapie.....	1
1.1.définition .....	1
1.2.différents types de la phytothérapie.....	1
1.3.phytothérapie en Algérie.....	2
1.4.intérêt de la phytothérapie.....	2
2. les plantes médicinales.....	3
2.1.utilisation des plantes dans la médecine traditionnelle.....	3
2.2.les méthodes de préparation des plantes médicinales.....	3
2.3.les molécules bioactives des plantes médicinales .....	5
2.3.1. les alcaloïdes .....	5
2.3.2. les glucosides.....	5
2.3.3. principes amers.....	5
2.3.4. les tanins.....	6
2.3.5. huiles essentielles ou essences.....	6
2.3.6. saponines.....	7
3. la famille des labiées.....	8
3.1.présentation de la famille.....	8
3.2.distribution géographique de la famille .....	8
3.3. caractéristiques botaniques des labiées .....	9
3.4.Intérêt économique et thérapeutique des labiées .....	11
3.5.Principaux métabolites secondaires des labiées.....	14
4. Le genre de <i>Marrubium vulgare</i> .....	14
4.1.Description botanique du genre.....	14
4.2.Répartition du genre <i>Marrubium vulgare</i> .....	15
4.3.Aspecte phytochimique de genre .....	15
5. L'espèce <i>Marrubium vulgare</i> .....	16
5.1.Description botanique de l'espèce.....	16
5.2.Position systématique .....	17
5.3.Métabolites phytochimique de l'espèce.....	19
5.4. <i>Marrubium vulgare</i> et phytothérapie.....	19

6. Le genre <i>Ajuga iva</i> .....	20
7. L'espèce <i>Ajuga iva</i> .....	21
7.1. Description botanique de l'espèce.....	21
7.2. Position systématique .....	21
7.3. Métabolites phytochimique de l'espèce.....	23
7.4. <i>Ajuga Iva</i> et phytothérapie.....	24

## Chapitre II : Les composés phénoliques

1. Présentation.....	25
2. Définition .....	25
3. biosynthèse des composés phénoliques.....	26
3.1. La voie de shikimate.....	26
3.2. La voie de phénylpropanoïde.....	27
3.3. La voie de biosynthèse des flavonoïdes.....	28
4. Effets biologique des polyohénols.....	29
5. Principales classe des composés phénoliques .....	31
5.1. Les composés en C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> et C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> ou les composés Simples.....	33
A. Les acides benzoïque .....	33
B. Les acides cinnamiques .....	34
5.2. Les composés en C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> : Phénylpropanoïdes .....	35
- Les lignanes et les lignines.....	35
- Les coumarines.....	36
5.3. Les composés mixtes C <sub>6</sub> -(C <sub>1</sub> ou C <sub>2</sub> )-C <sub>6</sub> .....	36
5.3.1. Les stilbènes.....	36
5.3.2. Les flavonoïdes.....	37
5.3.2.1. Présentation.....	37
5.3.2.2. Structure chimique et classification .....	37
a. Les flavonols (hydroxy-3-flavone).....	39
b. Les flavones.....	40
c. Les isoflavones.....	40
d. Les flavanones.....	40
e. Les flavanes.....	40
f. Les anthocyanes.....	41

5.3.2.3. Propriété biologiques des flavonoïdes.....	41
- Activité antioxydante.....	41
- Activité pro-oxydants.....	41
- Effets cardiovasculaires .....	42
- Activité anti-ulcérogène.....	42
- Activités antimicrobienne et antivirale .....	42
- Activité de prévention de la cataracte diabétique .....	42
- Activité anti-ostéoporose .....	42
- Activité antiallergique .....	43

### **Chapitre III : Activité Antioxydante**

1. Présentation.....	44
2. Définition d'un antioxydant.....	44
2.1. Les antioxydants endogènes.....	44
2.2. Les antioxydants exogènes .....	45
3. Les radicaux libres.....	48
4. Quelques plantes à activité antioxydante .....	49
5. Utilisation des antioxydants .....	49

### **2ème partie : Matériel et méthodes**

#### **Chapitre I : Etude phytochimique**

1. Matériel végétal.....	50
- Matériel.....	51
2. Screening phytochimique .....	52
2.1. Définition .....	52
2.2. Préparation des extraits .....	52
2.2.1. Extraits méthanoliques (extrait A).....	52
2.2.2. Extraits chloroformée (extrait B).....	52
2.2.3. Extraits éther de pétrole (extrait C).....	52
3. Criblages des polyphénols .....	53
3.1. Criblage des flavonoïdes .....	53

3.2.Criblage des tanins.....	54
3.3.Criblage des anthraquinones.....	55
3.4.Criblage de quinones .....	56
4. Criblage des alcaloïdes .....	56
5. Etudes quantitatives des composés phénoliques et flavonoïdes .....	59
5.1.Procèdes d'extraction .....	59
5.1.1. Macération .....	59
5.1.2. Décantation .....	61
5.1.3. Affrontement .....	61
5.1.3.1.Ether de pétrole.....	63
5.1.3.2.Ether diéthylique .....	63
5.1.3.3.Acétate d'éthyle .....	63
6. Dosages de phénols totaux.....	67
- Etude spectrale .....	67
- Expression des résultats.....	68
7. Dosages des flavonoïdes totaux .....	69
- Etude spectrale .....	69
- Expression des résultats.....	69

## **Chapitre II : Etude biologique**

<b>L'activité antioxydante.....</b>	<b>71</b>
- Le teste antiradicalaire (test DPPH).....	71
- Préparation d'extrait .....	72
-	

## **3ème partie : Résultats et discussion**

### **Chapitre I : Etude phytochimique**

<b>Résultats .....</b>	<b>73</b>
<b>1. Criblage phytochimique .....</b>	<b>73</b>
1.1.Criblage des flavonoïdes .....	73
1.2.Criblage des tanins .....	74
1.3. Criblage des anthraquinones .....	75
1.4.Criblage des Quinones.....	76
1.5. Criblage des alcaloïdes .....	77

2. Analyses quantitatives des composés phénoliques .....	78
2.1. Taux des phénols totaux .....	78
2.2. Taux des flavonoïdes totaux .....	81
- Comparaison des teneurs des phénols et des flavonoïdes.....	82
<b>Discussion.....</b>	<b>84</b>
1. Screening phytochimiques.....	84
2. Analyses quantitatives des composés phénoliques .....	84
<b>Chapitre II : Etude biologique</b>	
<b>Résultats .....</b>	<b>87</b>
<b>Discussion .....</b>	<b>90</b>
<b>Conclusion</b>	
<b>Reference bibliographique</b>	
<b>Annexe</b>	
<b>Résumé</b>	



# **Introduction**

Dans le monde, 80% des populations ont recours à des plantes médicinales pour se soigner et traiter certains maladies (diabète, cancer, la grippe, hypertension,...) (59).

En Algérie, comme dans tous les pays du Maghreb et le recours à la médecine traditionnelle est largement répandu, et plusieurs remèdes à base de plantes utilisés individuellement ou en combinaison sont recommandés (60).

L'Algérie, pays connu par ces ressources naturelles, dispose d'une flore singulièrement riche et variée. On compte environ 3000 espèces de plantes dont 15% endémique et appartenant à plusieurs familles botaniques Néanmoins, il faut noter que, d'une part, le nombre d'espèces végétales diminue et que d'autre part, le savoir des médecines traditionnelles tend lui aussi à disparaître progressivement. La recherche de molécules bioactives d'origine naturelle constitue d'ailleurs un des axes prioritaires de l'industrie pharmaceutique algérienne mais également des médecins et des chimistes cherchent à mieux connaître le patrimoine des espèces spontanées utilisées en médecine traditionnelle.

La pharmacopée Algérienne est qualifiée de traditionnelle parce que, à la différence des pharmacopées occidentales officialisées, elle n'est pas écrite et s'est perpétuée jusqu'à présent de génération en génération, chez les guérisseurs et les herboristes uniquement par la transmission orale des connaissances et la pratique de l'art médical.

Une manière simple de conserver les cultures, les savoirs et les plantes qui y sont liées consiste à valoriser ces connaissances, les dynamiser, les expérimenter pour vérifier et valider leurs effets supposés et enfin leur donner un sens en intégrant la médecine traditionnelle dans le système de santé moderne.



Notre présente étude s'inscrit dans cet objectif et constitue une étude phytochimique qui a permis d'identifier certains groupes chimiques bioactifs contenus dans les extraits aqueux et méthanoliques des plantes étudiées : *Marrubium vulgare* et *Ajuga iva* et d'en évaluer l'activité antioxydante à doses déterminées

Cette étude sera subdivisée en trois parties :

- Une première partie consacrée à la bibliographie où nous apportons des informations sur la phytothérapie et sur les deux espèces étudiées.
- Une deuxième partie dans laquelle nous rapportons les méthodes utilisées
- Et une troisième et dernière partie qui présente les résultats obtenus, leur discussion ainsi qu'une conclusion et des perspectives



**Partie I :**  
**Synthèse Bibliographique**



# **Chapitre I :** **La Phytothérapie**

## **1. La phytothérapie**

### **1.1. Définition**

Le mot phytothérapie provient de deux mots grecs (*Phyton*= végétal et *Therapein*= soigner) qui signifient « soigner avec les plantes »(1), c'est aussi l'art de soigner par les plantes. La phytothérapie permet à la fois de traiter le terrain du malade et les symptômes de sa maladie. Le malade est pris en charge dans sa globalité afin de comprendre l'origine de ses symptômes et d'en prévenir leur apparition. (2)

Seules les plantes ayant fait preuve de leurs vertus médicinales ont un intérêt en phytothérapie. Les parties les plus concentrées en principes actifs seront choisies donc il peut s'agir de la plante entière, des feuilles, de la tige, des rameaux, des sommités fleuries, de l'écorce, des racines, des fruits ou des fleurs, utilisées fraîches ou sèches. Des modes de préparations seront privilégiés en fonction de la partie de la plante concernée, de la nature du principe actif qu'il soit hydrophile ou lipophile et du type de patient qui va la recevoir : on ne traitera pas un jeune enfant avec une teinture mère à degré alcoolique élevé. (2)

La phytothérapie est l'utilisation des plantes dans le traitement des maladies (4) et le traitement des pathologies par les plantes médicinales, celles-ci sont consommées sous forme de tisanes ou après transformation (poudres, extraits, teintures,...) comme composants de médicaments. (3), la phytothérapie est donc adaptée aux pathologies légères et aux traitements symptomatiques, c'est une thérapeutique familiale, de conseil, souvent préventive. (3).

### **1.2. Différents types de la Phytothérapie**

➤ **Aromathérapie** : est une thérapeutique qui utilise les essences des plantes, ou huiles essentielles, substances aromatiques secrétées par de nombreuses familles de plantes, ces huiles sont des produits complexes à utiliser souvent à travers la peau.

➤ **Gemmothérapie** : se fonde sur l'utilisation d'extrait alcoolique de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et les radicelles.

➤ **Herboristerie** : correspond à la méthode de phytothérapie la plus classique et la plus ancienne. L'herboristerie se sert de la plante fraîche ou séchée; elle utilise soit la plante entière, soit une partie de celle-ci (écorce, fruits, fleurs). La préparation repose sur deux méthodes simples, le plus souvent à base d'eau : décoction, infusion, macération. Ces préparations existent aussi sous forme, plus moderne, de gélule de poudre de plante sèche que le sujet prend par voie orale.

➤ **Homéopathie** : cette méthode a recours aux plantes d'une façon prépondérante, mais non exclusive; les trois quarts des souches sont d'origine végétale, le reste étant d'origine animale et minérale.

➤ **Phytothérapie pharmaceutique** : utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés sous forme de sirop, de gouttes, de gélules, de lyophilisats... (6)

### **1.3. Phytothérapie en Algérie**

En Algérie les plantes occupent une place importante dans la médecine traditionnelle, qui elle-même est largement employée dans divers domaines de la santé. Dans les dernières années la phytothérapie est très répandue, des herboristes sont partout sans aucune formation spécialisée ou connaissance scientifique sur la phytothérapie, des plantes et de mélanges pour toutes les maladies : diabète, rhumatisme, minceur et même les maladies incurables ...

### **1.4. Intérêt de la phytothérapie**

Malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages. N'oublions pas que de tout temps à l'exception de ces cent dernières années, les hommes n'ont pas eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux ou d'autres maladies, telles que la tuberculose ou la malaria.

Aujourd'hui, les traitements à base des plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît, les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus (8).

La phytothérapie qui repose sur des remèdes naturels est bien acceptée par l'organisme, et souvent associée aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours une nouvelle plantes et des techniques d'utilisations, spécialement dans le traitement des maladies chroniques comme l'asthme ou l'arthrite (7).

## **2. Les plantes médicinales**

On désigne par l'expression « plante médicinale » toute plante utilisée pour prévenir, soigner, soulager ou réduire les maux (130). Aujourd'hui, environ 35000 espèces de plantes utilisées à travers le monde pour des fins médicinales qui ne cessent pas de répondre aux différents besoins du système sanitaire moderne (129).

### **2.1. Utilisation des plantes dans la médecine traditionnelle**

Les remèdes naturels et surtout les plantes médicinales ont été pendant longtemps le principal, et même l'unique en utilise par voie orale pour soigner les pathologies en même temps que la matière première pour la médecine moderne. (5).

### **2.2. Les méthodes de préparation des plantes médicinales**

Pour composer des tisanes, il faut avoir une connaissance des propriétés des plants est son utilisations médicale (phytothérapie de la plantes, les molécules actives, les maladies) (134).

### **2.2.1. Décoction**

Méthode de préparation de tisane consistant à faire bouillir la plante dans l'eau pendant 5 à 15 minutes, puis à filtrer le liquide obtenu (le décocté).

Cette technique est adaptée aux parties dures et compactes (bois, écorces, tiges, racines) qui ne délivrent leurs principes actifs que sous l'action prolongée de la chaleur.

Les décoctions sont bues ou quelque fois utilisées en usage local (gargarismes, collyres). (133).

### **2.2.2. Infusion**

Méthode de préparation de tisane consistant à verser de l'eau bouillante sur les plantes ; après 5 à 10 minutes dans un récipient couvert, l'ensemble est filtré pour donner l'infusée.

L'infusion est adaptée aux parties des plantes délicates : feuilles, fleurs, sommités fleuries. Les infusions sont bues ou quelque fois utilisées en usage local (gargarismes, collyres) ou en usage externe (bains, lotions). (133).

### **2.2.3. Macération**

Solution obtenue en traitement pendant un temps plus ou moins long, une plante par l'eau froide, du vin, de l'alcool, pour en obtenir les principes solubles (selon les cas, de quelques heures à plusieurs jours par fois plusieurs semaines). (135).

### **2.2.4. Poudre**

Les préparations galéniques sont souvent administrées sous formes de poudre (utiliser lorsqu'on est en voyage).

**Remarque :** Pour les profiter aux maxima de tous les éléments actifs d'un mélange de tisane, où combinent souvent plusieurs modes de préparation.

### **2.3. Les Molécules bioactives des plantes médicinales**

#### **2.3.1. Les alcaloïdes**

Sont des substances organiques complexes (donc contenant du carbone, de l'hydrogène et souvent de l'oxygène) de formule souvent assez compliquée pour caractère commun la présence d'azote dans leur formule chimique ; cette présence d'azote leur confère une réaction basique, alcaline, d'où leur nom d'alcaloïdes.

Ils ont une action physiologique remarquable sur le système nerveux centrale ou sur le système nerveux autonome sympathique et parasympathique. **(131)**.

#### **2.3.2. Les glucosides**

Les glucosides sont contenus en grande quantité dans le suc cellulaire de certaines plantes .ils jouent un rôle dans le stockage des réserves nutritives et la protection de la plante d'après leur compositions, ces composition groupés en **(131)** :

- Les glucosides cyanogènes.
- Les glucosides sulfurés.
- Les glucosides anthraquinoniques.
- Les phénolglucosides.
- Les glucosides tonocardiaques.
- Les glucosides ményanthiques amers.
- Les glucosides sudorifiques.
- Les saponines.
- Les glucosides flavoniques.

#### **2.3.3. Principes amers**

Les substances qui présentent un goût amer (amara) excitent les cellules gustatives, stimulent l'appétit et augmente la sécrétion des sucs gastriques. La pharmacologie regroupe sous le nom des principes amers des substances végétales terpéniques susceptibles de libérer de l'azote, ainsi que des glucosides de diverses structures biochimiques.



Ils sont aussi très utiles dans le traitement des maladies hépatiques et rénales, entre autre, les principes amers activent la circulation du sang, stimulent les globules rouges et constituent de ce fait, un excellent adjuvant dans le traitement de l'anémie (132).

#### **2.3.4. Les tanins**

Substances polyphénoliques ayant la propriété de tanner la peau, c'est-à-dire la rendre imputrescible, ils ont des propriétés astringentes (ils resserrent et contractent les tissus, diminuent les sécrétions) d'où leur emploi comme :

- Anti-diarrhéique.
- Veinotonique.
- Décongestionnant ophtalmiques.

On distingue : les tanins hydrolysables ou tanins galliques. Les tanins condensés ou tanins catéchiques (flavanols). (133).

#### **2.3.5. Huiles essentielles ou essences**

Mélanges complexes de substances volatiles et odorantes, les huiles essentiellement sont extraites des plantes par hydro distillation ou par expression. Elles ont des propriétés :

- Stimulante digestive.
- Antiseptique.
- Anti rhumatismales (en usage externe).
- Parmi les nombreux constituants des huiles essentielles on distingue :
- Des monoterpènes.
- Des sesquiterpènes.

Les essences sont souvent localisées dans les feuilles, les fleurs et les fruits, auxquels elles communiquent leur odeur.

Elles sont à l'origine d'une thérapeutique : l'aromathérapie. (133).

### **2.3.6. Saponines**

On entend par saponosides (lat. sapon, savon -saponaire, l'herbe à savon ; le réglisse ; le bouillon blanc), des hétérosides naturels dont la matière est un composé soluble à l'eau qui la rend moussante comme une eau de savon. Ils modifient la tension superficielle de l'eau. On les emploie pour la fabrication d'émulsions, dans lesquelles une substance insoluble est mise en dispersion. Elles vont entraîner un mélange plus rapide avec la fonction aqueuse, un effet de pénétration plus grand et plus rapide de la substance dans l'eau.

Ces plantes à saponines facilitent la pénétration des autres substances au niveau de la peau et au niveau de l'intestin et aussi au niveau de toutes les muqueuses. Elles dissolvent les graisses et par voie de conséquence, elles sont irritantes pour les muqueuses.

Toutes les membranes des cellules sont constituées de graisses. Pour éviter l'action irritante des savons, on rajoute des corps gras. Quand, une plante est riche en saponines, son action sera plus rapide que d'autres plantes.

Les plantes riches en saponines dans les séborrhées (augmentation de la sécrétion des glandes sébacées) du cuir chevelu, on les emploie en shampoing. On les emploie aussi comme expectorantes (ce qu'elles fluidifient dans un sens, elles le fluidifient dans l'autre), elles rendent un peu moussante la muqueuse des bronches inflammatoires et facilitent l'expectoration. (133).

### **3. La famille des labiées**

#### **3.1. Présentation de la famille**

La famille des Lamiacées (Lamiaceae) ou Labiées (Labiatae) est une importante famille de plantes Angiosperme dicotylédones herbacées ou légèrement ligneuses et comprennent, selon les auteurs, de 233 à 263 genres (11) et de 6900 à 7200 espèces (11), (12) qui se répartissent sur tout le globe, dont deux plantes étudiés dans ce présent travail : *Marrubium Vulgare* et *Ajuga iva*.

Cette famille comporte de nombreuses plantes exploitées pour les essences ou cultivées pour l'ornementation et la plupart de ces espèces sont aussi bien utilisées dans la médecine traditionnelle que dans la médecine moderne (10).

La plupart des plantes de cette famille sont partiellement ligneuses, formant des arbustes (très rarement des arbres). C'est la famille des aromatiques utilisées tant en cuisine qu'en parfumerie ou en pharmacie également, comme par exemple la ballote, le basilic, la bugle, l'hysope, la lavande, la marjolaine, la mélisse,

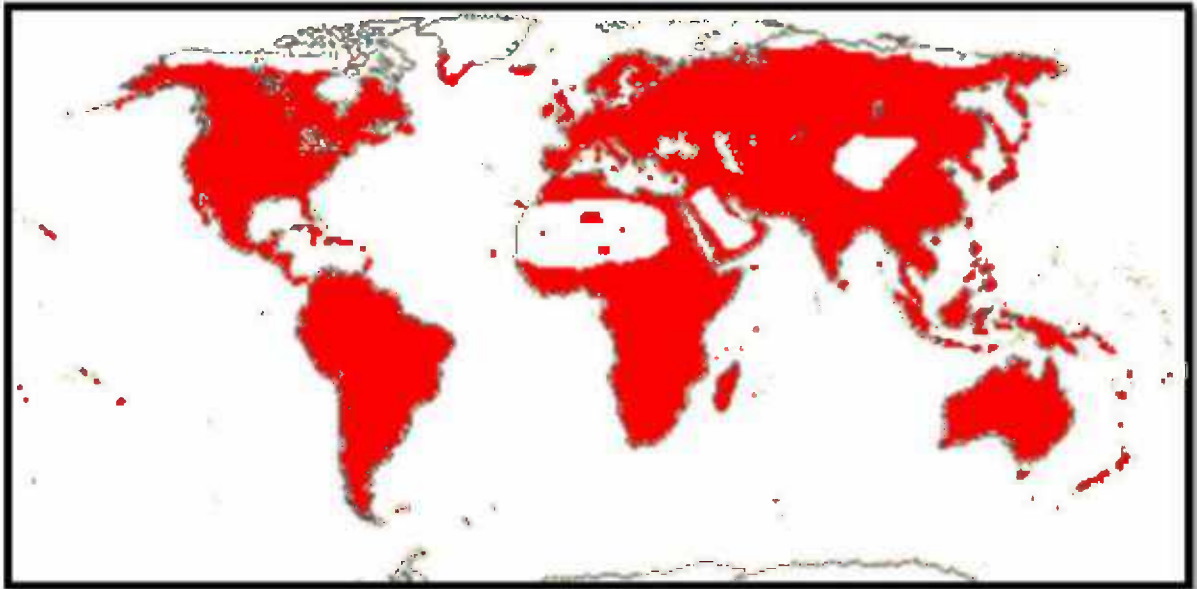
Il s'agit d'une vaste famille, très typique du monde végétale, et qui possède une importance économique due à la production des huiles essentielles (13) et de miel (les miels de lavande, et de romarin sont réputés). Cette famille est très répandue dans les régions tempérées et surtout méditerranéennes (14).

La famille des labiées contient une très large gamme de composés comme les terpénoïdes, les iridoïdes, les composés phénoliques, et les flavonoïdes. Les huiles essentielles et plus précisément les courtes chaînes des terpénoïdes sont responsables de l'odeur et la saveur caractéristique des plantes (9).

#### **3.2. Distribution géographique de la famille**

C'est une famille très importante en Algérie, représentée par 28 genres et 146 espèces, la distribution géographique des Labiées est cosmopolite. Les Labiées sont rencontrées sous tous les climats, à toutes les altitudes (17). Certains des 200 genres que compte la famille sont quasiment cosmopolites, d'autres ont une distribution plus

restreinte. Rare dans le milieu forestier tropical, les Labiées se concentrent dans la région méditerranéenne (16). Les Labiées comprennent environ 2500 espèces dont l'aire de disposition est extrêmement étendue, elles sont particulièrement abondantes dans la région méditerranéenne (15).



**Figure 01 : Carte de répartition géographique de la famille des Labiées (en rouge)**

### **3.3. Caractéristiques botaniques des Labiées**

Les Labiées sont des plantes herbacées ou arbustives, très rarement des arbres. Elles se caractérisent par la présence de glandes épidermiques très riches en poils testeurs et en poils sécréteurs. Ces deux catégories de poils se retrouvent au niveau de tous les organes aériens, et aussi aromatiques et contiennent ordinairement des carbohydrates tels que les tachyons. Les feuilles sont opposées (parfois verticillées ou alternes, mais pas dans nos régions), exstipulées, simples, rarement composées. Les jeunes tiges sont à section quadrangulaire. Les fleurs sont ordinairement hermaphrodites.

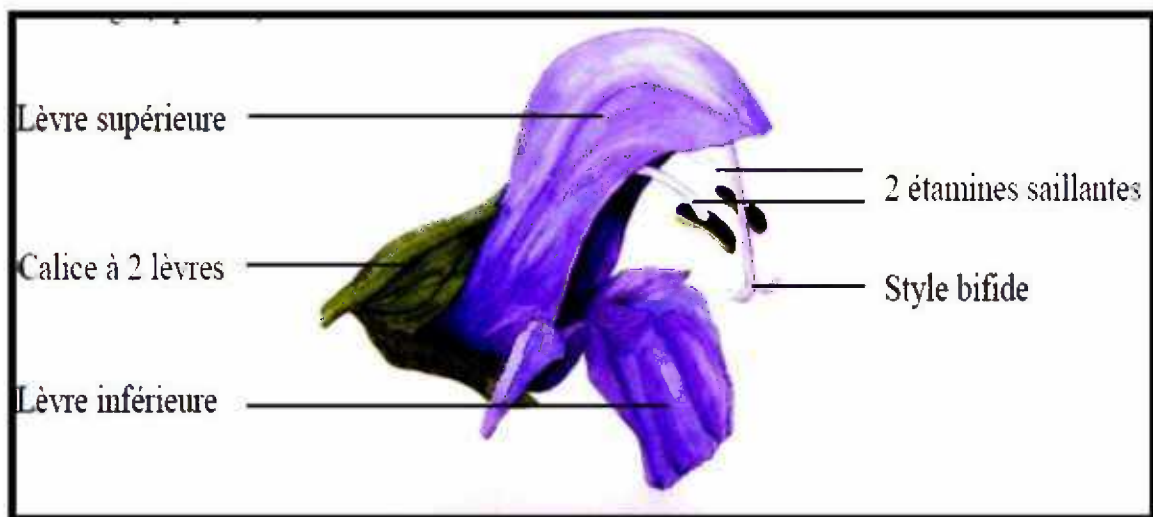
La forme de la fleur et la présence d'huiles essentielles signent cette famille. Pour la plupart des genres, la section carrée de la tige et les feuilles opposées sont aussi des caractéristiques importantes. De nombreuses espèces de cette famille sont des plantes mellifères, fréquentées par les abeilles. Les plantes de cette famille sont souvent herbacées, rarement ligneuses, souvent velues, à tige généralement quadrangulaire, les feuilles

opposées, disposées en paire se croisant d'un nœud à l'autre (= décussées), dépourvues de stipules, à limbe généralement denté.

L'inflorescence, en cymes, souvent réunies en faux-verticilles étagés, axillaires ou terminaux ; rarement fleurs isolées. Les fleurs zygomorphes généralement hermaphrodites, à symétrie bilatérale ou parfois presque radiaire, le calice à 5-12 lobes égaux ou disposés en 2 lèvres, la corolle généralement caduque, constituée d'un tube se terminant par 4 ou 5 lobes, soit subégaux, soit formant une lèvre inférieure (la supérieure étant très réduite), soit le plus souvent formant 2 lèvres.

Les étamines insérées sur le tube de la corolle ; soit accompagnées parfois de 2 autres étamines stériles et réduites ; soit 4, en 2 paires souvent inégales.

Les carpelles : 2, soudés entre eux ; ovaire supère, à 4 ovules ; 1 style bifide, naissant le plus souvent entre les lobes de l'ovaire. À la fructification, une fausse-cloison divise chaque carpelle en 2, formant ainsi un tétrakène, dont les 4 répandues, entre autres, dans le bassin méditerranéen



**Figure 02: représentation d'une fleur de la famille des Labiées**

### 3.4. Intérêt économique et thérapeutique des Labiées

Cette famille est une importante source d'huiles essentielles, d'infusion et antibiotiques naturels pour l'aromathérapie, la parfumerie même si les parfums de synthèse tendent à remplacer ces essences. L'industrie des cosmétiques utilise également les Lamiacées pour leurs propriétés hydratantes et souvent antiseptiques.

On y rencontre beaucoup d'espèces cultivées comme plantes condimentaires (sauge, thym, basilic, menthe etc.), on y trouve aussi des plantes ornementales (sauge) tant en extérieur qu'en intérieur, on peut citer parmi eux *Ajuga*, *Callicarpa*, *Clerodendrum*, *Monarda*, *Salvia*, *Scutellaire* et *Vitex* (17).

Les Labiées ont une grande importance culinaire et médicinale du fait de leurs essences aromatiques localisées dans les poils sécréteurs : les menthes (*Mentha spicata*, *M. suaveolens* ou menthe à feuilles rondes utilisée Outre-Manche dans la sauce à la menthe), le basilic (*Ocimum basilicum*), l'origan (*Origanum vulgare*), la sauge (*Salvia officinalis*), le thym (*Thymus vulgaris*). De nombreuses Lamiaceae sont aussi des plantes ornementales : les lamiers (*Lamium*), les phlomis.

**Tableau 01 : Quelques Plantes Médicinales de la Famille des Labiées**

N°	Nom botanique de la plante /Emplacement	Nom Commun Français	Nom Commun Anglais	Nom Commun Arabe
1	<i>Mentha long.</i> (Kesrwane)	Menthe	Mint	نعناع طويل الورق
2	<i>Micromeriabarbata</i> (Cana)	Micromère	Micromeria	شميسة
3	<i>Micromeria bar.</i> (culture)	Micromère	Micromeria	شميسة
4	<i>Micromeriamyrtifolia</i>	Micromère	Micromeria	زوفا
5	<i>Origanummarjo.</i> (Chouf)	Marjolaine	Marjorana	مردأوش
6	<i>Origanumsyria.</i> (collines)	Thym	Origan	زعر
7	<i>Origanumsyriacum</i> (Sour)	Thym	Origan	زعر
8	<i>Origanumsyriacum</i> (Békaa)	Thym	Origan	زعر
9	<i>Rosmarinusoffici.</i> (culture)	Romarin	Rosemary	إكليل الجبل
10	<i>Salvialibanotica</i> (montagne)	Sauge	Sage	القصعين اللبناني
11	<i>Salvialibanotica</i> (Sour)	Sauge	Sage	القصعين اللبناني

La famille des Labiées regroupe un grand nombre d'espèces d'intérêt économique majeur (14) et dont les applications sont très variées, comme la parfumerie, la cuisine, la phytothérapie et l'aromathérapie :

- **En parfumerie** : même si les parfums de synthèse tendent à remplacer ces essences, la parfumerie de luxe continue à utiliser ces plantes en les distillant, afin d'en extraire le précieux parfum qu'elles contiennent et de perdurer la qualité de ses produits : on y utilise les fleurs de la lavande (*Lavandula angustifolia*), de patchouli (*Pogostemon patchouly*), par exemple.
  
- **En cuisine** : de nombreuses herbes aromatiques sont des Labiées : basilic, menthe, thym, romarin, sauge...
  
- **En phytothérapie et aromathérapie** : cette famille est une importante source d'huiles essentielles, d'infusion et antibiotiques naturels pour l'aromathérapie, l'industrie des cosmétiques. D'autres huiles sont utilisées également pour leurs propriétés hydratantes. Cette famille possède également un effet répulsif contre les insectes indésirables, on peut citer comme exemple l'utilisation de *Melissa officinalis* contre les moustiques.

**Tableau 02 : Utilisations traditionnelles des diverses *Labiées*.**

<b>Espèce</b>	<b>Utilisation traditionnel</b>	<b>Partie Utilisé</b>	<b>Mode d'utilisation</b>
<i>Callamintha</i> <i>Origanifolia</i> Vis	L'hypertension, antimicrobien	Les huiles	Infusion
<i>Marrubium</i> <i>Radiatum</i> Devileex Benth	Contre le diabète, l'hypertension	Partie aériennes	Décoction
<i>Salviaacetabulosa</i>	Dépression, l'anxiété, insomnie, cardiovasculaire, hypertension	Partie aériennes	Décoction
<i>Saturejathymbra</i>	Hypertension, antimicrobien	Feuilles	Infusion
<i>Sideritisperfoliata</i>	Antidiabétique, anti hypertensive, antimicrobienne, astringent, décongestionnante, asthme	Feuilles	Infusion
<i>Menthalongifolia</i> Huds	Carminative, antispasmodique septique, névralgique, analgésique	Partie aériennes	Infusion, sirop
<i>Rosmanirus</i> <i>Officinalis</i>	Stomachique, antispasmodique, anti-inflammatoire, astringent	Fleurs, feuilles	Infusion, décoction
<i>LavandulaDentata</i> var <i>Typica</i>	Les maux d'estomac, hépatite, infection microbienne, la toux, l'asthme, le ballonnement.	Partie aériennes	Décoction



<i>Mentha suaveolens</i>	Palpitation de l'aorte, tonifiant	Partie aériennes	Infusion
<i>Salvia verbenaca</i>	Les spasmes et coliques, l'anxiété, grippe, pharyngite, angines.	Feuilles	Décoction
<i>Salvia officinales</i>	Fièvre, indigestion	Feuilles	Infusion

### 3.5. Principaux métabolites secondaires des labiées

La famille des Labiées est connue pour la grande diversité des métabolites secondaires qu'elle contient et notamment pour ceux des huiles essentielles.

Cette famille est donc une source importante des terpénoïdes, et plus particulièrement de diterpènes dont les noyaux sont de type clerodane, kaurane, labdane, pimarane, abietane et autres (19). On y trouve également un nombre important de flavonoïdes (21) et des phenylpropanoïdes(20).

## 4. Le genre de *Marrubium*

### 4.1. Description botanique du genre

Le genre *Marrubium* comprend environ 75 espèces répandues dans une grande partie du globe : l'Europe, la Méditerranée et l'Asie ; 50 espèces poussent sur le pourtour de la Méditerranée (27). les zones tempérées du continent eurasiatique et quelques pays d'Amérique Latine (23)(24).

Le nom *Marrubium* dérive des mots hébreux : mar, rob, suc amer (jus amer).  
En Anglais : Harehound, En Italien : Marrubio. (22).

Le genre *Marrubium* est muni d'un calice à 10 dents, dont les 5 commissurales plus courtes, toutes terminées en pointe épineuse. C'est un Arbuste à tiges et face inférieure des

feuilles blanches tomenteuses. Les inflorescences sont en glomérules verticillés. Les bractées sont linéaires aigues. Les fleurs sont blanches.

#### 4.2. Répartition du genre *Marrubium*

En Algérie on retrouve 6 espèces différentes au sein de ce même genre : *Marrubium vulgare*, *Marrubium supinum*, *Marrubium peregrinum*, *Marrubium alysson*, *Marrubium alyssoides* Pomel et *Marrubium deserti de Noé* : (25).

**Tableau 03 : Répartition et distribution du genre *Marrubium* en Algérie (25)**

Espèce	Abondance	Distribution en Algérie	Répartition
<i>M. vulgare</i>	Très commune	Dans toute l'Algérie	Cosmopolite
<i>M. supinum</i>	Rare	Atlas Saharien oranais et Algérois, hauts plateaux Algérois et Oranais	Ibero-Mauritanien
<i>M. peregrinum</i>	Très rare	Atlas Tellien	Euro – Méditerranéen
<i>M. alysson</i>	Très commune	Partout sauf sur le littoral Algero-constantinois	Ibero-Mauritanien
<i>M. alyssoides pomel</i>	Rare	Plaines littorales et Atlas Tellien	Endémique
<i>M. deserti de Noé</i>	Commune	Sahara septentrionale et Central	Sahara

#### 4.3. Aspect phytochimique du genre

Les études phytochimiques effectuées sur le genre *Marrubium* (26), ont permis d'isoler un grand nombre de métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les sesquiterpènes, les diterpènes, les triterpènes et les tanins et iridiodes glycosylés. Plus de détail

## 5. L'espèce *Marrubium vulgare*

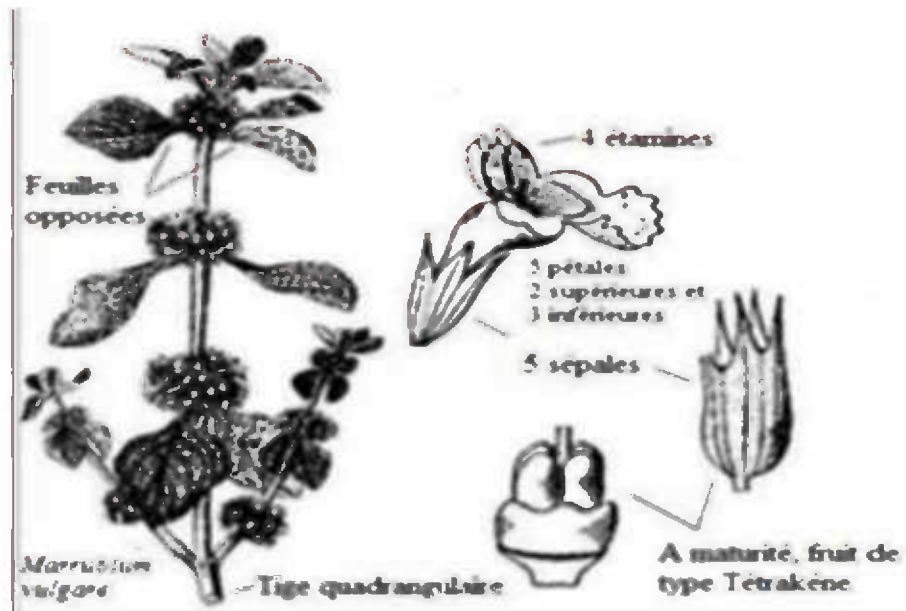
Elle pousse dans toute l'Afrique du Nord et presque dans toute l'Europe, au centre et au Sud-ouest de l'Asie et aux Canaries. Elle est naturalisée dans l'Amérique du Nord et dans l'Amérique du Sud (33).

Les noms donnés à la plante sont les suivants : en Algérie est connue par le nom Marriouth(31), Merrîwt au Maroc (28), Marroubia en Tunisie (29). En Anglais : Harehound, en Italien : Marrubio. (30),

### 5.1. Description botanique de l'espèce

Le marrube est une plante herbacée, couverte d'un duvet blanc, à tiges dressées, portant souvent de nombreuses pousses courtes et stériles, de 40 à 60 cm de long. Les feuilles sont ovales, arrondies, souvent un peu cordées à la base, feutrées à la face intérieure. Il possède de petites fleurs blanches de 12 à 15 mm de long, une corolle à deux lèvres dont l'inférieure est trilobée et la supérieure dilobés ainsi qu'un calice à 10 dents courtes et crochues(34).

Le Marrube vulgaire [synonyme: *Marrubium album* (Cariot et Saintlarge)] est une plante, d'aspect blanchâtre à odeur forte et désagréable. Ses fleurs blanches, relativement petites, apparaissent du mois de Mai jusqu'au mois de Septembre, et parfois encore en hiver. Les feuilles ont toutes un pétiole (35, 36). C'est une plante vivace, à tiges épaisses, cotonneuses, très feuillées, qui se perpétue et se multiplie par des bourgeons nés sur la tige souterraine (35).



**Figure 03 : plantes *Marrubium vulgare***

## 5.2. Position systématique

**Embranchement :** Spermatophytes

**Sous enbranchement :** Angiospermes

**Division :** Magnoliophytes

**Classe :** Magnolipsides (Dicotylédones)(eudicots)

**Sous classe :** Asteridae

**Ordre :** Lamiales

**Famille :** lamiaceae

**Genre :** *Marrubium*

**Espèce :** *Marrubium vulgare*



**Figure 04 : Espèce de *Marrubium vulgare***

### 5.3. Métabolites phytochimiques de l'espèce

La partie aérienne du marrube blanc contient plusieurs métabolites secondaires tels que les diterpènes dont la marrubine responsable de la majorité des propriétés biologiques du *Marrubium vulgare* (38). On y trouve des diterpènes amers de la série des furanolabdanes et surtout des composés de lactones : marrubine principalement et son précurseur préfuranique, la prémarrubine, mais aussi du pérégrinol, du vulgarol, du marrubénol et du marrubiol.

Il y a également des Hétérosides flavoniques du quercétol, de la lurtéoline ou de l'apigénine (39), mais aussi des lactoylflavones, et quelques dérivés de l'acide ursolique. En outre il y a des tanins spécifiques des Lamiacées et dérivés de l'acide hydroxycinnamique (juste à 7%) (Acide chlorogénique, caféique, caféylquinique, mais absence d'acide rosmarinique). Toutefois la présence d'une faible quantité d'huiles essentielles comportant différents composés monoterpéniques (moins de 1% :  $\alpha$ -pinène, camphène, lomonène) (37), ainsi que plusieurs phenylpropanoïdes esters tels que les verbascosides (40).

### 5.4. Marrubium vulgare et phytothérapie

Le marrube blanc est très utilisé en médecine traditionnelle comme expectorant, antispasmodique, antidiabétique, diurétique et en cas d'infections respiratoires. Il est aussi employé pour combattre la cellulite et l'obésité (42). Plusieurs de ces utilisations traditionnelles ont été confirmées par des essais scientifiques (43); le marrube blanc est considéré comme antidiabétique (41).

Au Maroc la décoction de la plante est employée comme antidiabétique. La décoction est prescrite également comme anti-typhoïdique, anti-diarrhéique, fébrifuge, anti-ictérique, expectorant, tonique et stimulant (pour les malades alités). Les diabétiques édulcorée généralement la décoction avec le miel ou les raisins secs (45). En usage externe, la plante hachée et couramment utilisée en cataplasmes sur le front et les tempes contre les fièvres, et sur les abcès, le Marrube est mâché contre les maux de dents.

En médecine traditionnelle Tunisienne on reconnaît au Marrube un certain nombre de propriétés : le décocté préparé à partir de la plante entière est utilisé dans l'hypertension, les hémorroïdes et aussi antirhumatismal, analeptique cardiaque, antiseptique pulmonaire. Il est réputé pour purifier le lait des femmes qui allaitent. Il est utilisé en bain de bouche et en usage externe dans le traitement des brûlures (44).

*Le Marrubium vulgare* et une plantes :

- Agit contre la fatigue (à doses élevées).
- Antipyrétique (contre la fièvre).
- Sédatif cardiaque.
- Insectifuge.
- Antispasmodique.
- Anti-inflammatoire.
- Anti diabétique
- Analgésique.
- Anti-microbien.
- Aide le bon cholestérol (HDL).
- Entrave le mauvais cholestérol.
- Empêche l'athérosclérose.

## 6. Le genre *Ajuga*

Le genre *Ajuga* appartient à la famille des Labiées avec plus de 300 espèces différentes. Cette plante est largement distribuée dans les régions arides d'Europe, d'Asie, d'Afrique et d'Australie (46).

Le nom *Ajuga* vient du mot latin "Jugum": joug. Avec le suffixe "a": sans joug, du fait que la corolle est dépourvue de lèvre supérieure. Iva, est un ancien nom féminin latin qui est utilisé pour la première fois pour cette plante (49). Le genre *Ajuga* comprend environ 40-50 espèces herbacées annuelles et vivaces (48).

## 7. L'espèce *Ajuga iva* L

L'ivette musquée pousse à une altitude de 0 à 1600 mètres, dans les régions arides où elle croît dans les champs. Elle est commune dans la région méditerranéenne, très répandue dans les pelouses et les forêts du Tell algérien. La floraison de la plante est d'avril à octobre(47).

### 7.1. Description botanique de l'espèce

*Ajuga iva* est une petite plante vivace étalée, à odeur de musc de 5 à 20 cm de long, à tiges vertes rampantes et velues, à feuilles vertes grisâtres de 14 à 25 mm de longueur, linéaires, denses et couvertes de duvets. Les fleurs sont violettes, roses, blanche ou jaunes, de 20 mm de longueur ;de deux à quatre à l'aisselle de chaque feuilles et plus petites que les feuilles mais à tube plus long que le calice, la lèvre supérieure de la corolle est réduite ou absente et la lèvre inférieure est divisée en trois lobes velus. Les lobes latéraux sont petits, alors que le lobe central est relativement plus large décoré dans sa base par un axe central jaunâtre

### 7.2. Position systématique

**Embranchement :** Spermatophytes

**Sous Embranchement :** Angiospermes

**Division :** Magnoliophytes

**Classe :** Magnolipsides (Dicotylédones)(eudicots)

**Sous classe :** Asteridae

**Ordre :** Lamiales

**Famille :** lamiaceae

**Genre :** *Ajuga*

**Espèce :** *Ajuga iva* (L) Scherb





**Figure 05 : Espèce du *Ajuga iva***

### 7.3. Métabolites phytochimiques de l'espèce

La plante est riche en composés polyphénolique, qui sont les meilleurs antioxydants, flavonoïdes et tanins ; Tanins catéchiqques , tanins galliques(61). Elle contient aussi des anthocyanes, des acides phénoliques et d'autres substances en particulier l'ajugarine (48).

Les études phytochimiques ont montrés que l'ivette contient aussi des ecdystéroïdes, des diterpénoïdeset terpènes, des iridoïdes et stéroïdes et des saponosides acides (62),

Une activité inhibitrice sur la croissance des larves *Spodopterafrugiperda* et *Spodopteralittoralis* dans l'extrait éthanolique de *Ajuga iva* issue de la région de Ain Mila (Algérie) a été prouvé. Cette activité peut être attribuée à la présence de deux épimères diterpénoïdesivain IV et 14,15-dihydroajugapitin

Sur une étude(70), ont isolé à partir de l'espèce *Ajuga iva* sept aglycones flavoniques (quercétine, lutéoline, chrysoériol, 5,5'- dihydroxy 7,4'-diméthoxyflavone, 5,7-dihydroxy 4',5'-diméthoxyflavone, apigénine, naringénine).

Et autres(71) a isolé à partir des feuilles *Ajuga iva* deux nouveaux composés : 24-Hydroxycyastérone et ajuga stérone B et il a identifié par l'analyse spectrale RMN les structures des composés phytochimiques suivants : cyastérone, 20hydroxyecdysone, makistérone A et le 24, 25 didehydroprécycastérone.

Le screening pharmacologique réalisé in vivo et in vitro démontre que *Ajuga iva* est douée d'un large spectre d'activités pharmacologiques; elle est antihypertensive; Vasodilatarice(72) diurétique et hypoglycémique.

#### 7.4. Ajuga iva et phytothérapie

*Ajuga iva* est une plante utilisée dans la médecine traditionnelle algérienne contre le diabète (hypoglycémie) et l'hypertension, elle est connue pour ses propriétés anti-inflammatoires, antimicrobiennes, antirhumatismales, hypoglycémiantes, antispasmodiques, antifongique(63).

Des études pharmacologiques ont montré aussi que cette plante a des propriétés antibactérienne, diurétique, anti malarique, elle est indiquée également pour les troubles intestinaux, contre le froid, hydropisie et comme cicatrisant (64, 65)

C'est une plante astringente, qui assèche les écoulements et qui facilite la cicatrisation. Elle est recommandée aussi pour guérir les ulcères, les plaies et les blessures (47).

La richesse de l'ivette lui donne plusieurs propriétés prouvées scientifiquement, c'est un agent antioxydant (67).antidiabétique et hypolipidémique (68), vasodilatateur et donc anti hypertensif (69), antibactérien et antifongique (66).

En autre étude (73) ont montré aussi que l'extrait aqueux de *Ajuga iva* possède un effet hypolipidémiant et antioxydant, il exerce une action contre la peroxydation lipidique des tissus chez les rats diabétiques.

D'autre part, (74) ont testé l'effet des iridoïdes extraites de l'extrait aqueux de *Ajuga iva* sur la composition des lipoprotéines et sur l'activité de la lécithine cholestérol acyltransférase (LCAT) chez les rats rendus hypercholestérolémiques.

Ces molécules agissent efficacement sur l'efflux du cholestérol des tissus périphériques vers le foie en augmentant l'activité de la LCAT et atténuent l'hypercholestérolémie causée par le régime enrichi en cholestérol alimentaire.



**Chapitre II :**  
**Les Composés phénoliques**

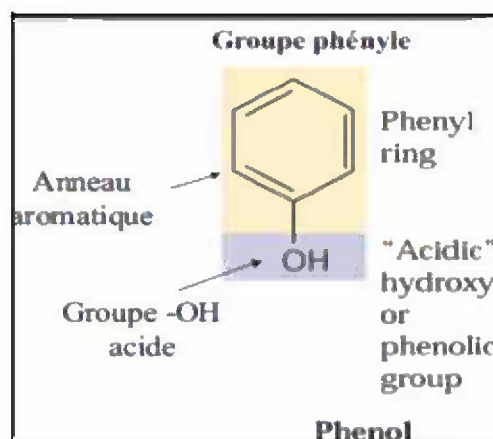
## 1. Présentation

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, largement distribués possédant plusieurs groupements phénoliques, avec ou non d'autres fonctions et comportant au moins 8000 structures connues différentes (50), allant de molécules phénoliques simples de bas poids moléculaire tels que, les acides phénoliques à des composés hautement polymérisés comme les tannins. Ils font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale (51).

Les composés phénoliques sont des molécules aromatique constituées d'un groupement phényle C6 et d'un hydroxyle (-OH), les composées (les tanins, les coumarines, la lignine, les flavonoïdes) sont typiques des plantes vasculaires et ont colonisée l'environnement aérien, la plupart de ces composés phénoliques dérivent d'acides aminés aromatique (la tyrosine et la phénylalanine) (43)

## 2. Définition

Un composé phénolique est constitué d'un ou plusieurs noyaux aromatiques (cycle benzénique ou groupe phényle) et un ou plusieurs groupements OH. Le squelette général des composés phénoliques est présenté .Ces composés peuvent avoir plusieurs substitutions (OH, CH<sub>2</sub>O, H, CH<sub>3</sub>...etc.).



**Figure 06 : structure chimique du noyau aromatique**

### 3. biosynthèse des composés phénoliques

#### 3.1. Voie de l'acide shikimique

Cette voie est très importante parce qu'elle contrôle le métabolisme de la voie de phénylpropanoïde. (Importante pour la biosynthèse des composés aromatiques dans les plantes et les micro-organismes, y compris les acides aminés aromatiques : la phénylalanine, la tyrosine et le tryptophane)

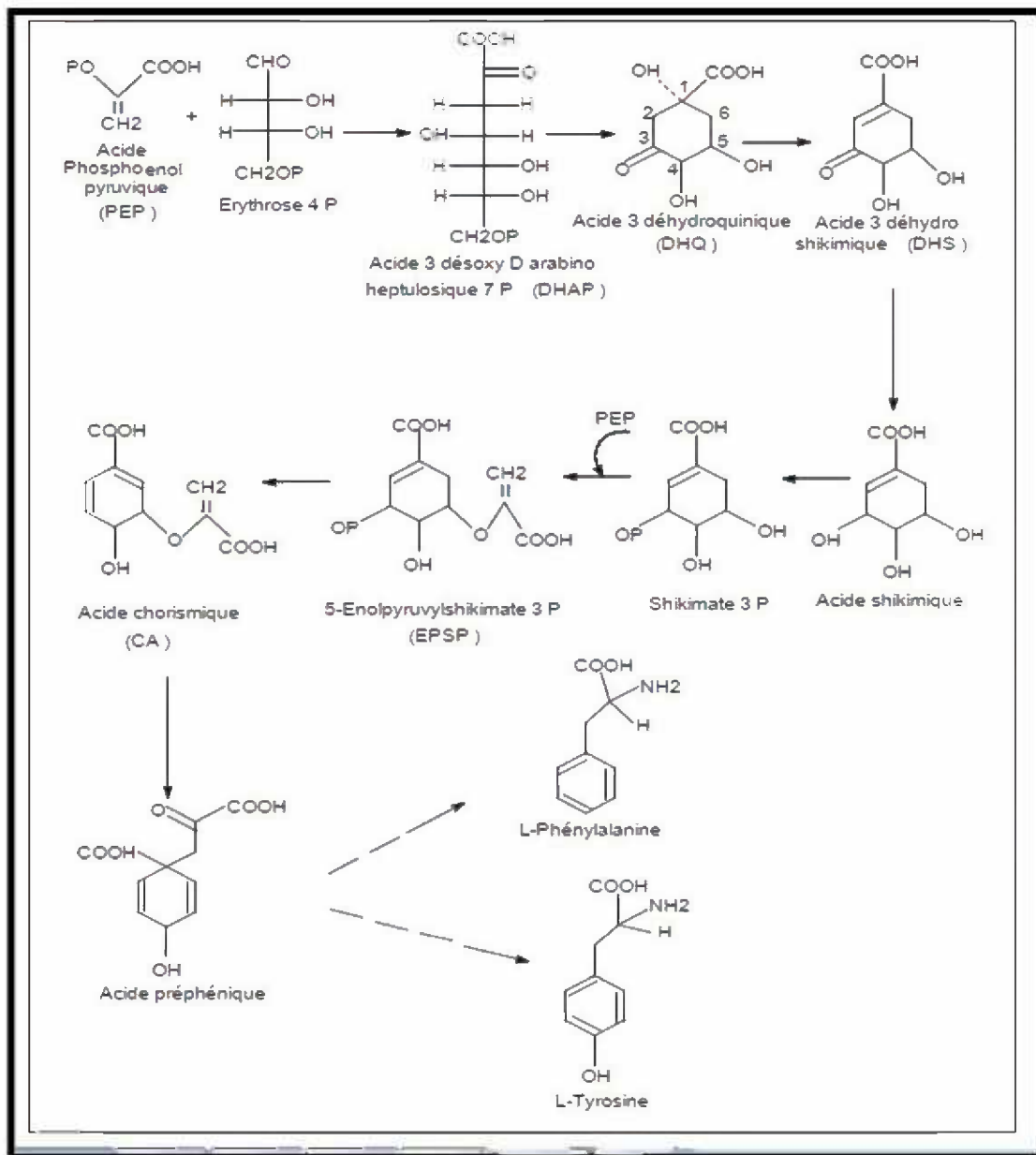
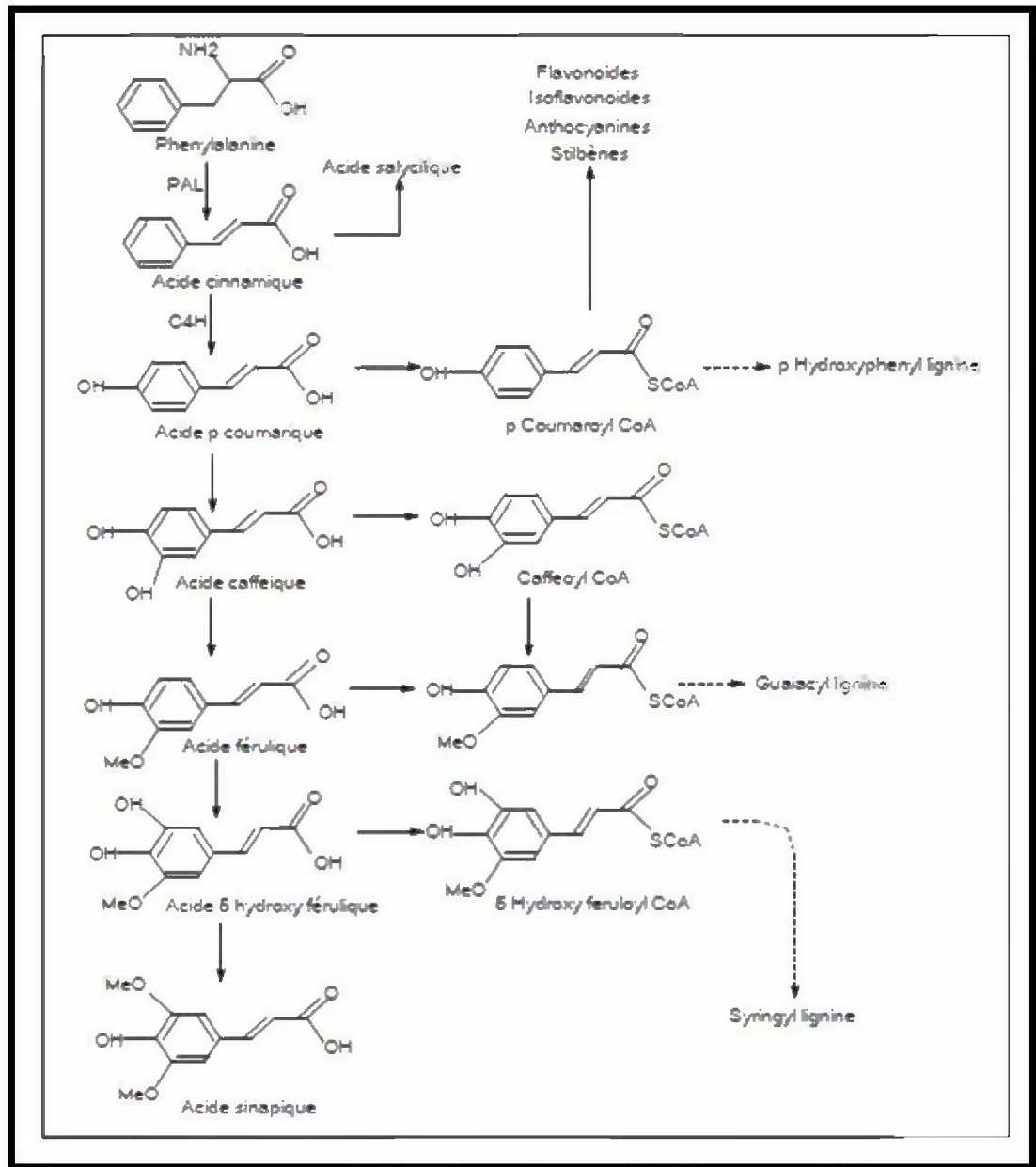


Figure 07 : la voie de Schikimate

### 3.2. La voie de phénylpropanoïde

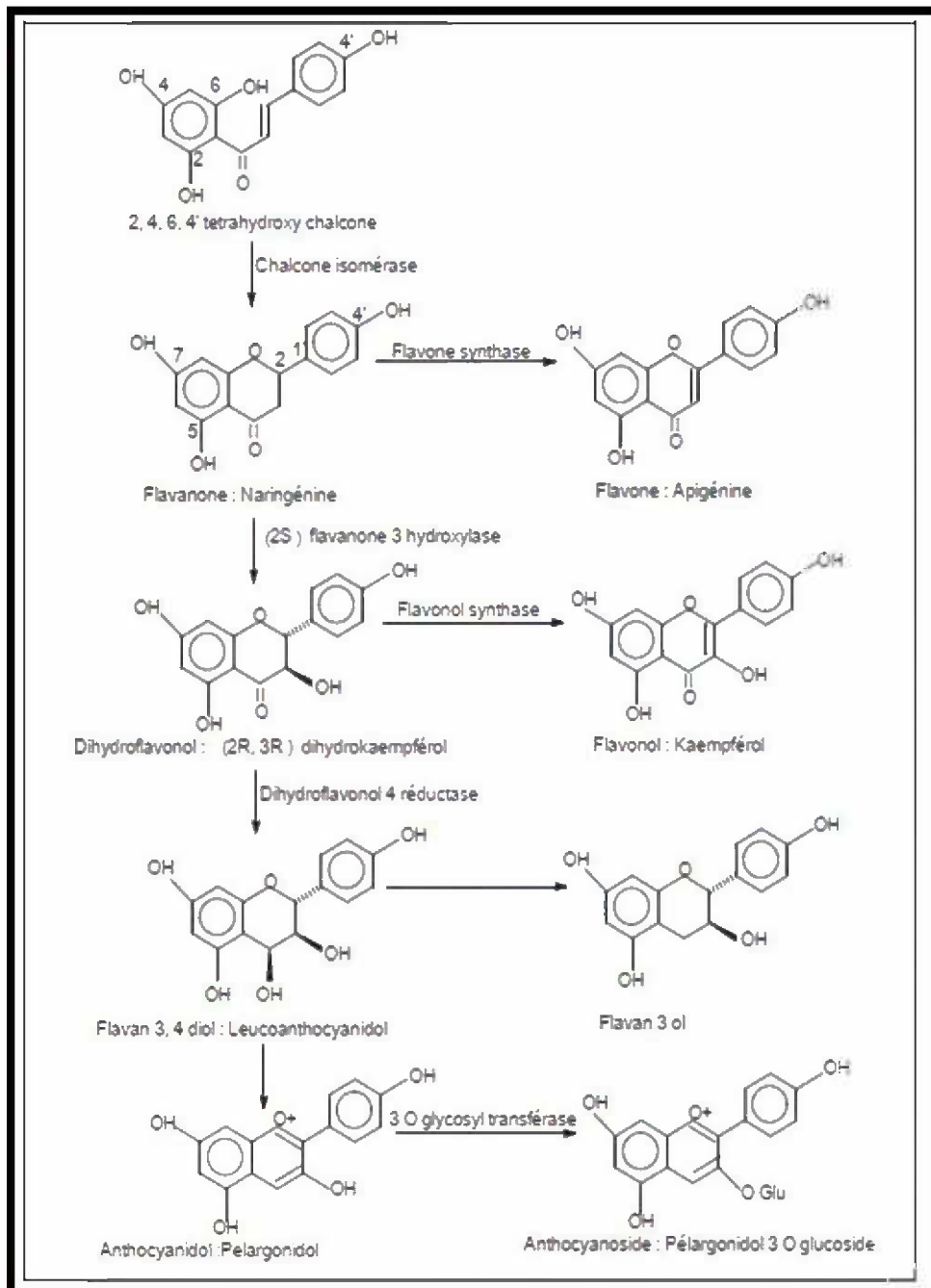
Cette séquence biosynthétique permet la formation des principes acides hydroxycinnamiques : acide coumarique, caféique, férulique et sinapique que se présentant généralement sous forme d'esters ou de glucosides.



**Figure 08 : la voie de phénolpropanoïde**

### 3.3. La voie de biosynthèse des flavonoïdes :

La biosynthèse des flavonoïdes se fait à partir d'un précurseur commun : la 4,2',4' 6'- tétrahydroxychalcone. Cette chalcone qui a une couleur jaune, sous l'action d'enzymes. Elle est métabolisée en différentes classes de flavonoïdes. La forme in vivo des flavonoïdes est eu après des étapes ultérieures essentiellement la glycosylation et l'acylation.



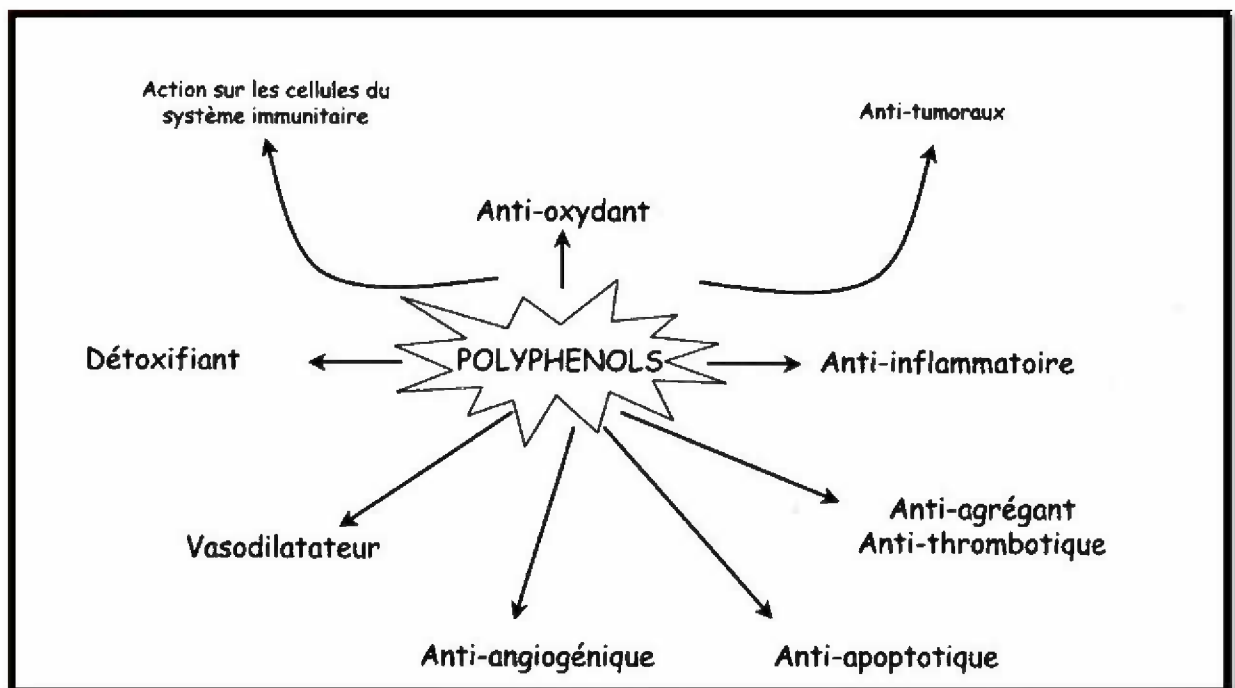
**Figure 09 : la voie de biosynthèse des flavonoïdes**



#### 4. Effets biologiques des polyphénols :

Les polyphénols sont associés à de nombreux processus physiologiques interviennent dans la qualité alimentaire, impliqués lorsque la plante est soumise à des blessures mécaniques. La capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des microorganismes est souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques (52). Ces composés montrent des activités anti-carcinogènes, anti-inflammatoires, antiathérogènes, anti-thrombotiques, analgésiques, antibactériens, antiviraux, anticancéreux (53), anti-allergènes, vasodilatateurs (54) et antioxydants (75).

Un certain nombre de molécules polyphénoliques sont également en étude clinique comme des anti-agrégant plaquettaire, ou hypotenseur sans résultats probants (55).



**Schéma 1 : Effets biologiques des polyphénols (55).**

Comme les composés phénoliques sont des métabolites secondaires, ils se trouvent dans les végétaux différemment selon la famille, le genre, l'espèce ainsi que la variété. Le tableau suivant montre que chacun des végétaux se caractérise par des polyphénols précis




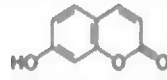

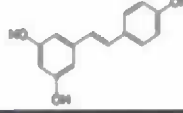
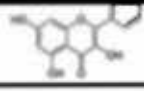
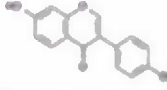
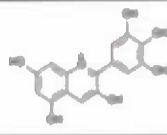
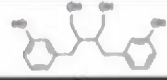


**Tableau 04 : Quelques végétaux alimentaire riches en composés phénoliques.**

Sources végétales	Nom scientifique	Famille	Principaux composés phénoliques	Teneur
Pomme	<i>Malus</i>	Rosacées	Phénols totaux/ Flavonols/ Anthocyanes	100mg à 3g.kg <sup>-1</sup> 460mg.kg <sup>-1</sup> /
Epinard	<i>Spinacia oleracea</i>	Chanopodiacees	Flavonols	1720 mg.kg <sup>-1</sup>
Tomate	<i>Lycopersicon esculentum</i>	Solanacées	Acides hydroxycinnamique	/
Haricot vert	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Fabacées	Anthocyanes Delphinidines	/
Orge	<i>Hordeum</i>	Graminées (Poacées)	Catéchine	/
Blé tendre	<i>Triticum aestivum</i>	Graminées (Poacées)	Flavonols Flavones	/
Blé dur	<i>Triticum durum</i>	Graminées (Poacées)	Flavonols Flavonones Isoflavonones Anthocyanidines	/

5. Principales classes des composés phénoliques**Tableau 05 : classification des composés phénoliques.**

Nombre d'atome de carbone	Squelette de base	Classe	Exemples	Plantes
6	C6	Phénols simples	Cathécol, hydroquinone	Busserole
7	C6-C1	Acides phénols benzoïques	Ac. gallique, Ac. salysaique, vanilline	Artichaut Saule
8	C6-C2	Acétophérones	3-acétyl6-methoxybenzaldehyde	Saule
9	C6-C3	Acides phénols cinnamiques	Ac. coumarique, Ac. caféique	Romarin Marronnier d'inde
10	C6-C4	Naphtoquinones	Shikonine	Drosera spp
13	C6-C1-C6	Xanthones	Bellidifoline, mangocétine	Racine de gentiane, Centaurée
14	C6-C2-C6	Stilbènes	Hydrangéol, Pinosylvine	Raisin pin
15	C6-C3-C6	Flavonoïdes Isoflavonoïdes	Quercétine Roténoïde	Ginkgo Thym Camomille
18	(C6-C3) <sub>2</sub>	Lignanes	Matairesinol	Chardon
30	(C6-C3-C6) <sub>2</sub>	Bi flavonoïdes	Amentoflavone Himokiflavone	Carcinia Hypericum
n	(C6-C3-C6) <sub>n</sub>	Tanins condensés (proanthocyanidols)	Aesculitarins	Marronnier d'inde, vigne

Tableau 06 : structures de différentes classes des phénols

COMPOSES PHENOLIQUES				
Squelette carboné	Classe	Exemple	Formule	Origine
C6	<u>Phénols simples</u>	Hydroquinone		Busserole
C6-C1	<u>Acides hydroxybenzoïques</u>	Acide p-hydroxybenzoïque		Epices, fraises
C6-C3	<u>Acides hydroxycinnamiques</u>	Acide p-coumarique		Tomates, ail
	<u>Coumarines</u>	Ombellifénone		Carottes, coriandre
C6-C4	<u>Naphthoquinones</u>	Juglone		Noix
C6-C2-C6	<u>Stilbénoides</u>	Trans-resvératrol		Raisin
C6-C3-C6	<u>Flavonoïdes</u>	Kaempférol		Fraises
	<u>Isoflavonoïdes</u>	Daidzéine		Graines de soja
	<u>Anthocyanes</u>	Delphinidol		Raisin Cabernet-Sauvignon
(C6-C3)	<u>Lignanes</u>	Entérodiol		Bactéries intestinales
(C6-C3)	<u>Lignines</u>			Bois, fruits à noyaux
(C6-C3-C6)	<u>Tanins condensés</u>	Procyanidol		Raisins, kaki

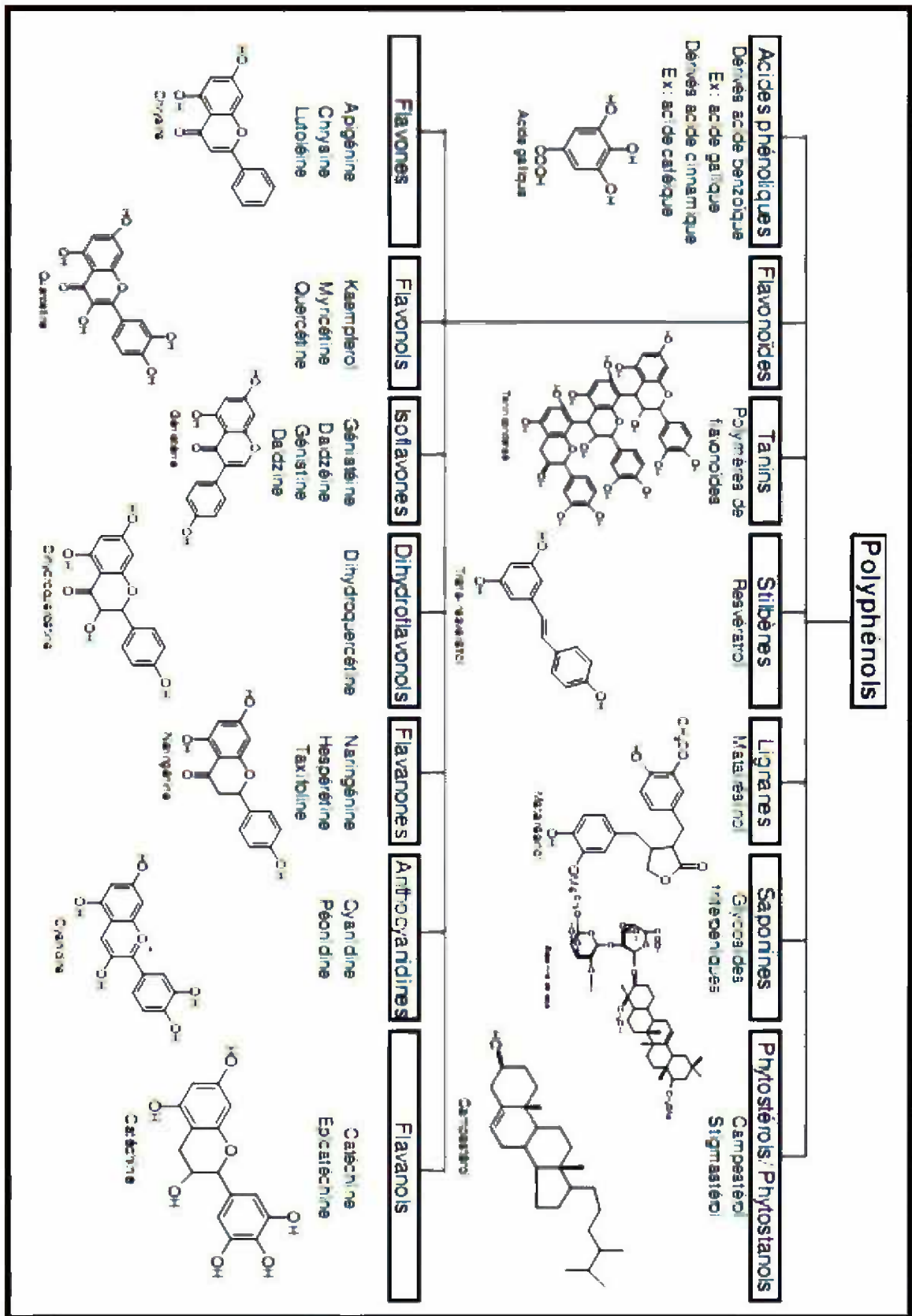


Schéma 2 : Classification des différent classe et structure des polyphénols

### 5.1. Les composés en C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub> et C<sub>6</sub>-C<sub>2</sub> ou les composés Simples :

On distingue deux principales classes d'acide phénolique; les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique .La concentration de l'acide hydroxybenzoïque est généralement très faible chez les végétaux comestibles. Ces dérivés sont assez rares dans l'alimentation humaine par contre ceux d'acides hydroxycinnamiques sont très présents (56)

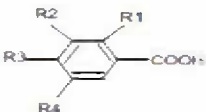
Ce type de composés provient d'une  $\beta$  oxydation des composés en C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> ou simplement dit un raccourcissement au niveau de leur chaîne latérale qui par conséquent perd deux atomes de carbone (76).

#### A. Les Acides benzoïque :

Les acides benzoïque ont une structure générale d'un squelette à sept atomes de Carbone C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>, les variations de structures de différents acides benzoïques se situent dans l'hydroxylation et la méthylation du noyau aromatique (77). Ils peuvent être présent sous forme de combinaisons avec des sucres ou des acides organiques généralement de type ester, dont ils sont libérés par hydrolyse alcaline (78).

On trouve les acides p-hydroxybenzoïques, protocatéchiques, galliques, salicyliques, vanilliniques, cyringiques, o-hydroxybenzoïques et gentisiques.

**Tableau 07 : principaux Acide hydroxy benzoïque (79)**

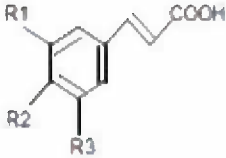
Structure	R1	R2	R3	R4	Acides phénoliques
	H	H	H	H	Acide benzoïque
	H	H	OH	H	Acide p hydroxy benzoïque
	H	OH	OH	H	Acide protocatechique
	H	OCH <sub>3</sub>	OH	H	Acide vanillique
	H	OH	OH	OH	Acide gallique
	H	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	Acide syringique
	OH	H	H	H	Acide salicylique
	OH	H	H	OH	Acide gentisique

### B. Les acides cinnamiques :

Les acides cinnamiques ont une structure générale de C<sub>6</sub>- C<sub>3</sub>, les plus répandus chez les végétaux sont l'acide *p*-coumarique (1), caféique (2), férulique (3) et sinapique (4)

On rencontre au moins un d'entre ces quatre acides, dans pratiquement tous les végétaux supérieurs.

**Tableau 08 : principaux Acide hydroxycinnamique (79)**

Structure	R1	R2	R3	Acides phénoliques
	H	H	H	Acide cinnamique
	H	OH	H	Acide <i>p</i> coumarique
	OH	OH	H	Acide caféique
	OCH <sub>3</sub>	OH	H	Acide férulique
	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	Acide sinapique

### 5.2. Les composés en C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> : Phénylpropanoïdes

On distingue souvent les dérivés directs (essences secrétées), les dérivés issus de l'estérification (acide chlorogénique, l'acide rosmarinique) ou de la cyclisation de l'acide hydroxy-cinnamique. Les coumarines sont très répandues surtout chez les dicotylédones, les plus fréquentes sont l'umbelliférone, la scopolatine, l'aesculétine.

On rencontre également les dimères qui sont obtenus par la dimérisation des phényl-propanoïdes (lignanes), et en dernier les lignines qui viennent lors de la polymérisation de certains phénylpropanoïdes et elles constituent les macromolécules de la paroi végétale.

#### ➤ Les lignanes et les lignines

Les monolignols sont les dérivés de l'acide cinnamique, ils servent de précurseurs pour les composés de types phénylpropanoïdes tels que les lignanes et les lignines.

Les lignines constituent une classe importante de produits naturels dans le règne végétal et seraient formées par polymérisation oxydative de monolignols (monomères) qui sont les alcools *p* coumarique, coniférique et sinapique (58)

### ➤ Les coumarines

Les coumarines sont des hétérocycles oxygénés ayant comme structure de base le benzo-2-pyrone. Ils ont été isolés pour la première fois par Vogel en 1820 dans le *Coumarouna odorata*. Aujourd'hui, près de 1000 composés coumariniques sont isolés dans plus de 800 espèces de plantes et dans les microorganismes (58).



**Figure10 : Structure chimique de quelques coumarines.**

### 5.3. Les composés mixtes C6-(C1 ou C2)-C6

Après que 1, 2 ou 3 groupements acétates sont adjoints à l'acide cinnamique (ou ses dérivés hydroxylés) et que la chaîne polycétonique, par conséquence, se forme et puis se cyclise ; ces composés résultent. Ce groupe inclut une série de composés qui sont les stilbenes et les flavonoïdes.

#### 5.3.1. Les stilbènes

Les stilbènes se trouvent en petites quantités dans l'alimentation humaine, parmi ces composés on trouve le resveratrol qui est un anticancéreux présent dans certaines plantes médicinales (57).

Les stilbènes sont très connus par leurs propriétés antifongiques et leur fameux comportement qui ressemble beaucoup aux phytoalexines. On cite comme exemple le resvératrol produit par la vigne en cas d'une attaque fongique (121).



### 5.3.2. Les flavonoïdes

#### 5.3.2.1. Présentation

Le terme flavonoïde dérive du mot grec *flavus* qui veut dire jaune. Ces substances ou pigments, généralement colorées très répandues chez les végétaux. On les trouve dissoutes dans les vacuoles à l'état d'hétérosides ou comme constituant des plastes particuliers, les chromoplastes (96). On les trouve dans les parties de la plante c.à.d omniprésents : tiges, feuilles, racines, fleurs, pollons, fruits, grains,

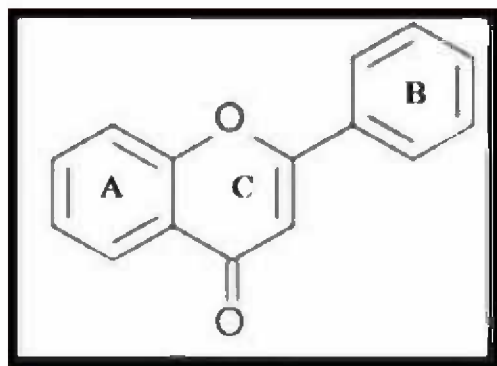
Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels du règne végétal (97), qui sont caractérisés par la présence d'une structure phénolique dans leur molécule, et même d'une structure flavone ce qui les distingue des autres polyphénols (98).

La prise moyenne quotidienne des flavonoïdes est 14.4 mg dont (35.2%) viennent de fruits, (19.1%) des légumes, (16.9%), du thé (102). La quercétine est régulièrement consommée par l'homme car c'est le flavonoïde principal trouvé dans le régime alimentaire (103).

Leur ingestion diététique est tout à fait haute, comparé à d'autres antioxydants diététiques comme les vitamines C et E (101).

#### 5.3.2.2. Structure chimique et classification

Les flavonoïdes possèdent un squelette de base de quinze atomes de carbones constitué de deux unités aromatiques en C<sub>6</sub> A et B relié par une chaîne en C<sub>3</sub> (structure en C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>). La chaîne en C<sub>3</sub> entre les cycles A et B est cyclisé pour former le cycle C.



**Figure 11 : Squelette de base des flavonoïdes**

La famille des flavonoïdes peut se diviser en six classes qui diffèrent par leurs structures chimiques: flavonols, flavones, flavanes, flavanones, isoflavones et anthocyanidines (99).

Classes	Structures chimiques	R3'	R4'	R5'	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OC14	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempferol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myricétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringonine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphinidine
Isoflavones		R5	R7	R5'	
		OH	OH	OH	Genistéine
		H	O-Glu	OH	Daidzéine

**Figure 12: les classes des flavonoïdes (100)**

#### a. Les flavonols (hydroxy-3-flavone)

Les flavonols se différencient des flavones par l'existence d'un OH en position 3. Ce sont les flavonoïdes les plus répandus ; les trois principales structures sont le kaempferol, la quercétine et la myricétine. La quercétine est sans doute le composé phénolique le plus répandu dans la nature (3).

**b. Les flavones**

Les flavones proprement dites ont un rôle moins important que les flavonols ; cependant l'apigénine et la lutéoline, dont l'hydroxylation correspond respectivement à celle du kaempferol et la quercétine, sont des constituants assez fréquents dans les différentes familles d'Angiospermes (3).

**c. Les isoflavones**

Les isoflavones telle que la génistéine n'ont pas la structure classique en C6-C3-C6 des autres flavonoïdes ; elles sont beaucoup moins répandues que les précédentes, mais il existe dans cette famille un grand nombre de structures peu classiques (3).

**d. Les flavanones**

Ces composés ne comportent pas des groupements OH en position 3, et présentent de fortes similitudes de structures avec les flavonols. Dans cette catégorie, il faut ranger les flavonoïdes responsables de la saveur amère de certaines pamplemousses, citrons, orange: la naringénine , l'hespéridine et l'eridictyol. (137).

**e. Les flavanes**

Les flavanes contiennent un hétérocycle central, dont, d'une part est entièrement saturée, d'autre part ne possède pas de groupement -CO- ; on rencontre fréquemment dans les tissus végétaux des flavanols (catéchine) et surtout des flavane-di-ols<sup>3-4</sup> (ou leuconthocyanidines) qui interviennent dans la constitution des tanins condensés. Les flavanes les plus importants sont les catéchines et les gallocatéchines, la leucocyanidine et la leucodélfidine. Les flavanes se différencient des autres composés phénoliques en ce sens qu'elles existent dans la nature sous forme d'aglycones, le plus souvent polymérisés, alors que les flavones, flavonols et composés voisins sont toujours sous forme hétérosidique.

## f. Les anthocyanes

Les anthocyanes (du grec *anthos*, fleur et *Kuanos*, bleu violet) terme général qui regroupe les anthocyanidols et leurs dérivés glycosylés (138). Ces molécules faisant partie de la famille des flavonoïdes et capables d'absorber la lumière visible, sont des pigments qui colorent les plantes en bleu, rouge, mauve, rose ou orange (139;140).

Leur structure de base est caractérisée par un noyau "flavon" généralement glucosylé en position C3 (3). Les anthocyanes se différencient par leur degré d'hydroxylation et de méthylation, par la nature, le nombre et la position des oses liés à la molécule. L'aglycone ou anthocyanidine constitue le groupement chromophore du pigment.

### 5.3.2.3 Propriétés biologiques des flavonoïdes

#### ➤ **Activité anti-oxydante :**

Les flavonoïdes ont été découverts dans les années 30 par Albert Szent-Gyorgyi lauréat prix Nobel, en tant que des composés avec l'activité anti-oxydante prononcée (141). Les flavonoïdes expriment les propriétés anti-oxydantes par : Le piégeage direct des espèces réactives de l'oxygène (ERO), La suppression de la formation des ERO par l'inhibition de quelques enzymes ou par chélation des ions métalliques, impliqués dans leur production, La protection des systèmes de défense antioxydants de l'organisme (Boudiaf, 2006).

#### ➤ **Propriétés pro-oxydantes :**

Nous avons décrit précédemment les propriétés anti-oxydantes des flavonoïdes mais il ne faut pas négliger leurs propriétés pro-oxydantes. Parfois les flavonoïdes jouent un rôle de pro-oxydants. En effet, plusieurs d'entre eux ont été décrits comme responsables d'autooxydation et de la génération de radicaux oxygénés actifs, comme le peroxyde d'hydrogène.

En définitive, certains flavonoïdes pourraient accélérer la survenue de l'atteinte oxydative de l'ADN, des protéines et des glucides *in vitro*. Alors, le potentiel pro-oxydant de ces composés ne doit pas être négligé dans le mécanisme d'action des flavonoïdes (142).

➤ **Effets cardiovasculaires :**

Récemment, beaucoup d'études se sont concentrées sur les effets cardiovasculaires des flavonoïdes. Les rapports épidémiologiques ont démontré que les gens peuvent avoir une incidence plus limitée en maladies du coeur, s'ils ont une ingestion diététique élevée en flavonoïdes (143).

Parmi les 17 flavonoïdes examinés (143), les agents de relaxation vasculaires les plus efficaces sont l'apigénine, lutéoline, kaempferol et la génisteine. Cette relaxation est attribuée à l'action directe des flavonoïdes sur le muscle lisse vasculaire.

➤ **Activité anti-ulcérogène :**

Les flavonoïdes protégeraient la muqueuse gastrique contre les agents ulcérogènes. La quercétine exerce ses effets cytoprotecteurs grâce à un complexe impliquant la stimulation de la prostaglandine et l'inhibition de la production de leucotriènes via la production de mucus et de ses propriétés antioxydantes

➤ **Activités antimicrobienne et antivirale :**

Les flavonoïdes affecteraient la réplication intracellulaire et/ou atténueraient les propriétés infectieuses de bactéries et virus

➤ **Activité de prévention de la cataracte diabétique :**

Les flavonoïdes préviendraient la cataracte diabétique en inhibant l'aldose réductase. La myricétine possède des propriétés hypoglycémiantes et hypotriglycéridémiantes chez les animaux diabétiques

➤ **Activité anti-ostéoporose :**

L'ostéoporose est une pathologie caractérisée par une densité minérale osseuse relativement faible, surtout chez les femmes âgées. De nombreux nutriments comme la vitamine D, les minéraux et certaines protéines permettent le maintien osseux. Certains

flavonoïdes inhiberaient la résorption osseuse ostéoclastique selon des mécanismes encore inconnus

➤ **Activité antiallergique :**

Les flavonoïdes influenceraient la production d'histamine en inhibant les enzymes permettant le relargage de l'histamine au niveau des mastocytes et des basophiles l'ATPase  $Ca^{++}$  dépendante et l'AMP cyclique phosphodiesterase



**Chapitre III :**  
**Activité Antioxydante**



## 1. présentation

Les antioxydants apparaissent aujourd'hui comme les clés de la longévité et nos alliés pour lutter contre les maladies modernes. Ce sont des éléments protecteurs qui agissent comme capteurs de radicaux libres et les derniers sont produits quotidiennement par l'organisme ; ce sont des composés très réactifs comportant un électron célibataire et nécessaire à des mécanismes vitaux (106) mais, ils deviennent nocifs quand ils sont en excès et induisent certains dommages au niveau de la structure des protéines, des lipides (108), des acides nucléiques (107) en entraînant un stress oxydant qui contribue aux processus de vieillissement cellulaire accéléré et au développement de pathologies humaines telles que les maladies cardiovasculaires, les cancers, l'artériosclérose

## 2. Définition d'un antioxydant :

On désigne par antioxydant toute substance qui, lorsqu'elle est présente en faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat (105).

### 2.1. Les antioxydants endogènes

Ce sont des enzymes ou protéines antioxydantes ( Superoxyde dismutase, Catalase et Glutathion peroxydase) élaborées par notre organisme avec l'aide de certains minéraux. Elles sont présentes en permanence dans l'organisme mais leur quantité diminue avec l'âge (111).

- ✓ **Les superoxydes dismutases (SOD)** : sont des métallo-enzymes se retrouvant dans l'ensemble du monde du vivant. Elles catalysent la dismutation de deux anions superoxydes en dioxygène et peroxyde d'hydrogène (110).
- ✓ **Les catalases (CAT)** : Sont des enzymes majoritairement peroxysomales catalysant la dismutation du peroxyde d'hydrogène (110).
- ✓ **Les peroxydases (POX)**: Sont une large famille multigénique d'enzymes hémiques catalysant la réduction d'un substrat oxydé en utilisant de nombreux co-substrats comme donneurs d'électrons.

- ✓ **Les peroxyredoxines (PRX)**, aussi appelées thiorédoxines peroxydases, sont des peroxydases non hémiques contenant un résidu cystéine au niveau de leur site catalytique. Les PRX sont des éléments essentiels du système de détoxification des espèces réactives de l'oxygène.
- ✓ **Glutathion peroxydase (GPX)** : Elle agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en H<sub>2</sub>O et O<sub>2</sub>.

## 2.2. Les antioxydants exogènes

Ils sont présents dans l'alimentation tels que les vitamines A, C, E et les polyphénols en particulier les flavonoïdes, ainsi que les cofacteurs des enzymes impliquées dans les systèmes anti-oxydants endogènes comme le sélénium, le zinc et le manganèse.

Ces antioxydants nutritionnels sont indispensables mais leur action est limitée jusqu'à ce qu'ils soient régénérés.

- ✓ **La vitamine E** : Le principal anti-oxydant nutritionnel est la vitamine E (essentiellement l' $\alpha$ -tocophérol), liposoluble, puissant anti-oxydant mais qui peut avoir des effets délétères à très forte dose. Elle agit principalement par le transfert direct d'atomes d'hydrogène et permet d'inhiber la lipoperoxydation dans les cellules (117)

La vitamine E est abondante dans les germes de blé, les légumes verts, les oeufs, les noix et les corps gras notamment les huiles de tournesol, de soja, de maïs (113).

- ✓ **L'ascorbate ou vitamine C** : est l'antioxydant hydrosoluble majeur, réagit rapidement avec l'anion superoxyde et l'oxygène singulet, ou encore avec le peroxyde d'hydrogène. Elle est indispensable par sa capacité à réduire d'autres antioxydants oxydés comme la vitamine E ou les caroténoïdes (118). La vitamine C est abondante dans les agrumes, les fruits rouges, les pommes, les brocolis (112).

- ✓ **Les caroténoïdes** : sont des pigments végétaux lipophiles formant une famille de plus de 600 molécules notamment le lycopène et le 2-carotène, précurseurs de la vitamine A. Ils sont présents dans les carottes, les fruits rouge et jaunes, les légumes verts et les tomates (115).

Le rôle biologique des caroténoïdes est, entre autres, complémentaire de celui de la vitamine E, elle-même régénérée par la vitamine C, d'où l'intérêt de consommer une alimentation équilibrée, riche en fruits et légumes variés pour bénéficier des nombreux effets de synergie entre micronutriments (116).

✓ **Les flavonoïdes** : Ce sont des substances naturelles présentes dans tout le règne végétal. Les flavonoïdes peuvent agir de différentes façons dans les processus de régulation du stress oxydant : par capture directe des espèces réactives de l'oxygène, par chélation de métaux de transition comme le fer le cuivre ou par inhibition de l'activité de certaines enzymes responsables de la production des espèces réactives de l'oxygène comme la xanthine oxydase (114).

✓ **Les tanins** : Les tanins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation. Des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'auto oxydation des lipides.

✓ **Les coumarines** : Ils sont capables de piéger les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes, importants dans la prévention de la peroxydation des lipides membranaires et ils ont une activité antiperoxydante (119).

✓ **Le sélénium** : il neutralise les métaux toxiques en particulier le plomb et le mercure. Il aurait aussi une action préventive sur certains cancers.

Tableau 09 : exemples d'antioxydants retrouvés dans les aliments

Antioxydant	Protège contre	Sources
Vitamine C	Les maladies cardiovasculaires, les cataractes, et certains types de cancer	Agrumes, tomate, melon, fraise, kiwi, poivron, brocoli
Vitamine E	Les maladies cardiaques et cancer de la prostate, ralentit la maladie d'Alzheimer	Noix et graines, huiles, fruits et légumes
Caroténoïdes	Les cancers, en particulier le cancer du poumon, et les maladies cardiovasculaires	Carotte, patate douce, courge, brocoli, chou frisé, épinard ; fruits : abricot, pêche
Flavonoïdes	Cancer	Bleuet, cerise, canneberge, mûre, cassis, prune, raisin rouge
Sélénium	Réduction de l'incidence des cancers de la prostate, du côlon et du poumon	Céréales complètes, noix, oignon, ail, volaille, viande

### 3. Les radicaux libres

Les radicaux libres peuvent être considérés comme des déchets du métabolisme cellulaire. Ce sont des atomes et des molécules dotés d'une forte énergie et qui, avant d'être neutralisés détruisent ce qu'ils rencontrent. Ils sont produits dans toutes les cellules de l'organisme tout à fait normalement et en faible quantité dans les mitochondries. Il s'agit des ions oxygène, hydroxyde et de l'eau oxygénée qui sont libérés lors des réactions biochimiques. Avant d'être neutralisés ils provoquent des lésions sur tous les éléments qu'ils côtoient.

L'organisme sait cependant se défendre contre eux, grâce aux enzymes antioxydantes contenues dans nos cellules. Ces enzymes sont aidées dans leur action antiradicalaire par la vitamine E, C, provitamine A, le zinc et le sélénium. Si ces systèmes de défense sont débordés ou insuffisants, les radicaux libres ont tout le loisir d'être nuisibles : ils s'attaquent alors aux membranes cellulaires dont les acides gras insaturés sont dénaturés (leur structure est modifiée); ils agressent également les protéines.

Le plus simple des capteurs des radicaux libres est l'alcool éthylique, agent de transfert d'hydrogène qui conduit à un composé biologiquement compatible, l'acétaldéhyde, bio-oxydable par la chaîne enzymatique avec production d'énergie.



#### ➤ Principaux radicaux libres

- ✓ **l'anion super oxyde** : la molécule d'oxygène, mise en présence d'une quantité d'énergie suffisante, peut acquérir un électron supplémentaire et former ainsi l'anion super oxyde  $\text{O}^-$ . Cet anion comme facteur oxydant dans de nombreuses réactions.
- ✓ **le radical hydroxyle** :  $\text{OH}\cdot$  Il est très réactif vis-à-vis des structures organiques et joue un rôle initiateur dans l'auto-oxydation lipidique.
- ✓ **le radical peroxyde** :  $\text{ROO}\cdot$  - l'oxygène singulet :  $\text{O}$ , forme « excitée » de l'oxygène moléculaire, est souvent assimilé à un radical libre en raison de sa forte réactivité (109).

**Tableau 10 : liste des principes radicaux libres**

Radical	Formule
Anion superoxyde	O <sub>2</sub> <sup>-</sup>
Peroxyde d'hydrogène	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Hydroxyde	OH
Peroxyde	ROO
Hydroperoxydes	ROOH
Alcoxyde	RO
Oxygène singulet	1/2O <sub>2</sub>
Oxyde nitrique	NO

#### 4. Quelques plantes à activité antioxydante

**Tableau 11 : Quelques plantes à activité antioxydante(120) :**

Plantes	Partie utilisée	Famille
<i>Diopyros abyssinica</i> Hiem.f.W	Feuilles	<i>Ebenaceae</i>
<i>Psorospermum guineense</i> Spach.	Feuilles	<i>Hypericaceae</i>
<i>Burkea africana</i> Hook.	écorces tronc	<i>Caesalpiniaceae</i>
<i>Cussonia barteri</i> Seem.	écorces racines	<i>Ceasalpinaceae</i>
<i>Enxada africana</i> Guill et Perr.	écorces racines	<i>Mimosaceae</i>
<i>Lannea velutina</i> Rich.	Feuilles, écorces (racines et tronc)	<i>Anacardiaceae</i>
<i>Guiera senegalensis</i> J.F Gmel.	Feuilles	<i>Combretaceae</i>

#### 5. Utilisation des antioxydants :

- ✓ Dans l'industrie chimique : pour éviter le durcissement du caoutchouc ou en métallurgie pour protéger les métaux de l'oxydation.
- ✓ Dans l'industrie agro-alimentaire : pour éviter le rancissement des corps gras.
- ✓ Dans l'industrie teinturerie : pour éviter l'oxydation des colorants au soufre ou des colorants de cuve lors de la teinture.



**Partie II :**  
**Matériels et méthodes**



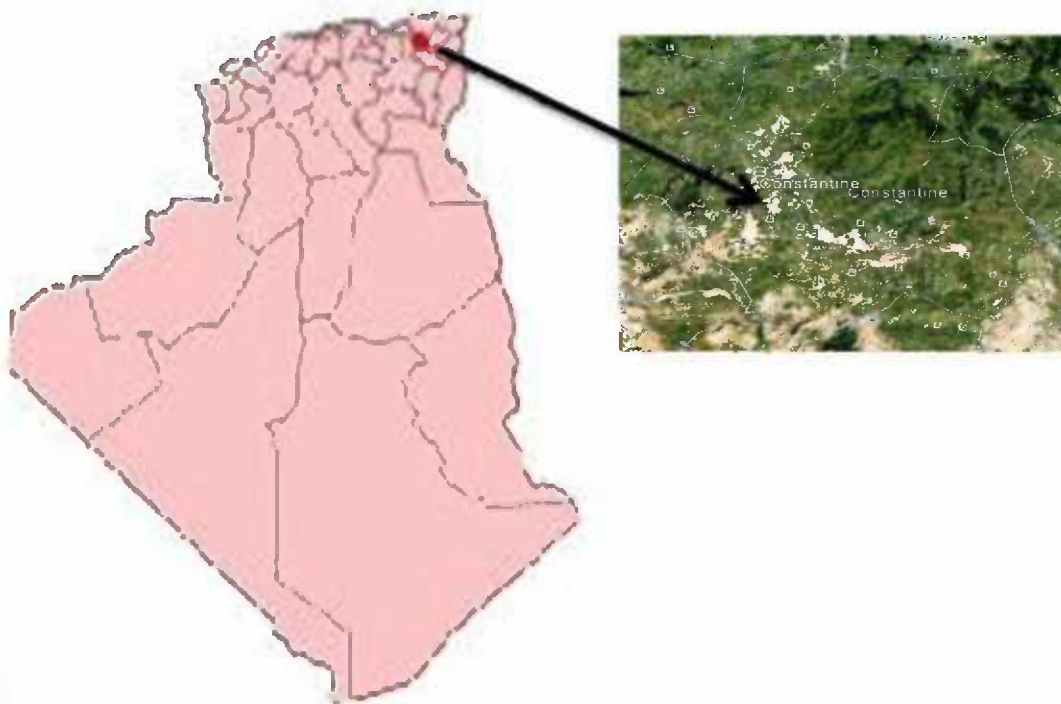
**Chapitre I :**  
**Etude phytochimique**



### 1. Matériel végétal :

Le matériel végétal est constitué des parties aériennes de *Marrubium vulgare* et *Ajuga iva* . Les feuilles et les tiges du *Marrubium vulgare* cueillies en mois de janvier 2015 de la région SALAH BEY (el gherabe) wilaya de Constantine, tandis que Les feuilles et les tiges du *Ajuga iva* ont été colletées en Mars 2015.

Après séchage à une température ambiante et à l'abri de la lumière solaire, afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules, le matériel végétal de chacune des deux espèces est broyé grossièrement dans un moulin électrique.



**Figure 13 : Localisation géographique de la zone d'étude  
SALAH BEY (El gherabe)**

**Tableau 12 : présente les dates de récoltes et les parties utilisées**

Espèces	Durées	Partie
<i>Marrubium vulgare</i>	01/01/2015	Partie aérienne
<i>Ajuga iva</i>	15/03/2015	Partie aérienne

➤ **Matériels :**

- ✓ Béchers de 500 ml
- ✓ fioles de 1000 ml
- ✓ Erlen
- ✓ Entonnoir
- ✓ Balance
- ✓ Bain marie
- ✓ Papier wattman.
- ✓ Papier filtres N° 1.
- ✓ Pipette
- ✓ Ampoules à décantés
- ✓ Spectrophotomètre des cuves
- ✓ Tubes secs
- ✓ Porte tubes
- ✓ Des pipettes (01ml, 05 ml)

## **2. Screening phytochimique:**

### **2.1. Définition**

Le screening phytochimique est un ensemble des méthodes et techniques de préparation et d'analyse des substances organiques naturelles de la plante.

Le but final de l'étude des plantes médicinales est souvent d'isoler un ou plusieurs constituants responsables de l'activité particulière de la plante. De ce point de vue, les techniques générales de screening phytochimique peuvent être d'un grand secours. Ces techniques permettent de détecter, dans la plante, la présence des produits appartenant à des classes de composés ordinairement physiologiquement actifs. Le nombre de ces classes est important et il ne peut être vérifié la présence de chacune. Il faut choisir et il est retenu les classes reconnues comme les plus actives mais aussi les plus faciles à détecter compte tenu des ressources techniques disponibles

### **2.2. Préparation des extraits :**

Toutes les réactions de détection ont été effectuées soit directement à partir de la poudre de feuilles, soit à partir du résidu d'évaporation à sec de l'extrait à analyser. Différents extraits sont utilisés pour les tests de détection des diverses substances.

#### **2.2.1. Extraits Méthanoliques (Extrait A) :**

15 g de poudre des feuilles et tiges mélanges sur 200 ml extrait hydro-alcooliques 8 :2 (160 méthanol, 40 ml Eau distillée) dans un flacon, laissé le mélange macérer une 24 heure, puis filtré ainsi obtenu constitue la solution méthanoloque.

#### **2.2.2. Extraits Chloroformée (Extrait B) :**

Cinq (05) gramme de poudre ou de résidu est mis en suspension dans 100 ml de chloroforme. La suspension est laissée macérer pendant une nuit (24 heure), puis filtrée après agitation. Le filtrat constitue la solution Chloroformique.

### 2.2.3. Extraits étheré de pétrole (Extrait C) :

Cinq (05) gramme de poudre ou de résidu est mis en suspension dans 100 ml de chloroforme. La suspension est laissée macérer pendant une nuit (24 heure), puis filtrée après agitation. Le filtrat constitue la solution étheré de pétrole.

## 3. Criblage des polyphénols :

### 3.1. Criblage des Flavonoïdes :

#### ➤ Réactifs :

- ✓ HCl pur 100%.
- ✓ Mg

#### ➤ Protocoles Expérimentale :

Le Criblage des flavonoïdes se réalise à partir de l'extrait hydro-méthanolique des parties aériennes (feuilles et tiges) de la plante.

Deux tests sont effectués sur l'extrait. Trois tubes sont nécessaires, dont le premier sert de témoin :

#### ✓ Teste de *Wilstater* :

Pour le premier test, 0,5 ml de HCl pure et quatre tournures de magnésium sont ajoutés dans 05 ml d'extrait A. Après 10 minutes, le changement de coloration est noté.

Le virage au rouge révèle la présence de flavones ; au rouge pourpre, celle des flavonols et au rouge violacé, celle des flavonones et des flavonols, se développe après 3 minutes (Bruneton,1993).

#### ✓ Teste de *Bate-Smith* :

Pour le second test, la même opération est répétée sur même extrait A mais avec quatre gouttes HCl, en porter au Bain marie trente (30) minutes. Une coloration notée sur la phase supérieure.

- rouge à rouge violacé de la phase supérieure indique la présence de flavonoïdes.

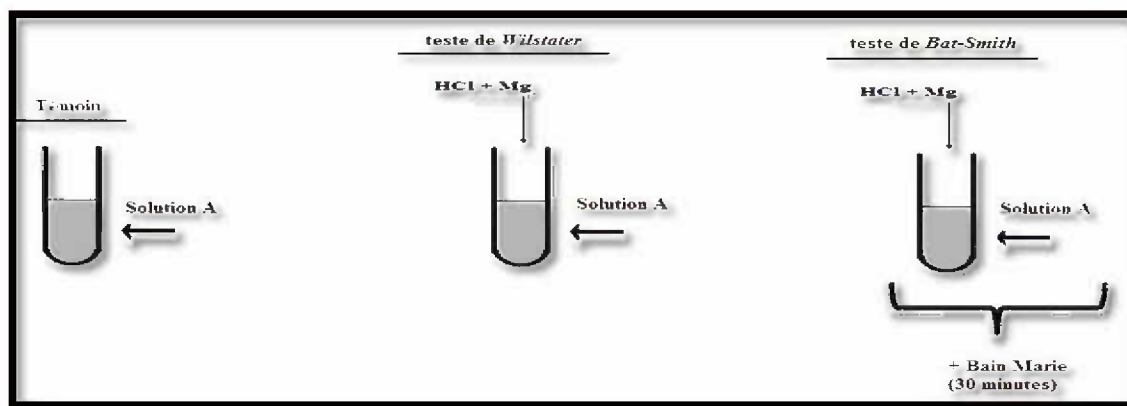


Schéma 03 : Criblage de flavonoïdes

### 3.2. Criblage des Tanins :

#### ➤ Réactifs :

- ✓  $\text{FeCl}_3$ : 01 gde  $\text{FeCl}_3$  + 100 ml MeOH
- ✓ **Gélatine 01%** : 01g gélatines + 100 ml eau distillée
- ✓ **Gélatine salée** : gélatine 01% + NaCl 10%

#### ➤ Protocoles Expérimentale :

Le Criblage des Tanins se réalise à partir de l'extrait A. Les tanins réagissent avec le chlorure ferrique et sont précipités de leurs solutions aqueuses par la gélatine. L'extrait A est utilisé pour les trois tests suivants :

#### ✓ Teste à la gélatine :

L'apparition de précipité dans le tube contenant 2.5 ml d'extrait A, après ajout de quatre à cinq gouttes de gélatine aqueuse 1%, traduit la présence de tanins.

#### ✓ teste à la gélatine salée :

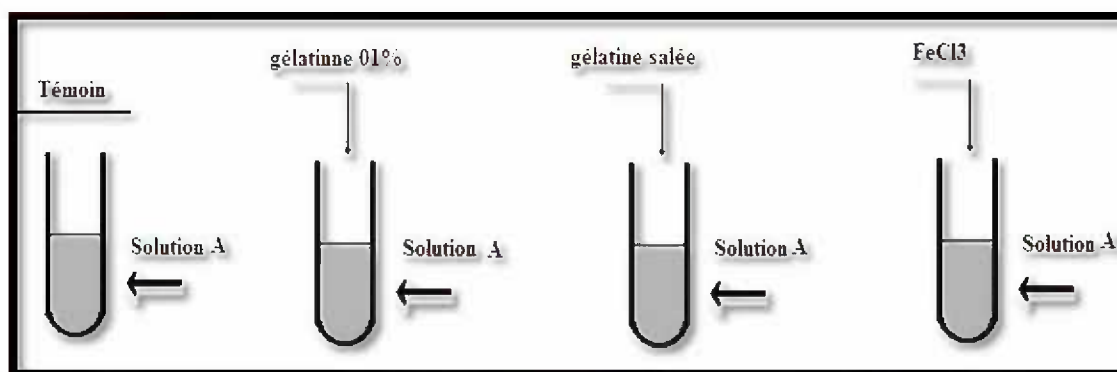
Quatre à cinq gouttes de gélatine salée, sont versées dans 2.5 ml d'extrait A. La formation de précipité indique la présence de tanins condensés de type pyrogallique.

#### ✓ Teste un Chlorure ferrique :

Quatre à cinq gouttes de chlorure ferrique en solution A sont additionnées dans 2.5ml d'extrait A à analyser.

- Les tanins **Catéchiques** sont mis en évidence par la formation d'une coloration bleu-vert ou vert-noir alors qu'une coloration noire bleuâtre indique la présence de tanins de type **pyrogallol**.

- **Remarque** : Si le test à la gélatine est négatif alors que le test au chlorure ferrique demeure positif (coloration bleue ou noire), l'extrait contient d'autres composés poly phénoliques.



**Schéma 04 : Criblage des Tanins**

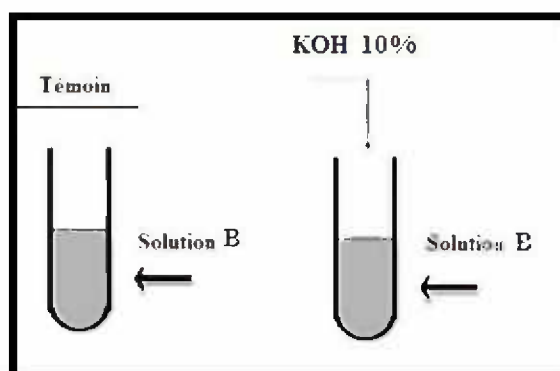
### 3.3. Criblage des Anthraquinones :

➤ **Réactifs :**

- ✓ KOH 10% : 1g KOH + 100 ml eau distillé

➤ **Protocoles Expérimentale :**

Le Criblage des Anthraquinones se réalise à partir de l'extrait B. deux tubes sont nécessaires, dont le premier sert de témoin, en ajoute KOH aqueuse concentré 10%, après agitation la présence des anthraquinones est confirmée par un virage de la phase aqueuse au rouge.



**Schéma 05 : Criblage des Anthraquinones**

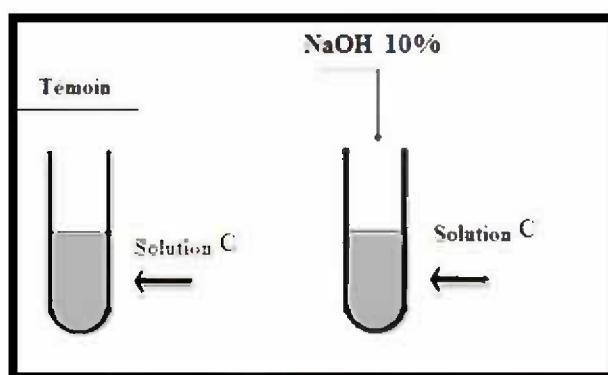
### 3.4. Criblage des Quinones :

➤ **Réactifs :**

- ✓ **NaOH 10% :** 1g NaOH + 100 ml eau distillé

➤ **Protocoles Expérimentale :**

Le Criblage des quinones se réalise à partir de l'extrait C. deux tubes sont nécessaires, dont le premier sert de témoin, en ajoute de quelque goutte de NaOH aqueuse concentré 10%, après agitation la présence des quinones est confirmée par un virage de la phase aqueuse ou violet.



**Schéma 06 : Criblage des Quinones**

### 3.5. Criblage des Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés azotés faiblement basiques issus principalement des végétaux. Leurs structures sont relativement simples et ils ont différents effets physiologiques sur l'organisme humain.

La méthode de détection des alcaloïdes consiste en leur précipitation par des réactifs d'une assez grande spécificité. Ces réactions sont fondées sur la capacité qu'ont les alcaloïdes à se combiner avec les métaux et les métalloïdes : mercure, tungstène, iode, bismuth...

Quatre tubes à essai sont nécessaires pour la manipulation. Ils contiennent chacun 1ml d'extrait acide. Les deux premiers sont utilisés respectivement pour les tests de MAYER, de DRAGENDORFF. Le 3<sup>ème</sup> tube sert de témoin.

➤ **Réactifs :**

- ✓ **Réactif de MAYER**
- ✓ **Réactif de DRAGENDORFF**

➤ **Protocoles Expérimentale :**

- ✓ Préparation de **extrait D** :
  - 200 mg environ de poudre végétale
  - 10 ml de l'acide Sulfurique dilué à 10%
  - Agiter pendant 10 mn, puis filtrer sur papier filtre

Partager le filtrat entre 03 tubes :

- **Tube N°1** : le témoin
- **Tube N°2** : ajouter quelque goutte de réactif *MAYER*
- **Tube N°3** : ajouter quelque goutte de réactif *DRAGENDORFF*

➤ **Composition des réactifs généraux pour les alcaloïdes**

- ✓ **Réactif de MAYER**
  - Chlorure de mercure 1,36 g
  - Iodure de potassium 5 g
  - Eau distillée qsp 100 ml

- ✓ **Réactif de DRAGENDORFF**

Il s'agit d'un mélange (v/v) de deux solutions, A et B.

**Solution A :**

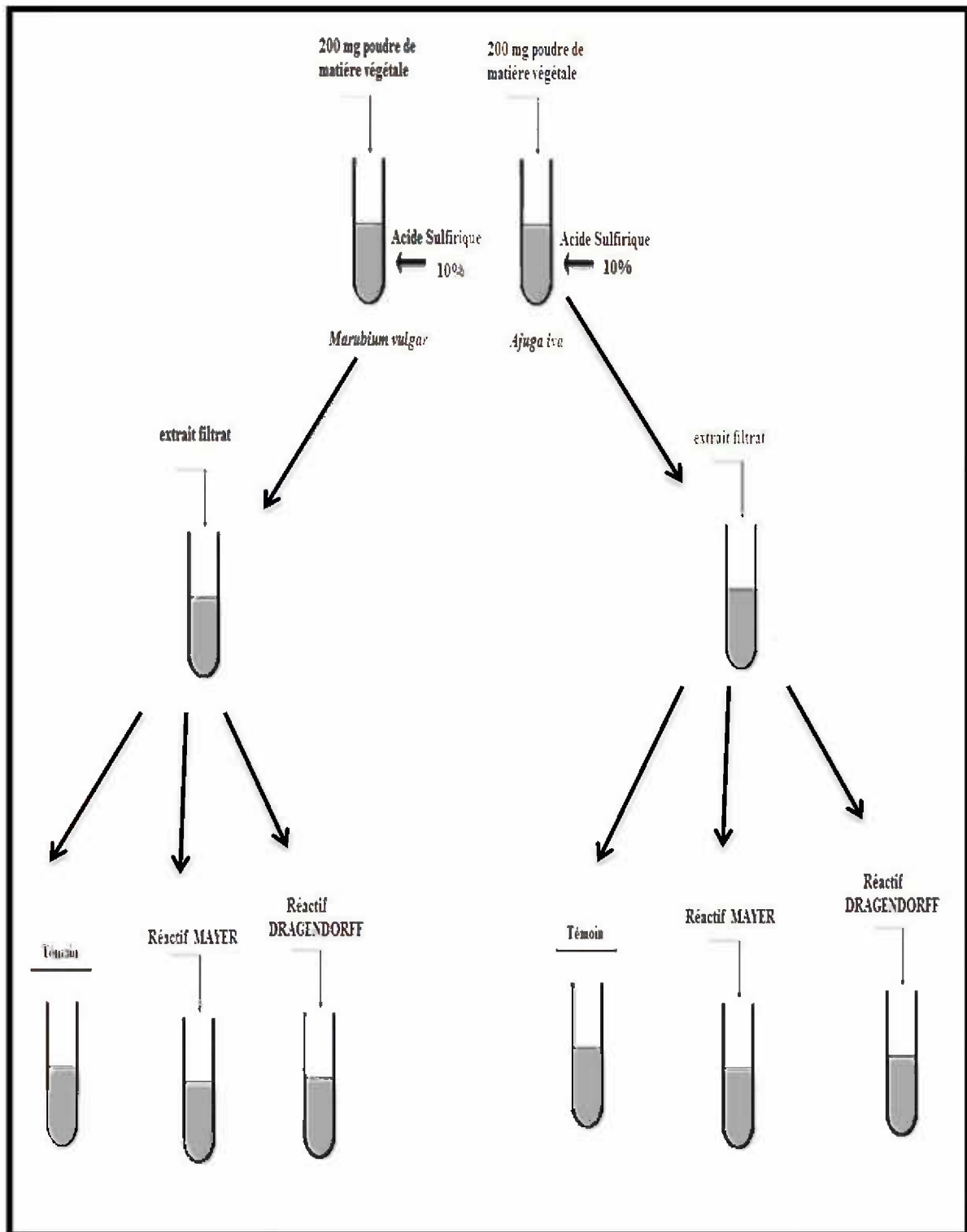
- Nitrate de bismuth 1,7 g
- Acide tartrique concentré 20 g
- Eau distillée qsp 100 ml

**Solution B :**

- Iodure de potassium 10 g
- Eau distillée qsp 40 ml



Le mélange est ensuite additionné de 10 g d'acide tartrique et son volume est ramené à 100 ml par de l'eau distillée.



**Schéma 07 : Criblage des Alcaloïdes**

**5. Etudes quantitatives des composés phénoliques et flavonoïdes :****5.1. Procèdes d'extraction :****5.1.1. Macération :**

La macération de la matière végétale broyée, dans une solution hydroalcoolique (éthanol / eau, ou méthanol / eau), généralement cette opération est répétée trois fois pour extraire le maximum de principes actifs.

A 100 g de partie aérienne de chacune des plantes (*Marrubium Vulgaire*, *Ajuga iva*) broyés (poudre) est soumis à une extraction par macération dans 500 ml de solution hydroalcoolique méthanol/ eau (70 :30 v/v) sous agitation magnétique pendant 72 heures avec renouvellement de solvants chaque 24 heures

Les extraits hydroalcooliques obtenus par filtration est évaporé à sec sous pression réduite à 45°C au évaporateur rotatif. Le résidu sec pesé est repris par 100 ml d'eau distillée bouillante et conservés à 4°C jusqu'à utilisation.



**Figure14: filtration des extrait**



**Figure 15 : agitation magnétique sure  
les 02 plantes (partie aérienne)**



**Figure 16 : évaporation rotatif**

### 5.1.2. Décantation :

Après la évaporation rotatif une décantation de tous une nuit on récupère la phase limpide qui va subir des affrontements.

### 5.1.3. Affrontement :

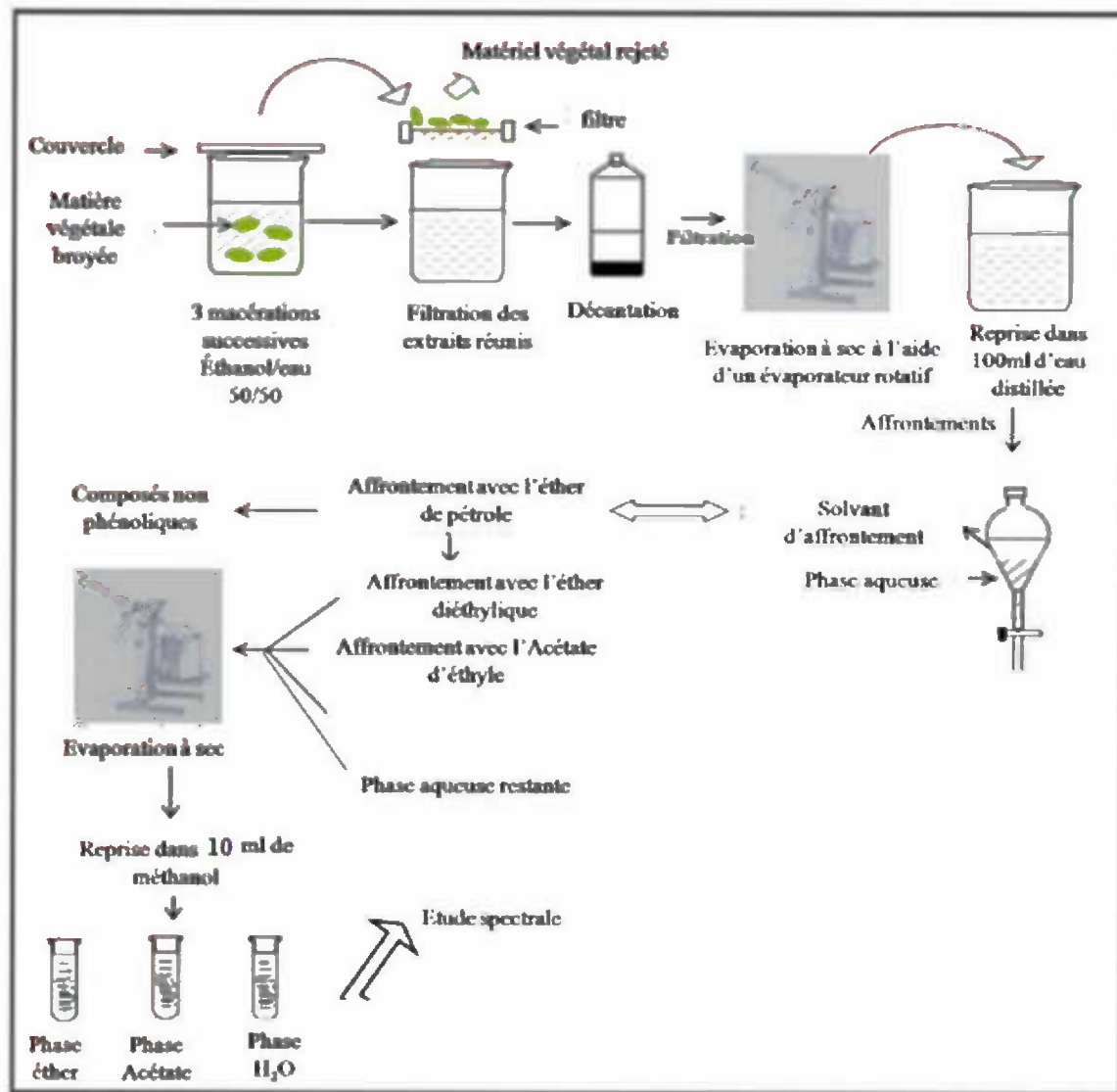
L'affrontement est la partition entre solvant. Les extraits déjà obtenus sont affrontés par divers solvants organiques en commençant par le moins polaire au plus polaire. Le volume de l'extrait végétal est mesuré et mis dans une ampoule à décanter, puis le même volume du solvant est ajouté. Ensuite, le mélange est agité énergétiquement en laissant sortir à chaque fois le gaz émis des produits.

Extractions successives de type liquide-liquide par des solvants de polarité croissante, les solvants les plus utilisés sont :

- ✓ **Affrontement par Ether de pétrole**
- ✓ **Affrontement par Ether di éthylique**
- ✓ **Affrontement par Acétate d'éthyle**

la phase aqueuse et le solvant sont agités énergiquement puis laissés au repos pendant 30 minutes, la phase aqueuse (qui est au fond de l'ampoule) et la phase chargée de molécules spécifiques sont récupérées séparément. Les différentes phases séparément la phase aqueuse et le solvant utilisé chargé de ses composés spécifiques.

Sont évaporées à sec puis reprises par 10 ml du méthanol, les extraits obtenus sont ensuite stockés à une température ambiante jusqu'à leur utilisation.



**Figure 17: récapitulatif des étapes de l'extraction, séparation et identification des polyphénols (125)**

### 5.1.3.1. Ether de pétrole

Après l'ajout de l'Ether de pétrole à l'extrait végétal, le mélange repose pendant 24 h afin de permettre ce solvant à éliminer le maximum des graisses et des pigments qui probablement dévient notre futurs résultats. La décantation conduit à avoir deux différentes phases:

- ✓ La phase d'éther en haut est riche en composés non phénoliques (phase rejetée): caroténoïdes, chlorophylles a et b et les graisses végétales.
- ✓ La phase aqueuse en bas contient les composés phénoliques ou le reste des flavonoïdes (phase récupérée).

### 5.1.3.2. Ether di éthylique

Le même volume de la phase organique issue est affronté avec le même volume d'éther di éthylique. Après une agitation énergétique, la séparation est faite après près de deux. La solution obtenue est laissée reposer deux heures, ce qui permet à l'obtention de deux phases :

- ✓ La phase d'éther di éthylique en haut contient éther et polyphénols simples (phase récupérée).
- ✓ La phase aqueuse en bas contient les flavonoïdes (phase récupérée).

### 5.1.3.3. Acétate d'éthyle :

Le même procédé est suivi. Ce solvant sert à extraire les mono-o-glucosides et partiellement les di-o-glucosides. Les deux phases sont récupérées (phase acétate d'éthyle et phase aqueuse) .



**Figure18: phase**  
**Ether de pétrole**



**Figure 19: phase**  
**Ether di éthylique**



**Figure20: phase**  
**Ether de pétrole**

**Les Affrontement de la plante *Marrubium vulgar***



**Figure 21: phase**  
**Ether de pétrole**



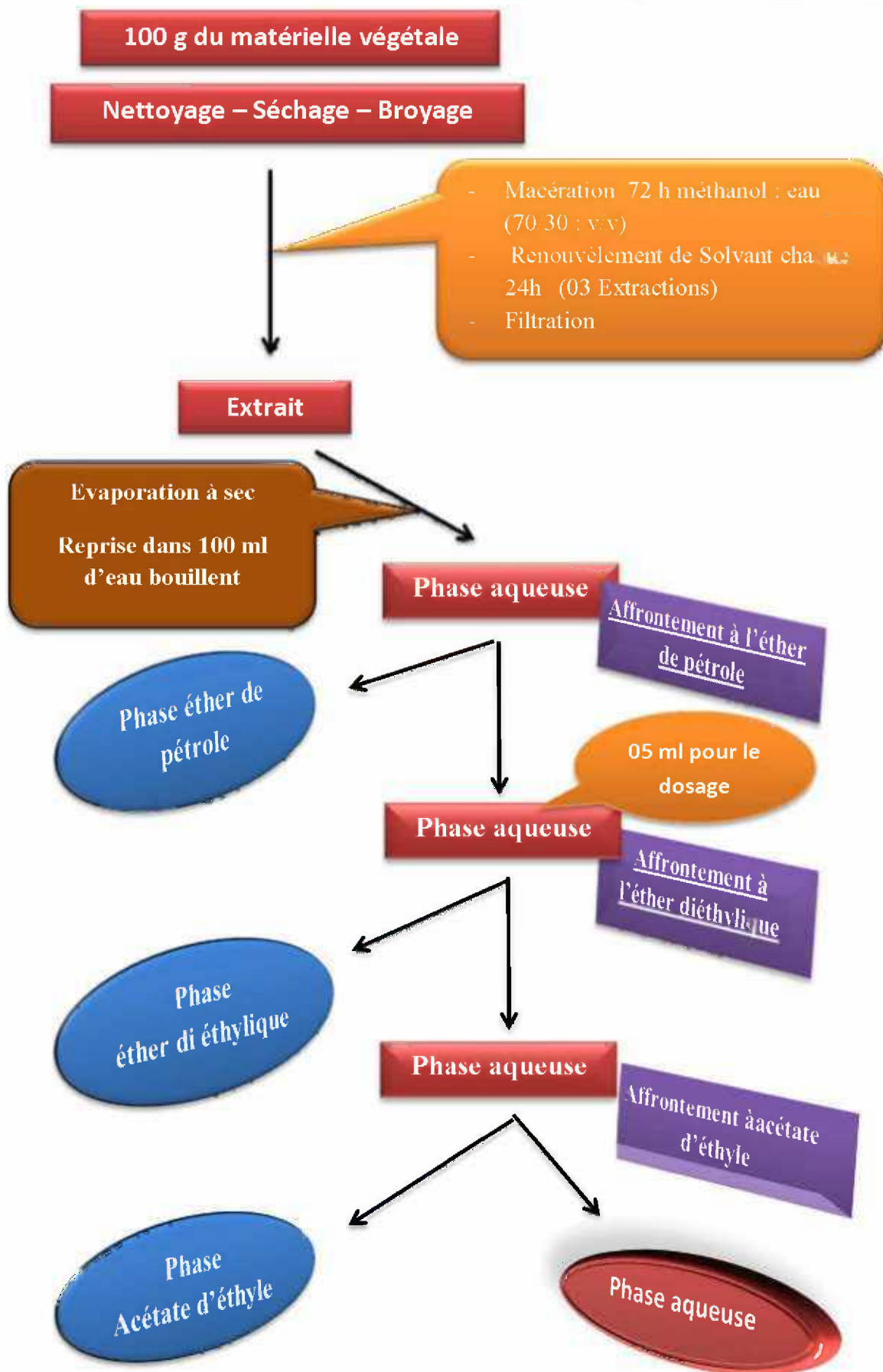
**Figure 22: phase**  
**Ether di éthylique**



**Figure 23: phase**  
**Ether de pétrole**

**Les Affrontement de la plante *Ajuga iva***





**Schéma 08 : protocole d'extraction des flavonoïdes**

## 6. Dosages des expphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique Folin Ciocalteu(80).

Le réactif est formé d'acide phosphotungestique  $H_3PW_{12}O_{40}$  et d'acide phosphomolybdique  $H_3PMo_{12}O_4$ , qui sont réduits lors de l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_3$ ), ce qui nous aide à doser les phénols dans le visible à une longueur d'onde de l'ordre 765 nm.

Le réactif de folin-ciocalteu réagit avec la fonction  $-OH$  des phénols (81). Cette réaction se traduit pour donner une couleur bleu foncée

### ➤ Etude spectrale :

Le dosage des phénols totaux permet d'identifier la teneur de ces composés dans 1g de matériel végétal. La réalisation de cet aspect est faite suivant ces étapes

- ✓ Dilution d'extrait aqueux par étapes suivante :
  - **Tube N° 1** : dilution 10fois
  - **Tube N° 2**: 01 ml de tube N°1 dilué 10 fois
  - **Tube N° 3** : 01 ml de tube N°2 dilué 10 fois

**Tableau 13 : Coefficient de dilutions Des extraits d'échantillon**

	Tube N° 1	Tube N° 2	Tube N° 3
<b>coefficient de dilution (F)</b>	<b>1/10</b>	<b>1/100</b>	<b>1/1000</b>

- ✓ Afin de quantifier les phénols totaux dans la matière végétale, l'extrait phyto méthanolique est pris dans chaque tube à essai en ajoutant deux réactifs :
  - **1ml** d'extrait de l'échantillon (extrait aqueux dilué)
  - **5ml** du réactif de **Folin Ciocalteu** (dilué dix fois)
  - **4ml** d'une solution de **bicarbonate de sodium**  $Na_2CO_3$  (**0.7M : 5.88g/100 ml**)
  - Agiter vigoureusement
  - Incuber pendant **2h** à une température ambiante

- le témoin est préparé par les mêmes réactifs sauf que l'extrait végétal est remplacé par le méthanol.
- ✓ L'absorbance est mesurée par le spectrophotomètre UV-Visible à une longueur d'onde de 765 nm,

➤ **Expression des résultats**

La quantification des polyphénols a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage ( $y = ax + b$ ) a été réalisée en parallèle par l'acide gallique à différentes concentrations dans les mêmes conditions que les échantillons.

L'acide gallique est pris comme un standard. Son absorbance en fonction de sa concentration est illustrée par l'équation suivante:  $y = 10.475 x + 0.0365$

- $y$  est la densité optique **DO** ;
- $x$  est la concentration qui lui convient) **(82)**.

En remplaçant  $y$  par la densité optique mesurée «  $x = (y - 0.0365) / 10.475$  », on obtient les concentrations « **C (mg/ml)** » des polyphénols chacun des extraits variétaux.

$$C = X. F$$

Ensuite, pour avoir la teneur de polyphénol est déterminée selon l'équation suivante :

$$T = C. V / M$$

- **T** : Représente le total des composés phénoliques (**mg EAT / g d'extrait sec de la plante**)
- **C** : Concentration d'extrait méthanolique équivalente à l'acide tannique, obtenue à partir de la courbe d'étalonnage (**mg/ml**)
- **V** : le volume d'extrait méthanolique avant l'évaporation à sec (**ml**)
- **M** : poids sec d'extrait méthanolique de la plante (**g**)

## 7. Dosages des flavonoïdes totaux

La méthode de trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) cité par (Djeridane *et al.*, 2006)(83)et(Boudiaf, 2006) (84)est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les extraits.

### ➤ Etude spectrale :

En utilise les mêmes étapes pour préparer l'extrait d'échantillon .

- ✓ Dilution d'extrait aqueux par étapes suivante :
  - **Tube N° 1** : dilution 10 fois
  - **Tube N° 2** : 01 ml de tube N°1 dilué 10 fois
  - **Tube N° 3** : 01 ml de tube N°2 dilué 10 fois

**Tableau 14 : Coefficient de dilutions Des extraits d'échantillon (Flavonoïdes)**

	Tube N° 1	Tube N° 2	Tube N° 3
<b>Coefficient de dilution (F)</b>	<b>1/10</b>	<b>1/100</b>	<b>1/1000</b>

- **1ml** d'une solution **éthanolique** d' **$AlCl_3$  (2%)** est rajouté à 1ml de l'extrait de la plante
- Après 30 minutes d'incubation à une température ambiante,
- ✓ L'absorbance du mélange est lue à 420 nm, la quercétine est utilisée comme un standard, la quantité des flavonoïdes est estimée en mg EQ/g d'extrait sec de la plante.

### ➤ Expression des résultats

La quantification des flavonoïdes à été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ( $y = a x + b$ ) réalisé par un standard étalon "la quercétine" à différentes concentrations dans les mêmes conditions que l'échantillon.

En remplaçant **y** par la densité optique mesurée «  $x = (y - 0.021) / 4.7382$  », on obtient les concentrations « **C (mg/ml)** » des polyphénols chacun des extraits variétaux.

$$C = X \cdot F$$

$$DO = y$$

Ensuite, pour avoir la teneur de polyphénols est déterminée selon l'équation suivante :

$$\underline{T = C \cdot V / M}$$



**Chapitre II :**  
**Etude Biologique**

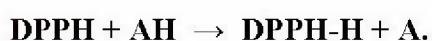
### L'Activité antioxydante

#### ➤ Le test antiradicalaire (test DPPH)

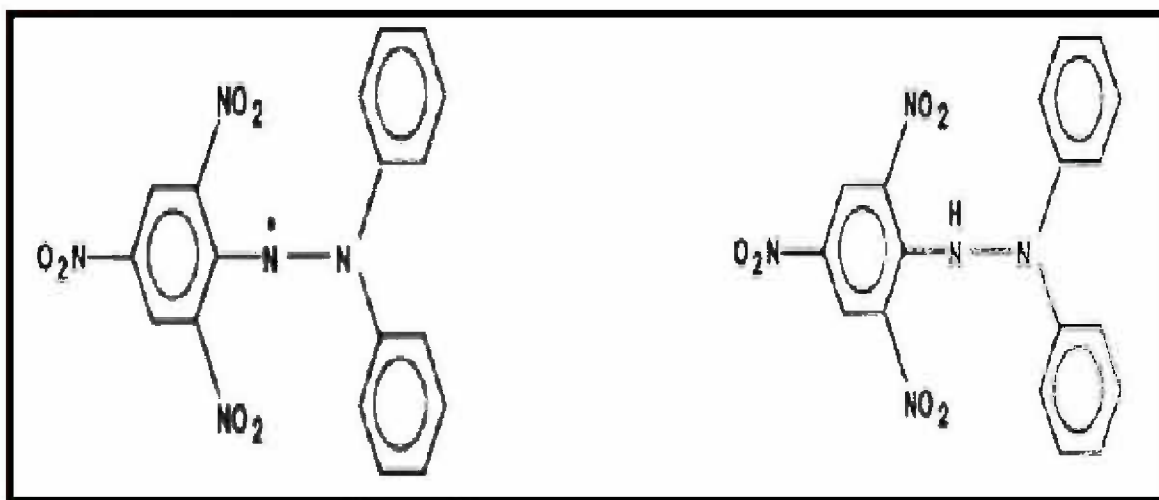
Dans ce chapitre nous avons estimé l'activité antioxydante des deux espèces *Marrubium vulgare* et *Ajuga iva*, grâce à la méthode du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) selon le protocole décrit par Braca (2002)(85).

Dans ce test les antioxydants réduisent le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl ayant une couleur violette en un composé jaune, le diphénylpicrylhydrazine, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle

Le DPPH est un radical libre, de couleur violette qui devient jaune quand il est réduit par un donneur de proton H.



Où AH est un composé capable de céder un H au radical DPPH.



Forme libre

Forme réduite

**Figure 24 : Forme libre et réduite du DPPH**

## ✓ Préparation d'extrait

Pour tous les extraits, on prépare des solutions dans du méthanol absolu. Ces solutions dites solutions mères, subiront ensuite des dilutions pour en avoir différentes concentrations de mg par ml à savoir 1mg/ml et 5mg/ml.

**Tableau 15: présente les déferont concentration et volume de préparations**

Les espèce	Les phases	1mg/ml (µl)	volume méthanol ajouté (µl)	5mg/ml (µl)	volume méthanol ajouté (µl)
<i>Ajuga iva</i>	Ether de pétrole	17,24	982,75	86,20	913,79
	Acétate d'éthyle	11,36	988,63	56,81	943,18
<i>Marrubium vulgare</i>	Ether de pétrole	16,12	983,87	80,64	919,35
	Acétate d'éthyle	17,24	982,75	86,20	913,79

L'activité antiradicalaire de ces extraits est mesurée selon la méthode décrite par *ES-Safi et al, 2007 (86)*.

- ✓ 25µl de l'extrait à tester
- ✓ 2.5ml d'une solution méthanolique de DPPH (0.004%)
- ✓ La densité optique DO est mesurée par le spectrophotomètre SHIMADZU à 517 nm, après 30 minutes d'incubation à une température ambiante et à l'obscurité,

**L'expression des résultats :**

La décroissance de l'absorbance est convertie en pourcentage d'activité Scavenger selon l'équation suivante :

$$\text{Activité Scavenger (\%)} = (A \text{ contrôle} - A \text{ échant} / A \text{ contrôle}) \times 100$$

- **A contrôle** : Absorbance du contrôle
- **A échant** : Absorbance des échantillons testés





**Partie III :**  
**Résultats et Discussion**



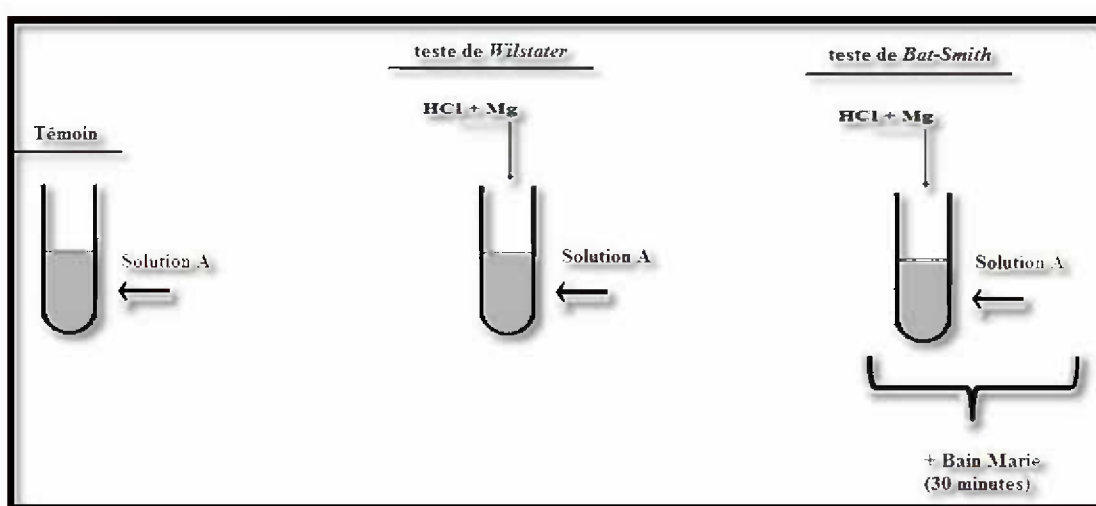
**Chapitre I :**  
**Etude phytochimique**

✦ **Résultats**

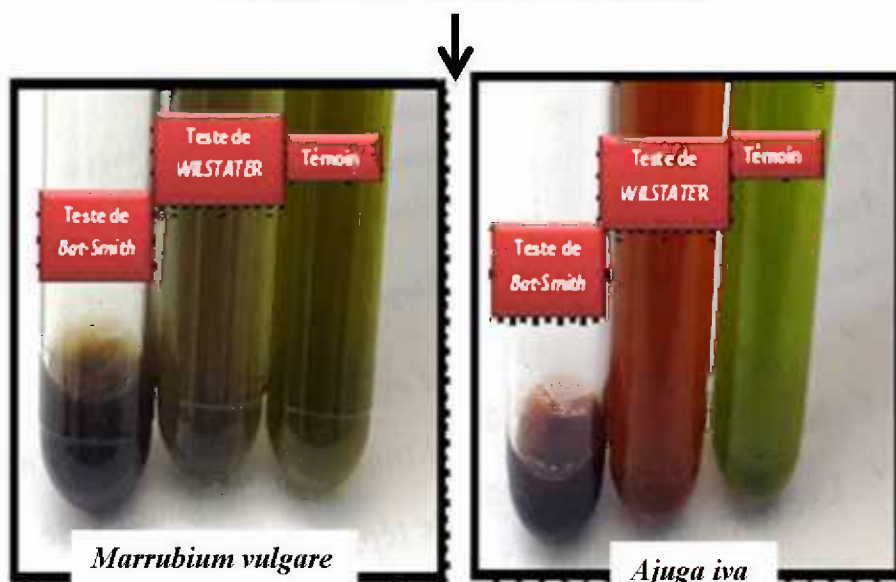
**1. Criblage phytochimique**

Un criblage phytochimique a été effectué pour identifier les constituants chimiques présents dans l'extrait A B C D dont la réalisation est détaillée dans la partie matériels et méthodes. Il s'agit d'une analyse qualitative basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation en présence de réactifs spécifiques pour chaque famille chimique.

**1.1.Criblage des flavonoïdes**



**Schéma 09 : Criblage de flavonoïdes**



**Figure 25: Résultat de criblage de flavonoïdes**

1.2.Criblage des tanins

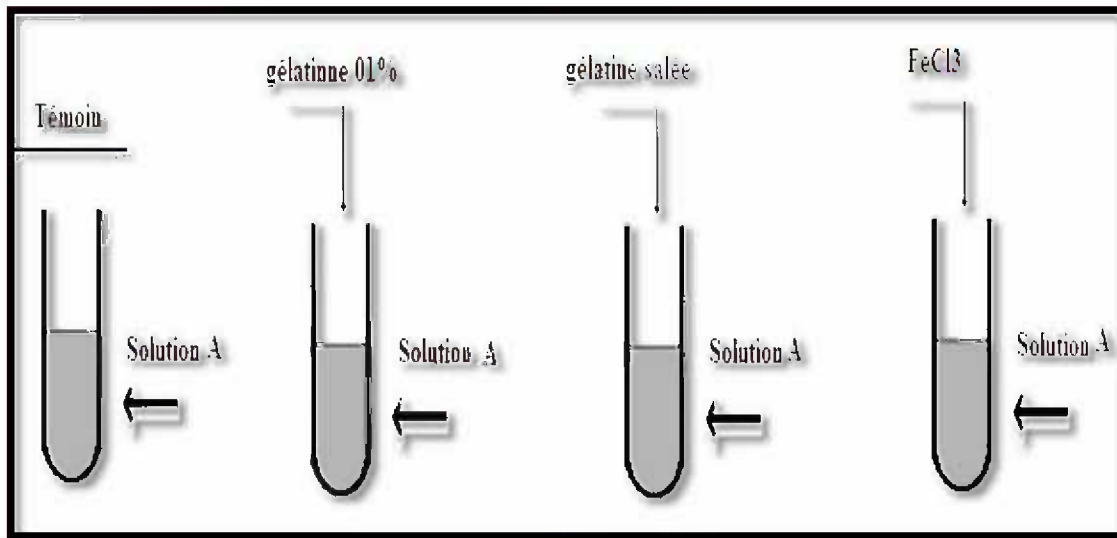


Schéma 10 : Criblage des Tanins

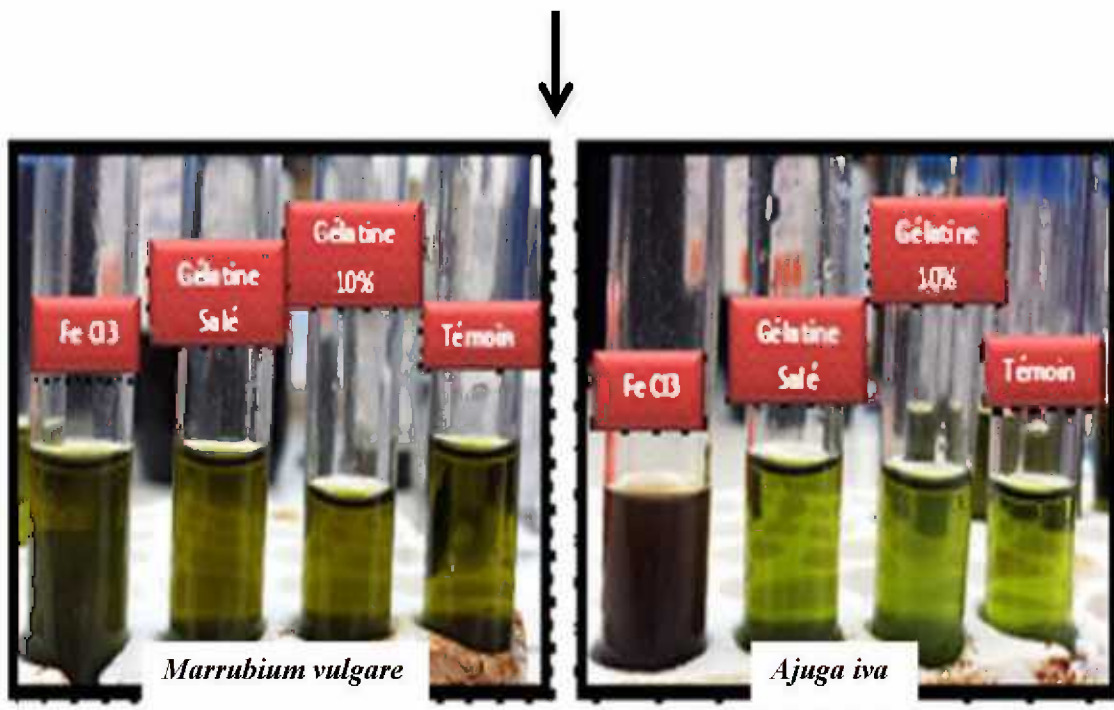


Figure 26 : Résultat de criblage de Tanins

1.3.Criblage des Anthraquinones

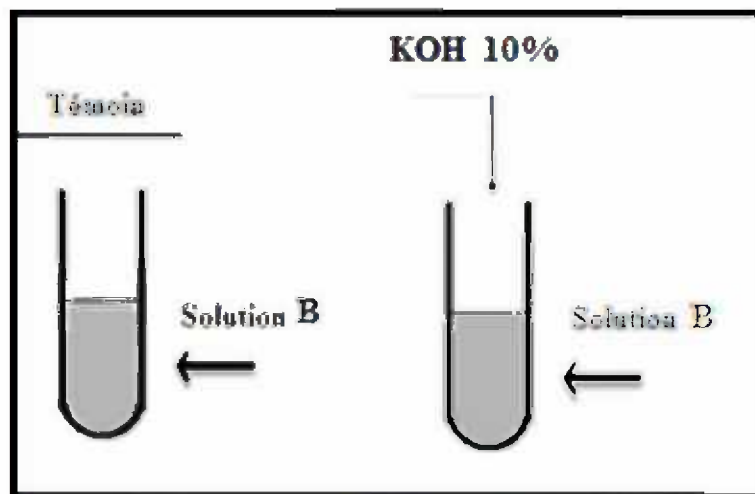


Schéma 11: Criblage des Anthraquinones

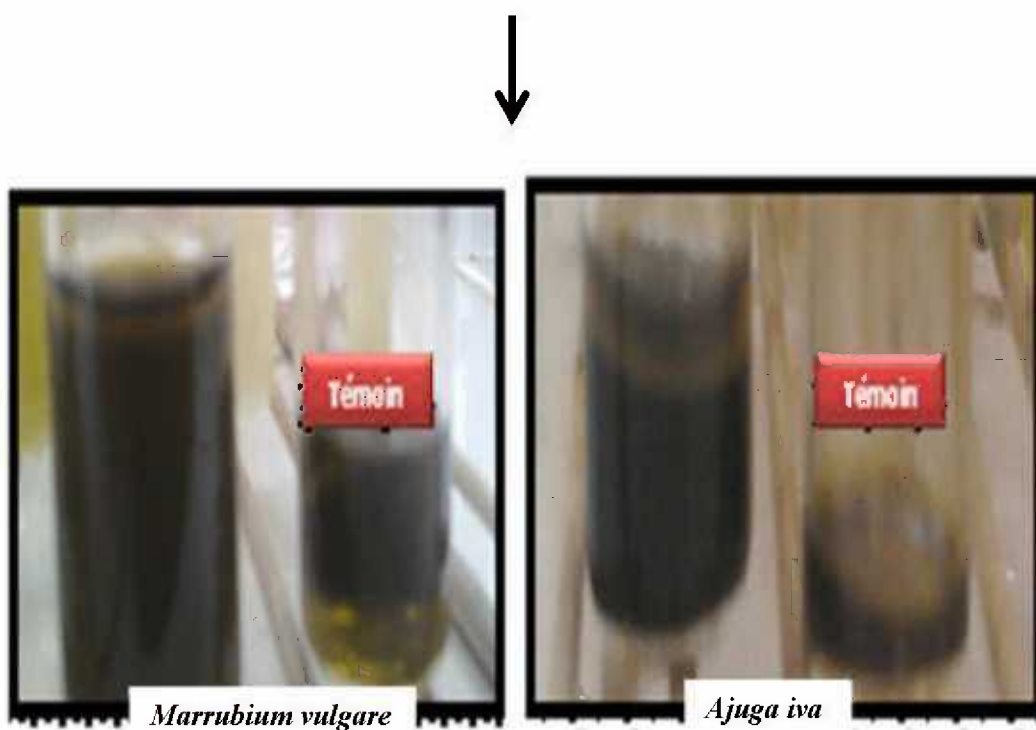


Figure 27 : Résultat de criblage des Anthraquinones

1.4.Criblage des Quinones

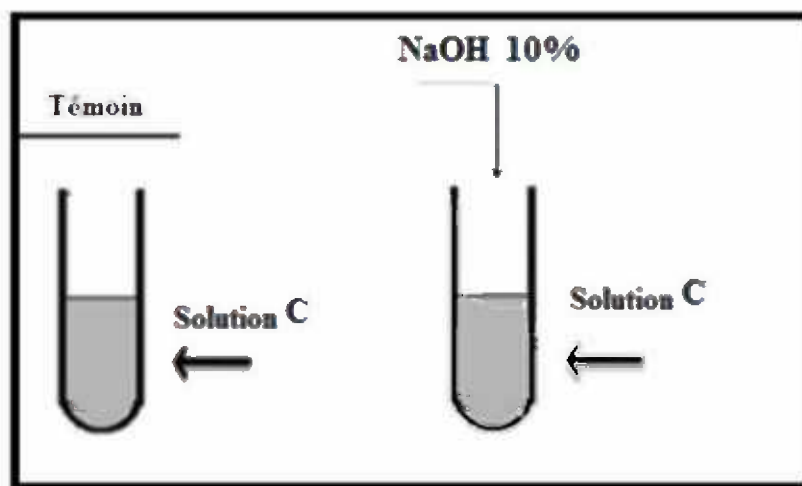


Schéma 12: Criblage des Quinones

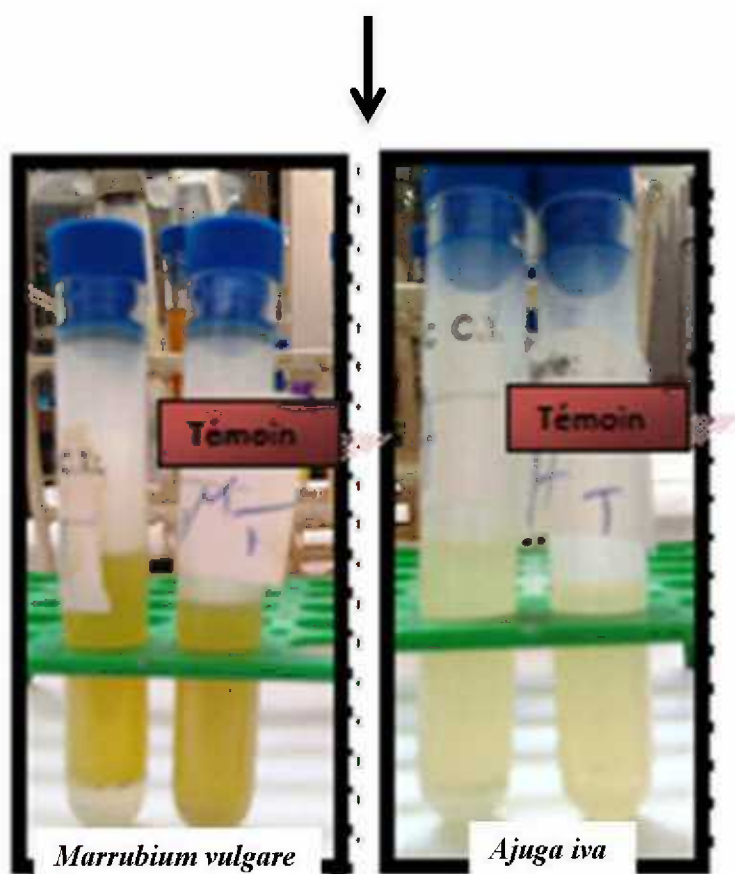


Figure 28: Résultat de criblage de Quinone

1.5.Criblage des Alcaloïdes

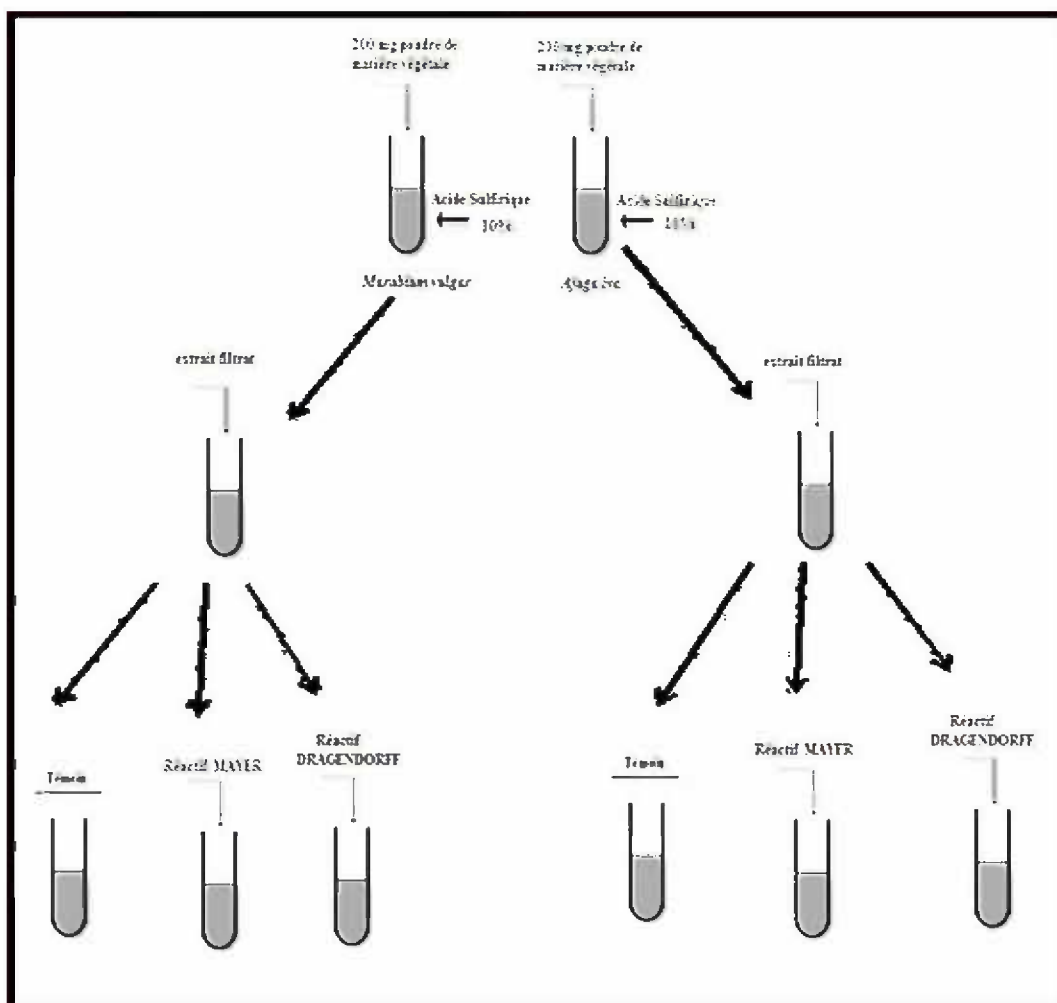


Schéma 13: Criblage desAlcaloïdes

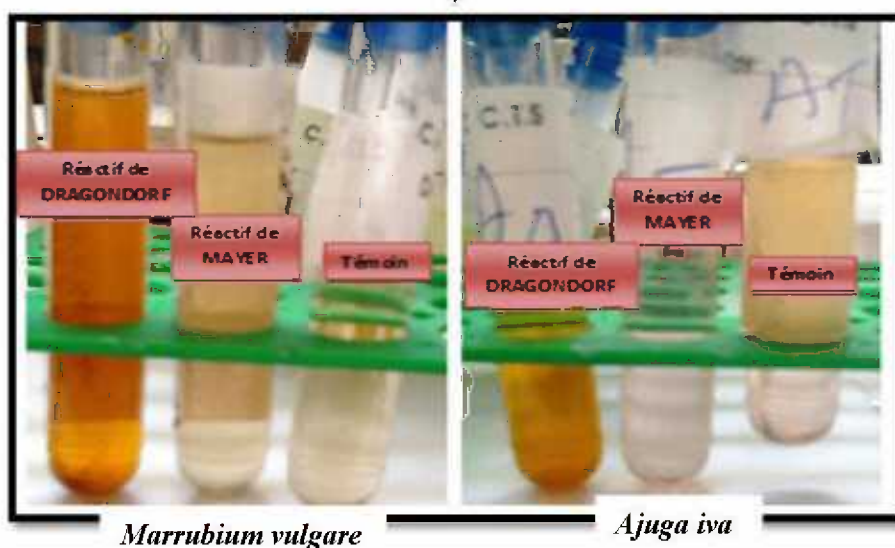


Figure 29 : Résultat de criblage des Alcaloïdes

Les résultats de la composition phytochimique de différents extraits de la plante par screening chimique sont repris dans le tableau 4. De ce tableau, nous remarquons que les extraits sont riches en flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes, et des faibles pour les Anthraquinones et les Quignons sur les 02 espèces étudiées.

Afin de quantifier la proportion relative des différentes familles. Les signes suivants ont été utilisés :

- : absence (de changement de couleur, de précipité) (**test négatif**)
- + : présence en faible concentration (**test faiblement positif**)
- ++ : Présence en moyenne concentration (**test positif**)
- +++ : Présence en forte concentration (**test fortement positif**)

**Tableau 16: Récapitulatif des résultats du screening phytochimique des deux espèces**

Classes recherchées	<i>Marrubium vulgare</i>	<i>Ajuga reptans</i>	Résultats
Flavonoïdes	++	+++	Rouge cerise : flavonols
Tanins	+++	+++	Colorant Bleu noirâtre
Quinones	++	++	Phase aqueuse blanche
Anthraquinones	+	+	Phase aqueuse Verdâtre
Alcaloïdes	+++	+++	Précipitation



**2. Analyses quantitatives des composés phénoliques**

Dans cette partie nous avons dosé le taux de polyphénols et les flavonoïdes de deux espèces *Marrubium vulgare* et *Ajuga iva*

Pour les affrontements des différentes phases obtenues lors de la réalisation de notre expérimentation, nous avons noté une différence des couleurs des phases éther diéthylique et acétate d'éthyle plus la phase éther de pétrole peut être lié aux différentes concentrations des polyphénols et à leurs types inclus dans chaque phase

**Tableau 17: Les phases obtenues des affrontements entre trois solvants successifs (stade Montaison).**

Solvants durée	Espèces	Couleur	Contenu des phases
Ether de Pétrole	<i>Marrubium vulgare</i>	Marron	Graisses et Pigments chlorophylliens et caroténoïdes.
	<i>Ajuga iva</i>	Vert +clair	
Ether di Ethylique	<i>Marrubium vulgare</i>	Jaune	Composés phénoliques simples et Molécules élémentaires de flavonoïdes.
	<i>Ajuga iva</i>	Jaune verdâtre clair	
Acétate d'éthyle	<i>Marrubium vulgare</i>	Jaune claire	Flavonoïdes et Proanthocyanidines dimères et trimères.
	<i>Ajuga iva</i>	Jaune	
Phase aqueuse	<i>Marrubium vulgare</i>	Marron foncé	
	<i>Ajuga iva</i>	Verdâtre foncé	

**2.1. Taux des phénols totaux**

Les polyphénols totaux ont été déterminés par la méthode de Folin-Ciocalteu.. L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 765 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage, ayant l'équation:

$$Y = 10.475x + 0.0365 \quad R^2 = 0,9844$$

La teneur en composés phénoliques obtenus à partir de l'extrait brut méthanolique a été estimée grâce à une courbe d'étalonnage, réalisée avec un extrait de référence, l'acide gallique à différentes concentrations. (Voir l'annexe)

Les résultats sont exprimés en mg équivalent en acide gallique par ml d'extrait (mg EAG/ml d'extrait).

**Tableau 18 : les résultats des dosages des phénols**

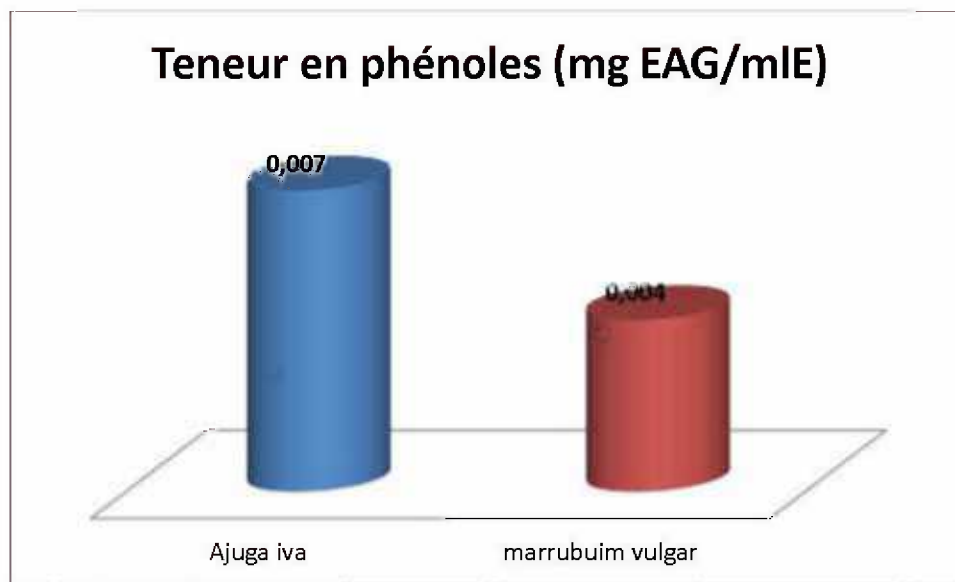
Extraits	Teneur en phénols (mg EAG/mlE)	Facteur de dilution
<i>Marrubium vulgare</i>	0.004 ± 0.001	1/100
<i>Ajuga iva</i>	0.007 ± 0.001	1/100

Les deux espèces *Marrubium vulgare* et *Ajuga iva* ont des teneurs en phénols totaux de *Ajuga iva* plus riche de teneur en *Marrubium vulgare* dans les extraits aqueux,

(95) des études ont montré que la teneur phénolique de l'extrait méthanolique de quelques plantes appartenant à différentes familles *Punica granatum*, *Rétama raetam*, *Thymus capitatus*, *Rosmarinus officinalis*, *Rutachale pensis*, *Ajuga iva*, *Lawsoniainermis* et *Agave americana* varie entre 1,68 à 11,07 mg/g de matière sèche exprimée en équivalent d'acide gallique.

L'extrait méthanolique du *Marrubium vulgare* contient une teneur en polyphénols plus faible comparé aux résultats obtenus par d'autres études, ceci est peut être lié au climat de la région ou à la méthode utilisée qui ne donne pas une composition quantitative complète des extraits (87).

La teneur en polyphénols totaux de l'extrait de *Ajuga iva* obtenue lors de cette étude est différente par rapport à celle obtenue par d'autres études(88).



**Figure 30: Teneur en phénols de *Marrubium vulgare* et de *Ajuga iva***

## **2.2. Taux des Flavonoïdes totaux**

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>). L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 420 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage, ayant l'équation:

$$Y = 4.7382 x + 0,021 \quad R^2 = 0,9824$$

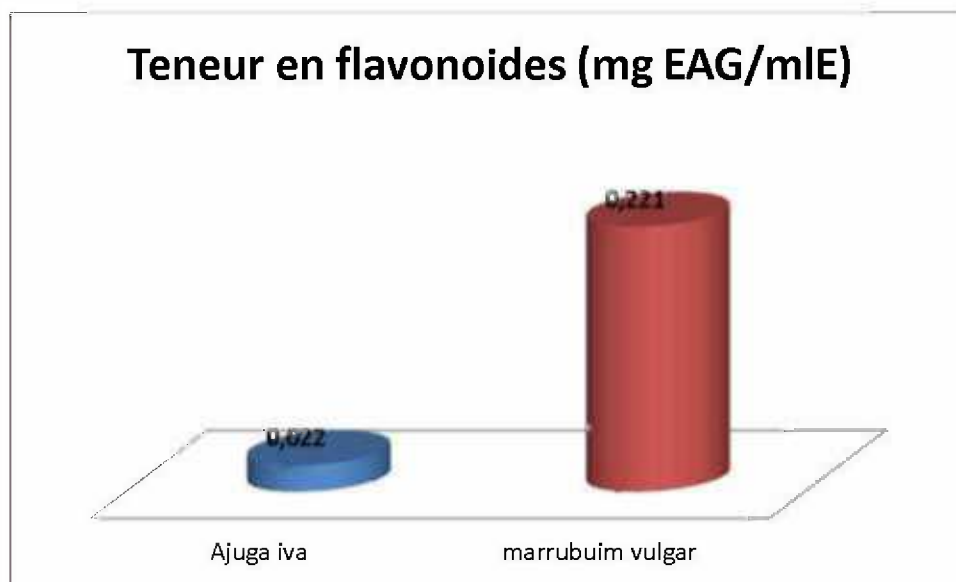
La teneur en composés phénoliques obtenus à partir de l'extrait brut méthanolique a été estimée grâce à une courbe d'étalonnage, réalisée avec un extrait de référence, l'acide quercitrine à différentes concentrations.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent en acide quercitrine par ml d'extrait (mg EAG/ml d'extrait).

**Tableau 16 : les résultats des dosages des Flavonoïdes**

Extraits	Teneur en Flavonoïdes (mg EAG/ml E)	Facteur de dilution
<i>Marrubium vulgare</i>	0.221 ± 0.006	1/10
<i>Ajuga iva</i>	0.022 ± 0.003	1/100

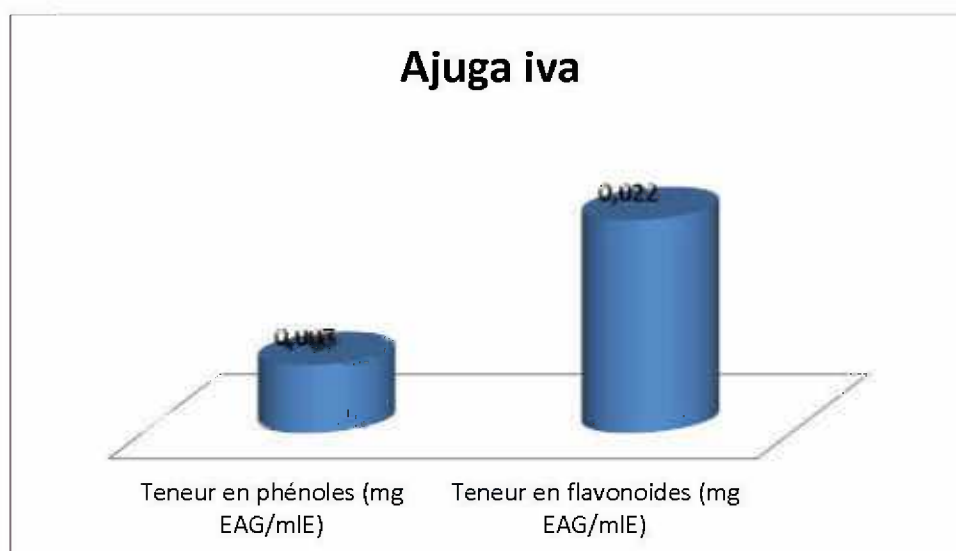
D'après ces résultats l'extrait de *Marrubium vulgare* est le plus riche en flavonoïdes ( $0.221 \pm 0.006$  mg EAG / ml E) par rapport à l'extrait du *Ajuga iva* ( $0.022 \pm 0.003$  mg EAG/ml E)



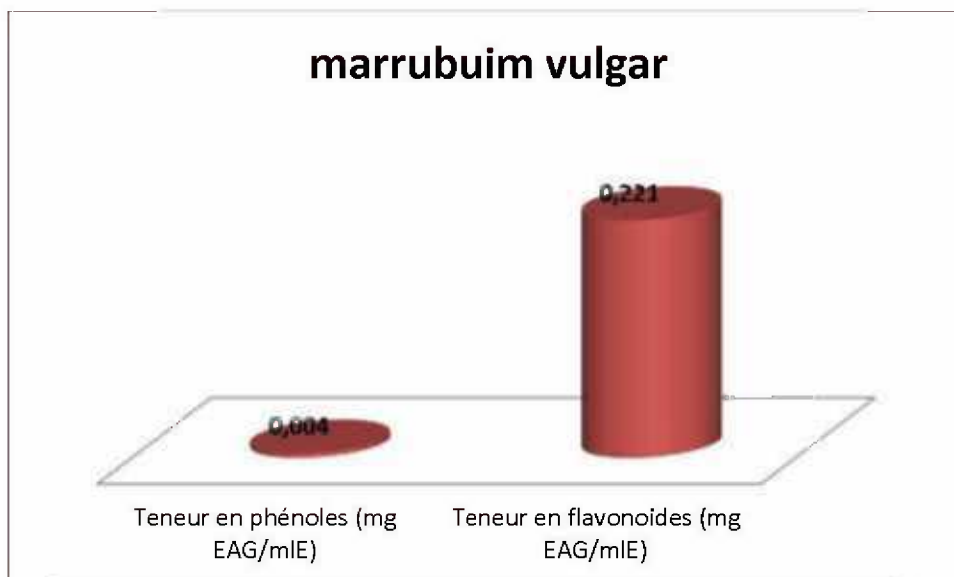
**Figure 31: Teneur en Flavonoïdes de *Marrubium vulgare* et de *Ajuga iva***

➤ **Comparaison des teneurs des phénols et des flavonoïdes**

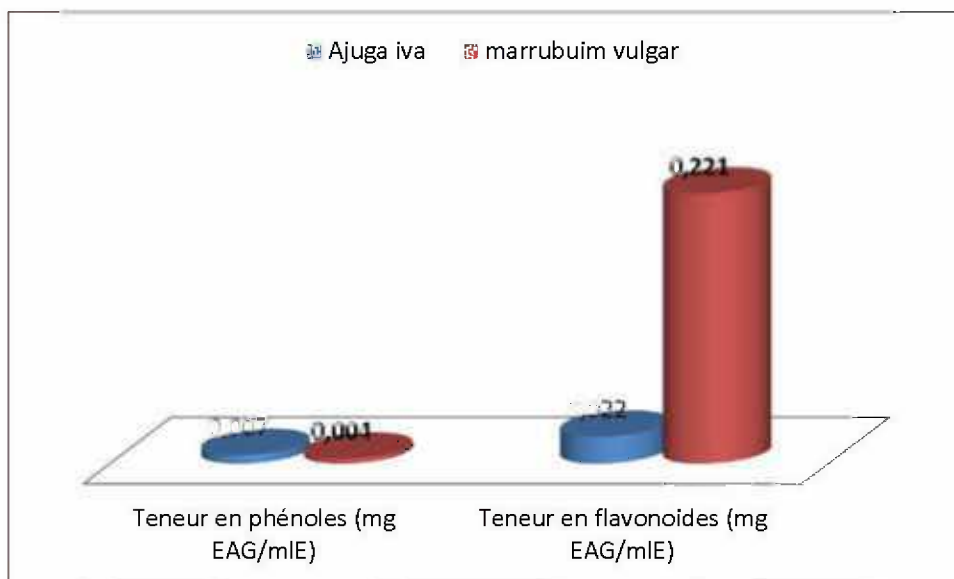
D'après les résultats précédents, on constate que dans l'extrait méthanoliques, la teneur en polyphénols est inférieure que celle des flavonoïdes.



**Figure 32 : Teneur en phénols et en Flavonoïdes de *Ajuga iva***



**Figure33 : Teneur en phénols et en Flavonoïdes de *Marrubium vulgare***



**Figure 34 : Teneur en phénols et en Flavonoïdes de *Ajuga iva* et *Marrubium vulgare***

## ✚ Discussion

### 1. Screening phytochimique

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de quelques métabolites secondaire (Tanins, flavonoïdes, alcaloïdes, les Quinones et les Anthraquinones libres) au niveau des tissus végétaux des deux espèces étudiées.

La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilité des constituants, des réactions de précipitation, un changement de couleur.

Les résultats obtenus des tests phytochimiques, des différents extraits de la partie aérienne du *Marrubium vulgare*, et *Ajuga iva* ont révélé une richesse d'*Ajuga iva* en tanins galliques et Catéchiques et des flavonoïdes par rapport à *Marrubium vulgare*.

La présence des alcaloïdes, par contre, les tests des anthraquinones libres et les Quinones se trouvent en faible concentrations dans les deux espèces.

### 2. Analyses quantitatives des composés phénoliques

L'étude quantitative des extraits bruts de *Marrubium vulgare* et de *Ajuga iva*, au moyen des dosages spectrophotométriques, avait pour objectif la détermination de la teneur des polyphénols totaux, des flavonoïdes.

Les polyphénols sont estimés par plusieurs méthodes, comme la méthode de bleu de Prusse (123), mais la plus utilisée est celle de Folin-Ciocalteu. Ce réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) et d'acide phosphomolybdique (H<sub>3</sub>PMO<sub>12</sub>O<sub>40</sub>). Il est réduit par les phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (122).

En présence des polyphénols, le complexe Folin-Ciocalteu change sa couleur du jaune au bleue, ce qui permet de mesurer l'intensité de la couleur à longueur d'onde de 765 nm (124).

Les résultats du dosage des polyphénols totaux montrent que l'extrait de *Ajuga iva* représente l'extrait le plus riche avec: 0.007 mg EAG/ml E d'extrait, suivi de l'extrait de *Marrubium vulgare* 0.004 mg EAG/ml E qui représente la fraction qui contient la plus faible teneur en polyphénols.

Cette différence dans les teneurs peut être expliquée par :

La faible spécificité du réactif de Folin-Ciocalteu est l'inconvénient principal du dosage colorimétrique. Le réactif est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement celles des composés phénoliques, mais également de certains sucres et de protéines etc. (93)( 90).

Le solvant d'extraction emporte des substances non phénoliques comme les sucres, les protéines et les colorants qui peuvent interférer pendant toute évaluation phénolique(89).

Le dosage par ce réactif donne donc une évaluation brute de tous les composés phénoliques d'un extrait. Il n'est pas spécifique aux polyphénols, mais beaucoup de composés peuvent réagir avec le réactif, donnant un taux phénolique apparent élevé (92).

La distribution des métabolites secondaires peut changer pendant le développement de la plante. Ceci peut être lié aux conditions climatiques dures (la température élevée exposition solaire, sécheresse, salinité), qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols (91).

En effet, la teneur phénolique d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (conditions climatiques, les pratiques culturelles, la maturité à la récolte et les conditions de stockage) (91 ; 94).

La détermination quantitative des flavonoïdes s'effectue par la méthode de trichlorure d'aluminium, celle-ci est la plus employée, elle se base sur la formation d'un complexe flavonoïde-ion d'aluminium ayant une absorbance maximale à 420 nm. La quercétine est utilisée comme standard, les résultats du dosage des flavonoïdes sur l'extrait de *Marrubium vulgare* plus riche avec 0.221 mg EAG/ml E extrait du suivi extrait du *Ajuga iva* 0.022mg EAG/ml E d'extrait dans les extraits respectivement.



**Chapitre II :**  
**Etude Biologique**



**✚ Résultats**

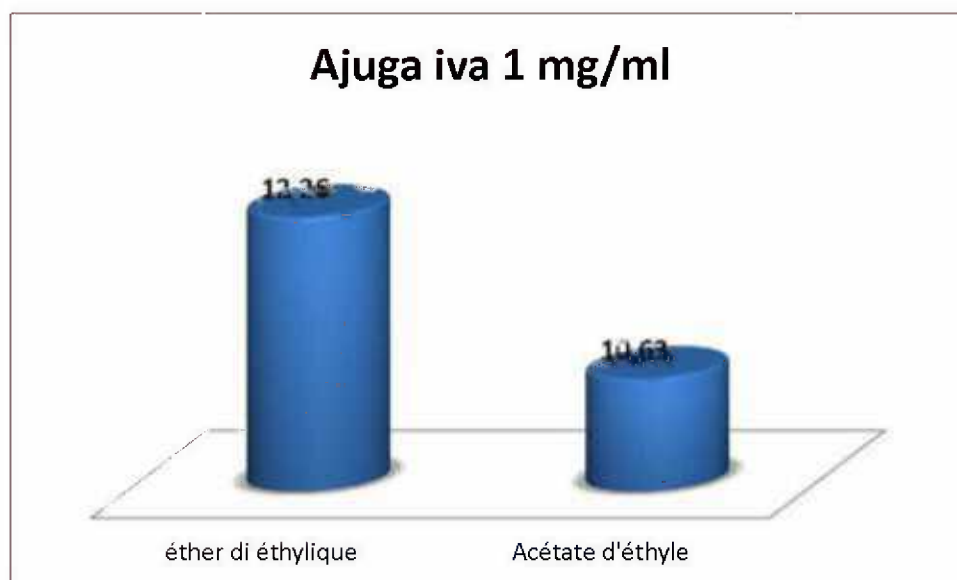
C'est la capacité de capter ou de piéger les radicaux libres produits spontanément et d'une façon continue dans l'organisme vivant.

Le radical DPPH est un radical libre organique stable, avec une bande maximum d'absorption entre 517 nm.

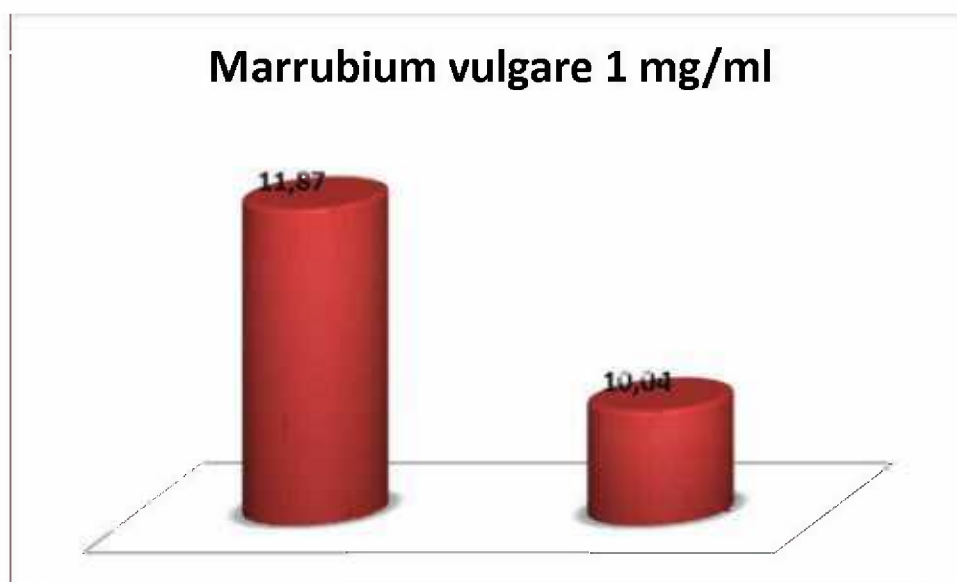
Dans cet essai les antioxydants réduit et décolore le radical DPPH, à un composé jaune le diphenylpicryl hydrazine, l'ampleur de la réaction dépendra de la capacité des antioxydants de donner l'hydrogènes (104).

**Tableau 20 : Résultat des activité antioxydant méthodes de DPPH**

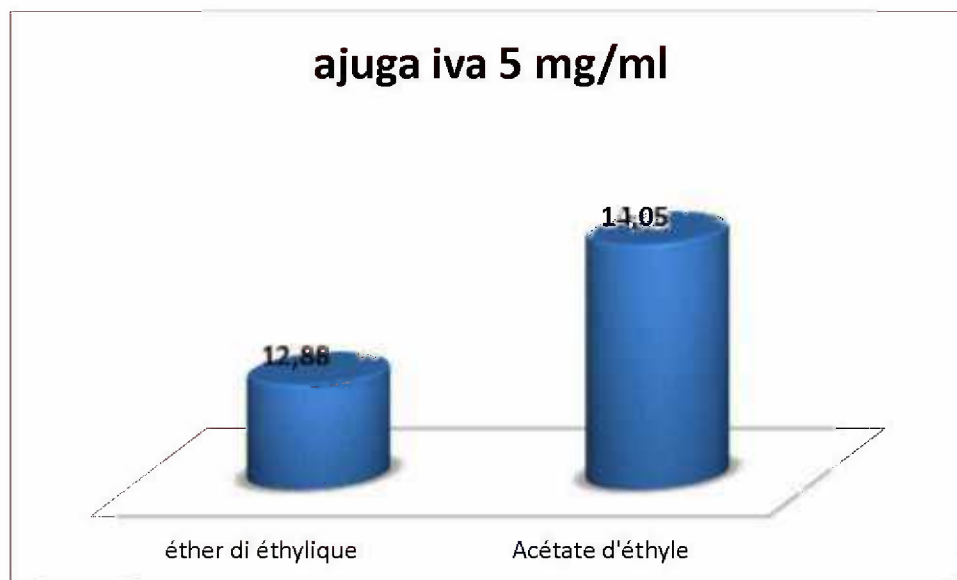
<u>Les espèces</u>	<u>Les phases</u>	<u>Concentration</u>	<u>Absorbance des échantillons</u>	<u>Activité Scavenger (%)</u>
<i>Ajuga iva</i>	Ether diéthylique	1 mg/ml (µl) C1	0.751	12.26
		5 mg/ml (µl) C2	0.745	12.88
	Acétate d'éthyle	1 mg/ml (µl) C1	0.765	10.63
		5 mg/ml (µl) C2	0.735	14.05
<i>Marrubium vulgare</i>	Ether diéthylique	1 mg/ml (µl) C1	0.751	11.87
		5 mg/ml (µl) C2	0.745	17.40
	Acétate d'éthyle	1 mg/ml (µl) C1	0.765	10.04
		5 mg/ml (µl) C2	0.735	17.64



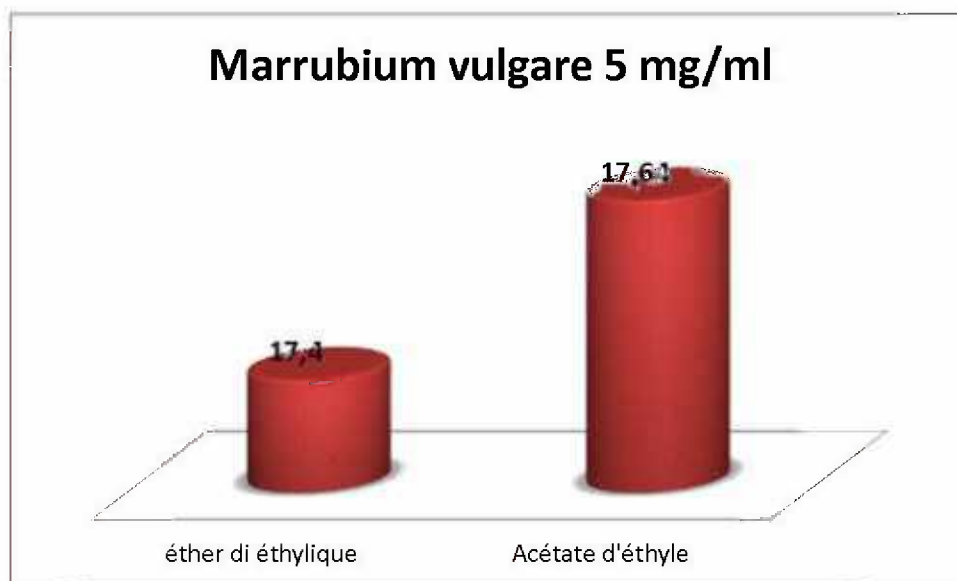
**Figure 35 : l'activité antioxydante de l'espèce *Ajuga iva* à 1 mg/ml**



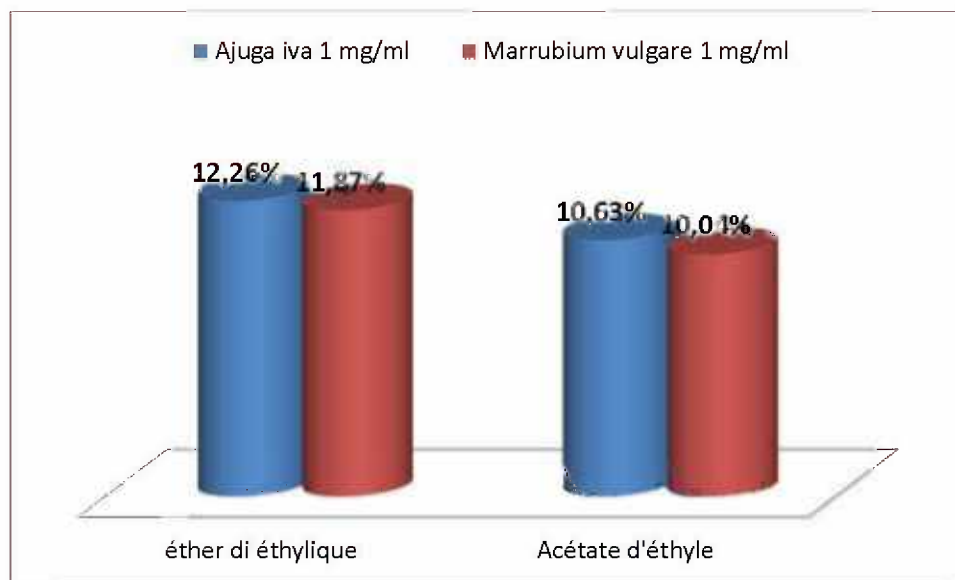
**Figure 36 : l'activité antioxydante de l'espèce *Marrubium vulgare* à 1 mg/ml**



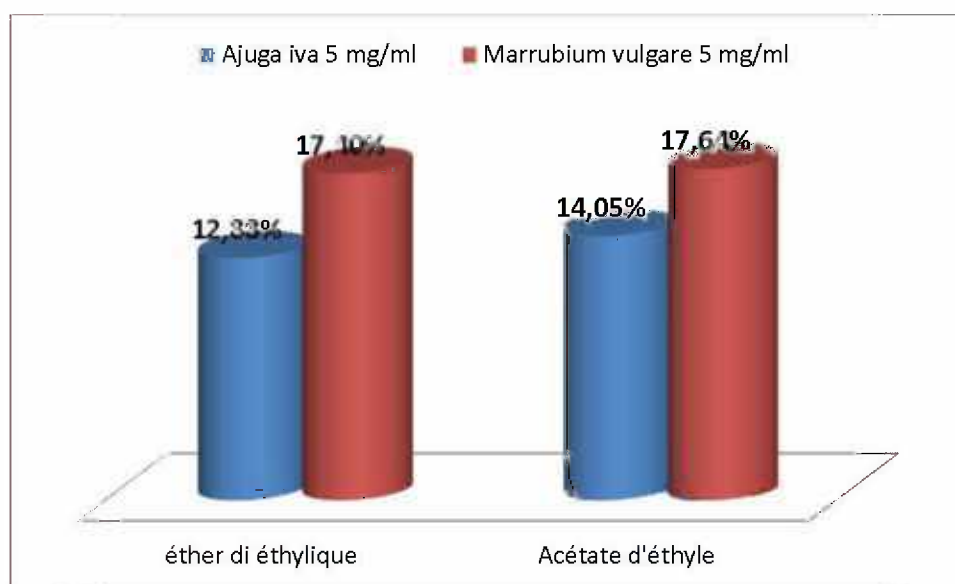
**Figure 37 : l'activité antioxydante de l'espèce *Ajuga iva* à 5 mg/ml**



**Figure 38 : l'activité antioxydante de l'espèce *Marrubium vulgare* à 5 mg/ml**



**Figure 39 : l'activité antioxydante de l'espèce *Ajuga iva* et *Marrubium vulgare* à 1 mg/ml**



**Figure 40 : l'activité antioxydante de l'espèce *Ajuga iva* et *Marrubium vulgare* à 5 mg/ml**

Les résultats du test antioxydant ont montré que les phases d'éther diéthylique montraient une activité importante par rapport à la phase acétate d'éthyle pour la concentration 1 mg/ml chez les deux espèces, par contre pour la concentration 5 mg/ml le même test montrait une activité plus importante dans la phase acétate d'éthyle.

L'espèce *Ajuga iva* présente une activité antioxydante plus importante dans les deux phases à une concentration de 1 mg/ml par rapport à l'espèce *Marrubium vulgare*, et on remarque tout à fait le contraire quand il s'agit de la concentration 5 mg/ml

On peut noter que l'activité antioxydante chez les deux espèces augmente avec la concentration de l'extrait (fig.41)

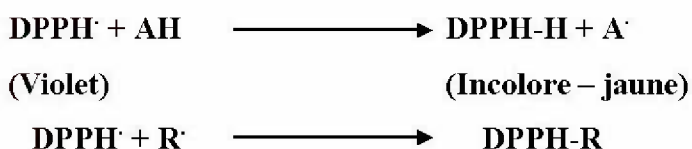
### Discussion

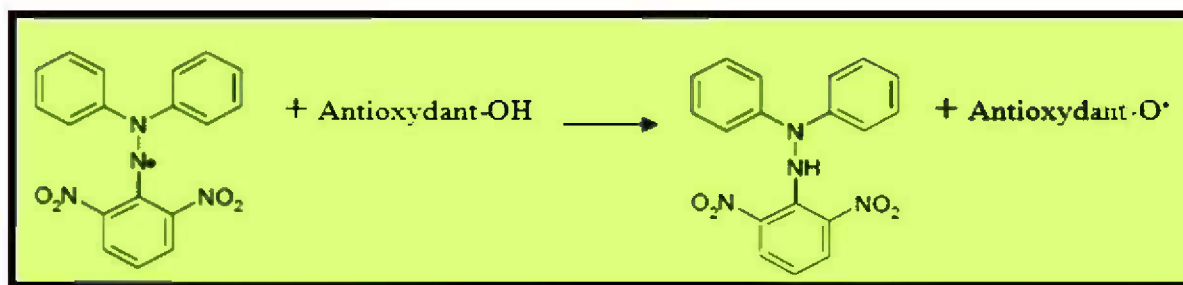
La méthode du DPPH est indépendante de la polarité de substrat. Cette méthode est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de DPPH en présence d'un antioxydant qui donne un hydrogène ou un électron. La forme non radicalaire DPPH-H est formée. Les graphes ci-dessous représentent la variation du pourcentage du pouvoir inhibiteur en fonction de la concentration de chaque fraction méthanolique.

L'activité antioxydante des différents extraits de la plante vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée par spectrophotométrie en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune, mesurable à 517nm .Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti radicalaires (126).

Le potentiel antiradicalaire d'une substance peut être évalué à l'aide d'une colorimétrie en utilisant des radicaux de substitution tels que le radical DPPH.

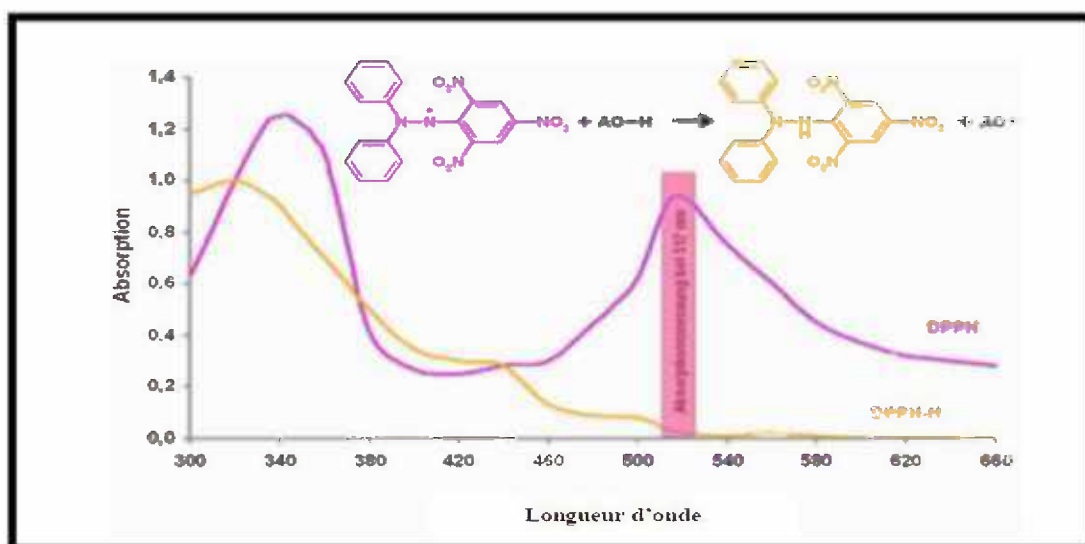
En effet, à température ambiante et en solution, le radical DPPH présente une coloration violette intense, son passage à la forme non radicalaire, après saturation de ses couches électroniques s'accompagne d'une disparition de la coloration violette





DPPH (violet)

DPPH-H (jaune)

**Figure 41: Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH****Figure 42: Schéma de transformation du DPPH de sa forme active à celle inactive (136)**

Le pouvoir réducteur des deux extraits est probablement dû à la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneurs d'électrons. Par conséquent, les antioxydants peuvent être considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants(127). Quelques études antérieures ont également montré que le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle (128).

D'autres études signalent que la plupart des espèces de la famille de Labiacée possèdent une activité antioxydant en raison de la présence de polyphénols.

La fraction phénolique n'incorpore pas tous les antioxydants et les interactions synergiques entre les antioxydants dans un mélange fait que l'activité antioxydant dépend non seulement de la concentration, mais également de la structure et la nature des antioxydants (91).



# Conclusion

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.

A l'heure actuelle, l'Algérie est un pays riche en termes de biodiversité, et l'usage des pharmacopées traditionnelles est encore une pratique bien vivante. Ces pharmacopées traditionnelles comportent des traitements pour soigner plusieurs pathologies et il est donc toujours d'actualité de penser que de nouvelles molécules puissent continuer à être isolées des plantes locales spontanées.

La présente étude a porté sur les espèces *Marrubium vulgare* (le marrube) et *Ajuga iva* (l'ivette) qui appartiennent à la famille des Labiées, une des familles les plus importantes dans la flore algérienne et les plus utilisées par les thérapeutes traditionnels.

Deux aspects principaux sont visés dans ce travail, le premier est d'évaluer les teneurs par spectrophotométrie de certaines molécules bioactives à savoir les phénols totaux et les flavonoïdes.

Le second est de nature biologique qui a été mis en évidence par un test biologique; un test antioxydant.

Le criblage phytochimique de la partie aérienne des deux espèces montre la présence des tanins, des flavonoïdes, alcaloïdes, et la faible teneur en anthraquinones et quinones.

D'un point de vue quantitatif, les extraits aqueux de l'ivette et du marrube sont caractérisés par une richesse en phénols et en flavonoïdes.

Le dosage des phénols totaux chez les deux espèces a révélé des teneurs considérables dans *Marrubium vulgare* (0.004mg/g) et *Ajuga iva* (0.007mg/g).

D'autre part, le dosage des flavonoïdes a montré que l'espèce *Marrubium vulgare* possède la concentration la plus élevée (0.221 mg/g) par rapport à l'espèce *Ajuga iva* (0.022 mg/g).



L'étude du pouvoir antioxydant de nos extraits par la méthode de réduction de radical libre DPPH a révélé que malgré la richesse de l'espèce *Ajuga iva* en phénols c'est l'espèce *Marrubium vulgare* qui a donné le meilleur pouvoir antioxydant pour la concentration 5mg/ml

Ce travail constitue une contribution importante dans la connaissance des métabolites secondaires de la famille des Labiées, en guise de perspectives, cette étude pourrait être complétée par des analyses plus approfondies des composés polyphénolique est des flavonoïdes, une exploitation de leur propriété antioxydantes implique une recherche plus poussée de ses principes actifs, ainsi que tester d'autres activités biologiques.



**Annexe**

**Annexe 1 : Les différent matériels utilisés**



**Moulin électrique de broyage**



**Figure : spectrophotomètres UV**



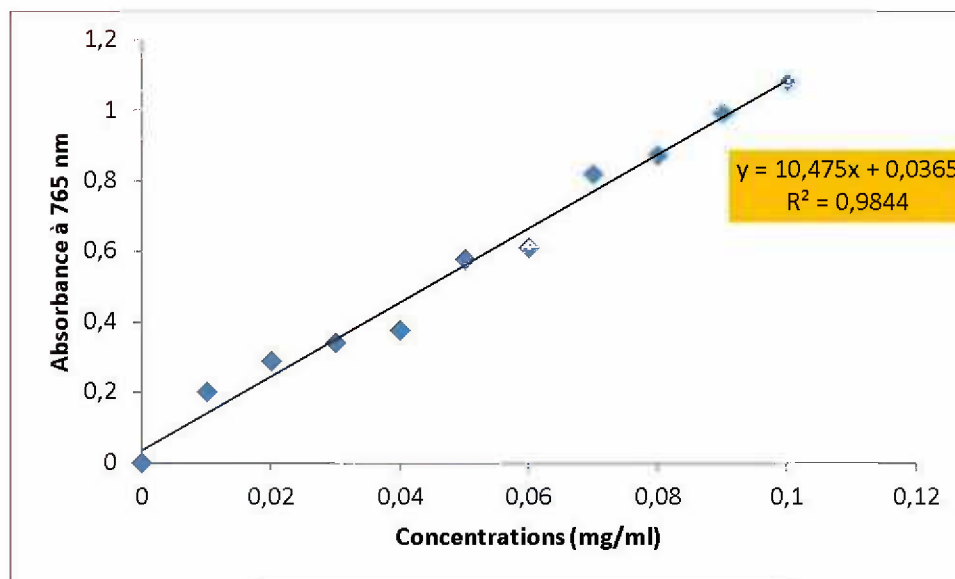
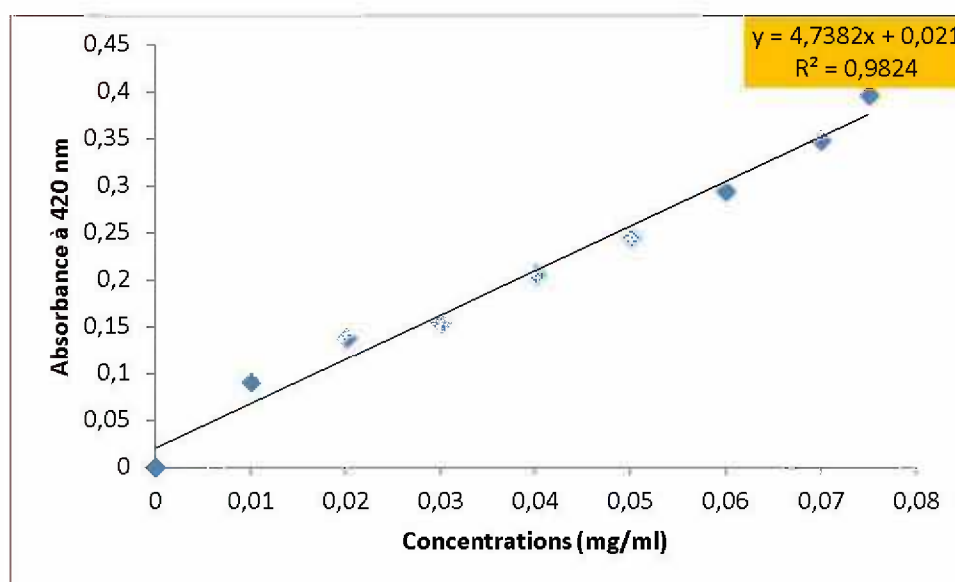
**Evaporateur rotatif**



**Ampoule à décanter**



**Agitateur**

**Annexe 2 : Les courbes d'étalonnages phénoliques :****Courbe d'acide gallique****1. les courbes d'étalonnages des Flavonoïdes****Courbe d'acide Quercétine**

**Annexe 3 : Les tableaux de calcul le dosage****Tableau : la lecture spectrophotomètre sur le dosage des phénols**

<b>Dosage des phénols</b>		
<b>Coefficient de dilution</b>	<i>Marrubium vulgare</i>	<i>Ajuga iva</i>
<b>1/10</b>	/	/
	/	/
	/	/
<b>1/100</b>	<b>0,324</b>	<b>0,55</b>
	<b>0,322</b>	<b>0,553</b>
	<b>0,321</b>	<b>0,55</b>

**Tableau : la lecture spectrophotomètre sur le dosage des phénols**

<b>Dosage des flavonoïdes</b>		
<b>Coefficient de dilution</b>	<i>Marrubium vulgare</i>	<i>Ajuga iv a</i>
<b>1/10</b>	<b>0,718</b>	/
	<b>0,727</b>	/
	<b>0,721</b>	/
<b>1/100</b>	<b>0,142</b>	<b>0,733</b>
	<b>0,137</b>	<b>0,73</b>
	<b>0,138</b>	<b>0,736</b>



# Référence bibliographique

1. **Sabin mohamed, boudalimohamed (2012)** : la phytothérapie entre la confiance et mefiance, these doctorat, université bajimoukhtare ,annaba
2. **Dr Mme Claudie Bourry (2013)**, prise en charge des douleure articulaire par aromathérapie et phytothérapie, these de doctorat, université toulouse III poul Sabatier, France
3. **Ribéreau-Gayon P. (1968)**. Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Dunod, Paris. p254.
4. **Moatti r., fauron r. Et donadieu y. (1983)** : La phytothérapie .thérapeutiquedifférente. Edition de LIBRAIRIE MALOINE S.A, Paris, 243p.
5. **Valnet j., duraffourd c., lapraz j.ci. (1979)** : Une nouvelle phytothérapie etaromatique, Edition Presses Renaissance, Paris, 411p.
6. **Strang, (2006)** : Larousse medical. Ed Larousse.
7. **Iserin P., Masson M., Restellini J. P., Ybert E., De Laage de Meux A., Moulard F.,Zha E., De la Roque R., De la Roque O., Vican P., Deelesalle –Féat T., Biaujeaud M.,Ringuet J., Bloth J. et Botrel A. 2001**. Larousse des plantes medicinales : identification,préparation, soins. Ed Larousse. p10-12.
8. **Larousse Encyclopédie des Plantes Medicinales**
9. **Naghibi F., Mosaddegh M., Motamed S-M, Ghorbani A. (2005)**.Labiatae Family in folk Medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, **2**, 63-79.
10. **Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A., Stevens P.F. (2002)**.Botanique systématique. Une perspective phylogénétique. 1ére Edition De BoeUniversité.Paris, 383.
11. **Heywood V. H., Brumitt R. k., Culham A., Seberg O.(2007)**. Flowering plant families of the world. Royal botanicGardens,Kew.
12. **Grayer R. J., Eckert M. R., Veitch N. C., Kite G. C. (2003)**. The chemotaxonomic significance of two bioactive caffeic acid esters, Nepetoidins A and B, in the *Lamiaceae*. *Phytochemistry*, **64**, 519-528.
13. **Guignard J. L., Pelt J. M.(2001)**. Botanique Systematique moleculaire.12e edition. Masson, Paris
14. **Guignard J. L., Dupont F.(2004)**.Botanique Systematiquemoleculaire. 13e edition. Masson, Paris
15. **Crété P.(1965)**. Précis de Botanique : Systématique des Angiospermes. Tome II. 2e Ed:Masson, Paris. pp. 368-371.
16. **Bruneton J. (2001)**. Plantes toxiques : végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. 2émeEd : TEC & DOC. Paris. 337 p.



17. **Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A., Steven P. (2002).** Botanique systématique: Une perspective phylogénétique. 1ère Ed : Paris et Bruxelles. pp. 369-384.
18. **Skafia-Crete.com**, site internet <http://www.sfakia-crete.com/sfakia-crete/herbs-plants-flora-crete.html>, consulté le **1 mars 2010**.
19. **Menezes F. S., Kaplan M. A. C. (1993).** Ocorrencias de diterpenoides na familia *Lamiaceae*. *Revista Brasileira de Ciencias Farmaceuticas*, 74 (2), 45-46.
20. **Jiménez C., Riguera R. (1994).** Phenylpropanoid glycosides in Plants: Structure and biological activity. *Natural Product Reports*, 11, 591-606.
21. **Tomas-Barberan F., Gil Munoz M. I. (1990).** *Labiatae* flavonoids: chemical, chemotaxonomical, economic and ecological aspects. *Revista Latinoamericana Química*, 21(3-4), 134–139.
22. **Bonnier G., de Layens G. (1909)**, Flore complete, la vegetation de la France, Suisse et Belgique.
23. **Rigano D., Apostolides A. N., Bruno M., Formisano C., Grassia A., Piacente S., Piozzi F., Senatore F. (2006).** Phenolic compounds of *Marrubium globosum* ssp. *libanoticum* from Lebanon. *Biochemical Systematics and Ecology*. 34: 256-260.
24. **Meyre S.C., Yunes R.A., Schlemper V., Campos-Buzzi F., Cechinel-Filho V. (2005).** Analgesic potential of marrubiin derivatives, a bioactive diterpenepresentin *Marrubium vulgare* (Lamiaceae). *II Farmaco*. 60: 321–326.
25. **Quezel P., Santa, S., 1963.** La nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II, Ed : CNRS. Paris. 360-361 p.
26. **Ashkenazy D., Friedman J., Kashman Y. (1983).** The furocoumarin composition of *Pituranthostriradiatus*. *Journal of Medicinal Plant Research*, 47: 218-220.
27. **Greuter W., Burdet H.M., Long G., Eds. Med-Checklist;** Conservatoire et Jardins Botaniques: Geneve ,(1986), 3, 292-295.
28. **Bellakhdar J. (1997).** Médecine Arabe Ancienne et Savoirs Populaires La pharmacopée marocaine traditionnelle. IBS Press. pp. 340-341.
29. **Boukef M.K. (1986).** Médecine Traditionnelle et Pharmacopée, Les plantes de la médecine traditionnelle tunisienne, Agence de Coopération Culturelle et Technique. Paris. France. pp.163-164.

- 30. Bonnier G. (1909)**, La Végétation de la France, Flore Complète. Tome 09. Ed : Suisse et Belgique. Paris. pp. 25-26.
- 31. Quezel P., Santa, S. (1963)**. La nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II, Ed : CNRS. Paris. 360-361 p.
- 32. Akroum S., 2011**. Etude analytique et biologique des flavonoïdes naturels. Thèse de doctorat. Univ. Mentouri Constantine. Faculté des sciences de la nature et de la vie. Dept. De Biologie animale, P: 20-95.
- 33. Bonnier G. (1909)**, La Végétation de la France, Flore Complète. Tome 09. Ed : Suisse et Belgique. Paris. pp. 25-26.
- 34. Quezel P. and Santa S. (1962)**. Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales. Editions du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, Tome I. 565 p.
- 35. G. Bonnier**. Flore Complète. Tome :09. **25-26**. La Végétation de la France, Suisse et Belgique.
- 36. M-K. Boukef**. Médecine Traditionnelle et Pharmacopée .Les plantes de la médecine traditionnelle tunisienne, Agence de Coopération Culturelle et Technique, **163-164**, Paris, France.
- 37. Wichtl M., Anton R. (2003)**. Plantes thérapeutiques : Traditions, Pratique officinale, Sciences et Thérapeutique. 2e Ed : TEC & DOC. Paris. pp. 1-364.
- 38. Çitoğlu G.S. and Aksit F (2002)**. Occurrence of marrubiin and ladanein in *Marrubium trachyticum* Boiss. from Turkey. *BiochemSystEcol*, **30**:885–886.
- 39. Nawwar M.A.M., El-Mousallamy A.M.D., Barakat H.H., Buddrus J. and Linscheid M (1989)**. Flavonoid lactates from leaves of *Marrubium vulgare*. *Phytochemistry*, **28**: 3201–3206.
- 40. Papoutis Z., Kassi E., Mitakou S., Aligiannis N., Tsiapara A. and Chrousos G.P. (2006)**. Acteoside and martynoside exhibit estrogenic/antiestrogenic properties. *J. SteroidBiochemMolBiol*, **98**: 63–71.
- 41. Boudjelal A., Henchiri C., Siracusa L., Sari M. and Ruberto G (2012)**. Compositional analysis and in vivo antidiabetic Activity of Wild Algerian *Marrubium vulgare* L. infusion. *Fitoterapia* **83**: 286–292.

- 42. Dellile L. (2007).** Les plantes médicinales d'Algérie.
- 43. Masoodi M. H., Ahmed B., Zargar I. M., Khan S. A., Khan S. and Singh P (2008).** Antibacterial activity of whole plant extract of *Marrubium vulgare*. *African J Biotechnol*, **7**: 86-87.
- 44. Bellakhdar, J.** Médecine Arabe Ancienne et Savoirs Populaires La pharmacopée marocaine traditionnelle, ibis Press, (1997).
- 45. Novak, I. ;Buzas, G. ;Minker, E. ;Kolfai, M. et Szendrei, K.** *Planta med.* (1966), **14**, p: 57.
- 46. Israili Z.H. and Lyoussi B. (2009).** Ethnopharmacology of the plants of genus *Ajuga*. *Pak J PharmSci*, **22**: 425-462.
- 47. Baba Aissa F. (2000).** Encyclopedie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique d'Orient et d'Occident. Ed. Librairie moderne Rouiba, 46.
- 48. El-Hilaly J., Lyoussi B., Wibo M., Morel N. (2004).** Vasorelaxant effect of the aqueous extract of *Ajuga iva* in rat aorta. *Journal of Ethnopharmacology*, **93**, 69–74.
- 49. Ghedira K., Chemli R., Richard B., Zeches M., Le-Men-Olivier L. (1991).** Contribution à l'étude de la pharmacopée traditionnelle de Tunisie: étude des parties aériennes d'*Ajuga iva* (L.) Schreb. *Plantes Médicinales et Phytothérapie*, **25**, 100-111.
- 50. Bahorun, T. (1997).** Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. *Food and agricultural resarch council, Réduit, Mauritius*. 83-94.
- 51. Martin S., Andriantsitohaina R (2002).** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*. **51**:304-315.
- 52. Bahorun, T (1997).** Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. *Food and agricultural resarch council, Réduit, Mauritius*. 83-94.
- 53. Babar Ali, M., Hahn, E.J., Paek, K.Y (2007).** Methyl Jasmonate and Salicylic Acid Induced Oxidative Stress and Accumulation of Phenolics in *Panax ginseng* Bioreactor Root Suspension Cultures. *Molecules*. **12**: 607-621.

- 54. Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C (2008).** Phenolic composition of *Cynaracardunculus* L. organs, and their biological activities. *C. R. Biologies*. **331**: 372-379.
- 55. Martin S., Andriantsitohaina R (2002).** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*. **51**304-315.
- 56. Belaïche P (1979).** Traité de Phytothérapie et d'Aromathérapie. Tom I<sup>er</sup> Aromathérapie. Ed. Maloine S.A. Paris.
- 57. Fleuriet A., Jay-Allemand C., Macheix J.J.(2005).** Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. *Presses polytechniques et universitaires romandes* pp 121-216.
- 58. Jutiviboonsuk A., Zhang H., Tan T.G., Ma C., Van Hung N., Cuong N.M., Bunyapraphatsara N., Soejarto D D., Fong H H S. (2005).** Bioactive constituents from roots of *Bursera tonkinensis*. *Phytochemistry* **66**: 2745 – 2751
- 59. Marles R.J. et Farnsworth N. (1996).** Antidiabetic plants and their active constituents: an update. *Protocols Journal of Botany and Medicine* **1**, 85–135.
- 60. Azzi R. (2013).** Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète sucré dans l'Ouest algérien : enquête ethnopharmacologique ; Analyse pharmaco-toxicologique de Figuier (*Ficus carica*) et de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) chez le rat Wistar. Thèse doctorat en biochimie, département biologie, Faculté SNV STU, université Tlemcen (Algérie).
- 61. Rice-Evans C.A., Miller N.J. and Paganga G. (1997).** Antioxidant properties of phenolic Compounds. *Plant Sci*, **2**: 152-159.
- 62. Wessner M., Champion B., Girault J.P., Kaouadji N., Saidi B. and Laffont R. (1992).** Ecdysteroids from *Ajuga iva*. *Phytochemistry*, **31**: 3785-3788.
- 63. Bondm M.R., Al-Hillo Y., Lamara K., Ladjel S., Bruno M., Piozzi F., Simmonds M.S.J. (2000).** Occurrence of the antifeedant 14,15-dihydroajugapitin in the aerial parts of *Ajuga iva* from Algeria. *Biochemical Systematics and Ecology*, **28**, 1023-1025.

- 64. Hilaly J.E et lyoussi B. (2002).** Hypoglycaemic effect of the lyophilized aqueous extract of *Ajuga iva* in normal and streptozotocin diabetic rats, *J. Ethnopharmacol.*, **80**, 109-13
- 65. Nunez R et Gastro O.C. (1993).** Ethnopharmacology of Murcia (SE Spain). Actes du 2e Colloque Européen d'Ethnopharmacologie et de la 1<sup>le</sup> Conférence internationale d'Ethnomédecine, Heidelberg, p215-239
- 66. Israili Z.H. and Lyoussi B. (2009).** Ethnopharmacology of the plants of genus *Ajuga*. *Pak J Pharm Sci*, **22**: 425-462.
- 67. Taleb-Senoucia D., Ghomaria H., Kroufa D., Bouderbalaa S., Prost J., Lacaille-Dubois M.A. and Bouchenaka M. (2009).** Antioxidant effect of *Ajuga iva* aqueous extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine*, **16**: 623–631.
- 68. El-hilaly J., Tahraoui T., Israili Z.H. and Lyoussi B. (2007).** Acute hypoglycemic, hypocholesterolemic and hypotriglyceridemic effects of continuous intravenous infusion of a lyophilized aqueous extract of *Ajuga Iva* L. Schreber whole plant in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pak J Pharm Sci*, **20** : 261-268.
- 69. El-hilaly J., Tahraoui T., Israili Z.H. and Lyoussi B (2006).** Hypolipidemic effects of acute and sub-chronic administration of an aqueous extract of *Ajuga iva* L. whole plant in normal and diabetic rats. *J Ethnopharmacol* **105** : 441–448.
- 70. Bennaghmouch L., Hajjaji N., Zellou A., Cherrah Y. (2001).** Étude pharmacologique d'*Ajuga iva*. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, **59(4)**, juillet, 284.
- 71. Coll J. (2007).** New minor ecdysteroids from *Ajuga iva* (Labiatae) and complete <sup>1</sup>H-NMR assignment of cyasterone. *Asociacion de Quimicos del Instituto Quimico de Sarria, Barcelona, Espagne*, **64(528)**, 242-250.
- 72. El-Hilaly J., Lyoussi B., Wibo M., Morel N. (2004).** Vasorelaxant effect of the aqueous extract of *Ajuga iva* in rat aorta. *Journal of Ethnopharmacology*, **93**, 69–74.
- 73. Hamden K., Carreau S., Jamoussi K., Ayadi F., Garmazi F., Mezgenni N., Elfeki A. (2008).** Inhibitory effects of 1 $\alpha$ , 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and *Ajuga*

- ivaextract on oxidative stress, toxicity and hypo-fertility in diabetic rat testes. *J. Physiol. Biochem.*, **64(3)**, 231-239.
- 74. Bouderbala S., Bouchenak M., Lamri-Senhadji M.Y., Prost J., Lacaille-Dubois M. (2008).** Les iridoïdes d'Ajuga iva atténuent la cholestérolémie et améliorent le transport inverse du cholestérol, chez le rat rendu hypercholestérolémique. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, **22**, 63.
- 75. Gomez-Caravaca, A.M., Gomez-Romero, M., Arraez-Roman, D., Segura-Carretero, A., Fernandez-Gutierrez, A. (2006)** Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *J Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. **41**: 1220-1234.
- 76. Merghem R. (2009).** Eléments de biochimie végétale. Ed. Bahaeddine éditions.
- 77. Häkkinen S. (2000).** Flavonols and phenolic acids in berries and berry products. Mémoire doctorat. KUOPIO. Finlande. 93 p.
- 78. Ribéreau-Gayon J., Peynaud E., Sudraud P. et Ribéreau-Gayon P. (1972).** Sciences et techniques du vin. Tome 1. Ed. Dunod. Paris. 671 p.
- 79. Sarni-Manchado P. et Cheynier V. (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire. Ed Lavoisier. p2- 10.
- 80. Wong, C.C., Li H.B., Cheng, K.W., Chen, F. (2006)** A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chem.* **97**: 705-711.
- 81. Catalano L., Franco I. (1990).** Polyphenols in olive mill waste waters and their depuration plant effluents: a comparison of the Folin-Ciocalteu and HPLC methods. *Agrochimica.*, P: 193-205. IN: Valorisation des polyphénols extraits des margines en tant qu'antioxydants naturels dans les huiles végétales. Nassif D., 2004. Mémoire (DEA). INRA. FRANCE.
- 82. Bousmid A. (2011).** Etude des polyphénols chez le blé et l'orge: évolution au cours des stades phénologiques. Thèse de Master UMC., P: 50-75.
- 83. Djeridane, A., Yous, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N. (2006)** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem.* **97**: 654-660.

- 84. Boudiaf, K. (2006).** Etude des effets anti-xanthine oxydoreductase et anti-radicalaires des extraits des graines de *Nigella sativa*. Mémoire de magister .Setif.
- 85. Braca A., Sortino C., Morelli.J. and Mendez.J. (2002).** Antioxydant activity of flavonoids from *Licania licaniaeflora*. *Ethnopharmacol.* **43**: 79-379.
- 86. Es –Safi N. E., Kollmann I., Khelifi S. et Ducrot P. H. (2007).** Antioxidants effect of compounds isolated from *Globularia alypum* L. Structure-activity relationship. *LWT-Food science and technology.*, **40** : 1246-1252.
- 87. Wu X., Beecher G. R., Holden J. M., Haytowitz, D. B., Gebhardt S. E. and Prior R. L (2004).** Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. *J. Agricultural and Food Chem.* **52** : 4026–4037.
- 88. Sefi M., Fetoui H., Makni M. and Zeghal N (2010).** Mitigating effects of antioxidant properties of *Artemisia campestris* leaf extract on hyperlipidemia, advanced glycation endproducts and oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. *Food and Chem. Toxicol.* **48** : 1986–1993.
- 89. Djeridane, A., Yous, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N. (2006).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem.* **97**: 654-660.
- 90. Gomez-Caravaca, A.M., Gomez-Romero, M., Arraez-Roman, D., Segura-Carretero, A., Fernandez-Gutierrez, A (2006).** Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *J Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* **41**: 1220-1234.
- 91. Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C. (2008)** Phenolic composition of *Cynaracardunculus* L. organs, and their biological activities. *C. R. Biologies.* **331**: 372-379.
- 92. Tawaha, K., Alali, F.Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M., El-Elimat, T. (2007).** Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chem.* (inpress).

- 93. Vuorela, S. (2005)** Analysis, isolation, and bioactivities of rapeseed phenolics. Helsinki.
- 94. Podsedek, A. (2007)** Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT*. **40**:1-11.
- 95. Saadaoui B., Bekir J., Akrouit J., Ammar S., Mahjoub A., Mars M. (2007).** Etude de la composition et du pouvoir antioxydant des composés phénoliques de quelques espèces végétales de l'aride tunisien. *Revue des régions arides*, **1**, 87-92.
- 96. Guignard J. (2001).** Botanique systématique moléculaire, 2ème édition Lavoisier, Paris. p.122
- 97. Ghedira K. (2005).** Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois thérapeutiques. *Phytothérapie*, **3(4)**, 162-169.
- 98. Toufektsian M-C., de Lorgeril M., Nagy N., Salen P., Donati M.B., Giordano L., Mock H-P., Peterek S., Matros A., Petroni K., Pilu R., Rotilio D., Tonelli C., de Leiris J., Boucher F., Martin C. (2008).** Chronic Dietary Intake of Plant-Derived Anthocyanins Protects the Rat Heart against Ischemia-Reperfusion Injury. *Journal of Nutrition*, **138**, 747-752.
- 99. Medic Sanic M., Jasprica I., Smolcic Bubalo A. and Mornar A. (2004).** Optimization of chromatographic conditions in thin layer chromatography of flavonoids and phenolic acids. *Croatian Chemical Acta*. 361-366 .
- 100. Manach C., Scalbert A., Morand C., Rémésy C. and Jiménez L. (2004).** Polyphenols: food sources and bioavailability. *J. Am. Clin. Nutr.* **79 (5)**: 727-747.
- 101. Fiorentino, A., D'Abrosca, B., Pacifico, S., Golino, A., Mastellone, C., Oriano, P., Monaco, P. (2007)** Reactive Oxygen Species Scavenging Activity of Flavone Glycosides from *Melilotus neapolitana*. *Molecules*. **12**: 263-270.




102. **Ramassamy, C. (2006)** Emerging role of polyphenolic compounds in treatment of neurodegenerative diseases: A review of their intracellular targets. *European J Pharmacology*, 545: 51-64.
103. **Tieppo, J., Vercelino, R., Dias, A.S., Silva Vaz, M.F., Silveira, T.R., Marroni, C.A., Marroni, N.P., Henriques, J.A.P., Picada, J.N. (2007)** Evaluation of the protective effects of quercetin in the hepatopulmonary syndrome. *Food and Chemical Toxicology*. **45**: 1140- 1146.
104. **Ardestani, A., Yazdanparast, R. (2007)** Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achilleasantolina* extracts. *Food Chem*. **104**: 21-29.
105. **Diallo A. (2005)**. Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Willd. (MYRTACEAE). Thèse de Doctorat. Mali.
106. **Bartosz G. (2003)**. Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on Toxicology*, **9**, 5-21.
107. **Favier A. (2003)**. Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, **11**, 108-115.
108. **Pourrut B. (2008)**. Implication du stress oxydatif dans la toxicité du plomb sur une plante modèle, *Vicia faba*. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat à l'Institut National Polytechnique de l'Université de Toulouse spécialité : Ecotoxicologie. France.
109. **HADI M. (2004)** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse Présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Sciences de l'Université Louis Pasteur Domaine : Pharmaco chimie. 155p.
110. **Arora A., Sairam R., Srivastava G. (2002)**. Oxidative stress and antioxidative system in plants. *Current Science*, **82**, 1227-1238.
111. **Mika A., Minibayeva F., Beckett R., Lüthje S. (2004)**. Possible functions of extracellular peroxidases in stress-induced generation and detoxification of active oxygen species. *Phytochemistry Reviews*, **3**, 173-193.
112. **Benbrook C.M. ; 2005**. Accroître la teneur en antioxydants des aliments grâce à l'agriculture et à la transformation alimentaire biologiques. Rapport sur l'état des connaissances scientifiques. The Organic Center for Education and Promotion, 45.

113. **Koechlin-Ramonatxo C. (2006).**Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation, or another way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition Clinique et Métabolique*, **20**, 165-177.
114. **Lahouel M., Amedah S., Zellagui A., Touil A., Rhouati S., Benayache F., Leghouchi E., et Bousseboua H. (2006).**The interaction of new plant flavonoids with rat liver mitochondria: relation between the anti and prooxidant effect and flavonoids concentration. *Thérapie*, **61(4)**, 347-355.
115. **Marc F., Davin A., Deglène-Benbrahim L., Ferrand C., Baccaunaud M., Fritsch P. (2004).** Méthodes d'évaluation du potentiel
116. **Miller N-J., Sampson J., Candeias L.P., Bramley P.M., Rice-Evans C.A. (1996).** Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS Letters*, **384**, 240-242.
117. **Njus D., Kelley P.M. (1991).** Vitamins C and E donate single hydrogen atoms in vivo. *FEBS Letters*, **284(2)**, 147-151.
118. **Pourrut B. (2008).** Implication du stress oxydatif dans la toxicité du plomb sur une plante modèle, *Vicia faba*. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat à l'Institut National Polytechnique de l'Université de Toulouse spécialité : Ecotoxicologie. France.
119. **Diallo A. (2005).** Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* WILLD. (MYRTACEAE). Thèse de Doctorat en Pharmacie. Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de Bamako, Mali.
120. **Keïta R. (2002).** Etude de l'activité antifongique et antioxydante de 14 plantes utilisées dans le traitement traditionnel des infections sexuellement transmissibles. Thèse Pharmacie, Bamako ; 107 P.
121. **Merghem R. (2009).** Eléments de biochimie végétale. Ed. Bahaeddine éditions.
122. **Boizot N., and Charpentier J.P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre fustier. *Le cahier des techniques de l'Inra*. Pp 79-82. (cited in Djemai Zoueglache S, 2008).
123. **Boizot N., and Charpentier J.P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre fustier. *Le cahier des techniques de l'Inra*. Pp 79-82. (cited in Djemai Zoueglache S, 2008).
124. **Huang D., Ou B. and Prior R.L. (2005).** The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J of Agr Food chem.* **53**:1841-1856.

125. **Akroum S. (2011).** Etude analytique et biologique des flavonoïdes naturels. Thèse de doctorat. Univ. Mentouri Constantine. Faculté des sciences de la nature et de la vie. Dept. De Biologie animale. P: 20-95.
126. **Majhenic L., Kerget M.S., Knez Z. (2007).** Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food Chemistry*, 104, 1258–1268.
127. **Siddhuraju P., Becker K. (2007).** The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata*(L.) Walp.) seed extracts. *Food Chemistry*, 101(1), 10-19.
128. **Jeong S.M., Kim S.Y., Kim D.R., Jo S.C., Nam K.C., Ahn D.U., Lee S.C. (2004).** Effects of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52, 3389–3393.
129. **Elqaj M., Ahami A., Belghyti D. (2007).** La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques". Maroc.
130. **Farnsworth N. R., Akerele O., Bingel A. S., Soejarto D. D., Guo Z., (1986).** Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. *Bulletin de l'organisation mondiale de la santé*. 64(2)., P:159-164.
131. **VERDRAGER J. (1978) :** Ces médicaments qui nous viennent des plantes. Ou les plantes médicinales dans les traitements modernes, Edition de Maloine S.A., Paris, 232p.
132. **KHETOUTA M.L. (1987) :** Comment se soigner par les plantes médicinales. Éditions Marocaines et internationales, Tanger. 311p.
133. Références électroniques :  
- **Les plantes et leurs propriétés, (1997).** Algo vision CD-ROM, France.
134. **Thurzova I. (1981) :** Les plantes santé qui poussent autour de nous, Edition de Elsevier Séquoia, Bruxelles, 266p.
135. **Valnet j. (1983):** Phytothérapie, traitement des maladies par les plantes, Edition de Maloine S.A., Paris ,942p.
136. **Matkowski A., Tasarz P. and Szypula E. (2008).** Antioxidant activity of herb extracts from five medicinal plants from *Lamiaceae*, subfamily *Lamioideae*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2 (11): 321-330.

137. **Alais C. et Linden G. (1997).** Biochimie alimentaire. Ed. Masson, Paris. pp 120-125.
138. **Guignard J. (1996).** Biochimie végétale. Ed. Lavoisier, Paris. pp 175-192 p.
139. **Harbone J B. (1967).** Comparative biochemistry of the flavonoides. Academic press. New York. 1-130 p.
140. **Brouillard R. (1986).** The flavonoids Advances. In: research since 1993. Harborne J B, Chapman and Hall, London. pp 525-538.
141. **Hodek, P., Trefil, P., Stiborova, M. (2002)** Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chemico-Biological Interactions*. **139**: 1-21.
142. **Milane, H., (2004)** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat. Strasbourg.
143. **Xu, Y.C., Leung, S.W.S., Yeung, D.K.Y., Hu, L.H., Chen, G.H., Che, C.M., Man, R.Y.K., (2007)** Structure- activity relationships of flavonoids for vascular relaxation in porcine coronary artery. *Phytochemistry*. **68**: 1179-1188.



# Résumé

## RESUME

Parmi les plantes médicinales recensées auprès des populations et bénéficiant de bonnes renommées thérapeutiques et qui de ce fait devront être mises à l'épreuve d'investigation sérieuses de décryptages chimiques et biologiques : espèces *Ajuga iva* et *Marrubium vulgare*. Afin d'apporter les preuves de don innocuité et de rendre son utilisation plus efficiente, des études phytochimiques ont a été réalisées, les activités biologique antioxydant

Le screening phytochimique deux espèces à des permis d'isoler les principaux métabolites notamment les flavonoïdes, les tanins et les alcaloïdes, les anthraquinones et les Quinones

Les dosages quantitatif des phénols totaux par la méthode de Folin-Ciocolteu et des flavonoïdes par les méthodes d'AlCl<sub>3</sub>, en révélé la richesse du *Ajuga iva* en polyphénols (0.007 ± 0.001 mg EAG/ml E) et du *Marrubium vulgare* en en flavonoïdes (0.221 ± 0.006 mg EAG/ml E).

L'expression des résultats de l'activité antioxydante par la méthode de DPPH a montré que les extraits du *Ajuga iva* ont une activité plus importante pour la concentration 1 mg/ml. Par contre pour la concentration 5 mg/ml, l'extrait de *Marrubium vulgare* montre l'activité antioxydante la plus élevée

**Mots clés :** *Ajuga iva*, *Marrubium vulgare*, screening, Phénols, Flavonoïdes, Activité Antioxydante

## الملخص

من بين النباتات الطبية التي يستفاد من شهرتها العلاجية وتحتاج الى ابحاث جادة للتعرف على صفاتها الكيميائية والبيولوجية لنباتي *Ajuga iva* , *Marrubium vulgare* ولأجل البرهنة على عدم ضرره واستعمالاته الفعالة. تم اجراء دراسة كيميائية للنبتين، نشاطات بيولوجية مضادة للأكسدة .

ات دراسة هذان النوعان تتناول فحص فيتوكيميائي سمحت بعزل اهم المواد الفعالة تحديدا العامة منها، الفلافونويدات ، الطانينات و القلويدات و ايضا وجود أنتراكينون و الكينونات

قمنا أولا بإجراء تقدير كمي بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية المرئية للفينولات و كذلك الفلافونويدات على أساس أنها أهم قسم من العائلة الفينولية

التقدير الكمي للفينولات بواسطة طريقة بواسطة طريقة Folin-Ciocalteu 3 و الفلافونيدات واسطة طريقة  $AlCl_3$  غنى *Ajuga iva* بالفينولات ( $0.007 \pm 0.001$  mg EAG/ml E) و بالفلافونيدات *Marrubium vulgare* ( $0.221 \pm 0.006$  mg EAG/ml E).

نتائج النشاط المضاد للتأكسد و البكتيريا أوضحت أن مستخلصات كانت فعالة كعوامل مضادة للتأكسد في نبات *Ajuga iva* طريقة النشاطية الازاحية تجاه جذر DPPH كان الأكثر فعالية و تميز بنشاط مضاد للأكسدة جد عالي في مرحلة إيثار إيثيليك في التركيز 1 غ/مل ، على عكس التركيز 5 غ/مل حيث مستخلصات نبات *Marrubium vulgare* DPPH كان الأكثر فعالية و تميز بنشاط مضاد للأكسدة جد عالي في مرحلة أسيتات الإيثيل

الكلمات المفاتيح: *Ajuga iva*, *Marrubium vulgare* فحص فيتوكيميائي ، للفينولات ، الفلافونيدات ، مضاد للأكسدة

## ABSTRACT

Among the medicinal plants identified at the populations and enjoying of good therapeutic reputations and which of this fact should be tested for serious investigations of chemical and biological decryption, the *Marrubium vulgare* and *Ajuga iva* . In order to bring the evidence of its harmlessness and to make its use more efficient, a phytochemical study was realized the, antioxydant biological activities

The study of two species to bring on a phytochemical screening resulted in isolation of the main metabolites including those majority, flavonoids, tannins and alkaloids and also attendance and Quinones Anthraquinones

We initially process the colorimetric quantitative determination by a UV-Vis spectrophotometer of total polyphenols and flavonoids as the most important class of the polyphenol family

The quantitative assays of total polyphenols by Folin-Ciocolteu method and flavonoids by the methods of  $AlCl_3$ , revealed in the rich in polyphenols *Ajuga iva* ( $0.007 \pm 0.001$  mg EAG / ml E) and *Marrubium vulgare* in flavonoids ( $0.221 \pm 0.006$  mg EAG / ml E)

The expression of the results of the antioxidant activity showed that the extracts of *Ajuga iva* on DPPH method were more active as an antioxidant on the di ethyl ether phase and the concentration 1 mg / ml. Against the concentration by 5 mg / ml to extract of *Marrubium vulgare* were more active as antioxidant agent on Ethyl acetate Phase

**Keywords:** *Ajuga iva*, *Marrubium vulgare*, screening phenols, flavonoids, antioxidant activity



Nom : HASSIN BOUKAL  
Prénom : CHAOUKI

Soutenu Le : 24/06/2015

Mémoire en vue l'obtention du diplôme de : MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie  
Filière : Sciences Biologiques  
Spécialité : biologie physiologie végétale  
Option : Métabolisme Secondaire et Molécules bio actives

Thème : *Etudes Biologique et phytochimique de quelques extraits actifs De deux espèces de la Famille Labiées (Ajuga iva L. – Marrubium vulgare L.)*

### Résumé :

Parmi les plantes médicinales recensées auprès des populations et bénéficiant de bonnes renommées thérapeutiques et qui de ce fait devront être mises à l'épreuve d'investigation sérieuses de décryptages chimiques et biologiques : espèces *Ajuga iva* et *Marrubium vulgare*. Afin d'apporter les preuves de son innocuité et de rendre son utilisation plus efficiente, des études phytochimiques ont été réalisées, les activités biologique antioxydant

Le screening phytochimique deux espèces a permis d'isoler les principaux métabolites notamment les flavonoïdes, les tanins et les alcaloïdes, les anthraquinones et les Quinones

Les dosages quantitatifs des phénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu et des flavonoïdes par les méthodes d' $AlCl_3$ , ont révélé la richesse de *Ajuga iva* en polyphénols ( $0.007 \pm 0.001$  mg EAG/ml E) et de *Marrubium vulgare* en flavonoïdes ( $0.221 \pm 0.006$  mg EAG/ml E).

L'expression des résultats de l'activité antioxydante par la méthode de DPPH a montré que les extraits de *Ajuga iva* ont une activité plus importante pour la concentration 1 mg/ml. Par contre pour la concentration 5 mg/ml, l'extrait de *Marrubium vulgare* montre l'activité antioxydante la plus élevée

Mots clés : *Ajuga iva*, *Marrubium vulgare*, screening, Phénols, Flavonoïdes, Activité Antioxydante

### Jury d'évaluation :

Président du jury : KARA Youcef (Pr - UFM Constantine).  
Rapporteur : BOUZID Salha (MAA- UFM Constantine).  
Examineurs : NEBBACHE Saloua (MAA- UFM Constantine).

Année universitaire : 2014/2015