



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

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

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Science Biologiques

Spécialité : Biochimie

Intitulé :

**Activités antioxydante, enzymatique et antibactérienne de quelques
plantes médicinales algérienne**

Présenté par : GUENICHE ROUFAIDA

HAMAMA ROUFAIDA

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mme Bennamoun Leila (Maitre de conférences B, UFM- Constantine1)

Examineur : Mme Djaalab-Mansour Hadria (Maitre de conférence A, UFM- Constantine1)

Encadreur : Mme Riachi-Kahlouche Foulla (Maitre de conférence A, UFM- Constantine1)

Année universitaire : 2020-2021

Remerciements

Au terme de ce travail, on a l'honneur de présenter nos profonds remerciements :

Au bon Dieu tout puissant de nous avoir donné la force et la volonté pour réaliser notre travail.

Nous saisissons cette opportunité pour remercier profondément nos chers parents

Pour leur contribution, leur soutien moral et matériel inestimable et leur patience.

*Ainsi nous tenons à remercier vivement notre encadreur Mme **Kahlouche-Riachi Foulla** pour la réalisation de ce travail.*

*On exprime toute notre reconnaissance à Dr : **BENNAMOUN LEILA** maitre de conférences B, pour avoir bien voulu accepter de présider le jury de mémoire. On lui présente toutes notre gratitude, reconnaissance, respect et grande estime.*

*Notre gratitude va également à celle qui nous a fait l'honneur de juger ce travail, Mme **Djaalab-Mansour Hadria** maitre de conférences A.*

Nos remerciements s'adressent également au gérant de Centre De Recherche en Biotechnologie(CRBT) et son équipe, et toute l'équipe d'information qui ont contribué à notre formation ; qu'ils retrouvent à travers ces lignes l'expression de nos grandes reconnaissances.

Enfin, toute notre gratitude et respect à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail :

À La source de la tendresse et de l'amour. À Celle qui a su être à nos côtés dans la joie et la Peine. À la plus merveilleuse des mamans, à celle que j'aime et j'adore maman, que dieu te garde pour nous ;

À mon cher père qui est la clé de ma réussite et de mon existence ; qui m'a beaucoup soutenu et encouragé durant mon parcours d'étude.

A mon Frère Chouaib et ma petite adorable Assia Haoua

A mes grands-parents qui sont disparu trop tôt.

A ma chère tante Mama Aicha, et son fils Mami.

A mes cousins et cousines, plus particulièrement Boutheina et son fils Mirou.

A mon binôme Roufaida qui a partagée avec moi les moments les plus difficiles de ce Travail et à sa famille.

A toutes mes amis en particulier : Madina, Mayar, Lamis, Dounia et Hadjer et collègues que je n'ai pas cité et à tous ceux qui me connaissent.

A tous ceux qui me sont chers.

A toute personne qui m'a aidé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail, je les remercie du fond du cœur.

ROUFAIDA GUENICHE

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail :

A ma très chère mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, à celle que j'aime et j'adore maman, que dieu te garde pour nous ;

A mon père qui m'a encouragé durant toutes mes années d'études que dieu le protège et lui donne tout le bonheur du monde.

A mes frères Hocine Idris Diaa Eddine et Nibrass et à ma chère sœur Bessmala.

« Un remerciement particulier à mon mari Fares et à mon prochain Bébé inshaa' Allah ».

A mon binôme Roufaida qui a partagée avec moi les moments les plus difficiles de ce Travail et à sa famille.

A toutes mes amis en particulier : Madina, Mayar, Lamis, Dounia et collègues que je n'ai pas cité et à tous ceux qui me connaissent.

A tous ceux qui me sont chers

A toute personne qui m'a aidé de près ou de loin à l'élaboration de ce Travail, je les remercie du fond du cœur.

ROUFAIDA HAMAMA

Résumé

Ce travail est une contribution à l'évaluation de l'activité antioxydante, l'activité enzymatique et l'activité antibactérienne des extraits obtenus à partir de deux plantes qui ont une grande valeur pharmaceutique, le *Marrubium vulgare* et l'*Artemisia herba alba*.

L'activité antioxydante est réalisée en utilisant quatre méthodes à savoir, le piégeage du radical DPPH, le piégeage du radical-cation ABTS, le test du pouvoir réducteur FRAP et le test du phénantroline. L'étude de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes de ces extraits a montré une richesse en polyphénol et en flavonoïde des extraits d'*Artemisia herba alba*. L'activité anti radicalaire du DPPH a montré que l'*Artemisia Herba Alba* a manifesté une activité anti radicalaire au DPPH ($IC_{50}=88,76\pm 1,78 \mu\text{g/ml}$) supérieure à celle de l'extrait du *Marrubium Vulgare* ($IC_{50} > 200 \mu\text{g/ml}$), et très inférieure à celle du standard Trolox ($IC_{50}=5.12\pm 0.21 \mu\text{g/ml}$). Le test ABTS a montré que la capacité de piégeage des radicaux libres présentée par l'*Artemisia Herba Alba* ($IC_{50}=30,10\pm 0,61 \mu\text{g/ml}$) est très faibles par rapport au standard ($IC_{50}=3.21\pm 0.06 \mu\text{g/ml}$) et supérieure à celle du *Marrubium Vulgare* ($IC_{50}=96,69\pm 0,20 \mu\text{g/ml}$). Les résultats du test du FRAP ont montré que les extraits du *Marrubium Vulgare* et d'*Artemisia Herba Alba* ont une activité de pouvoir réducteur très faible ($A_{0,50}$ supérieures à $200 \mu\text{g/ml}$) par rapport à celle du standard (Trolox) ($A_{0,50}=5.25\pm 0.20 \mu\text{g/ml}$). Les résultats obtenus par le test du phénantroline ont montré que les deux extraits se sont révélés capables de réduire le fer et de former un complexe Fe^{+2} -phénantroline mais l'extrait d'*Artemisia Herba Alba* a une activité de réduction par la formation du complexe Fe^{+2} -phénantroline.

L'étude de l'activité enzymatique a montré que les deux extraits ne possèdent pas une activité inhibitrice d'acétylcholinestérase.

Pour l'activité antibactérienne, l'extrait d'*Artemisia Herba Alba* marque aucune activité sur les bactéries *E. coli* et *P. aeruginosa*, par contre sur la bactérie *S. aureus* montre une faible activité antibactérienne. Alors que l'extrait de *Marrubium Vulgare* montre une faible activité sur les bactéries *E. coli* et *S. aureus*, la bactérie *P. aeruginosa* ne marque aucune effet.

Mots clés : *Marrubium vulgare*, *Artemisia herba alba*, antioxydante, antibactérienne, enzymatique, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*.

Abstract

This work is a contribution to the evaluation of the antioxidant activity, enzymatic activity and antibacterial activity of extracts obtained from two plants that have great pharmaceutical value, *Marrubium vulgare* and *Artemisia herba alba*.

Antioxidant activity is carried out using four methods namely, DPPH radical entrapment, ABTS radical-cation trapping, FRAP reducing power test and phenantroline test. The study of the polyphenol and flavonoid content of these extracts showed a richness in polyphenol and flavonoid of *Artemisia herba alba* extracts. The anti-radical activity of DPPH showed that *Artemisia Herba Alba* showed anti-radical activity at DPPH (CI50=88.76±1.78 µg/ml) higher than that of *Marrubium Vulgare* extract IC50 (>200µg/ml), and much lower than that of the Trolox standard (CI50=5.12±0.21µg/ml). The ABTS test showed that the free radical scavenging capacity presented by *Artemisia Herba Alba* (CI50=30.10±0.61µg/ml) is very low compared to standard (CI50=3.21±0.06µg/ml) and higher than that of *MarrubiumVulgare* (CI50=96.69±0.20µg/ml). The results of the FRAP test have shown that the extracts of *Marrubium Vulgare* and *Artemisia Herba Alba* have a very low reducing power activity ($A_{0.50}$ greater than 200µ/ml) compared to that of the standard (Trolox) ($A_{0.50}$ = 5.25±0.20µg/ml). The results obtained by the phenantroline test showed that both extracts are found to be able to reduce iron and form a Fe⁺²-phenantroline complex but *Artemisia Herba Alba* extract has a reduction activity by the formation of the Fe⁺²-phenantroline complex.

The study of enzyme activity showed that both extracts do not possess acetylcholinesterase inhibitory activity.

For antibacterial activity, *Artemisia Herba Alba* extract does not mark any activity on *E. coli* and *P. aeruginosa* bacteria; on the other hand, on *S. aureus* bacteria it shows low antibacterial activity. While *Marrubium Vulgare* extract shows low activity on *E. coli* and *S. aureus* bacteria, and on *P. aeruginosa* bacteria shows no effect.

Keywords: *Marrubium vulgare*, *Artemisia herba alba*, antioxidant, antibacterial, enzymatic, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*.

الملخص

يساهم هذا العمل في تقييم النشاط المضاد للأكسدة والنشاط الأنزيمي والنشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات التي تم

الحصول عليها من نباتين لهما قيمة دوائية كبيرة، *Artemisia herba alba* و *Marrubium vulgare*

يتم تحقيق النشاط المضاد للأكسدة باستخدام أربع طرق وهي، المسح الدوري DPPH ، والكسح الكاتيوني الجذري ABTS، واختبار القدرة على تقليل FRAP واختبار الفينانثرولين. أظهرت دراسة محتوى البوليفينول والفلافونويد في هذه المستخلصات ثراءً في مادة البوليفينول والفلافونويدات في مستخلصات *Artemisia herba alba*. أظهر النشاط المضاد للجذور الحرة لـ DPPH أن *Artemisia Herba Alba* أظهر نشاطاً مضاداً للجذور الحرة مع $IC_{50} = 30.10 \pm 0.61$ (مليغرام / مل) مقارنة بالمعيار $IC_{50} = 3.21 \pm 0.06$ (مليغرام / مل) وأكبر من تلك الموجودة في *Marrubium Vulgare* $IC_{50} = 96.69 \pm 0.20$ (مليغرام / مل). أظهرت نتائج اختبار FRAP أن مستخلصات *Marrubium Vulgare* و *Artemisia Herba Alba* لها نشاط اختزال منخفض جداً ($A_{0.50}$) أكبر من 200 ميكرومتر / مل مقارنة بالمعيار (Trolox) ($A_{0.50} = 5.25 \pm 0.20$ ، 50 ميكروغرام / مل). أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها عن طريق اختبار الفينانثرولين أن المستخلصين يظهران أنهما قادران على تقليل الحديد وتشكيل مركب $Fe + 2\text{-phenanthroline}$ ، لكن مستخلص *Artemisia Herba Alba* له نشاط اختزال عن طريق تكوين مركب $Fe\text{-}2$ فينانثرولين.

أظهرت دراسة نشاط الإنزيم أن المستخلصين لا يحتويان على نشاط مثبط لأستيل كولينستراز.

بالنسبة للنشاط المضاد للبكتيريا، فإن مستخلص نبات *Artemisia Herba Albane* لا يظهر أي نشاط على بكتيريا *E. coli* و *P. aeruginosa* ، بينما يظهر نشاط مضاد للجراثيم ضعيف على بكتيريا *S. aureus*. بينما أظهر مستخلص *Marrubium Vulgare* نشاطاً منخفضاً على بكتيريا *E. coli* و *S. aureus* ، ولم يظهر أي تأثير على بكتيريا *P. aeruginosa*.

الكلمات المفتاحية: *Artemisia herba alba* ، *Marrubium vulgare* ، مضاد للأكسدة، مضاد للبكتيريا، أنزيمي، *E. coli* ،

S. aureus ، *P. aeruginosa*.

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste matériels utilisés

Introduction	2
Partie 1 : Etude bibliographique	4
1- Monographie des plantes	5
1.1 <i>Artemisia herba alba</i> (Armoise blanche)	5
1.1.1Caractéristiques	5
1.1.2Origine	6
1.1.3Taxonomie et classification	6
1.1.4Description botanique	6
1.1.5Composition chimique	7
1.1.6Répartition géographique.....	9
1.1.7Usages de la plante	9
1.2 <i>Marrubium vulgare</i> (marrube blanc)	10
1.2.1Caractéristiques	10
1.2.2Origine	10
1.2.3Taxonomie et classification	10
1.2.4Description botanique	11
1.2.5Composition chimique	12
1.2.6Répartition géographique.....	12
1.2.7Usage de la plante	12
2- Phytothérapie	13
3- Les plantes médicinales	14
4- Métabolites des plantes	14
4.1Métabolites primaires	15
4.2Métabolites secondaires	15
4.2.1Composés phénoliques.....	15
4.2.2Terpènes.....	19

4.2.3Alcaloïdes	20
4.3.Propriétés biologiques des polyphénols	21
4.4.Relations entre métabolisme secondaire et métabolisme primaire	22
5- L'activité antibactérienne.....	23
5.1Définition de l'activité antibactérienne	22
5.2Rappel sur les bactéries	23
5.3Souches microbiennes étudiées	24
6- Activité antioxydante	25
6.1Définition d'un radical libre	26
6.2Origine des radicaux libres	26
6.2.1Principaux radicaux libres	27
6.2.2Balance Oxydants /Antioxydants et stress oxydant.....	27
6.2.3Les conséquences du stress oxydatif	28
6.3Les antioxydants.....	29
6.3.1Classification des antioxydants.....	31
6.3.2Mécanismes d'action des antioxydants	33
Partie 2 : Etude expérimentale.....	34
1- Matériels et méthodes	35
2- Méthodes.....	36
2.1Séchage et broyage du matériel végétal.....	35
2.2Préparation de l'extrait aqueux.....	35
2.3Détermination du rendement d'extraction	38
2.4Préparation des dilutions des extraits :	39
2.5Activités biologiques de <i>Marrubium Vulgare</i> et <i>Artemisia Herba Alba</i>	40
2.5.1Détermination du contenu total en polyphénols et en flavonoïdes.....	40
2.6Activité antioxydante	42
2.6.1Activité anti radicalaire au DPPH	42
2.6.2Activité du piégeage du cation radical ABTS	42
2.6.3Activité du pouvoir réducteur (FRAP)	43
2.6.4De réduction par la formation du complexe Fe ⁺² - phénantroline	43
2.7Activité enzymatique.....	44
2.7.1Activité d'Anti cholinestérase	44
2.8 Activité antibactérienne	45

2.8.1 Souches bactériennes utilisées	46
2.8.2 Milieux de culture utilisés.....	46
2.8.3 Mode opératoire	46
Partie 3 : Résultats et Discussions.....	51
1- Activités biologiques	52
1.1 Détermination du contenu total en polyphénols et la teneur des flavonoïdes.....	52
1.2 Activités antioxydantes	55
1.2.1 Activité anti-radicalaire au DPPH.....	55
1.2.2 Activité du piégeage du cation radical ABTS	57
1.2.3 Activité du pouvoir réducteur (FRAP)	58
1.2.4 Activité de réduction par la formation du complexe Fe ⁺² -phénantroline.....	60
1.3 Activité enzymatique.....	61
1.4 Activité antibactérienne	62
1.4.1 Etude du pouvoir antibactérienne des extraits d' <i>Artemisia herba alba</i> et <i>Marrubium Vulgare</i>	62
Conclusion et perspectives	65
Références bibliographiques	

Liste des abréviations

A_{0.5}	Concentration indiquant 0,50 d'absorbance.
ABTS	Sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)
AChE	Acétylcholinestérase
ACI	Acetylthiocholine iodide
°C	Degré Celsius
IC₅₀	Concentration d'inhibition à 50%
DPPH	α, α -diphényl- β -picrylhydrazyl
DTNB	Acide 5,5'-dithio-bis (2-nitrobenzoïque)
EAG	Équivalent de l'acide gallique
EQ	Équivalent de la quercétine
FCR	Folin-Ciocalteu
FRAP	Pouvoir réducteur
g	Gramme
m	Masse
mg	Milligramme
min (mn)	Minute
h	Heure
ml	Millilitre
R	Rendement
Mm	Millimètre
PH	Potentiel hydrogène
TFC	Contenu total en flavonoïdes
TPC	Contenu total en polyphénols
Trolox	Acide 3,4-dihydro-6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthyl-2H-1-benzopyran-2-carboxylique
µg	Microgramme
µl	Microlitre
V	Volume
Sm	Solution mère
MeOH	Méthanol

Na₂CO₃	Carbonate de sodium
O₂	Radical super oxyde
OH[·]	Radical hydroxyle
S. aureus	Staphylococcus aureus
E. coli	Escherichia coli
P.aeroginsa	Pseudomonas aeroginosa

Liste des figures

Figure N°	Titre de la Figure	Page
01	Armoise blanche et ses différentes	07
02	La plante Marrubium vulgare	11
03	Structure chimique des composés phénoliques	16
04	Structure d'un flavonoïde	17
05	Structure de quelques classes de flavonoïdes	17
06	Structure des tanins	18
07	Tanins hydrolysable	18
08	Structure de l'acide gallique	19
09	Structure de l'acide ellagique	19
10	Tanins condensés	19
11	Structure de la molécule d'isoprènes	20
12	Structure de quelques sesquiterpènes	20
13	Structure des quelques alcaloïdes	21
14	Relation entre métabolisme secondaire et métabolisme primaire	22
15	Les systèmes de défense contre les radicaux libres	31
16	Extraction de deux plantes par la macération	36
17	Etapas de filtration de deux plantes	37
18	Etape de préparation d'extrait sec à partir de matériel végétal	38
19	Repiquage des bactéries par la méthode quadrant	47
20	Isolement des bactéries	47
21	Ensemencement avec l'écouvillonnage	48
22	Etape de préparation d'extrait	48
23	Méthodes de diffusion de disques sur le milieu de culture	49
24	La courbe d'étalonnage de l'acide gallique	52
25	La courbe d'étalonnage de la quercétine.	53

26	Plaque de dosage des polyphénols (TPC) des extraits de Marrubium Vulgare et d'Artemisia Herba Alba.	54
27	Plaque de dosage des flavonoïdes (TFC) des extraits d'Artemisia Herba Alba et de Marrubium Vulgare.	54
28	Plaques de dosage de l'activité anti radicalaire (DPPH) des extraits des plantes de Marrubium Vulgare et d'Artemisia Herba Alba	55
29	Plaques de dosage de l'activité anti radicalaire (ABTS) des extraits du Marrubium Vulgare et Artemisia Herba Alba.	57
30	La plaque de dosage de l'activité de pouvoir réducteur (FRAP) des plantes Artemisia Herba Alba et Marrubium Vulgare.	58
31	La plaque de dosage de l'activité de réduction par la formation du complexe Fe ⁺² - phénantroline par les extraits de Marrubium Vulgare et Artemisia Herba Alba.	60
32	La plaque de dosage de l'activité inhibitrice d'acétylcholinestérase des extraits de Marrubium Vulgare et Artemisia Herba Alba	62

Liste des tableaux

Tableau N°	Désignation	Page
Tableau n°1	Nomenclature d' <i>Artemisia herba-alba</i>	05
Tableau n°2	Classification de la plante <i>Artemisia herba-alba</i>	06
Tableau n°3	Nomenclature de <i>Marrubium vulgare</i>	10
Tableau n°4	Classification de la plante <i>Marrubium Vulgare</i>	10
Tableau n°5	Les dilutions de la gamme d'étalon de l'acide gallique	41
Tableau n°6	Les dilutions de la gamme d'étalon de la Quercétine	42
Tableau n°7	La préparation de solution tampon	44
Tableau n°8	Le contenu total en polyphénols et la teneur des flavonoïdes des extraits d' <i>Artemisia Herba Alba</i> et de <i>Marrubium Vulgare</i> .	53
Tableau n°9	Inhibition du radical DPPH par les extraits des plantes <i>Marrubium Vulgare</i> et <i>Artemisia Herba Alba</i> .	56
Tableau n°10	Inhibition du cation radical ABTS ^{•+} par les extraits des plantes <i>Marrubium Vulgare</i> et <i>Artemisia Herba Alba</i> .	57
Tableau n°11	Absorbance du pouvoir réducteur par les extraits de <i>Marrubium Vulgare</i> et <i>Artemisia Herba Alba</i> .	59
Tableau n°12	Absorbance du complexe Fe ⁺² - phénantroline des extraits des plantes <i>Marrubium Vulgare</i> et <i>Artemisia Herba Alba</i> .	60
Tableau n°13	Inhibition d'acétylcholinestérase par les extraits de <i>Marrubium Vulgare</i> et <i>Artemisia Herba Alba</i> .	61
Tableau n°14	Sensibilités des souches bactériennes des extraits d' <i>Artemisia herba alba</i> et <i>Marrubium Vulgare</i> .	62
Tableau n° 15	Diamètres des zones d'inhibition des extraits d' <i>Artemisia herba alba</i> et <i>Marrubium Vulgare</i> .	63

Liste matériels utilisés

Produits chimiques et appareillage

- Les réactifs chimiques utilisés :
 - Eau distillée, Méthanol
 - FCR (Folin-Ciocalteu réactif)
 - Na₂CO₃ de 7,5% (Carbonate de sodium)
 - Acide Gallique
 - Extrait de plante
 - 10% nitrate d'aluminium (Al (NO₃)₃, 9H₂O)
 - 1 M Potassium acétate (CH₃COOK)
 - Quercetine
 - DPPH
 - Trolox (utilisé comme standard)
 - K₂S₂O₈
 - ABTS
 - TCA
 - K₃Fe (CN)₆
 - FeCl₃
 - Phosphate buffer
 - Phenanthroline
 - Ferric chloride FeCl₃
 - NaH₂PO₄, 2H₂O
 - NaHCO₃, NaOH
 - DTNB
 - ACi (Acetylthiocholine iodide)
 - AChE
 - Galanthamine (utilisé comme standard).
- **Instruments utilisés :**

Un lecteur de microplaque (**Perkin Elmer, Enspire**) à 96 puits de volume 200 µl pour chaque puits.
- **Parmi l'appareillage utilisé :**
 - Extraits végétaux des deux plantes (*Marrubium Vulgare* et *ArtemisiaHerbaAlba*).

- Bec benzène.
- Boîtes de pétries.
- Pipette pasteur.
- Anse de platine.
- Etuve.
- Eau physiologique stérile.
- Vortex.
- Autoclave.
- Les écouvillons.
- Micropipette.
- Disques de papier Wattman stérile.

INTRODUCTION GENERALE

Introduction

L'usage de la médecine traditionnelle est très répandu en Afrique. Les plantes médicinales ont toujours eu une place importante dans l'arsenal thérapeutique de l'humanité. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), environ 65 à 80 % de la population dans les pays en développement, dépendent essentiellement des plantes médicinales traditionnelles pour leurs soins de santé primaire (OMS, 2002).

Le stress oxydatif est impliqué dans un large spectre de maladies qui ont un impact énorme sur la santé des populations. Le métabolisme aérobie chez les mammifères génère des substances appelées espèces réactives de l'oxygène (ERO) qui sont impliquées dans des p C'est en ce sens que l'étude de l'activité antioxydante des plantes est aujourd'hui devenue importante, car on peut retrouver dans les végétaux de puissants antioxydants processus physiologiques (Favier, 2003).

Les plantes produisent également des composés organiques ayant une activité antimicrobienne. Ces composés présentent un intérêt parce que la résistance aux antibiotiques est devenue un problème de santé publique dans le monde entier notamment en termes de maladies d'origine alimentaire et les infections nosocomiales (Anderson et al., 2001).

Cependant, du fait d'une utilisation anarchique, inadéquate et abusive des antibiotiques en santé humaine et vétérinaire, on assiste aujourd'hui à l'émergence de bactéries multi résistantes (Savard P. Y. 2003). De nombreux cas de multi-résistance ont été rapportés pour la côte d'Ivoire et d'autres pays d'Afrique subsaharienne. (Akinyemi ke al, 2005), (Guessennd N., et al, 2009).

Dans le cadre de notre étude nous nous sommes intéressés à deux plantes médicinales algériennes très répandue en Algérie et largement utilisée en médecine traditionnelle.

L'Armoise blanche (*Artemisia herba alba*) et le Marrube blanc (*Marrubium vulgare*) sont largement utilisés dans le bassin méditerranéen pour leurs nombreuses vertus thérapeutiques (contre le diabète, les infections des voies respiratoires et les troubles de la sécrétion biliaire.

Notre travail se scinde en trois parties :

- ❖ La première partie consacrée à une revue bibliographique et aux données nouvelles sur notre sujet de recherche ;
- ❖ La deuxième partie, nous nous sommes focalisés sur le matériel et les méthodes utilisées dans notre travail. Notamment, les méthodes utilisées pour le criblage photochimique, l'extraction, le dosage colorimétrique (des polyphénols et les flavonoïdes), les activités antioxydants et l'activité antibactérienne ;
- ❖ La troisième partie, nous donnons tous les résultats et la discussion de chaque expérimentation de notre travail. Et nous terminons par une conclusion et des perspectives.

PARTIE 01

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Monographie des plantes

1.1 *Artemisia herba alba* (Armoise blanche)

1.1.1 Caractéristiques

L'*Artemisia herba-alba* (armoise herbe blanche) a été décrite par l'historien grec Xénophon, dès le début du IV^e siècle av. J.-C., dans les steppes de la Mésopotamie (KHIREDDINE, 2013). Elle a été répertoriée en 1779 par le botaniste espagnol Ignacio Jordán Claudio de Assoydel Rio.

C'est une plante essentiellement fourragère, très appréciée par le bétail comme pâturage d'hiver. Elle présente une odeur caractéristique d'huile de thymol et un goût amer d'où son caractère astringent.

La floraison de cette espèce débute le plus souvent en juin mais les fleurs se développent essentiellement à la fin de l'été.

Il a été rapporté que le genre *Artemisia* est riche en métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les acides cafféoylquinic, les coumarines, les huiles essentielles, les stérols et les acétylènes (Kundan et Anupam., 2010).

Tableaux N°01 : Nomenclature d'*Artemisia herba-alba*

Nom Scientifique	<i>Artemisia herba-alba</i>
Famille	Astéracées
Nom Commun	Armoise blanche
Nom Local	الشبح

1.1.2 Origine

L'*Artemisia* est le nom de guerre des armoises, il provient de celui de la déesse grecque de la chasse Artémis, la diane des romains, patronne des vierges à cause des bienfaits de cette herbe. Herba alba signifie herbe blanche.

Plusieurs noms sont attribués à l'armoise blanche tel le thym des steppes, absinthe du désert. En Afrique du nord et en moyen orient, on l'appelle communément « Shih » ou « Chih ».

1.1.3 Taxonomie et classification

Le genre *Artemisia* comporte plus de 200 espèces. L'*Artemisia herba-alba* fait partie de la famille des composées provenant de l'embranchement de phanérogames. C'est une famille qui compte plus de 1000 genres et 1500 espèces. (Deysson ,1967). Selon(Quezel et Santa 1963), l'armoise blanche est classée comme suit :

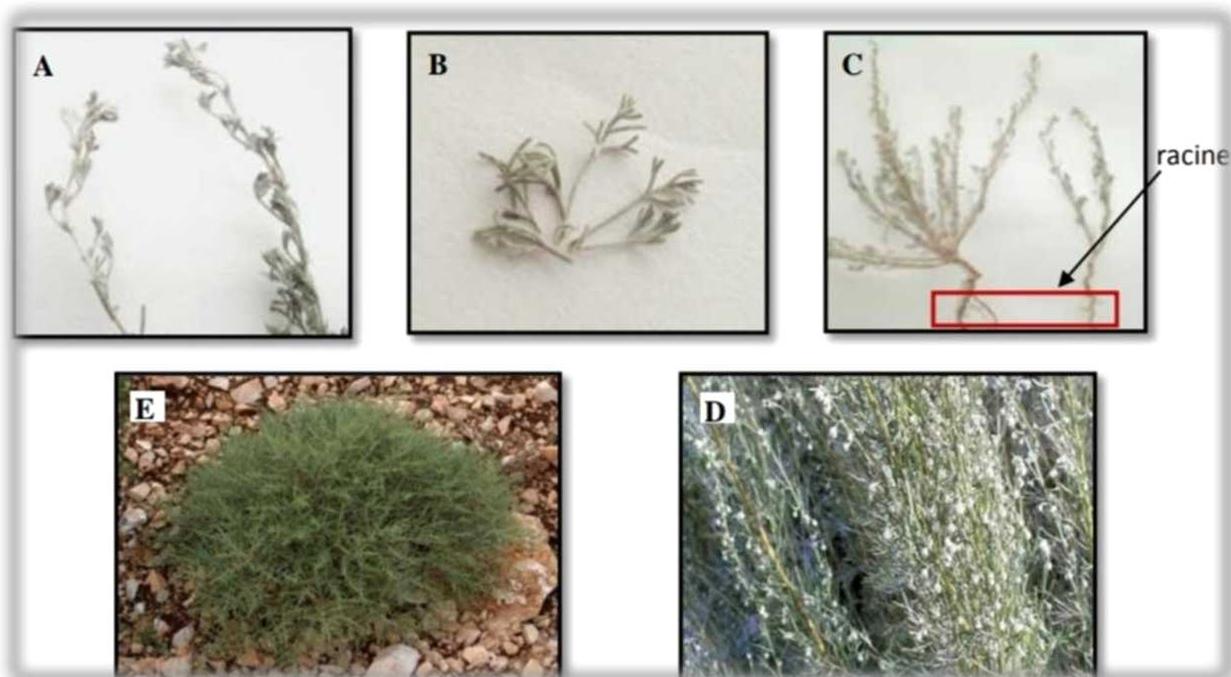
Tableau N°02 : Classification de la plante *Artemisia herba-alba*

Embranchement	Phanérogames
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Gamopétales
Ordre	Astérales
Familles	Composées
Sous famille	Tubilifoidées
Tribu	Antimidées
Genre	<i>Artemisia</i>
Espèce	<i>Artemisia herba-alba</i> Asso.

1.1.4 Description botanique

L'*Artemisia herba alba asso* est une plante ligneuse sous forme de buissons blancs laineux de 30 à 80 cm de hauteur ; elle pousse généralement en touffes de tailles réduites fragmentées par le piétinement des animaux et l'action érosive du vent (Aidoud A., 1983.).

La tige porte des expansions latérales des rameaux et des feuilles. Les feuilles sont de taille très réduite de 3 à 5 folioles par feuille, elles sont blanches, laineuses, courtes et pubescentes (Aidoud A., 1983). Les fleurs sont jaunes, groupées en capitules ; le fruit ne contient qu'une seule graine. Les racines sont très épaisses, laineuses, très enfoncées et tiennent solidement au sol.



A : Tiges ; B : Feuilles ; C : Parties Racines ; D : Fleurs ; E : Partie Aérienne

Figure N°01 : Armoise blanche et ses différentes parties (Bekaa ,2009 ; Trudel,2016 ; Anonyme, 2019).

1.1.5 Composition chimique

Au Maghreb, l'*Artemisia herba-alba* constitue un fourrage particulièrement intéressant. En effet, la plante présente un taux de cellulose beaucoup moins élevé malgré que son aspect extérieur indique l'inverse (17 à 33%). La matière sèche (MS) apporte entre 6 et 11% de matière protéique brute dont 72% est constituée d'acides aminés. Le taux de carotène varie entre 1,3 et 7mg/kg selon les saisons (Fenardji et al., 1974). La valeur énergétique de l'armoise herbe blanche, très faible en hiver (0,2à0,4 UF/kg MS), augmente rapidement au printemps (0,92 UF/kg MS) pour diminuer de nouveau en été (0,6 UF/kg MS).

En automne, les pluies de septembre provoquent une nouvelle période de croissance et la valeur énergétique augmente de nouveau (0,8UF/kg MS) (**Aidoud, 1989**). Les plantes de la famille des Astéracées, auquel appartient l'*Artemisia herba-alba*, ont fait l'objet de plusieurs études phytochimiques par intérêt économique surtout pour leurs huiles essentielles. Les molécules identifiées sont les sesquiterpènes lactones, les coumarines et les hydrocarbures acétyléniques (**Da Silva, 2004**).

❖ **Terpènes de l'*Artemisia herba-alba***

Les terpènes sont des polymères constitués d'unités en C5. Les monoterpènes (en C10) sont des substances légèrement volatiles qui forment les huiles essentielles. Ils protègent les végétaux contre les parasites, inhibent la croissance bactérienne et attirent les animaux pollinisateurs (**Lüttge et al., 1992**).

Les principaux monoterpènes identifiés dans l'*Artemisia herba alba* sont le thujone (Monoterpène lactone), le 1,8-cinéol et le thymol (Duke, 1992). Des monoterpènes alcooliques (yomogi alcool, santoline alcool) ont été mis en évidence (**Segal, 1980**).

On a aussi identifié des sesquiterpènes (3 unités en C5) et des sesquiterpènes lactones dans plusieurs chémotypes du Moyen-Orient (**Segal, 1985**). Le thujone est probablement l'un des constituants terpéniques les plus bioactifs de l'Armoise. Son nom provient de Thuya (*Thuja occidentalis*) plante de laquelle il a été extrait pour la première fois. On l'a identifié également dans d'autres espèces, comme l'Absinthe (*Artemisia absinthium*) et l'Armoise romaine (*Artemisia pontica*). Structuellement lié au menthol, il est constitué d'un cycle en C6 (cyclohexane) avec en plus un groupement exocyclique isopropyl et un groupement lactone. Le thujone est un composé chiral présent à l'état naturel sous forme de deux stéréoisomères : l'alpha-thujone et le bêta-thujone (**Patocka et Plucar, 2003**).

❖ **Flavonoïdes de l'*Artemisia herba-alba***

Ce sont des composés phénoliques qui contribuent à la pigmentation de la plante.

Très ubiquitaires, certains d'entre eux jouent le rôle de phytoalexines, métabolites synthétisés par la plante pour lutter contre diverses parasitoses. Les flavonoïdes sont rencontrés à l'état libre (soluble) ou liés à un sucre (glycosides) dans le liquide vacuolaire.

La coloration des dérivés dépend des différentes substitutions de l'atome d'hydrogène sur divers cycles, de la formation de complexes avec les ions métalliques (Fe^{3+} , Al^{3+}) et du pH (Lüttge et al., 1992). Les principaux flavonoïdes isolés à partir de l'*Artemisia herba alba* sont l'hispiduline, la 12 cirsimarine (Shen et al., 1994).

Des flavones glycosides comme la 3-rutinoside quercétine et l'isovitexine ont été mis en évidence chez des chémotypes du Sinaï (Saleh et al., 1985).

1.1.6 Répartition géographique

Artemisia herba-alba est une espèce caractéristique des zones arides du bassin méditerranéen (Salido et al., 2004). En Afrique du Nord, *Artemisia herba-alba* occupe des immenses étendues dans les zones arides et semi-arides des pays du Maghreb (Algérie, Maroc et Tunisie) et s'étend à l'Est vers la Lybie et l'Égypte (Quézel et Santa, 1963 ; Ouyahya, 1987 ; Le Houerou, 1995 ; Ferchichi, 1997).

En Algérie, *Artemisia herba-alba* est distribuée dans les zones steppiques sur une bande longue de 1200 km, allant de la frontière Tunisienne jusqu'à la frontière Marocaine, et constituée des hautes plaines steppiques de l'Ouest et du Centre, de la cuvette du Hodna et des hauts plateaux Constantinois. C'est dans le Sud Oranais où elle est la mieux représentée en formant un paysage végétal très monotone (Djebaili et al., 1995). Ses limites vers le Nord s'étendent jusqu'à la bordure Sud de l'Atlas tellien Orano-Algérois et le secteur de tell Constantinois, et au Sud jusqu'à la région steppique présaharienne (piémonts Sud de l'atlas saharien et plateau saharien Sud).

Elle est présente aussi dans le Hoggar à l'extrême Sud Algérien sur des altitudes allant jusqu'à 2000 m. Des stations d'*Artemisia herba-alba* var. *oranensis* Deb. ont été signalées par Debeaux dans les sahels littoraux du secteur Oranais (Battandieret Trabaut, 1888; Quézel et Santa, 1963).

1.1.7 Usages de la plante

D'après des éleveurs, cette espèce est souvent préconisée dans l'alimentation des ovins comme vermifuge. Elle est aussi utilisée dans la médecine traditionnelle pour faciliter la digestion, calmer les douleurs abdominales et celles du foie, dans le traitement du diabète et comme vermifuge (Belakhdar, 1997 ; Baba Aissa, 2000). Les racines sont efficaces contre les convulsions (Baba Aissa, 2000).

1.2 *Marrubium vulgare* (marrube blanc)

1.2.1 Caractéristiques

Le marrube blanc est une plante herbacée, vivace, du genre *Marrubium* et de la famille des Lamiaceae.

Les Labiées ou Lamiacées constituent une importante famille de plantes angiospermes dicotylédones herbacées ou légèrement ligneuses et comprennent, C'est une famille très importante en Algérie, représentée par 28 genres et 146 espèces.

Le genre *Marrubium* comporte 97 espèces, parmi lesquelles on peut citer : *M. globosum*, *M. peregrinum*, *M. velutinum*, *M. parviflorum*, *M. deserti* et *M. vulgare*. Cette dernière espèce est appartient à l'ordre des Lamiales, qui font partie des Angiospermes (plante à fleurs) Phanérogames (plante à graines) dicotylédones (Hennebelle et al, 2007).

Tableaux N° 3 : Nomenclature de *Marrubium vulgare*

Non Scientifique	<i>Marrubium vulgare</i>
Famille	Lamiacées
Nom Commun	Marrube
Nom Local	مرويت

1.2.2 Origine

Les Lamiacées sont surtout des plantes méditerranéennes qui, au Sahara ne se rencontrent guère que dans la région présaharienne et dans l'étage supérieur du Hoggar, sauf les trois espèces *Marrubium deserti*, *Salvia aegyptica* et *Teucrium polium* qui sont plus largement répandues et en particulier, les deux lères espèces (Ozenda, 2004).

1.2.3 Taxonomie et classification

Selon Judd et al., (2002) la position systématique de l'espèce *Marrubium vulgare* est

Tableau N°04 : Classification de la plante *Marrubium Vulgare*

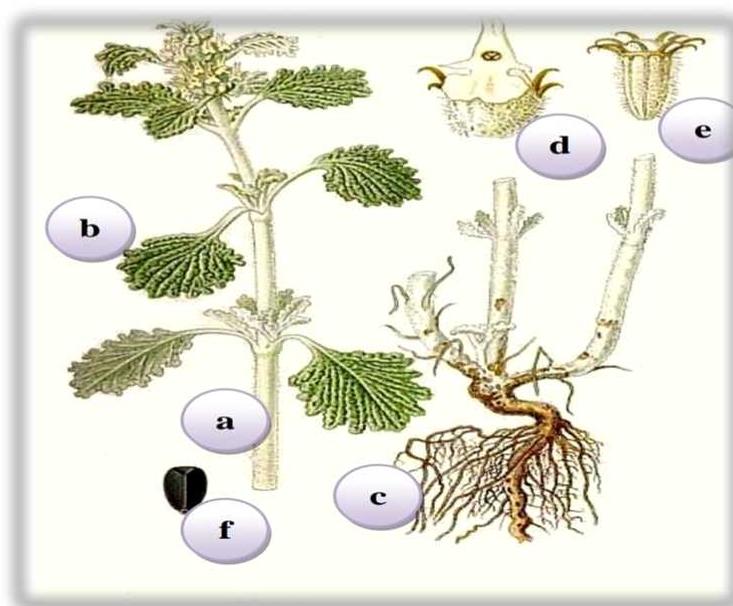
Règne	Végétale
Embranchement	Angiosperme
Classe	Eudicotylédones

Sous-classe	Gamopétale.
Ordre	Lamiacées
Famille	Lamiales
Genre	<i>Marrubium</i>
Espèce	<i>Marrubium vulgare</i> L

Les noms donnés à la plante sont les suivants : en Algérie est connue par le nom Marriouth (**Quezel et Santa, 1963**), Merrîwt au Maroc (**Bellakhdar, 1997**), Marroubia en Tunisie (**Boukef, 1986**).

1.2.4 Description botanique

Le *Marrubium vulgare* est un arbuste, d'aspect blanchâtre très rameux, à poils laineux appliqués, à feuilles petites en coin à la base et portant quelques dents au sommet, fleurs en petites glomérules à l'aisselle des paires de feuilles, corolle petite par rapport au calice tubuleux, celui-ci s'accroissant considérablement par sa partie supérieure en formant autour du fruit une auréole membraneuse (**Ozenda, 2004**).



a. Tige ; **b.** Feuille ; **c.** Racine (partie souterraine) ; **d.** Fleur ; **e.** Calice ; **f.** Graine.

Figure N°02 : La plante *Marrubium vulgare* (**Boullard, 2001**).

1.2.5 Composition chimique

On y trouve des diterpènes amers de la série des furanolabdanes et surtout des composés de lactones : marrubiine principalement et son précurseur préfuranique, la prémarrubiine, 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, 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% : α -pinène, camphène, lomonène) (**Wichtl et Anton, 2003**).

1.2.6 Répartition géographique

Selon **Judd et al, (2002)**, la distribution géographique des lamiacées est cosmopolite. Les Lamiacées sont rencontrées sous tous les climats, à toutes les latitudes. 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 Lamiacées se concentrent dans la région méditerranéenne (**Bruneton, 2001**).

Les Lamiacées comprennent environ 2 500 espèces dont l'aire de disposition est extrêmement étendue, elles sont particulièrement abondantes dans la région méditerranéenne (**Crété, 1965**).

1.2.7 Usage de la plante

Cette plante est traditionnellement utilisée dans le traitement symptomatique de la toux et au cours des affections bronchiques aiguës et bénignes. Elle est considérée comme expectorante et fluidicatrice des sécrétions bronchiques en cas de toux productive. Elle donne des résultats satisfaisants dans le cas des bronchites et les inflammations de la gorge, elle pourrait être antispasmodique et tonique amer. Selon les populations anciennes, le *Marrube* aurait une action hypoglycémiante (**Roman et al, 1992**), (**Novaes et al, 2001**). Cependant, les résultats d'un essai conduit récemment au Mexique sur 43 sujets diabétiques qui résistaient au traitement classique révèlent que le *Marrube* n'a pas eu d'effet significatif sur la glycémie (**Herrera et al, 2004**). La prudence s'impose tout de même pour l'heure. Il n'y a pas eu sur le

Marrube d'essais cliniques en double aveugle. Ses usages sont des usages traditionnels bien établis et des études pharmacologiques sur l'animal.

2. Phytothérapie

Le mot "phytothérapie" se compose étymologiquement de deux racines grecques: phuton et therapeia qui signifient respectivement "plante" et "traitement". La Phytothérapie peut donc se définir comme étant une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes (Wichtl M. Anton R, 2003), qu'elles soient consommées ou utilisées en voie externe. Depuis 1987, la phytothérapie est reconnue à part entière par l'Académie de médecine (**Institut Européen des Substances Végétales**). Il est important de ne pas confondre cette discipline avec la phytopharmacie qui, quant à elle, désigne l'ensemble des substances utilisées pour traiter les plantes, à savoir les pesticides, fongicides, herbicides, ou encore insecticides (Prescrire, 2007).

On distingue deux types de phytothérapies :

➤ La phytothérapie traditionnelle

C'est une thérapie de substitution qui a pour but de traiter les symptômes d'une affection. Ses origines peuvent parfois être très anciennes et elle se base sur l'utilisation de plantes selon les vertus découvertes empiriquement (Prescrire, 2007).

➤ La phytothérapie clinique

C'est une médecine de terrain dans laquelle le malade passe avant la maladie. Une approche globale du patient et de son environnement est nécessaire pour déterminer le traitement, ainsi qu'un examen clinique complet (Morceau B, 2003).

L'atout premier de la phytothérapie est l'exceptionnelle tolérance des plantes médicinales, si elles sont choisies soigneusement en respectant les indications, contre-indications et en tenant compte des interactions éventuelles. Cet avantage permet d'éviter les effets secondaires, les problèmes de rebond, de rétrocontrôles négatifs et de dépendance si fréquemment rencontrés avec les médicaments de synthèse (**Institut Européen des Substances Végétales**)

De nos jours, la Phytothérapie est basée sur les avancées scientifiques et les recherches des extraits actifs des plantes. Une fois identifiés ces derniers sont standardisés. Cette pratique conduit aux phytomédicaments et selon la réglementation en vigueur dans le pays, la circulation de ces derniers est

soumise à l'autorisation de mise sur le marché. On parle alors de Pharmacognosie ou de biologie pharmaceutique (Monnier C, 2002).

La phytothérapie moderne trouve donc sa justification dans la pharmacognosie, aspect multidisciplinaire de la connaissance du végétal et de ses propriétés. Enfin il est important de préciser que connaître une plante, c'est aussi être conscient de ses limites et de ses dangers car la phytothérapie n'est en aucun cas une technique anodine. Son utilisation thérapeutique nécessite une bonne connaissance de la matière médicale (Institut Européen des Substances Végétales).

3. Les plantes médicinales

D'après la Xème édition de la Pharmacopée française, les plantes médicinales "sont des drogues végétales au sens de la Pharmacopée européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses ». Ces plantes médicinales peuvent également avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques.

En d'autres termes nous pouvons dire qu'une plante médicinale est une plante dont un des organes, par exemple la feuille ou l'écorce, possède des vertus curatives lorsqu'il est utilisé à un certain dosage et d'une manière précise. Au Moyen Âge, on parlait de « simples » (Debuigne G.1997).

Dans le Code de la Santé Publique, il n'existe pas de définition légale d'une plante médicinale au sens juridique (Morceau B, 2003). C'est une plante, non mentionnée en tant que médicinale, qui est en vente libre par les pharmaciens.

On peut distinguer deux types de plantes médicinales : En premier lieu se trouve l'allopathie dans laquelle les plantes ont une action importante et immédiate. Beaucoup des plantes utilisées dans ce mode de traitement peuvent s'avérer toxiques. En effet deux tiers des médicaments sur le marché ont d'origine naturelle, principalement végétale. Puis on différencie les plantes dépourvues d'effet iatrogène mais ayant une activité faible. Elles sont utilisées en l'état ou dans des fractions réalisant le totum de la plante, soit la totalité des constituants (Morceau B, 2003).

La plante, organisme vivant, marque son identité par des spécificités morphologiques, à l'origine de la classification botanique, mais aussi biochimiques, liées à des voies de biosynthèses inédites, représentant l'intérêt de l'usage des plantes médicinales (Bruneton J, 1987).

4. Métabolites des plantes

Les plantes ont développé au cours de l'évolution des substances (qu'on nomme ici principes actifs) avec des fonctions différentes, cela peut être un moyen de défense contre des parasites ou autres agresseurs (micro-organismes), une technique pour empêcher la croissance d'autres

plantes à proximité et donc lui assurer une bonne nutrition, comme moyen de croissance ou pour le renouvellement de l'espèce.

La concentration en principes actifs d'une plante varie en fonction de l'âge du végétal, de la saison, du climat et de l'environnement en général (sécheresse, pollution, etc.). C'est pourquoi il est important de bien connaître le meilleur moment de l'année, et même du jour (matin, journée, soir, nuit), pour récolter la plante (**Pelt J.-M, 1980.**)

4.1. Métabolites primaires

Un métabolite primaire est un type de métabolite qui est directement impliqué dans la croissance, le développement et la reproduction normale d'un organisme ou d'une cellule.

- Les glucides, source d'énergie, paroi cellulaire
- Les lipides, source d'énergie, membranes cellulaires
- Les acides aminés, source primaire de construction des protéines

4.2. Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes.

On distingue classiquement trois grandes catégories de métabolites secondaires chez les végétaux :

- Les composés phénoliques.
- Les composés terpéniques.
- Les alcaloïdes.

Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine. Ils présentent une énorme valeur économique (en particulier pour l'industrie pharmaceutique et la cosmétique (**Aref et Heded, 2015**)).

4.2.1. Composés phénoliques

Les composés phénoliques ou les polyphénols (PP) constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. Sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance,

ou la reproduction (Yusuf, 2006). Ils possèdent un noyau aromatique portant un ou plusieurs groupements hydroxyles

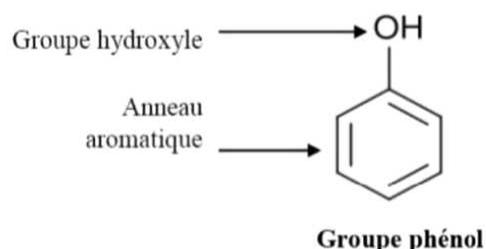


Figure N°03 : Structure chimique des composés phénoliques (Manallah, 2012)

Les polyphénols sont des produits de la condensation de molécules d'acétylcoenzyme A et de phénylalanine. Cette biosynthèse a permis la formation d'une grande diversité de molécules qui sont spécifiques d'une espèce de plante, d'un organe ou d'un tissu particulier (Nkhili, 2009).

Les polyphénols peuvent être subdivisés en 03 classes principales : les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins.

➤ Les acides phénoliques

Les acides phénols, ou acides phénoliques, sont rares dans la nature. Ce sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ils présentent des propriétés biologiques intéressantes : anti inflammatoires, antiseptiques urinaire, anti radicalaires, cholagogues, hépato protecteurs, cholérétiques, immunostimulants (Bruneton, J, 1999)

Ces composés sont représentés par deux sous-classes : les acides hydroxybenzoïques (protocatéchique, vanillique, gallique) sont dérivés de l'acide benzoïque et ont une formule de base de type C6-C1 (Macheix et al, 2005). Les acides hydroxy cinnamiques, d'autre part, ont la structure C6-C3 (acide caféique – férulique-sinapique) et ont une distribution très large (Bruneton, 1996).

➤ Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux. Ils interviennent aussi dans les

processus de défense contre le rayonnement UV, les herbivores et les attaques microbiennes (Bruneton, 2015). Le terme flavonoïde regroupe une très large gamme de composés naturels polyphénoliques. On dénombre près de 6500 flavonoïdes répartis en 12 classes (Stöckigt et al., 2002) et leur nombre ne cesse d'accroître.

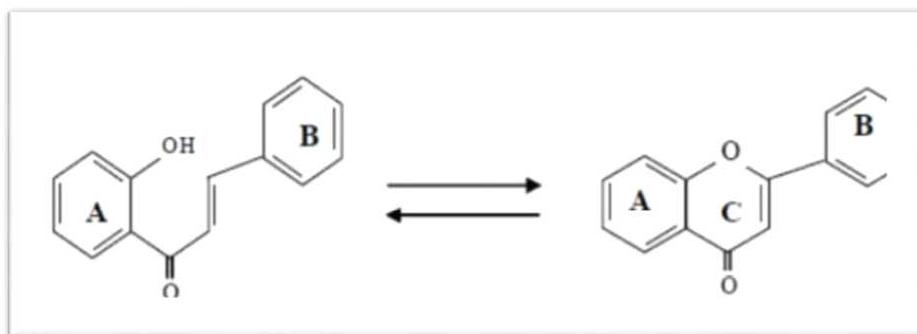


Figure N°04 : Structure d'un flavonoïde

De nos jours, les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical ou on leur reconnaît des activités antivirales, anti-tumorales, anti-inflammatoires, antiallergiques, antioxydants et anti-cancéreuses (Meddleton et Kardasnam, 1993).

La famille des flavonoïdes peut se diviser en six classes qui diffèrent par leurs structures chimiques : flavanols, flavones, flavonols, flavanones, isoflavones et anthocyanidines (Medic et al., 2004).

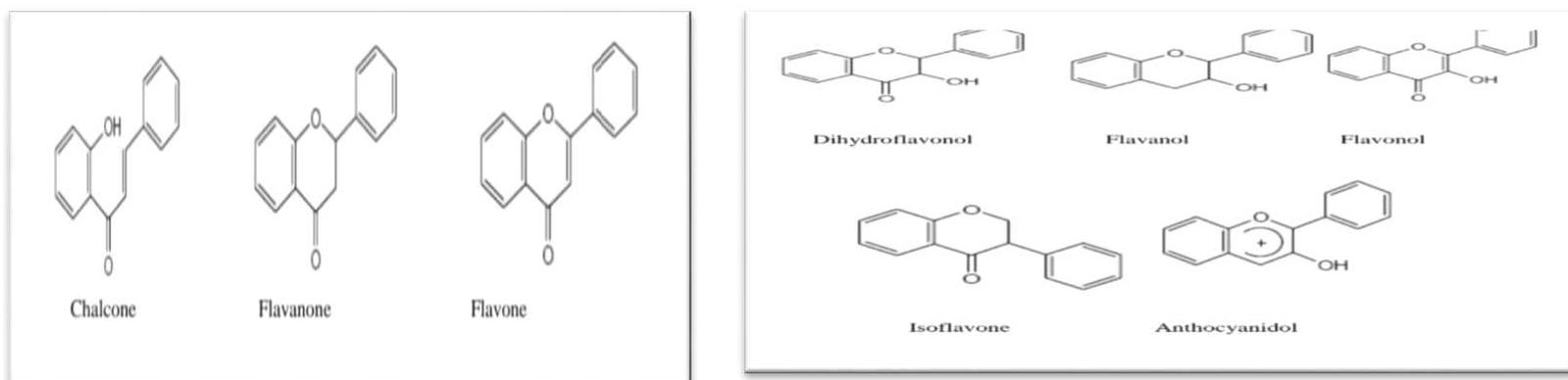


Figure N°05 : Structure de quelques classes de flavonoïdes

➤ **Les tanins**

Ils sont d'origine végétale et non azotée, de structure polyphénolique, solubles dans l'eau, l'alcool, l'acétone, peu soluble dans l'éther, de saveur astringente et ayant la propriété commune de tanner la peau en la rendant imputrescible et imperméable en se fixant sur les protéines. Les tanins existent à l'état de complexe, les tannoïdes ; certains combinés à des sucres dénommés tanosides. Les tanins sont répandus dans le règne végétal surtout certaines familles. Tous les organes peuvent en fermer : racine, rhizome, écorce, feuille, fleur, fruits, cynorrhodons, graines, bois (**Bruneton, 1999 ; Paris, 1969**).

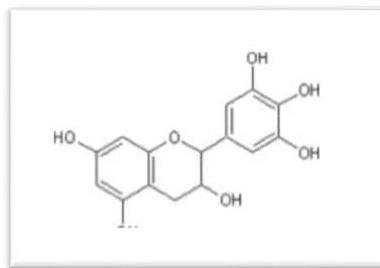


Figure N°06 : Structure des tanins

Il y a deux types de tanins ; les tanins hydrolysables sont les tanins galliques et tanins ellagiques (les acides sont acide gallique et acide ellagique). Les tanins condensés sont non hydrolysables ou tanins catéchiques.

*** Tanins hydrolysables**

Les tanins hydrolysables sont des polyesters de glucides et d'acides phénols, ils sont facilement scindés par les enzymes de tannases en oses et en acide phénol, selon la nature de celui-ci on distingue : les tanins galliques, et les tanins ellagiques (**Paris M et Hurabielle., 1981**).

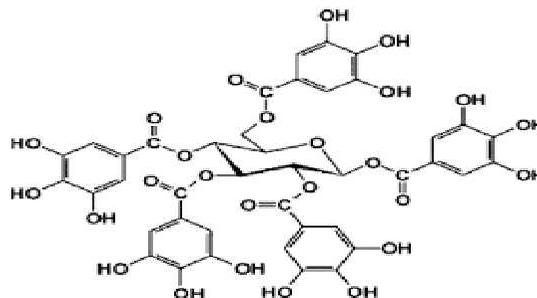


Figure N°07 : Tanins hydrolysable

✓ **Tanins galliques (Gallo tanins)**

Ils donnent par l'hydrolyse des oses et de l'acide gallique.

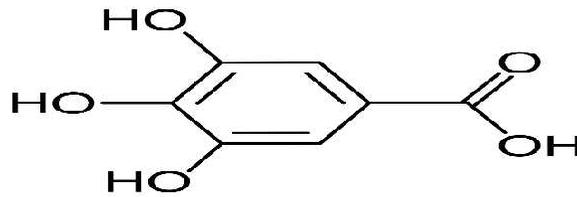


Figure N°08 : Structure de l'acide gallique (Bruneton, 1981)

✓ **Tanins ellagiques (Ellagitanins)**

Ils sont scindés par les enzymes en oses et en acide ellagique.

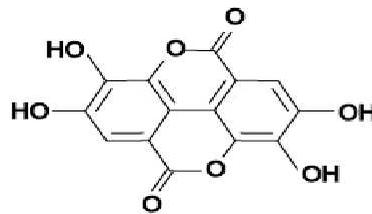


Figure N°09 : Structure de l'acide ellagique (Paris et Hurabielle, 1981)

• **Tanins condensés**

Les tanins condensés sont des polymères flavanolique constitués d'unités flavanplus souvent épicatechine, leur structure voisine de celle des flavonoïdes est caractérisée par l'absence de sucre (Paris et Hurabielle., 1981).

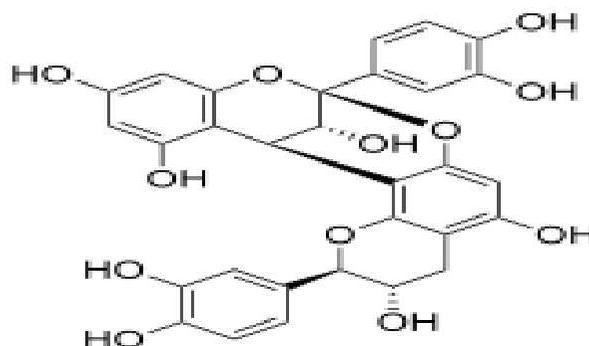


Figure N°10 : Tanins condensés (Paris et Hurabielle., 1981)

4.2.2. Terpènes

Appelés aussi terpènes, constituent un vaste groupe de métabolites secondaires, sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou de chaîne ouverte (Hellal, 2011).

Ils répondent dans la plupart de cas à la formule générale (C₅H₈) (Seenivasan, 2006) c'est-à-dire leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'unité isoprénique à 5 atomes de carbone (Hernandez, 2005).

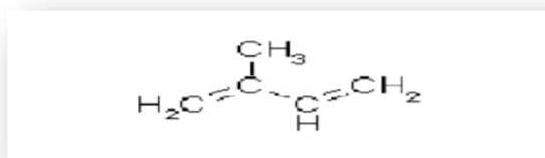


Figure N°11 : Structure de la molécule d'isoprènes

Les terpénoïdes sont des métabolites secondaires synthétisés par les plantes, les organismes marins, les champignons et même les animaux, ils résultent de l'enchaînement de plusieurs unités isopréniques (Bhats et al, 2005).

Selon le nombre d'unités isopréniques qui les constituent, on peut distinguer pour ; **n = 2** : les monoterpènes (C₁₀), **n = 3** : les sesquiterpènes (C₁₅), **n = 4** : les diterpènes (C₂₀), **n = 5** : les sesterpènes (C₂₅), **n = 6** : les triterpènes (C₃₀) (Soldermann, 2002).

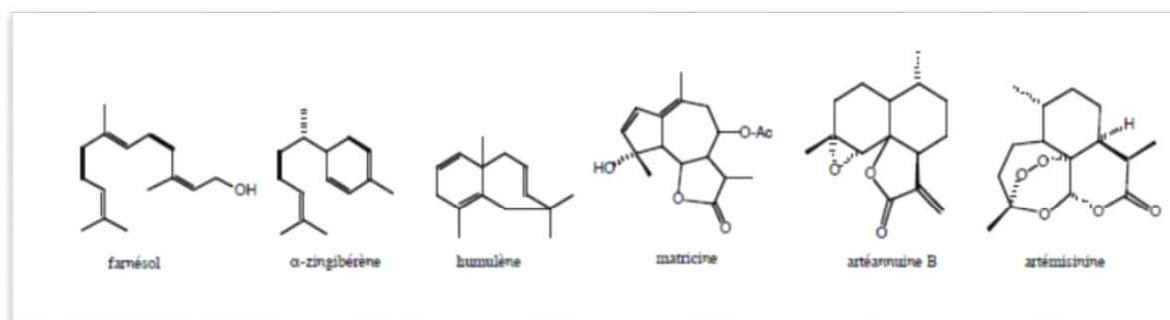


Figure N°12 : Structure de quelques sesquiterpènes (Vercauteren J, 2007)

4.2.3. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques le plus souvent d'origine végétale, azotées, basiques (Zenk et Juenger, 2007). Leur synthèse, se fait au niveau du réticulum endoplasmique (Guignard et al., 1985). Ils trouvent cependant plusieurs applications

pharmaceutiques chez l'homme, anti tumoraux (taxol), vasodilatateurs (vincamine) (**Kone, 2009**).

Les alcaloïdes sont généralement classés en :(**Kebiliz, 2016**).

- **Alcaloïdes vrais** : Les alcaloïdes vrais contiennent ordinairement un azote hétérocyclique dans leurs structures qui dérivent des acides aminés.
- **Pseudo-alcaloïdes** : Les pseudo-alcaloïdes présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais mais ce ne sont pas des dérivés des acides aminés.
- **Proto- alcaloïdes** : Les proto-alcaloïdes sont des amines simples dont l'atome d'azote n'est pas inclut dans un système hétérocyclique mais forme plutôt des groupements aminés latéraux. Ils sont biosynthétisés à partir des acides aminés.

Les alcaloïdes présentent fréquemment de propriétés pharmacologiques marquées et ont de nombreuses subtilisations en thérapeutique, notamment au niveau de système nerveux central, du système nerveux autonome et du système cardiovasculaire. On notera aussi l'existence d'antitumoraux, d'antiparasitaires et de curarisants.

Ces nombreuses activités conduisent à une utilisation importante des drogues à alcaloïdes (**Aref et Heded ., 2015**).

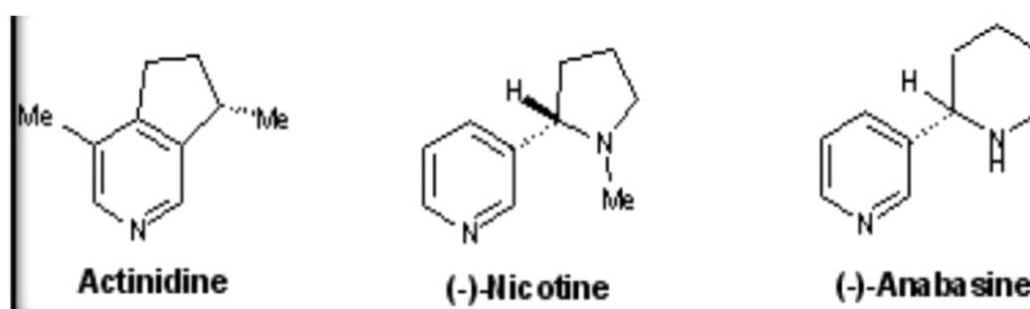


Figure N°13 : Structure des quelques alcaloïdes

4.3. Propriétés biologiques des polyphénols

Les recherches récentes sur les composés phénoliques en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussées en raison de leurs diverses propriétés physiologiques comme les activités antiallergiques, anti-atherogéniques, anti-inflammatoires, hépato protectives, antimicrobiennes, antivirales, anti carcinogéniques, anti-thrombotiques, cardioprotective et vaso-dilatatoire (**Middleton et al., 2000 ; Ksouri et al., 2007**). Ces actions sont attribuées à

leur effet antioxydant qui est due à leurs propriétés redox en jouant un rôle important dans la destruction oxydative par la neutralisation des radicaux libres, piégeage de l'oxygène, ou décomposition des peroxydes (**Pulido et al., 2000 ; Nijveldt et al., 2001**).

En effet, les polyphénols font partie de ce que l'on appelle les phytomicronutriments.

Ce sont les antioxydants les plus abondants dans les aliments puisque l'homme en consomme environ 1 g/jour (**Scalbert et Williamson, 2000**), soit près de dix fois plus que de vitamine C et 100 fois plus que de vitamine E ou de caroténoïdes (**Grolier et al., 2001**).

Ainsi, les propriétés antioxydants ou anti-inflammatoires des polyphénols participent à la prévention de diverses pathologies impliquant le stress oxydant et le vieillissement cellulaire, les maladies cardiovasculaires ou dégénératives, ostéoporose, (**Macheix et al., 2005 ; Sarni Machando et Cheynier, 2006**).

4.4. Relations entre métabolisme secondaire et métabolisme primaire

Les jonctions entre métabolisme primaire et secondaire sont nombreuses et parfois complexes. Les principales sont synthétisées dans le schéma suivant qui indique également l'origine biosynthétique des principales phytohormones. Les étapes enzymatiques les plus représentatives sont :

- La phénylalanine ammonia lyase (PAL) qui initie la synthèse de la plupart des composés phénoliques à partir d'un acide aminé.
- La chalcone synthase qui initie la synthèse des flavonoïdes à partir du malonyl CoA et d'un élément phénylpropane.
- La voie mévalonate indépendante de biosynthèse de l'isopentényl diphosphate (IPP), à l'origine de la synthèse de plus grande partie des terpenoïdes.

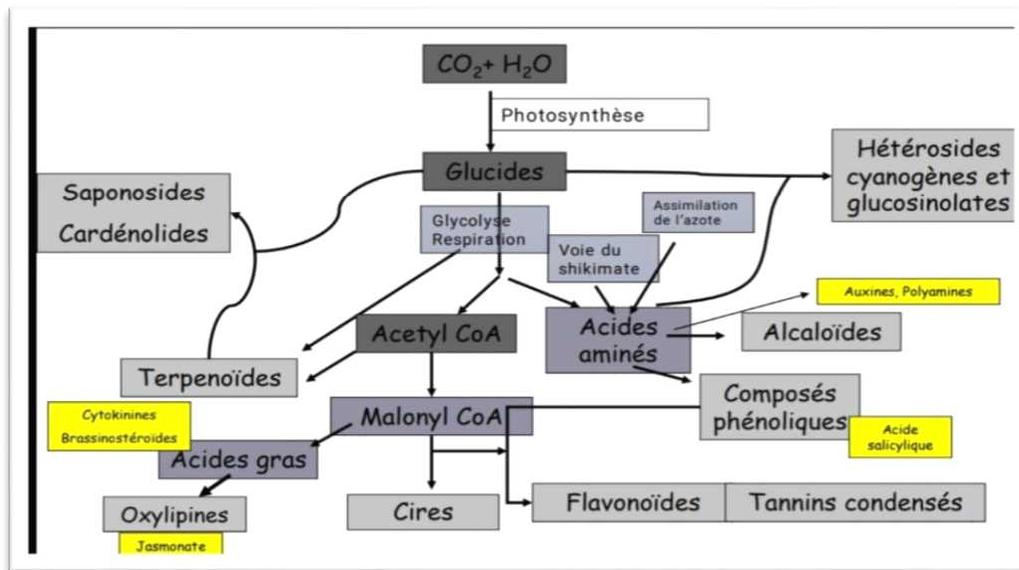


Figure N°14 : Relation entre métabolisme secondaire et métabolisme primaire

5. L'activité antibactérienne

5.2. Définition de l'activité antibactérienne

L'activité antibiotique correspondant à l'activité d'une molécule ou composé présent au sein d'un végétal qui à très faible concentration, inhibe le développement d'une bactérie ou la tue. La sensibilité d'une bactérie à un antibactérien varie selon la nature de l'antibactérien. Face à un antibactérien donné, la sensibilité d'une bactérie peut être très différente selon la souche d'appartenance (Nicolas et Daniel, 1998).

5.3. Rappel sur les bactéries

- Généralités

Les plantes médicinales utilisent les principes actifs comme un moyen de défense naturel pour lutter contre les microorganismes indésirables. (Aggarwal 2009) note que plus de 64 plantes sont dotées d'activités antibactériennes très importantes. Les agents antimicrobiens d'origine végétale peuvent être classés en plusieurs groupes : polyphénols, flavonoïdes, terpénoïdes et alcaloïdes (Daglia, 2011).

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires classés parmi les procaryotes, car ils ne possèdent pas de membrane nucléaire. Ce caractère les distingue des autres organismes

unicellulaires classés parmi les eucaryotes (champignons, algues, protozoaires). Elles sont divisées en bactéries proprement dites (Bacteria) et bactéries primitives (Archaea). Toutes les bactéries rencontrées en pathologie appartiennent aux Bacteria.

Les bactéries ont généralement un diamètre inférieur à 1µm. On peut les voir au microscope optique, à l'état frais ou après coloration. Leur forme peut être sphérique (cocci), en bâtonnet (bacilles), incurvée (vibrions) ou spiralée (spirochètes). Les détails de leur structure ne sont visibles qu'en microscopie électronique. (Nauciel et Vildé., 2005).

5.4. Souches microbiennes étudiées

➤ *Escherichia coli*

Isolée pour la première fois par Escherich en 1885, *Escherichia coli* est l'espèce bactérienne qui a été la plus étudiée par les fundamentalistes pour des travaux de physiologie et de génétique (Avril et al., 2000). Elle représente l'espèce type de genre *Escherichia*. Appelée communément « colibacille » cette espèce possède des caractères biochimiques particuliers permettant de la différencier des espèces voisines.

La production d'indole à partir de tryptophane, l'absence d'utilisation du citrate comme source de carbone et l'absence de production d'acétone (réaction de Voges-Proskauer négative) (Joly et Reynaud, 2007).

Escherichia coli se retrouve en abondance dans la flore commensale humaine, en particulier dans le tube digestif de l'homme qu'elle colonise dès les premières heures de la naissance. Elle constitue l'espèce dominante de la flore aérobie anaérotolérante (Ahoyo et al., 2007 ; Bonacorsi et al., 2001).

Escherichia coli (colibacille), hôtes normaux de l'intestin, ne provoquent normalement pas de maladie. Cependant, ils possèdent un potentiel pathogène qu'ils expriment dans certaines circonstances (pathogènes opportunistes) (CHU-PS, 2003). C'est une des espèces bactériennes les plus souvent rencontrées en pathologie humaine. La plupart sont commensales, mais certaines souches possèdent des facteurs de virulence qui leur permettent de déclencher des diarrhées. *Escherichia coli* est une cause majeure de diarrhée aiguë dans le monde (Berche, 2003). A côté des infections intestinales, elle est responsable d'infections extra-intestinales diverses : urinaires, abdominale, méningées et les bactériémies (Fauchère et Avril, 2002).

➤ *Staphylococcus aureus*

S. aureus sont des cocci à Gram positifs, de forme sphérique, avec un diamètre de 0.8 à 1 µm. Elles sont regroupées en diplocoques ou en petits amas (grappe de raisin). Ce type de bactéries sont immobiles, asporulés, habituellement sans capsule. De nombreuses souches de *S. aureus* produisent un pigment jaune doré (**Patrick et al., 1988**)

C'est l'espèce prédominante chez l'Homme et autres mammifères, la cavité nasale de l'Homme est sa niche préférentielle. Les staphylocoques ont un pouvoir pathogène opportuniste extrêmement large qui s'exerce avec une grande fréquence en milieu hospitalier. Elle est, responsable des infections pyogènes de la peau et des muqueuses, mais aussi osseuses (ostéomyélite), digestives (entérocolites post-antibiotique) et septicémiques (**Leclerc et al., 1995**).

➤ *Pseudomonas aeruginosa*

En 1882, Carle Gessard, pharmacien des armées, réalisa les premiers isollements de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* (du latin « aeruginosus » qui signifie couvert de rouille, en relation avec la couleur métallique des colonies isolées en culture).

P. aeruginosa est une bactérie ubiquitaire, qui vit naturellement à l'état de saprophyte dans l'environnement. Son réservoir naturel et permanent est représenté par l'eau (eaux douces, usées ou marines), les sols humides et les végétaux. Elle peut aussi être présente dans les poussières en suspension dans l'air. Ses exigences nutritives modestes lui permettent de survivre et de se multiplier sur différents supports et matériels, surtout s'ils sont humides. A ce titre, l'hôpital représente un milieu particulièrement propice à son développement (humidité, chaleur, présence de débris organiques) (**Freney J, Renaud F, Leclercq R, Riegel P, 2007**) (**Bertrand X, Slekovec C, Cholley P, Talon D, 2011**)

P. aeruginosa se présente sous la forme de bacille à Gram négatif, parfois incurvé et d'aspect très fin (1 à 3 µm de long et 0.5 à 1 µm de large). C'est un germe non sporulé, mais il peut être entouré d'une pseudo-capsule (ou « slime ») impliquée dans sa pathogénicité.

L'observation d'une goutte d'échantillon clinique entre lame-lamelle met en évidence des bacilles très mobiles se déplaçant en ligne droite, grâce à un flagelle en position polaire (**Freney J, Renaud F, Leclercq R, Riegel P, 2007**).

6. Activité antioxydante

De nos jours, Il existe un intérêt croissant vis-à-vis de la biologie des radicaux libres. Ce n'est pas seulement dû à leur rôle dans des phénomènes aigus tels que le traumatisme ou l'ischémie, mais aussi à leur implication dans de nombreuses pathologies chroniques associées au vieillissement tels que le cancer, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires et la dégénérescence du système immunitaire (**Guinebert et al., 2005**).

6.1. Définition d'un radical libre

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se réappairier, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne. C'est typiquement ce qui se passe lors de la peroxydation lipidique (**Dacosta, 2003**).

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux libres primaires, qui dérivent directement de l'oxygène.

Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires (radical peroxyde ROO•, radical alkoxyde RO•), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (**Novelli, 1997**).

L'ensemble des radicaux libres primaires est souvent appelé "espèces réactives de l'oxygène" (ROS). Cette appellation n'est pas restrictive. Elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit : radical superoxyde $O_2^{\bullet -}$, radical hydroxyl OH^{\bullet} , monoxyde d'azote NO^{\bullet} , mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante : l'oxygène singlet 1O_2 , peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , peroxyde d'azote $ONOO^-$ (**Favier, 2003**).

6.2. Origine des radicaux libres

Il existe deux sources différentes de ces radicaux libres :

➤ Sources endogènes

Les réactions enzymatiques, dont plusieurs d'entre elles sont considérées comme source principale des ERO ex : NADPH oxydase, lipoxigénase, xanthine oxydase (enzyme dans le foie).

La mitochondrie est un élément fondamental pour le fonctionnement de la cellule, dans lequel s'effectue la respiration cellulaire. La consommation de l'oxygène et les différentes réactions du transfert des électrons produisent en performance les ERO. Les ions métalliques présents dans l'organisme ex : fer, cuivre, peuvent coopérer avec des espèces moins réactives pour produire des radicaux hydroxyles (**Boutabet, 2007, Servais, 2002**).

➤ Sources exogènes

Les ERO sont également générées sous l'effet de stress environnementaux comme la pollution, la consommation d'alcool ou médicaments (dont leurs structures peuvent jouer le rôle des accepteur et donneurs d'électron), l'exposition prolongée au soleil, l'effort intense et prolongé ainsi que le tabagisme ; les facteurs interagissant lors des inflammations.

Toutes ces situations provoquent une surproduction des ERO dans l'organisme (**Fuorocci, 2006**). L'infection au VIH a pour effet d'accroître la production de radicaux libres dans l'organisme (**Hosein et Lytle, 2001**).

6.3.1. Principaux radicaux libres

➤ Les ERO (espèces réactives d'oxygène)

Ces espèces constituent l'ensemble des dérivés des radicaux de l'oxygène. Il existe plusieurs formes de ces espèces dont les plus importantes sont les suivantes :

- **L'anion superoxyde** : La molécule d'oxygène, mise en présence d'une quantité d'énergie suffisante, peut acquérir un électron supplémentaire et former ainsi l'anion superoxyde O_2^- . Cet anion intervient comme facteur oxydant dans de nombreuses réactions.



- **Le radical hydroxyle ($OH\cdot$)** : Il est très réactif vis-à-vis des structures organiques et joue un rôle initiateur dans l'auto-oxydation lipidique.
- **Le radicalperoxyde ($ROO\cdot$)**
- **L'oxygène singulet ($O_2\cdot$)** : forme « excitée » de l'oxygène moléculaire, est souvent assimilé à un radical libre en raison de sa forte réactivité (**Hadi, 2004. Mohammadi, 2006 ; Fuorocci 2006. Boutabet 2007**).

6.3.2. Balance Oxydants /Antioxydants et stress oxydant

Les ROS ont des rôles physiologiques très importants en agissant, à faibles concentrations, sur la régulation des réponses biologiques, la transduction du signal et autres voies de signalisation (**Favier, 2003**).

Dans l'ensemble de nos tissus sains, les défenses antioxydantes sont capables de faire face et détruire les radicaux produits en excès. On dit que la balance Oxydants /Antioxydants est en équilibre. Mais dans certaines situations, en raison d'une surproduction radicalaire (tabac, alcool, pollution, ...) ou d'une diminution des capacités antioxydantes (insuffisance d'apports des micronutriments antioxydants, inactivation enzymatiques) un déséquilibre entre la production des radicaux libres et le système de défense est à l'origine d'un état redox altéré de la cellule appelé stress oxydatif (**Sohal et al., 2002**).

Glycation par attachement du cétoaldéhyde (**Marfak, 2003, Bouabet, 2007**). Ce phénomène de glycosoxydation est très important chez les diabétiques et contribue à la fragilité de leurs parois vasculaires et de leur rétine (**Favier, 2003**).

Le stress oxydatif, principale cause initiale de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré, le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes (**Favier,2003**), maladie de Parkinson, les inflammations gastro-intestinale, ulcères (**Atawodi, 2005**), les œdèmes et vieillissement prématuré de la peau (**Georgettial., 2003**).

De nombreuses espèces oxydantes sont produites et bien qu'elles soient souvent indispensables à l'organisme, elles ne sont pas moins responsables de dégâts importants, pour faire face à ces produits oxydants délétères, le corps humain possède tout un arsenal de défenses que l'on qualifie d'antioxydants (**Halliwell et Gutteridage, 1999**).

Pour enrayer le stress oxydant, il faut donc aider la cellule et l'organisme par l'apport d'antioxydants secondaires (vitamine C, E, caroténoïdes, polyphénols) (**Kohen et Nyska, 2002**).

6.3.3. Les conséquences du stress oxydatif

- La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques : oxydation d'ADN, des protéines, des lipides et des glucides. Les lipides

et principalement leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyde, réaction appelée peroxydation lipidique.

- Les conséquences seront différentes : l'attaque des lipides circulants aboutissant à la formation de LDL oxydées qui, captées par des macrophages, formeront le dépôt lipidique de la plaque d'athérome des maladies cardiovasculaires, l'attaque des phospholipides membranaires modifiant la fluidité de la membrane et donc le fonctionnement de nombreux récepteurs et transporteurs et la transduction des signaux **(Favier 2003)**.
- Les radicaux libres peuvent induire des effets mutagènes ou l'arrêt des réplifications de l'ADN. Ils agissent en provoquant des altérations de bases, des ruptures de brins **(Hadi, 2004)**, ils inhibent la sécrétion d'insuline **(Krippeit-Drews et al. 1994)**.
- Par ailleurs, le glucose peut s'oxyde dans des conditions physiologiques, en présence de traces métalliques, en libérant des cétoaldéhydes, H₂O₂ et OH qui entraîneront la coupure de protéines ou leur glycation par attachement du cétoaldéhyde **(Marfak, 2003, Bouabet, 2007)**. Ce phénomène de glycosoxydation est très important chez les diabétiques et contribue à la fragilité de leurs parois vasculaires et de leur rétine **(Favier, 2003)**.
- Le stress oxydatif, principale cause initiale de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré, le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes **(Favier, 2003)**, maladie de Parkinson, les inflammations gastro-intestinale, ulcères **(Atawodi, 2005)**, les oedèmes et vieillissement prématuré de la peau **(Georgettial., 2003)**.
- De nombreuses espèces oxydantes sont produites et bien qu'elles soient souvent indispensables à l'organisme, elles ne sont pas moins responsables de dégâts importants, pour faire face à ces produits oxydants délétères, le corps humain possède tout un arsenal de défenses que l'on qualifie d'antioxydants **(Halliwell et Gutteridage, 1999)**.

6.4. Les antioxydants

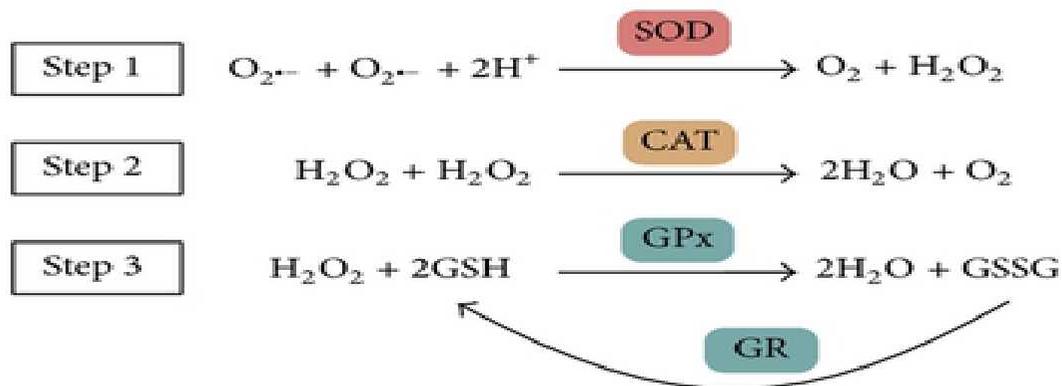
Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ROS. Notre organisme réagit donc de façon constante à cette production permanente de radicaux libres et on distingue au niveau des

cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule (Favier, 2003).

➤ **Les antioxydants primaires**

La cellule est pourvue d'enzymes antioxydantes qui sont des systèmes de défense très efficaces. Cette ligne de défense est constituée de superoxyde dismutase (SOD), de catalase et de peroxydase (glutathion et ascorbate) (Favier, 2006).

Ces enzymes anti oxydantes permettent l'élimination des radicaux libres primaires, selon les réactions suivantes :



De ce fait elles préviennent la formation de radicaux libres organiques à partir des lipides membranaires notamment et contribuent donc à la protection des membranes de la peroxydation lipidique (Dacosta, 2003).

➤ **Les antioxydants secondaires**

Ce sont des molécules exogènes. Contrairement aux enzymes anti oxydantes, une molécule d'antioxydant piège un seul radical libre. Pour pouvoir fonctionner à nouveau, cette molécule d'antioxydant doit donc être régénérée par d'autres systèmes (Dacosta, 2003).

Plusieurs substances pouvant agir en tant qu'antioxydants in vivo ont été proposées. Elles incluent : la vitamine E, l'acide ascorbique, le β -carotène, les flavonoïdes, les composés phénoliques, etc. (Kohen et Nyska, 2002).

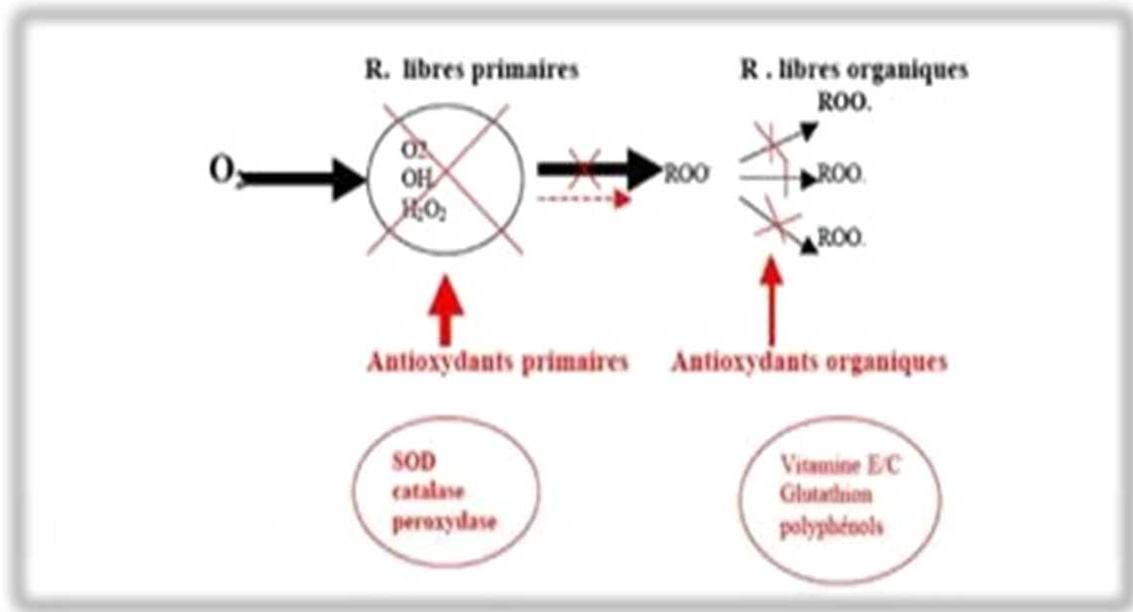


Figure N°15 : les systèmes de défense contre les radicaux libres (Kohen et Nyska, 2002).

6.4.1. Classification des antioxydants

➤ Les antioxydants naturels

L'organisme possède des systèmes de défense très efficaces, de deux types : les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non enzymatiques, ces antioxydants sont d'autant plus importants que certains peuvent être utilisés en thérapeutique pour tenter de prévenir le stress oxydatif (Diplock, 1991).

➤ Les antioxydants enzymatiques

- Les antioxydants enzymatiques : Le super oxydedismutase, la catalase, la glutathion peroxydase et la glutathion réductase sont considérés comme la première ligne de défense de notre organisme contre les ERO (Kanoun, 2011).
- La super oxydedismutase(SOD): son rôle est la dismutation de deux anions super oxyde en espèces oxygénées moins réactives que sont H_2O_2 et O_2 (Antwerpen, 2006).
- Les catalases : Elles réduisent le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 en libérant de l'oxygène et de l'eau. Elle n'élimine pas la totalité du peroxyde d'hydrogène (Lindau-Sehpard et Shaffer,1993).

- Les glutathions peroxydases et réductases (GSHPX) : Le rôle de la glutathion peroxydase (GPx) est de réduire d'une part le peroxyde d'hydrogène en molécule d'eau, et d'autre part les hydroperoxydes organiques (ROOH) en alcools. Lors de cette réaction, deux molécules de Glutathion (GSH), se transforment en glutathion-disulfure (GSSG) (**Marfak, 2003**).

➤ Les antioxydants non enzymatiques

- Contrairement aux enzymes antioxydants, la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie d'antioxydant nous retrouvons les oligoéléments, la glutathion réduit (GSH), les vitamines E et C et les polyphénols. (**Kanoun, 2011**).
- La vitamine E : Elle intervient directement au niveau des membranes biologiques où elle piège les radicaux libres avant qu'ils n'atteignent leurs cibles (**Goussard, 1999**). Elle peut aussi séquestrer les radicaux libres empêchant la propagation des réactions de peroxydation lipidique (**Evans, 2002 ; Packer et al., 1997**).
- La vitamine C : La vitamine C, appelée également l'acide ascorbique est l'antioxydant hydrosoluble majeur (**Curtay et Robin, 2000**). Elle peut capter directement l'O₂^{•-} et l'OH[•] (**Evans, 2002 ; Packer et al., 1997**).
- Le β-carotène : Le β-carotène est apporté par l'alimentation. Elle protège les structures cellulaires contre l'agression oxydante : elle s'oppose à la génotoxicité de nombreux agents (**Allard et al., 1994**).
- Le glutathion : Le glutathion joue un rôle majeur dans la protection des lipides, des protéines et des acides nucléiques contre l'oxydation (**Stamler et Slivka, 1996**). Il fait aussi l'objet d'interactions synergiques avec d'autres composants du système de protection antioxydant tels que la vitamine C ou la vitamine E (**Gerard-Monnier et Chaudière, 1996**).
- Les composés phénoliques issus des végétaux : Les polyphénols suscitent depuis une dizaine d'années un intérêt croissant de la part des nutritionnistes, des industriels de l'agro-alimentaire et des consommateurs. Une des raisons principales est la reconnaissance de leurs propriétés antioxydantes et ainsi leur implication probable dans la prévention des diverses pathologies associées au

stress oxydant (**Rock., 2003**). Les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tanins (**Boizot et Charpentier, 2006**).

➤ **Les antioxydants synthétiques**

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tel que le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT), gallate propylée (PG) et le tétrabutylhydroquinone (TBHQ) sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels. Cependant, leur sécurité est très discutée car ils génèrent un besoin de recherche comme matière de substitution d'après des sources naturelles comme antioxydants de la nourriture (**Lisu et al, 2003**). Cependant, il a été montré que ces antioxydants de synthèse pouvaient être toxiques (**Yu et al, 2000**). En effet, le BHA convertirait certains produits ingérés en substances toxiques ou carcinogènes en augmentant la sécrétion des enzymes microsomales du foie et des organes extra-hépatiques (**Barlow, 1990**). Le BHT présenterait des effets carcinogènes chez le rat (**Ito et al, 1985**).

6.4.2. Mécanismes d'action des antioxydants

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition. (**Favier, 2006**)

PARTIE 02

ETUDE EXPERIMENTALE

Partie 2 : Etude expérimentale

1 Matériels et méthodes

1.1 Matériel végétal

Deux plantes médicinales ont été étudiées :

**Artemisia herba-alba* : La récolte de la plante a été effectuée dans la wilaya de Constantine durant le mois d'avril 2021.

* *Marrubium vulgare* : La récolte de la plante a été effectuée dans la wilaya de Mila durant le mois d'avril 2021.

2 Méthodes

2.1 Séchage et broyage du matériel végétal

Après lavage à l'eau distillée, les feuilles de *Marrubium vulgare* L et d'*Artemisia herba alba* découpées en petits morceaux ont été séchées pendant trois semaines à la température ambiante (25 °C à 30 °C) à l'abri du soleil pour mieux conserver les molécules sensibles à la chaleur et à la lumière.

Ces feuilles séchées ont été broyées en poudre fine à l'aide d'un mortier traditionnel. La poudre obtenue a été stockée dans un flacon hermétique. Cette poudre a servi à la préparation des différents macérés et décocté.

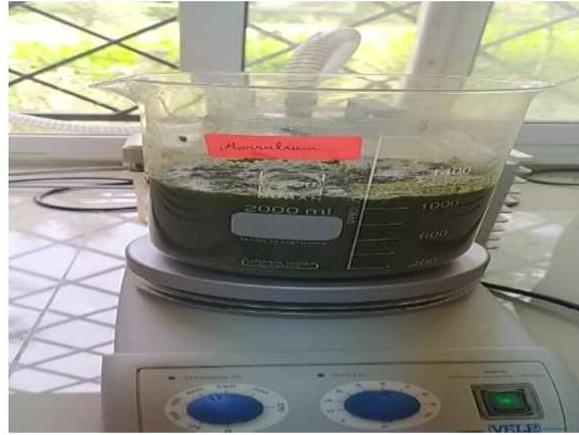
2.2 Préparation de l'extrait aqueux

Le macéré aqueux des feuilles de *Marrubium Vulgare* et d'*Artemisia Herba Alba* ont été préparé selon la méthode **d'Olakunle et al.** (2005) avec de légères modifications.

Une masse de cent grammes (100 g) de poudre de ces plantes (chaque plante 100g) a été macérée dans 1 litre d'eau distillée (chaque 100g de chaque plante a été ajoutée à 1l d'eau distillée) sous agitation au blinder. Les macérés ont été porté à ébullition pendant 15 minutes.



Artemisia herba alba

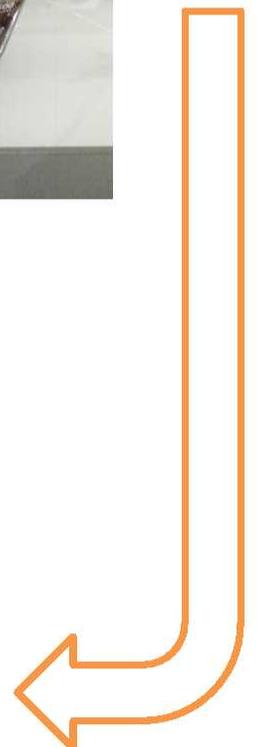
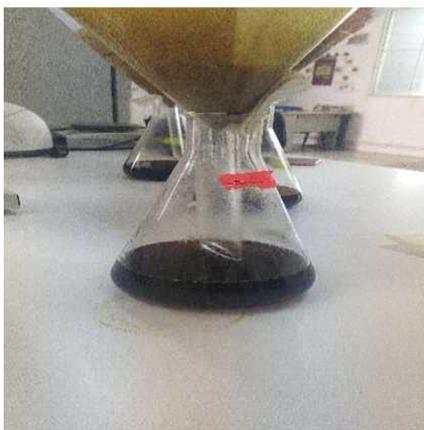


Marrubium vulgare

Figure N°16 : Extraction de deux plantes par la macération

Après refroidissement, le mélange de chaque macéré a été essoré dans un carré de tissu propre, filtré successivement deux fois sur du coton hydrophile et une fois sur du papier filtre (papier Whatman® 3mm). Ce filtrat a ensuite été séché lentement à l'étuve à 50 °C pendant 72 heures pour chaque macéré.

➤ **Filtration d'*Artemisia herba alba***



➤ Filtration de *Marrubium vulgare*

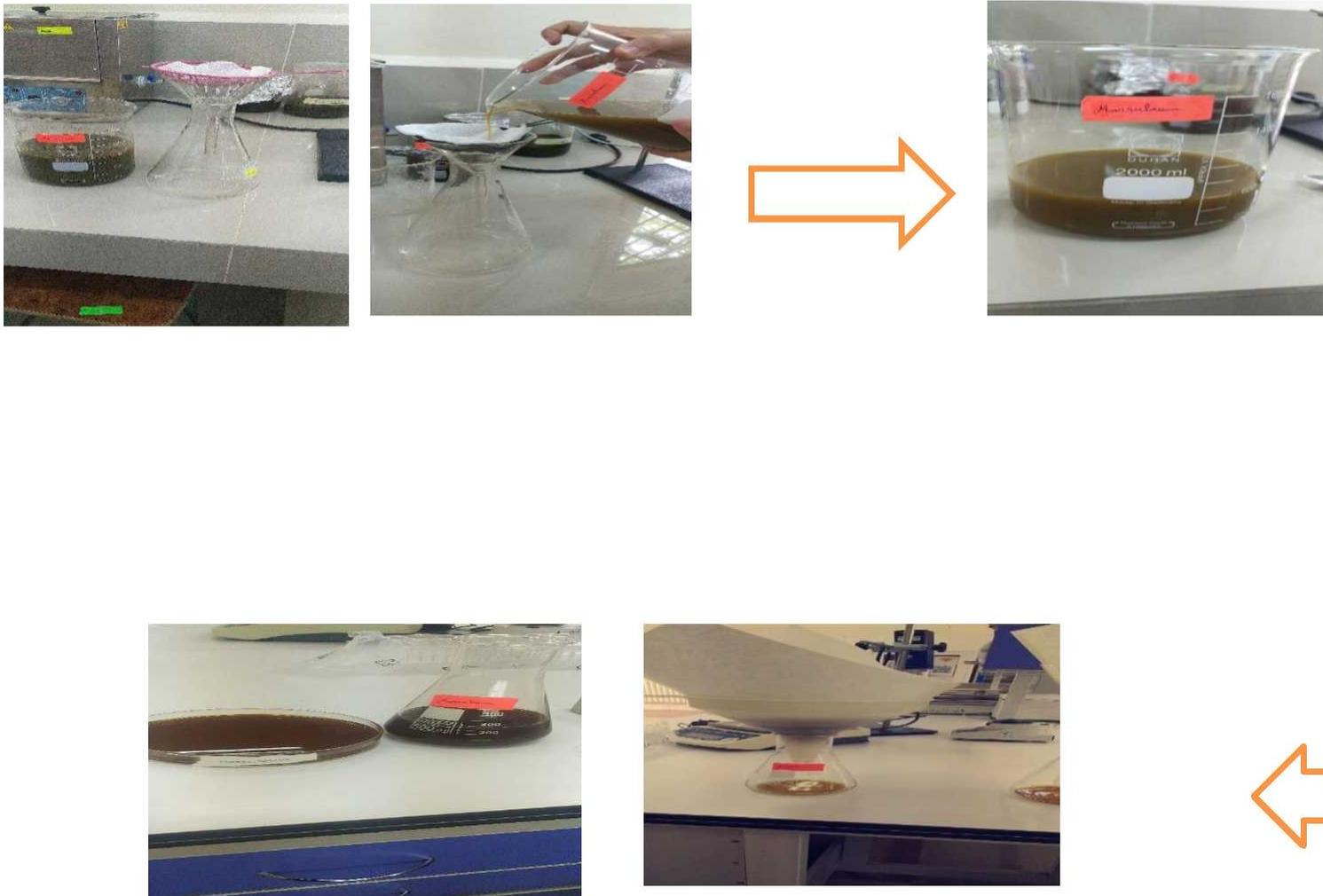


Figure N°17 : Etape de filtration de deux plantes

En fin, la poudre obtenue (macéré total aqueux) a été stockée dans un bocal à fermeture hermétique et conservée au réfrigérateur à +4 °C (**Bourahima., et al**).

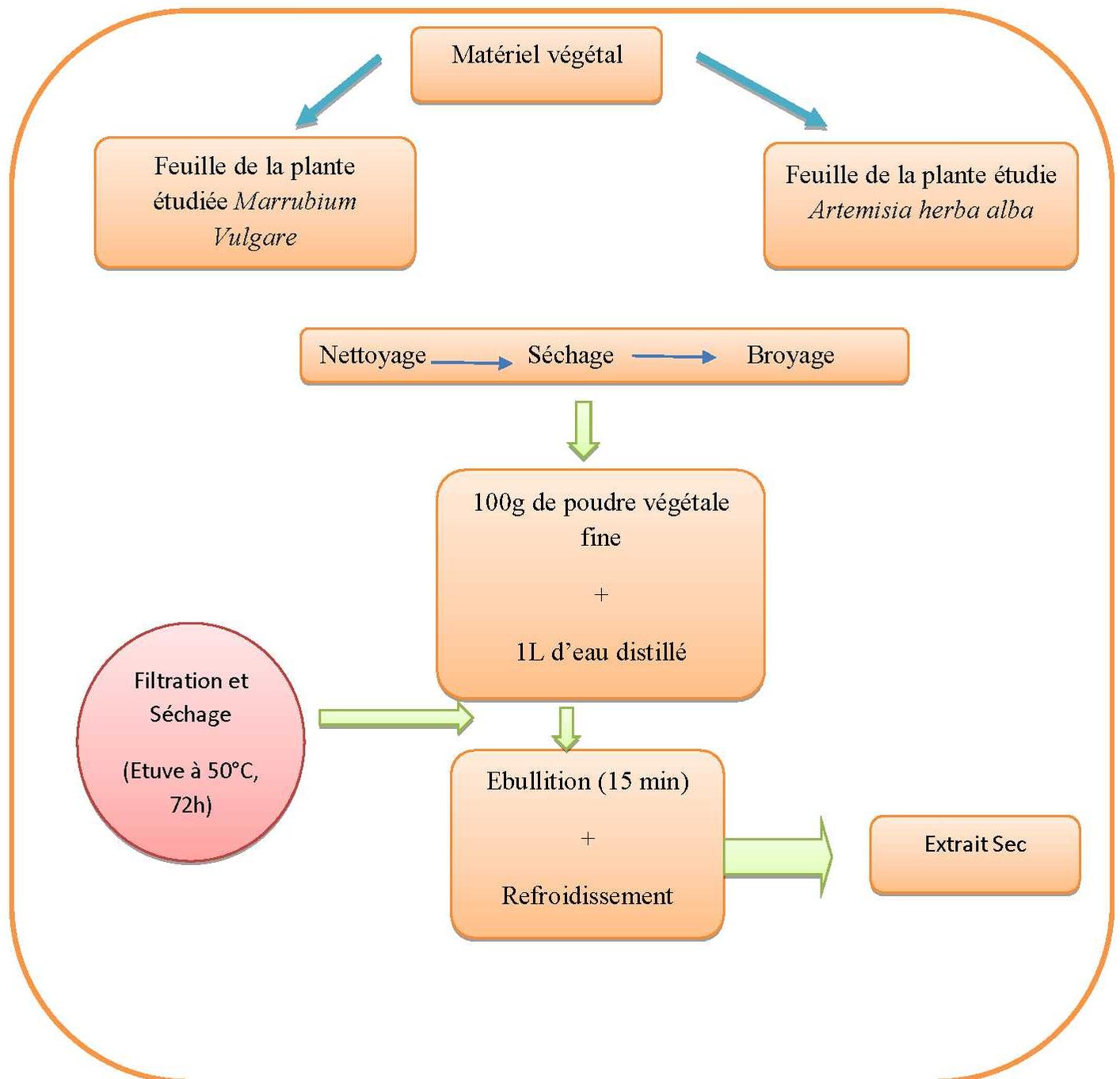


Figure N° 18 : Etape de préparation d'extrait sec à partir de matériel végétal

2.3 Détermination du rendement d'extraction

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction selon l'équation suivante décrite par (Mahmoudi et al., 2013) :

$$R (\%) : (M_{\text{ext}} / M_{\text{éch}}) \times 100$$

- R : est le rendement en %.
- M_{ext} : est la masse de l'extrait après évaporation en mg.
- M_{éch} : est la masse de la matière sèche végétale en mg.

- *Artemisia Herba Alba* :

$$M_{\text{ext}} = 5.01\text{g}$$

$$M_{\text{éch}} = 100\text{g}$$

$$R = 5.01\%$$

- *Marrubium Vulgare*:

$$M_{\text{ext}} = 181.14\text{g}$$

$$M_{\text{éch}} = 100\text{g}$$

$$R = 181.14\%$$

2.4 Préparation des dilutions des extraits :

On prépare 07 dilutions qui sont : $(\frac{1}{1}, \frac{1}{2}, \frac{1}{4}, \frac{1}{8}, \frac{1}{16}, \frac{1}{32}, \frac{1}{64})$.

- Dilution de solution mère : 4mg d'extrait + 1ml méthanol
- Les dilutions :

- (1/1) —————> 4 mg (extrait) + 1 ml méthanol
- (1/2) —————> 500 µl méthanol + 500 µl de (1/1)
- (1/4) —————> 500 µl méthanol+ 500 µl de (1/2)
- (1/8) —————> 500 µl méthanol+ 500 µl de (1/4)
- (1/16) —————> 500 µl méthanol+ 500 µl de (1/8)
- (1/32) —————> 500 µl méthanol+ 500 µl de (1/16)
- (1/64) —————> 500 µl méthanol+ 500 µl de (1/32)

On prépare 7 dilutions pour l'extrait de la plante *Marrubium* et 7 dilutions pour l'extrait de la plante *Artemisia*.

2.5 Activités biologiques de *Marrubium Vulgare* et *Artemisia Herba Alba*

2.5.1 Détermination du contenu total en polyphénols et en flavonoïdes

2.5.1.1 Contenu total phénolique (TPC)

La teneur en polyphénols totaux est déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (Singleton et Rossi, 1965) selon une méthode de dosage sur microplaque décrite par Muller et al. (2010).

Le réactif FCR, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀), est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes de tungstène (W₈O₂₃) et de molybdène (Mo₈O₂₃). La coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux et possède une absorption maximum aux environs de 750 -765 nm.

➤ Mode opératoire

- **Préparation de Carbonate de sodium (Na₂CO₃) à 7,5% :**

7,5 grammes de Na₂CO₃ et sont dissouts dans 100 ml d'eau distillé.

- **Préparation de Folin Cobalteux (FCR) dilué 10 fois**

1ml de la solution FCR concentré (2M) est complété à 10ml avec l'eau distillée (9ml).

○ Procédure

20 µl d'extrait de plante + 100µl de FCR dilué (1 :10) + 75 µl de carbonate de sodium (7,5%) + mettre le mélange à l'obscurité pendant 2h + lecture à 765 nm. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (Méthanol).

○ Gamme d'étalonnage

Préparation de la gamme d'étalon de l'acide gallique :

On prend 0,5 mg de l'acide gallique et on le dissolvé dans 5 ml de Méthanol pour obtenir la solution S1 (0,2mg/ml). Les dilutions sont préparées dans des eppendorfs comme suit :

Tableau N°05 : Les dilutions de la gamme d'étalon de l'acide gallique

Dilutions	25µg/ml	50µg/ml	75µg/ml	100µg/ml	125µg/ml	150µg/ml	175µg/ml	200µg/ml
S1 (µl)	25	50	75	100	125	150	175	200
Méthanol (µl)	175	150	125	100	75	50	25	0

20µl de chaque dilution sont transférés dans une microplaque + 100µl FCR (1 :10) + 75µl de Na₂CO₃ (7,5%) + incubation 2h + lecture à 765nm.

2.5.1.2 Contenu total flavonoïque (TFC)

Le dosage des flavonoïdes dans les extraits est basé sur la formation d'un complexe entre Al³⁺ et les flavonoïdes. La méthode de **Topçu et al., (2007)** est utilisée avec quelques modifications pour une détermination sur microplaque 96 puits.

- **Préparation des solutions**

Pour 1 M Potassium acétate (CH₃COOK) on dissout 9.80 grammes de (CH₃COOK) dans 100 ml d'eau distillé pour obtenir la solution S1, Pour 10% nitrate d'aluminium (Al (NO₃)₃, 9H₂O) on pèse 10g de ce produit dans 100ml d'eau distillée.

- **Procédure**

- **Pour l'extrait**

50 µl (extrait de plante) + 130 µl (MeOH) +10 µl (S1) (CH₃COOK) + 10 µl (Al (NO₃)₂, 9H₂O) + attendre 40 mn + lecture à 415 nm. Un blanc échantillon est préparé en remplaçant les réactifs par le méthanol (50µl extrait + 150µl méthanol).

- **Pour l'étalon**

- **Préparation de la gamme d'étalon de la Quercetin**

On prend 1 mg de la Quercetine et on le dissout dans 5 ml de méthanol pour obtenir la solution 0,2mg/ml Sm.

Les dilutions sont préparées dans des eppendorfs comme suit :

Tableau N°06 : Les dilutions de la gamme d'étalon de la Quercétine

Dilutions	25µg/ml	50µg/ml	75µg/ml	100µg/ml	125µg/ml	150µg/ml	175µg/ml	200µg/ml
Sm (µl)	25	50	75	100	125	150	175	200
Méthanol (µl)	175	150	125	100	75	50	25	0

50 µl de chaque dilution sont transférés dans une microplaque 96 puits + 130 µl (MeOH) +10 µl (S1) (CH3COOK) + 10 µl (Al (NO3)2, 9H2O) + attendre 40 min + lecture à 415 nm.

2.6 Activité antioxydante

2.6.1 Activité anti radicalaire au DPPH

L'activité anti-radicalaire libre est déterminée par spectrophotométrie par le dosage du DPPH (Blois 1958), le Trolox est utilisé comme standard antioxydant.

➤ Mode opératoire

○ Préparation de la DPPH

Dissoudre 6 mg de DPPH dans un volume de 100 ml de méthanol, le radical DPPH est dissous dans le méthanol et gardé à -20°C à l'abri de la lumière. L'absorbance est 0.5 nm (517 nm) dans le spectrophotomètre.

➤ Procédure

160 µl (DPPH) + 40 µl (extrait) + lecture 517 ;

Le pourcentage d'inhibition a été calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Inhibition(\%)} = \left(\frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}}}{A_{\text{extrait}}} \right) \times 100$$

Équation : Pourcentage d'inhibition du DPPH

- **A contrôle** : L'absorbance du contrôle négatif.
- **A extrait** : L'absorbance de l'extrait de la plante.

2.6.2 Activité du piégeage du cation radical ABTS

L'activité ABTS est déterminée par la méthode de **Re et al. (1999)** ;

- **Préparation de l'ABTS**

A partir de l'ABTS et du persulfate de potassium K₂S₂O₈; les deux produits en solution aqueuse sont mélangés et mis à l'abri de la lumière pendant 12- 16H ; l'absorbance de la solution ainsi obtenue est ajustée par (méthanol ou H₂O) à 0.700 ± 0.020 à 734 nm avant l'usage.

(ABTS+) → 19,2 mg (7 mM) ABTS + 5 ml H₂O + 3,3 mg (2.45 mM) (K₂S₂O₈) +5 ml H₂O+ attendre 16 heures à l'abri de la lumière.

- **Procédure**

160 µl (ABTS+) + 40 µl (extrait) + attendre 10 mn + lecture à 734 nm ;

Le pourcentage d'inhibition a été calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Inhibition}(\%) = \left(\frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}}}{A_{\text{extrait}}} \right) \times 100$$

Équation : Pourcentage d'inhibition d'ABTS

2.6.3 Activité du pouvoir réducteur (FRAP)

L'activité Reducing power est déterminée par la méthode **d'Oyaizu (1986)** avec une légère modification ;

- **Mode opératoire**

10 µl extrait + 40 µl phosphate buffer (pH 6.6) + 50 µl potassium ferricyanide (1%) K₃Fe (CN)₆ (1 g de K₃Fe (CN)₆ dans 100 ml H₂O) + incubé a 50°C pendant 20mn +50 µl tri-chloro acetic acid (TCA) (10%) (1 g de TCA dans 10 ml H₂O) + 40 µl H₂O + 10 µl ferric chloride FeCl₃ (0.1%) (0,1 g de FeCl₃ dans 100 ml H₂O) + Lecture à 700 nm. Les résultats ont été calculés à titre de A_{0,50} (µg/ml) correspondant à la concentration indiquant 0,50 d'absorbance.

2.6.4 De réduction par la formation du complexe Fe⁺²- phénantroline

L'activité de phenanthroline est déterminée par la méthode de Szydlowska-Czerniaka (2008) ;

- **Préparation**

- **Phenanthroline (0.5%)** :0.05g de 1,10-Phenanthroline dans 10ml de MeOH ;
- **Ferric chloride FeCl₃ (0.2%)** :0.02g de FeCl₃ dans 10ml de H₂O ;

- **Procédure**

10 µl extrait + 50 µl FeCl₃ (0.2%) +30 µl Phenanthroline (0.5%) + 110µl MeOH+ incubation à l'obscurité pendant 20 min à 30°C + lecture à 510 nm. Le blanc : 10µl MeOH + 50µl FeCl₃ (0.2%) + 30µl Phenanthroline (0.5%) + 110µl MeOH.

Les résultats ont été calculés à titre de A_{0,50} (µg/ml) correspondant à la concentration indiquant 0,50 d'absorbance.

2.7 Activité enzymatique

2.7.1 Activité d'Anti cholinestérase

L'activité Acétylcholinestérase est déterminée par la méthode **d'Ellman et al. (1961)** ;

- **Procédure**

- **Solution tampon**

- 1- 8,890 g de (Na₂HPO₄, 2H₂O) + 500 ml de H₂O → V1 ;
- 2- 1,56 g de (NaH₂PO₄, 2H₂O) + 100 ml de H₂O → V2.

V1 +V2 → Solution Tampon comme le montre le tableau suivant :

On ajoute du NaOH pour augmenter la valeur du PH ;

Tableau N°07 : la préparation de solution tampon

PH	5,8	6,2	6,4	6,6	6,8	7	7,2	7,4	7,6	7,8	8
NaH ₂ PO ₄ (ml)	92	81,5	73,5	62,5	51	39	28	19	13	8,5	5,3
Na ₂ HPO ₄ (ml)	8	18,5	26,5	37,5	49	61	72	81	87	91,5	94,5

- **DTNB (5,5'-Dithiobis (2-nitro-benzoic acid)) Solution**

16 mg DTNB + 1 ml (PH=7) + 7,5 mg NaHCO₃ + 1 ml (PH=7) + 2 ml (PH=7) + 4 ml (PH=8) → volume total 8 ml;

-ACI (Acetylthiocholine iodide) substrate Solution

16 mg ACI +4 ml H₂O+ 4 ml Tampon (PH =8);

- Préparation de l'enzyme

○ **AChE Solution**

- 0,2 mg AChE + 4 ml (PH=8) pour donner la solution A ;
- Mettre 20 µl de la solution A dans 20 eppendorff ;
- On prend un seul eppendorff qui contient 20 µl de la solution A et on ajoute 3 ml de PH = 8 + contrôlé l'absorbance à 412 nm qui doit être entre 0.4-0.5.

➤ **Procédure**

150 µL of 100 mM sodium phosphate buffer (pH 8.0)+ 10 µL d'extrait solution dissous dans le méthanol a différentes concentrations + 20 µL AChE (5.32 _ 10⁻³ U) solution+ incubé a 25°C pendant 15 min + 10 µL of DTNB (0.5 mM) + 10 µL of acetylthiocholine iodide (0.71 mM) + lecture à 412 nm, pour :

- 0 min une fois lecture ;
- 5 min deuxième lecture ;
- 10 min troisième lecture ;
- 15 min quatrième lecture.

Le pourcentage d'inhibition d'AChE enzymes est déterminé par rapport au blanc (méthanol avec le phosphate buffer pH 8) par la formule :

$$(\%) \text{ d'inhibition de AChE} = \frac{E - S}{E} \times 100$$

E : l'activité de l'enzyme sans extrait / S : l'activité de l'enzyme avec l'extrait

Le Galantamine est utilisé comme référence.

2.8 Activité antibactérienne

2.8.1 Souches bactériennes utilisées

Souches Bactériennes	Gram
<i>Staphylococcus aureus.</i>	Positif
<i>Escherichia coli.</i>	Négatif
<i>Pseudomonas aeruginosa.</i>	Négatif

2.8.2 Milieux de culture utilisés

- ✓ Gélose nutritive ;
- ✓ Chapman ;
- ✓ Hektoen ;
- ✓ Muller Hinton ;

2.8.3 Mode opératoire

Cette activité se fait dans 4 jours ;

- **Premier jour : Repiquage des bactéries (Ensemencement de la bactérie sur milieu Gélose nutritive) :**

Les différentes souches bactériennes ont été repiquées avec l'anse de platine stérile par la méthode de quadrant sur gélose nutritive, puis incubées à 37°C dans l'étuve durant 18 à 24 heures afin d'avoir des colonies isolées.



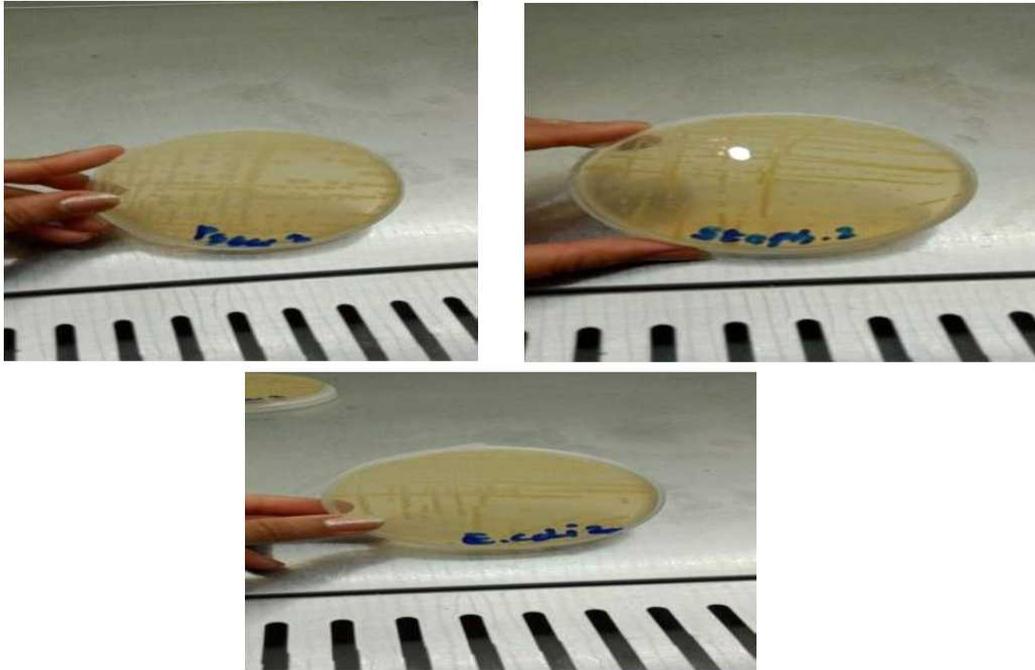


Figure N°19 : Repiquage des bactéries par la méthode quadrant

➤ **Deuxième jour : isolement des bactéries**

A l'aide d'une anse de platine, une colonie isolée de souche bactérienne préalablement conservée dans la gélose nutritive (ce que nous avons préparé le premier jour) a été prélevée par simple raclage puis repiquée par quadrant sur les boîtes des milieux sélectif (Hektoen ou Chapman) ensuite incubée à 37°C dans l'étuve durant 24h afin d'obtenir des colonies bactériennes jeunes et isolées servant à préparer l'inoculum.

(E. coli a été repiqué dans le milieu Hektoen, et Staphylococcus aureus et Pseudomonas aeruginosa ont été repiqué dans le milieu Chapman).



Figure N°20 : Isolement des bactéries

➤ **Troisième jour : l'utilisation du Müller Hinton**

- **Préparation de l'inoculum**

Prendre une seule colonie de chaque milieu de culture (les boîtes de pétries que nous avons préparé le deuxième jour) et dissoudre dans 5 ml d'eau physiologique stérile (0.9v) (chaque colonie de chaque bactérie a été dissoudre dans 5 ml d'eau physiologique), puis agiter sur le vortex pour obtenir une solution homogène.

○ **Ensemencement des bactéries**

Les bactéries ont été ensemencées en utilisant la méthode d'écouvillonnage un écouvillon stérile est imbibé dans l'inoculum bactérien puis essoré en le pressant fermement sur la paroi interne du tube afin de décharger au maximum l'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface de la gélose Müller Hinton, de haut en bas, l'opération est répétée deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.



Figure N°21 : Ensemencement avec l'écouvillonnage

○ **Préparation des extraits**

100mg de l'extrait végétale sec+1ml d'eau physiologique. Agitation par le vortex. (Extrait de Marrubiumet Artemisia).

Une concentration de 100mg/ml de chaque extrait permet la mise en évidence de l'activité antibactérienne.



Figure N°22 : Etape de préparation d'extrait

○ **Dépôts des disques imprégnés des extraits**

Après ensemencement, des disques de diffusion (papier Wattman N°1 stérilisé par autoclavage à 120°C pendant 15 min) sont déposés à la surface des boîtes ensemencées à l'aide d'une pince stérile, ces disques sont injectés par 10 µl des extraits (**Gulluce et al., 2003**).

Les boîtes sont maintenues à la température du laboratoire pendant 30 mn afin de permettre la pré-diffusion ensuite, elles sont incubées à 37°C pendant 24 heures.



Figure N°23 : Méthodes de diffusion de disques sur le milieu de culture

➤ **Quatrième jour : la lecture des résultats**

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied de coulisse.

Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches en mm (**ponce et al., 2003**) :

- ✓ Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8 mm ;
- ✓ Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm ;
- ✓ Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19mm ;
- ✓ Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm.

PARTIE 03

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Partie 3 : Résultats et Discussions

1 Activités biologiques

1.1 Détermination du contenu total en polyphénols et la teneur des flavonoïdes

L'estimation du contenu phénolique et la teneur en flavonoïdes de la plante *Marrubium vulgare* et la plante *Artemisia Herba Alba* récoltée de deux régions a été réalisé selon deux méthodes préliminaires :

➤ **Méthode de Folin-Ciocalteu**

Utilisée pour la détermination du contenu total des polyphénols. L'acide gallique a été utilisé comme étalon. L'absorbance a été déterminée à une longueur d'onde de 765 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage, ayant l'équation suivante (exprimée en µg équivalent d'acide gallique par mg du poids d'extrait ou µg GAE/mg d'extrait) : $y = 0,0034x + 0,1044$ avec $R^2 = 0,9972$

Équation de la courbe d'étalonnage d'acide gallique.

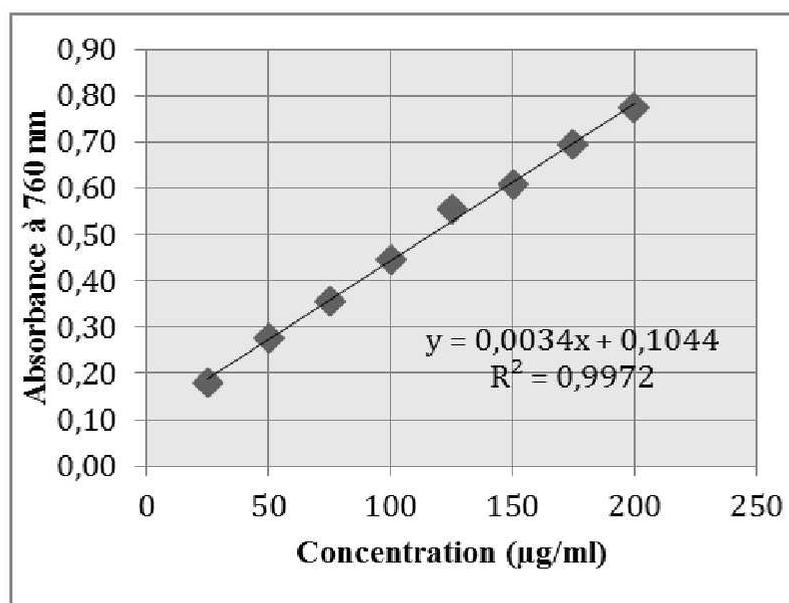


Figure N°24 : La courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

➤ **Méthode denitrate d'aluminium Al (NO₃)₂**

Utilisée pour dosage des flavonoïdes. La quercétine a été utilisée comme standard. L'absorbance a été déterminée à une longueur d'onde de 415 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage, ayant l'équation suivante (La teneur des

RESULTATS ET DISCUSSIONS

flavonoïdes a été rapportée en microgramme d'équivalent de la quercétine par milligramme du poids de l'extrait ($\mu\text{g EQ} / \text{mg d'extrait}$) :

$$Y=0,0071x+0,0274 \text{ avec } R^2 = 0,9985$$

Équation : Equation de la courbe d'étalonnage de la quercétine.

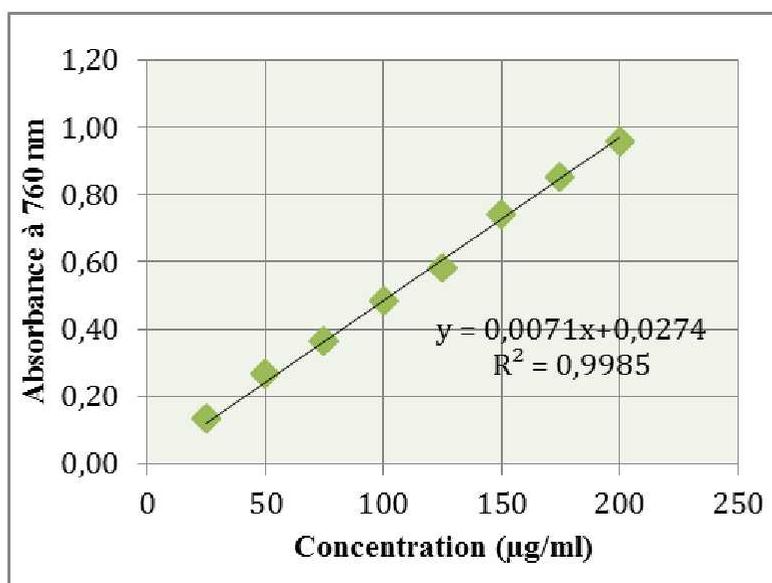


Figure N°25 : La courbe d'étalonnage de la quercétine.

Les résultats de ces deux méthodes sont regroupés dans le tableau et les figures suivantes :

Tableau N°08: Le contenu total en polyphénols et la teneur des flavonoïdes des extraits d'*Artemisia Herba Alba* et de *Marrubium Vulgare*.

Extraits	Total phénoliques ($\mu\text{g GAE/mg}$)	Total flavonoïdes ($\mu\text{g QE/mg}$)
<i>Artemisia</i>	124,58 \pm 4,56	80,55 \pm 5,15
<i>Marrubium</i>	36,64 \pm 4,07	58,19 \pm 2,50

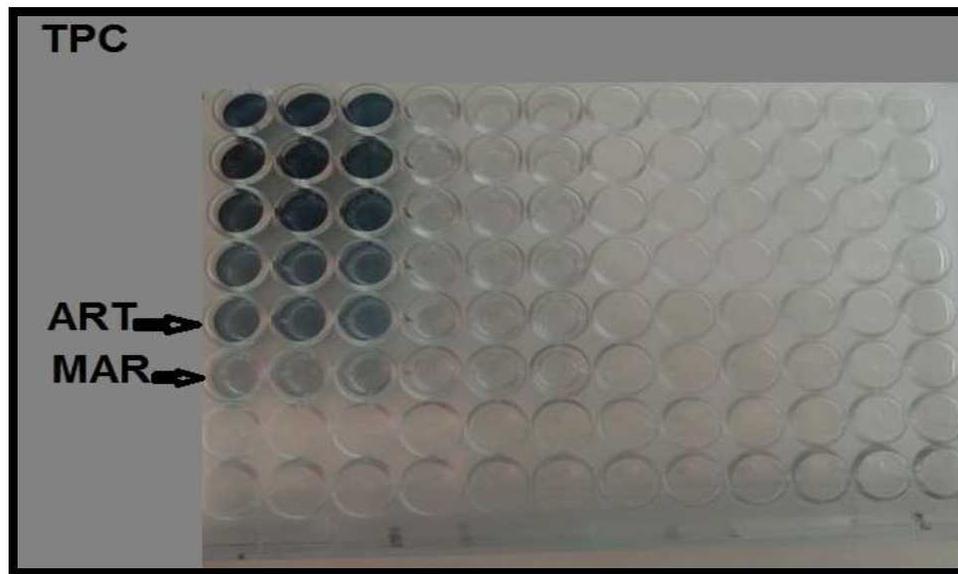


Figure N°26 : Plaque de dosage des polyphénols (TPC) des extraits de *Marrubium Vulgare* et d' *Artemisia Herba Alba*.

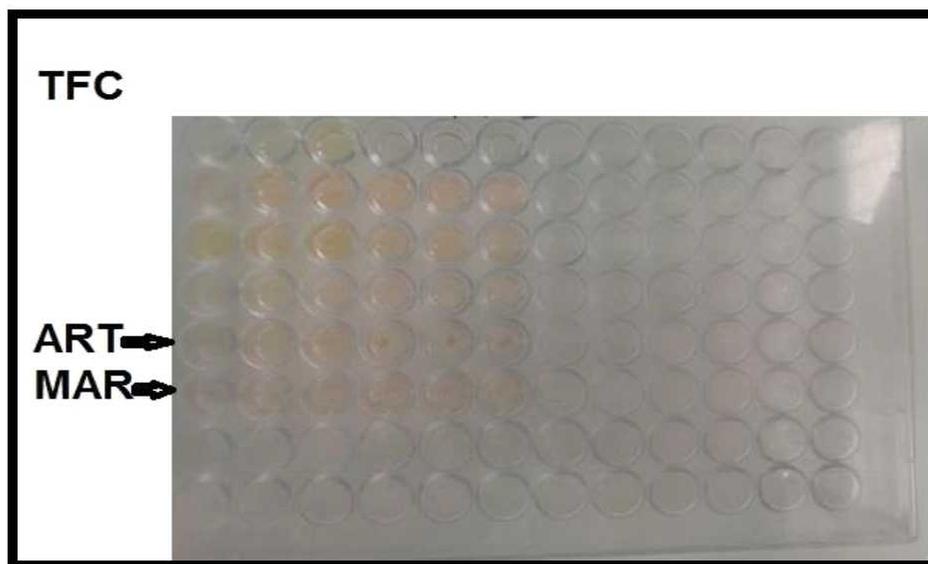


Figure N°27 : Plaque de dosage des flavonoïdes (TFC) des extraits d' *Artemisia Herba Alba* et de *Marrubium Vulgare*.

D'après le tableau représentant la variation de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes des extraits des deux plantes *Artemisia Herba Alba* et *Marrubium Vulgare*, on remarque que la plante d' *Artemisia* est plus riche en polyphénols ($124,58 \pm 4,56 \mu\text{g GAE/mg}$) et en flavonoïdes ($80,55 \pm 5,15 \mu\text{g QE/mg}$) que la plante *Marrubium* ($36,64 \pm 4,07 \mu\text{g GAE/mg}$) en polyphénols et ($58,19 \pm 2,50 \mu\text{g QE/mg}$) en flavonoïdes.

En comparant les résultats obtenus, la plante *Marrubium* renferme plus de flavonoïdes et pauvre en polyphénols par contre la plante *Artemisia* est plus riche en polyphénols et contient moins de flavonoïdes.

L'extrait de la plante *Marrubium Vulgare* contient une teneur en polyphénols plus faible comparé par d'autres études (**Benahmed Amel et al.,2016**) (66,15 μg GAE/mg), alors que le teneur en flavonoïdes nos résultats sont plus élevés que celle de (**Benahmed Amel et al.,2016**) (0.1 μg QE/mg).

La teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes de l'extrait d'*Artemisia Herba Alba* obtenue lors de cette étude est plus élevée comparant a d'autres étude (**Medjili S et al., 2018**) (17.4 \pm 1.67 μg EAG/mg) en polyphénols et (8.6 \pm 0.29 μg EQ/mg) en flavonoïdes.

Ceci est peut-être lie au climat de la région ou à la méthode utilisée qui ne donne pas une composition quantitative complète des extraits (**wu x et al.,2004**).

1.2 Acticités antioxydantes

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits *Marrubium Vulgare* et *Artemisia Herba Alba* a été réalisée par quatre méthodes : l'activité anti-radicalaire au DPPH, l'activité du piégeage du cation radical ABTS, l'activité du pouvoir réducteur (FRAP) et l'activité de réduction par la formation du complexe Fe⁺²- phénantroline.

1.2.1 Activité anti-radicalaire au DPPH

Dans cette étude, l'activité anti radicalaire des extraits de *Marrubium Vulgare* et *Artemisia Herba Alba* a été évalué par la mesure des concentrations inhibitrices à 50 % (CI₅₀) ; en se basant sur la capacité d'une à réduire le radical DPPH ; par rapport à un antioxydant standard Trolox. Les résultats sont représentés dans les figures et le tableau suivant :

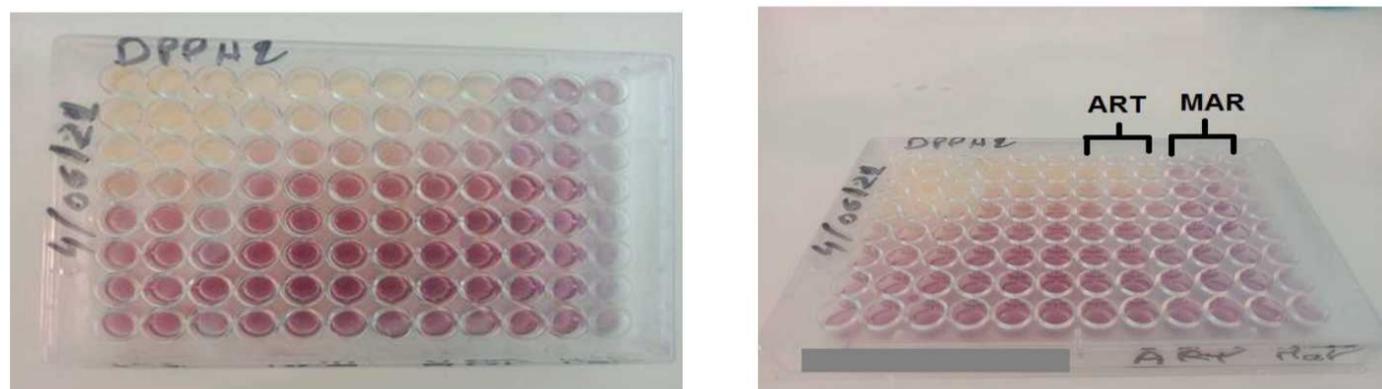


Figure N°28: Plaques de dosage de l'activité anti radicalaire (DPPH) des extraits des plantes de *Marrubium Vulgare* et d'*Artemisia Herba Alba*

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Tableau N°09 : Inhibition du radical DPPH par les extraits des plantes *Marrubium Vulgare* et *Artemisia Herba Alba*.

	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200	IC₅₀ (µg/ml)
<i>Artemisia</i>	Na	1,73±0,97	7,73±1,00	17,39±1,48	24,93±2,14	57,25±1,07	71,09±3,00	88,76±1,78
<i>Marrubium</i>	Na	Na	Na	1,96±5,74	6,50±1,59	9,50±2,21	15,15±2,13	>200

	0.781 25	1.5625	3.125	6.25	12.5	25	50	IC₅₀ (µg/ml)
Trolox	6.42± 0.91	13.33±2.1 4	30.19±0.6 7	61.48±2.9 8	87.16±0.2 8	88.46±0.1 1	87.72±0.4 7	5.12±0.2 1

Na= pas d'absorbance

D'après les résultats obtenus, on constate que *l'Artemisia Herba Alba* a manifesté une activité anti radicalaire au DPPH (IC₅₀=88,76±1,78 µg/ml) supérieure à celle de l'extrait du *Marrubium Vulgare* (IC₅₀ (>200µg/ml)), cette activité est très inférieure à celle de standard **Trolox** (IC₅₀=5.12±0.21µg/ml). Plus la valeur d'IC₅₀ est basse, plus l'activité antioxydant d'un composé est grande (**Kumbhare et al., 2012 ; Khoudali et al., 2014 ; Hobi et Eddouks, 2016**)

Les résultats obtenus pour l'extrait du *Marrubium Vulgare* sont relativement élevées (IC supérieure à 200 µg/ml) par rapport aux valeurs standard de **Trolox**, indiquant une faible activité anti-radicalaire au DPPH. Mais en raison de la forte concentration d'extraits utilisés dans ce test (4 mg d'extrait), nous ferions mieux de la réduire à 1 ; 0,5 ou 0,25 mg pour obtenir éventuellement des valeurs plus proches de la valeur standard.

Des études de l'activité antioxydante de l'extrait du *Marrubium Vulgare* de la région d'El Hammadia (**Benahmed Amel et al., 2016**) ont trouvé un pourcentage d'inhibition (IC₅₀=140.811µg/ml). Ce résultat est en accord avec nos résultats IC₅₀ (>200µg/ml).

D'autres études de l'activité antioxydante de l'extrait d'*Artemisia Herba Alba* de la région de Ras El Oued (wilaya de Bordj Bou-Arredj) (**Medjili S et al., 2018**) ont trouvé un pourcentage d'inhibition (IC₅₀=18,79 ± 1,004 µg/ml). Ce résultat est inférieure par rapport à nos résultats (IC₅₀=88,76±1,78 µg/ml) et cela permet une activité plus forte à celle de nos études.

1.2.2 Activité du piégeage du cation radical ABTS

L'ABTS ou acide 2,2'-azino-bis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique est un composé organique stable utilisé dans l'évaluation de l'activité anti radicalaire. ABTS^{•+} réagit avec l'antioxydant et passe de la couleur bleu-vert à un état incolore. Cette transformation est suivie par la mesure de l'absorbance à 734 nm et la détermination de la concentration inhibitrice des différents extraits en comparaison avec le standard **Trolox**. Les résultats obtenus sont illustrés ci-dessous :



Figure N° 29: Plaques de dosage de l'activité anti radicalaire (ABTS) des extraits du Marrubium Vulgare et *Artemisia Herba Alba*.

Tableau N°10 : Inhibition du cation radical ABTS^{•+} par les extraits des plantes *Marrubium Vulgare* et *Artemisia Herba Alba*.

	3.12 5	6.25	12.5	25	50	100	200	IC ₅₀ (µg/ml)
<i>Artemisia</i>	Na	12,74±0,2 1	22,59±1,6 1	44,55±44,5 5	71,17±0,0 0	89,02±0,7 2	sat	30,10±0, 61
<i>Marrubium</i>	Na	6,48±1,39	14,83±1,4 5	16,56±1,86	30,83±1,4 6	51,36±0,1 0	84,60±2,1 7	96,69±0, 20

	0.78125	1.5625	3.125	6.25	12.5	25	50	IC ₅₀ (µg/ml)
Trolox	14.74±0.3 7	26.15±0.65	51.70±1.51	89.72±0.67	92.89±0.19	92.89±0.19	91.84±1. 19	3.21±0. 06

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Les résultats obtenus de l'extrait de la plante *Marrubium Vulgare* ($IC_{50}=96,69\pm 0,20\mu g/ml$) Dans ce test, on remarque que la capacité de piégeage des radicaux libres présentée par l'*Artemisia Herba Alba* ($IC_{50}=30,10\pm 0,61\mu g/ml$) est très faibles que le standard ($IC_{50}=3.21\pm 0.06\mu g/ml$) et supérieure à celle du *Marrubium Vulgare* ($IC_{50}=96,69\pm 0,20\mu g/ml$). sont en accord avec les résultats de (Jaadan H et al,2020) ($IC_{50}=658,56\pm 0.19\mu g/ml^{-1}$).

Dans une étude de l'extrait acétate d'éthyle de l'espèce *Artemisia Herba Alba* réalisée par (Mehimmedetsi R et al.,2018) ont obtenus une activité inhibitrice du radical ABTS ($IC_{50}=23.50\pm 1.30\mu g/mL$).

1.2.3 Activité du pouvoir réducteur (FRAP)

C'est un test rapide, reproductible et facile à exécuter pour évaluer l'activité antioxydante. Cette méthode est basée sur la capacité des polyphénols à réduire le fer ferrique Fe^3 de couleur jaune en fer ferreux Fe^2 de couleur bleu verte en mesurant les valeurs de $A_{0,50}$ et par comparaison avec le standard Trolox . Le test nous a permis d'obtenir les résultats suivants :



Figure N°30 : La plaque de dosage de l'activité de pouvoir réducteur (FRAP) des plantes *Artemisia Herba Alba* et *Marrubium Vulgare*.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Tableau N°11 : Absorbance du pouvoir réducteur par les extraits de *Marrubium Vulgare* et *Artemisia Herba Alba*.

	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200	A_{0,5} (µg/ml)
Artemisia	0,06±0,02	0,06±0,00	0,08±0,02	0,11±0,01	0,14±0,02	0,26±0,08	0,42±0,11	>200
Marrubium	Na	0,05±0,05	0,07±0,02	0,08±0,02	0,12±0,03	0,12±0,01	0,32±0,27	>200

	0.0976	0.195	0.390	0.781	1.562	3.125	6.25	A_{0,5} (µg/ml)
Trolox	0.07±0.00	0.08±0.00	0.09±0.01	0.13±0.00	0.19±0.02	0.28±0.05	0.60±0.04	5.25±0.20

Na= pas d'absorbance

A partir de ces résultats, on remarque que les extraits du *Marrubium Vulgare* et d'*Artemisia Herba Alba* ont une activité de pouvoir réducteur

très faible ($A_{0,50}$ supérieures à $200\mu\text{g/ml}$) par rapport à celle du standard (**Trolox**) ($A_{0,50}=5.25\pm0.20\mu\text{g/ml}$). En raison de la forte concentration d'extraits utilisés dans ce test (4 mg d'extrait), il est plus utile de la réduire à 1 ; 0,5 ou 0,25 mg pour obtenir éventuellement des valeurs plus proches de la valeur standard.

Dans une autre étude de l'activité de pouvoir réducteur sur l'huile essentielle d'*Artemisia Herba Alba* réalisée par (**Habera F et al., 2019**). Ont prouvé que l'HE présente un pouvoir réducteur élevé, contrairement aux extraits aqueux et éthanolique qui sont faible par rapport aux résultats obtenus à la DO 0.5 nm, les extraits (aqueux et éthanolique) montrent qu'ils ont un faible pouvoir réducteur ($\text{Pr } 0.5= 0.508\text{mg/ml}$) et ($\text{Pr } 0.5= 0.416\text{mg/ml}$) respectivement par rapport au standard, contrairement à l'HE ($\text{Pr } 0.5= 0.030\text{mg/ml}$) qui possède quasiment la même activité que le standard **Acide ascorbique** ($\text{Pr } 0.5= 0.029 \text{ mg/ml}$).

L'étude réalisée par (**Henniche I et al, 2013**) sur l'extrait éthanolique de la plante *Marrubium Vulgare* a enregistré un pouvoir réducteur avec une valeur de (34.88mg EqCa/gES).

Selon (**Hinneburg et al, 2006**), le pouvoir réducteur d'un extrait peut être lié à la capacité des substances à transférer des électrons dans le milieu réactionnel.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

La présence des réducteurs dans les extraits des plantes provoque la réduction de Fe^{3+} /ferricyanure en Fe^{2+} . Par conséquent, Fe^{2+} peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu dans le milieu réactionnel à 700 nm (Chung et al., 2002).

1.2.4 Activité de réduction par la formation du complexe Fe^{+2} -phénantroline

Suite à une réaction d'oxydoréduction, un complexe Fe^{+2} -phénantroline de couleur rouge-orangé est formé. Cette réduction est déterminée par la mesure de valeurs de $A_{0,5}$ des extraits des plantes et celle de standard Trolox ce qui a permis d'obtenir les résultats suivants :

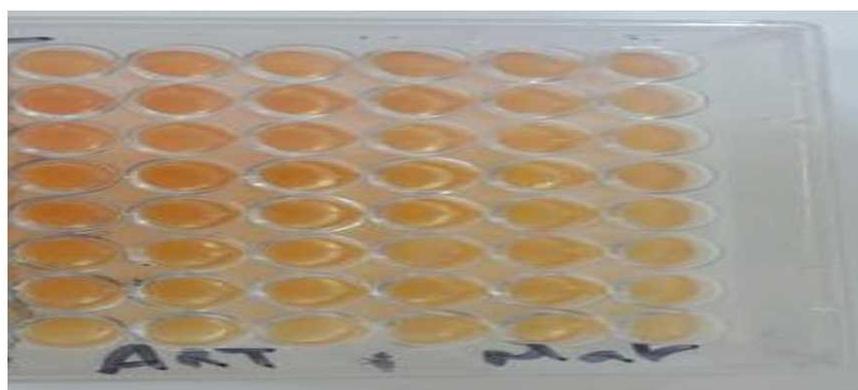


Figure N°31: La plaque de dosage de l'activité de réduction par la formation du complexe Fe^{+2} - phénantroline par les extraits de *Marrubium Vulgare* et *Artemisia Herba Alba*.

Tableau N° 12 : Absorbance du complexe Fe^{+2} - phénantroline des extraits des plantes *Marrubium Vulgare* et *Artemisia Herba Alba*.

	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200	$A_{0,5}$ ($\mu\text{g/ml}$)
<i>Artemisia</i>	0,27±0,01	0,29±0,01	0,38±0,06	0,40±0,01	0,56±0,06	0,67±0,06	0,79±0,10	41,43±4,73
<i>Marrubium</i>	0,27±0,01	0,28±0,01	0,32±0,06	0,39±0,13	0,45±0,01	0,56±0,03	0,83±0,03	74,49±3,82

	0.0976	0.195	0.390	0.781	1.562	3.125	6.25	$A_{0,5}$ ($\mu\text{g/ml}$)
Trolox	0.25±0.01	0.24±0.01	0.26±0.01	0.26±0.00	0.32±0.01	0.38±0.01	0.56±0.02	5.21±0.27

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Les résultats obtenus par cette activité montrent que les deux extraits sont révélés capables de réduire le fer et de former un complexe Fe^{+2} -phénantroline mais l'extrait d'*Artemisia Herba Alba* a une activité de réduction par la formation du complexe Fe^{+2} -phénantroline avec une valeur ($A_{0.5} = 41,43 \pm 4,73 \mu\text{g/ml}$) supérieure à celle de *Marrubium Vulgare* ($A_{0.5} = 74,49 \pm 3,82 \mu\text{g/ml}$) et plus faible à celle de standard **Trolox** ($A_{0.5} = 5.21 \pm 0.27 \mu\text{g/ml}$).

Autre étude réalisée par (**Boudjelal K et al., 2019**) sur l'extrait acétate d'éthyle de la plante *Artemisia campestris*, ont obtenus un bon résultat avec une valeur ($A_{0.5} = 0.93 \pm 0.07 \mu\text{g/ml}$) par rapport à son standard.

1.3 Activité enzymatique

➤ Evaluation de l'activité anti cholinestérase

L'activité anti cholinestérase des divers extraits des plantes *Marrubium Vulgare* et *Artemisia Herba Alba* est testée par la méthode d'inhibition de l'acétylcholinestérase selon la Méthode d'**Ellman et al., (1961)**.

➤ Inhibition de l'acétylcholinestérase

Le test d'Ellman est basé sur le clivage de l'acétylcholinestérase par l'AChE pour produire de la thiocholine. Cette dernière va réagir avec le 5,5'-dithiobisnitrobenzoate (DTNB) pour former un anion de couleur jaune (**Ellman et al., 1961**). En présence d'un inhibiteur enzymatique la couleur jaune va diminuer, ce qui permet d'évaluer la réaction, et par la suite de quantifier l'inhibition de l'enzyme. Cette inhibition est suivie par la mesure de l'absorbance et la détermination de la concentration inhibitrice (CI_{50}) des différents extraits en comparaison avec le standard la galanthamine. Les résultats obtenus dans cette activité sont illustrés ci-dessous :

Tableau N°13 : inhibition d'acétylcholinestérase par les extraits de *Marrubium Vulgare* et *Artemisia Herba Alba*.

Extracts	Acetylcholinesterase Inhibitory Activity							
	3.125 μg	6.25 μg	12.5 μg	25 μg	50 μg	100 μg	200 μg	IC50 $\mu\text{g/mL}$
<i>Artemisia</i>	Na	Na	Na	Na	Na	Na	Na	Na

RESULTATS ET DISCUSSIONS

<i>Marrubium</i>	Na	Na	Na	Na	Na	Na	Na	Na
Galantamine	35,93 ±2,28	43,77 ±0.00	68,50 ±0,31	80,69 ±0,41	85,78 ±1,63	91,80 ±0,20	94,77 ±0,34	6.27±1.15

- Na= pas d'absorbance



Figure N°32 : Laplaque de dosage de l'activité inhibitrice d'acétylcholinestérase des extraits de *Marrubium Vulgare* et *Artemisia Herba Alba*.

D'après les résultats obtenus, on remarque que les deux extraits ne possèdent pas une activité inhibitrice d'acétylcholinestérase.

1.4 Activité antibactérienne

1.4.1 Etude du pouvoir antibactérienne des extraits d'*Artemisia herba alba* et *Marrubium Vulgare*

Le pouvoir antibactérien des extraits a été estimé en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les extraits à tester vis-à-vis de les bactéries *Escherichia coli*, *staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*.

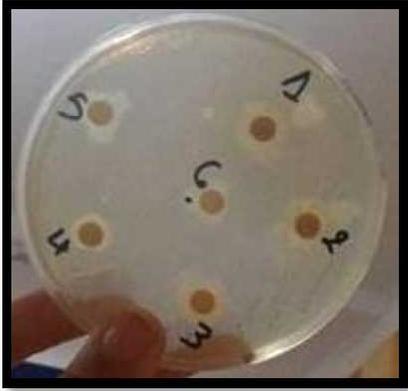
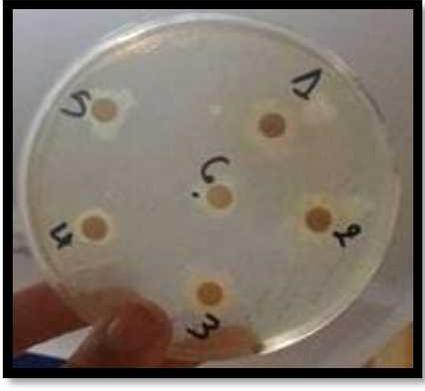
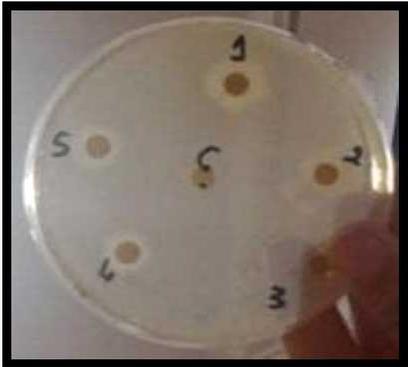
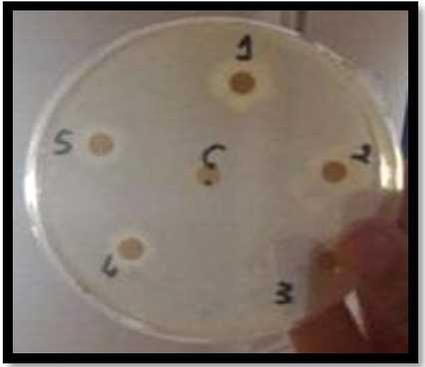
Les résultats obtenus pour déterminer l'activité antibactérienne extraits sont présentés dans les tableaux suivants :

Tableau N°14 : Sensibilités des souches bactériennes des extraits d'*Artemisia herba alba* et *Marrubium Vulgare*.

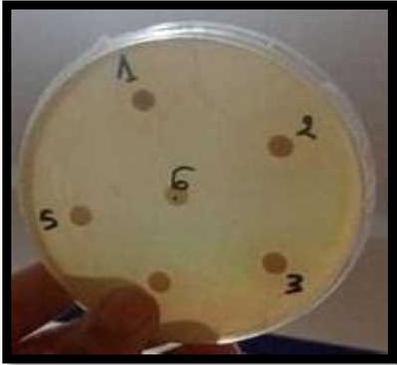
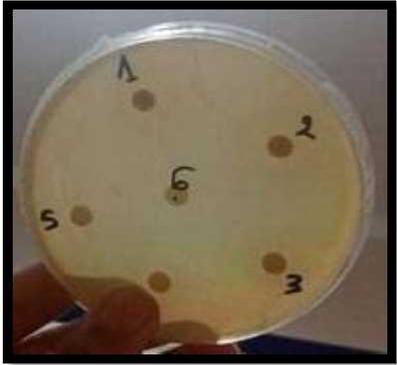
Extraits	Sensibilité (+/-)	
	<i>Marrubium vulgare</i>	<i>Artemisia herba alba</i>
Souches		
<i>S. aureus</i>	-	-
<i>E. coli</i>	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	-	-

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Tableau N°15 : Diamètres des zones d'inhibition des extraits *d'Artemisia herba alba* et *Marrubium Vulgare*

extraits Souches	<i>Marrubium Vulgare</i>	<i>Artemisia Herba Alba</i>
<i>S. aureus</i>	 <p style="text-align: center;">Numéro 4 : <i>Marrubium vulgare</i> Zone d'inhibition < 8 mm</p>	 <p style="text-align: center;">Numéro 6 : <i>Artemisia herba alba</i> Zone d'inhibition < 8 mm</p>
<i>E. coli</i>	 <p style="text-align: center;">Numéro 4 : <i>Marrubium vulgare</i> Zone d'inhibition < 8 mm</p>	 <p style="text-align: center;">Numéro 6 : <i>Artemisia herba alba</i> Zone d'inhibition = 0</p>

RESULTATS ET DISCUSSIONS

<p><i>P. aeruginosa</i></p>	 <p>Numéro 4 :<i>Marrubium vulgare</i> Zone d'inhibition= 0</p>	 <p>Numéro 6:<i>Artemisia herba alba</i> Zone d'inhibition= 0</p>
-----------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

D'après les résultats obtenus, on remarque que l'extrait d'*Artemisia Herba Albane* marque aucune activité sur les bactéries *E. coli* et *P. aeruginosa*. Ce qui est traduit par la résistance des souches à l'action de l'extrait, par contre sur la bactérie *S. aureus* il montre une faible activité antibactérienne. Alors que l'extrait de *Marrubium Vulgare* montre une faible activité sur les bactéries *E. coli* et *S. aureus*, par contre sur la bactérie *P. aeruginosa* n'a aucun effet. L'absence d'activité antibactérienne pourrait s'expliquer par la résistance développée de la souche.

Notre résultat est en accord avec l'étude de (Dalal M et Oumhani S.,2019) sur l'extrait aqueux de l'huile essentielle d'*Artemisia Herba Alba*, sauf ils ont obtenus une activité plus active sur la bactérie *S. aureus* que notre résultat.

L'activité d'une substance végétale dépend de plusieurs facteurs dont le mode d'extraction et la concentration en principes actifs (Wagner H., 1993), (Thangara J. H. S., 2000).

**CONCLUSION
GENERALE**

Conclusion et perspectives

A la lumière de nos résultats, les plantes médicinales sont d'une grande importance, avec leurs vertus thérapeutiques et leurs activités biologiques qu'elles présentent, ces dernières continuent à faire l'objet de recherches scientifiques à travers le monde 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.

Ce présent travail a été consacré à l'étude des activités antioxydante, enzymatique, antibactérienne, la composition chimique et le rendement des extraits de l'*Artemisia herba alba* qui appartient à la famille des Asteraceae, et le *Marrubium vulgare* qui appartient à la famille des Lamiacée qui sont des familles des plus importantes dans la région méditerranéenne, et les plus utilisés dans la médecine traditionnelle.

La caractérisation quantitative des extraits méthanoliques a été évaluée pour déterminer leurs contenus en polyphénols et en flavonoïdes. Nous avons conclu que les deux extraits *Artemisia herba alba* et *Marrubium vulgare* ont présentés des teneurs en polyphénols de l'ordre de (124,58±4,56mg/ml) et (36,64±4,07mg/ml), respectivement. Les teneurs en flavonoïdes sont de (80,55±5,15mg/ml) et (58,19±2,50mg/ml), Ces résultats indiquent que le contenu en flavonoïdes est faible par rapport à celui des polyphénols pour l'extrait de l'*Artemisia herba alba* par contre l'extrait de *Marrubium vulgare* est plus riche en flavonoïdes que les polyphénols. L'extrait *Artemisia herba alba* s'est révélé le plus riche en polyphénols et en flavonoïdes par rapport au *Marrubium vulgare*.

Quatre méthodes chimiques comparatives sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante, la méthode DPPH, la méthode ABTS, la méthode FRAP et la méthode phenanthroline, on constate que :

- L'*Artemisia Herba Alba* a manifesté une activité anti radicalaire au DPPH supérieure à celle de l'extrait du *Marrubium Vulgare*.
- la capacité de piégeage des radicaux libres présentée par l'*Artemisia Herba Alba* est supérieure à celle du *Marrubium Vulgare*.
- les extraits du *Marrubium Vulgare* et d'*Artemisia Herba Alba* ont une activité de pouvoir réducteur (FRAP) faible.

CONCLUSION GENERALE

- les deux extraits se sont révélés capables de réduire le fer et de former un complexe Fe^{+2} -phénantroline mais l'extrait d'*Artemisia Herba Alba* est le plus actif

L'activité enzymatique *in-vitro* réalisé sur les deux extraits a montré que les deux extraits ne possèdent pas une activité inhibitrice d'acétylcholinestérase.

L'activité antibactérienne a été déterminée sur trois souches bactériennes, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, on constate que :

- l'extrait d'*Artemisia Herba Alba* ne marque aucune activité sur les bactéries *E. coli* et *P. aeruginosa*, par contre sur la bactérie *S. aureus* révèle une faible activité antibactérienne.
- l'extrait de *Marrubium Vulgare* montre une faible activité sur les bactéries *E. coli* et *S. aureus*, par contre sur la bactérie *P. aeruginosa* n' a aucun effet.

En perspective, il serait intéressant d'approfondir notre étude afin de la compléter, par :

- Tester d'autres méthodes d'extraction.
- Effectuer d'autres activités biologiques *in vitro* telles que l'activité antivirale, l'activité anti-inflammatoire, l'activité anticancéreuse, l'activité anti Alzheimer et l'activité antidiabétique.
- Confirmer nos résultats *in vitro* par des tests *in vivo*.

**REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUE**

Références bibliographiques

- ❖ **Abu-Darwish MS ; Cabral C ., Gonçalves MJ ., Cavaleiro C ., Cruz MT ., Efferth T ., Salgueiro L,(2015).** Huile essentielle d'Artemisia herba-alba de Buseirah (South Jordan): Caractérisation chimique et évaluation des doses antifongiques et anti inflammatoires *Ethnopharmacol* ; 174: 153-60.
- ❖ **AidoudA., 1989.** Les écosystèmes Armoise blanche (Artemisia herba-alba Asso). II: Phytomasse et productivité primaire. *Biocénoses*, 1-2: 70-90.
- ❖ **Ahvazi,M ., Jamzad,Z. , Balali, G.R., &Saeidi,H .** 2018. A Taxonomical, Morphological and Pharmacological Review of Marrubium vulgare L., An Old Medicinal Plant in Iran. *Journal of Medicinal Plants* ,17(65) ,7-24.
- ❖ **Akinyemi k. O., Olopado O., Okwara C. E., Ibe C. C., and Fasure K. A.,** Screening of crude extracts of six medicinal plants used in South-West Nigerian unorthodox medicine for anti-methicillin resistant Staphylococcus aureus activity. *BMC complementary and alternative Medicine*, 5, (2005), 1-6.
- ❖ **Alkhatib R., Joha S., Cheok M., Roumy V., Idziorek T., Preudhomme C., Quesnel B., Sahpaz S., Bailleul F. &Hennebelle T.,** 2010. Activity of Ladanein on Leukemia Cell Linesand Its Occurrence in Marrubium vulgare, *Planta Medica.*, Vol. 76 (1), 86-87.
- ❖ **Anderson, Jr. ER., Koplán, J., Henney, JE. et Billy, TJ. (2001).** Diagnosis and Management of Foodborne Illness: A Primer for Physicians. Centers for Disease Control, *Morbidity and Mortality Weekly Report* 50 (2): 1-69
- ❖ **Antwerpen, P.V.** 2006. Contribution à l'étude du pouvoir antioxydant de divers agents d'intérêt thérapeutique : Ciblage du système myclopéroxydase / peroxyole d'hydrogène / Clilorure. Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Science Pharmaceutiques Bruxelles.
- ❖ **Avril JL, Dabernat H, Denis F, Monteil H.** 2000. *Bactériologie clinique*.3ème édition. Ellipses édition marketing S.A. Paris, 171-229.
- ❖ **Ayad N., Djemane A., Ayache H., et Hellal B.** Contribution à l'étude de L'implantation de l'armoise blanche « Artemisia herba alba Asso» dans la steppe du Sud de Tlemcen. *Revue Ecologie- Environnement*. 2013
- ❖ **Baba Aissa F., 2000-** Encyclopedie des plantes utiles. Ed. Librairie moderne, Rouiba, 368 p.

- ❖ **Barlow, S.M.** 1990. Toxicological aspects of antioxidants used as food additives. Ed. Hudson, B.J.F, Food Antioxidants: 253-307.
- ❖ **Battandier, J. A. & Trabut, L. C.**1888. Flore de l'Algérie (Dicotylédones): Edit. A. Jourdan, Alger et F. Savy, Paris
- ❖ **Belhattab R, Larous L** 2006 Essential oil composition and glandular trichomes of *Marrubium vulgare* L. growing wild in Algeria. J Essent Oil Res 18: 369–73.
- ❖ **Belakhdar J.,** 1997.- La pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Ed. Ibis press, Rabat, 764 p.
- ❖ **Benahmed A. Chergui M. et Rebai Kh.** 2016. Évaluation des effets biologiques (Activité antioxydante, antibactérienne et antifongique) de *Marrubium vulgare*. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.
- ❖ **Bendjilali B., Richard H.; Liddle P.** Chémotypes d'armoise blanche du Maroc. C
- ❖ **Bezza, L., A. Mannarino, K. Fattarsi, C. Mikail, L. Abou, F. Hadji-Minaglou, and J. Kaloustian, (2010).** Composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* provenant de la région de Biskra (Algérie). Phytothérapie, 2010. 8(5): p. 277-281.
- ❖ **Bhats S.V., Nagasampigib B.A., Sivakumar S.M,** 2005. chemistry of natural products. Ed, narosa, Springer, Verlag Berlin Heidelberg. USA. 840 p. Black well Publishing Ltd. ISBN: 1-17.
- ❖ **Blois M.S.,** 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable Free Radical. Nature, 4617 (181): 1119-1200.
- ❖ **Boizot, N ; Charpentier, J.P.** 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour d'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, INRA, 79-82.
- ❖ **Boudjelal A, Henchiri C, Siracusa L, et al.** 2012 Compositional analysis and in vivo anti-diabetic activity of wild Algerian *Marrubium vulgare* L. infusion. Fitoteparia 2: 286–92.
- ❖ **Boudjelal Amel, (2013)** : Extraction, identification et détermination des activités biologiques de quelques extraits actifs de plantes spontanées (*Ajuga iva*, *Artemisia herba Alba* et *Marrubium vulgare*) de la région de M'Sila, Algérie. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar Annaba., 61p.

- ❖ **Boudjelal K. et Zerzaihi O. A.** 2019. Etude de l'activité antioxydante de l'espèce *Artemisia campestris* de la région désertique méridional (Tassili /Hoggar). Université Frères Mentouri Constantine 1.
- ❖ **Boullard, B. (2001).** Plantes médicinales du monde. Editions Estem, pp 340-341
- ❖ **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.
- ❖ **Bourahima , Comoé K D B, Abou OUATTARA, Dahiro Noël D, Richard K et Karamoko OUATTARA .** 2021. Teneurs en phénols totaux, activités antioxydantes des macérés et décocté des feuilles de *Uvaria chamae* P. Beauv. (Annonaceae)
- ❖ **Boutabet, K.** 2007. Etude pharmaco chimique de l'extrait de propolis au cours d'un stress oxydatif rénal induit par la doxorubicine. Thèse de Magistère de l'université de Jijel.
- ❖ **Boutekjenet C.** Contribution à l'étude chimique d'artémisia herba alba. Projet de fin d'étude en génie chimique.Ecole nationale polytechnique. Alger, 1987.
- ❖ **Bouterfas, K., Mehdadi, Z., Latreche, A., & Cherifi, K.** (2013). Autoécologie du Marrube blanc (*Marrubium vulgare* L.) et caractérisation de la biodiversité végétale dans le Djebel de Tessala (Algérie nord-occidentale). Revue internationale d'écologie méditerranéenne International Journal of Mediterranean Ecology, 39(2), 39.
- ❖ **. Bruneton J.** Éléments de phytochimie et de pharmacognosie, Ed. Tec&Doc Lavoisier, 1987
- ❖ **Bruneton J.,** 1999. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Technique & Documentation, Paris, 721-74
- ❖ **Bruneton J.**1996. Plantes toxiques, Végétaux dangereux pour l'homme et les animaux, 3ème édition, Lavoisier, Paris. 632 p.
- ❖ **Bruneton, J.** 1999. Pharmacognosie. Phytochimie-Plantes médicinales, 3ème Ed Techniques et documentations. Paris. pp: 227-310-312-313-314.494.
- ❖ **Bruneton J., 2001.** Plantes toxiques : végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. 2 ème Ed : TEC & DOC. Paris. 337 p.
- ❖ **Bruneton J** 2015 Pharmacognosie (5° Éd.) Phytochimie - Plantes médicinales, Tec and Doc, Lavoisier, Paris.1504pp
- ❖ **Chung Y.C., Chang C.T., Chao W.W., Lin C.F. et Chou S.T.,** 2002. Antioxidant activity and safety of the 50 ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus*

- subtilis IMR-NKI. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 50(8): 2454-2458.
- ❖ **Crété P., 1965.** Précis de Botanique : Systématique des Angiospermes. Tome II. 2e Ed : Masson, Paris. pp. 368-371.
 - ❖ **Curtay, J.P; Robin, J.M.** 2000. Intérêt des complexes antioxydants. Centre d'étude et développement de la nutrithérapie.
 - ❖ **Dacosta Y.** 2003 Les phytonutriments bioactifs : 669 références bibliographiques. Ed. Yves Dacosta, Paris, p. 317.
 - ❖ **Dalal M. et Oumhani S.** 2019. Thème Etude de l'activité antibactérienne d'Artemisia herba alba de la région (El-Kantara) en vue de son utilisation comme bio conservateur dans le lait cru de vache. Université Mohamed Khider de Biskra.
 - ❖ **Da Silva J. A., 2004.** Mining the essential oils of the Anthemideae. African Journal of Biotechnology December. Vol. 3 (12), 706-720 p.
 - ❖ **Debuigne G.** Larousse des plantes qui guérissent, Ed. Larousse, 1974].
 - ❖ **De Rijke E, Out P, Niessen W M A, Ariese F, Gooijer C, Brinkman U A T** 2006 Analytical separation and detection methods for flavonoids, Journal of Chromatography A, 1112, 31–63.
 - ❖ **Dejesus RA, Cechinel Filho V** 2000. Analysis of the antinociceptive properties of marrubiin isolated from Marrubium vulgare L. Phytomedicine, 7: 111–5.
 - ❖ **Deysson G., 1967.** Organisation et classification des plantes vasculaires. Tome 1.
 - ❖ **Djahra, A. B., Bordjiba, O., & Benkherara, S.** 2015. Activité antibactérienne des flavonoïdes d'une plante médicinale spontanée Marrubium vulgare L. de la région d'El Tarf (Nord-Est Algérien). Synthèse : Revue des Sciences et de la Technologie, 24, 29-37.
 - ❖ **Djebaili, S., Djellouli, Y. & Daget, P.H.** 1995. Essai de typologie des steppes pâturées du secteur des hauts plateaux algériens. Biocénoses, Tome 6. 118 P.
 - ❖
 - ❖ **Duke J., 1992.** Handbook of phytochemical constituents of grass herbs and other economic plants. Boca. Raton, FL. CRC Press.
 - ❖
 - ❖ **Edziri H., Ammar S., Groh P., Mahjoub M.A., Mastouri M., Gutmann L., Zine M. & Aouni M., 2007.** Antimicrobial and cytotoxic activity of Marrubium alysson and Retama retama in Tunisia, Pak. J. Biol. Sci., Vol. 10, 1759-1762.

- ❖ **El Bardai S, Morel N, Wibo M, et al.** 2003. The vasorelaxant activity of marrubenol and marrubiin from *Marrubium vulgare*. *Planta Med* 69: 75–7.
- ❖ **El bardai S., Lyoussi B., Wibo M. & Morel N.,** 2004. Comparative Study of the antihypertensive activity of *Marrubium vulgare* and of the dihydropyridine calcium antagonist amlodipine in spontaneously hypertensive rat, *Clin. Exp. Hypertens.*, Vol. 26 (6), 465-474.
- ❖ **Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., Featherston, R.M.,** 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* 7, 88–95.
- ❖ **Evans, J.L; Goldfine, I.D ; Maddux, B.A ; Grodsky, G.M.** 2002. Oxidative stress and stress- activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes, *Endocr Rev*, 23: 599-622.
- ❖ **Favier, (2003).** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 108-115
- ❖
- ❖ **Favier A.** 2003 Le stress oxydant : intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'Actualité chimique* 108-117.
- ❖ **Favier A.** 2006 Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann. Pharm. Fr.* 64: 390-396.
- ❖ **Fenardji F., Klur M., Furlon C., Ferrando R.,** 1974. White *Artemisia* (*Artemisia herba-alba* L.). *Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop.*, (1974) 27(2):203-6.
- ❖ **Ferchichi, A.** 1997. Contribution à l'étude cytotoxonomique et biologique d'*Artemisia herba-alba* Asso en Tunisie présaharienne. *Acta Botanica Gallica*, 144: 145-154.
- ❖
- ❖ **Fuorucci, S.** 2006. Activités biologiques de composés de la famille des flavonoïdes : Approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire. Thèse de Doctorat de l'université de Nice Sophia Antipolis.
- ❖ **Gerard-Monnier, D ; Chaudière, J.** 1996. Métabolisme et fonction antioxydante du glutathion, *Path Biol*, 44 : 77 – 85.
- ❖ **Goussard, J. P.** 1999. Les radicaux libres et antioxydants, p 7-11.

- ❖ **Greuter W., Burdet H.M., Long G., Eds. Med-Chechlist.**1986. Conservatoire et Jardins Botaniques : Genève, 3, 292-295.
- ❖ **Guessennd N., Gbonon V.C, Tiékoura K.B., Kakou-N'douba A., Ouattara D.N., BoniCissé C., Dosso M. et le GER-BMR,** Évolution de la résistance bactérienne à l'imipénème en Côte d'Ivoire de 2005 à 2009. Colloque scientifique de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire : pathologies émergentes et biologie intégrative, (2009), 17 p.
- ❖ **Guignard J. L., Cosson L., Henry M.** 1985. Abrégé de phyto-chimie. Masson, Paris, pp 175- 191.
- ❖ **Guinebert E., Durand P., Prost M., Grinand R. and Bernigault R.** 2005 Mesure de la résistance aux radicaux libres. Sixièmes Journées de la Recherche Avicole ; 554-558.
- ❖ **Gullulce M., Sökmen M., Daferera D., Ağar, G., Özkan, H., Kartal, N., Şahin, F.** 2003. In vitro antibacterial, antifungal, and antioxidant activities of the essential oil and methanol extracts of herbal parts and callus cultures of *Satureja hortensis* L. Chemistry 51(14): 3958- 3965.
- ❖ **Habera F. et Laoudi K.** 2019. Screening phyto-chimique et étude des activités biologiques : anti-oxydante, antibactérienne et insecticide des polyphénols et de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* (armoise blanche), contribution à la caractérisation d'extrait aqueux par RP-HPLC. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.
- ❖ **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 : Pharmacochimie.155p.
- ❖ **Halliwel, B; Gutteridge, J.M.C.** 1999. Free radicals in biology and medicine, Oxford, UK.
- ❖ **Hebi M. &Eddouks M.,** 2016 : Evaluation de l'activité antioxydante de *Steviarebaudiana*. Phytothérapie 14, 17– 22.
- ❖ **Henniche I. et Messaoudi S.** 2013. Pouvoir réducteur et scavenger des espèces radicalaires et non radicalaires des extraits de quelques plantes médicinales. Université Abderrahmane MIRA de Bejaia
- ❖ **Hernandez- Ochoa LR.,** 2005 - Substitution de solvants et matières actives de synthèse par combiné (solvant/actif) d'origine végétale. Thèse de Doctorat. Institut national polytechniques, Toulouse. France. 255p.

- ❖ **Hinneburg I., Damien Dorman H. D., et Hiltunen R., 2006.** Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. *Food chemistry*. 97 (1): 122-129.
- ❖ **Hosein S. R., et Lytle M. 2001.** Les Antioxydants. Traducteur : Alain Boutilier. *Catie Feuillet d'information*. 5p
- ❖ **Hurabielle M., Malsot M., Paris M.** Contribution à l'étude chimique de deux huiles d'artémisia : artémisia herba alba asso et artémisia vulgaris linnaeus. Intérêt chimiotaxonomique. *Rivista italiana e.p.p.os*, lxiii (6). 296- 299,1981.
- ❖ **Institut Européen des Substances Végétales (page consultée le 15/10/08).** Phytothérapie clinique individualisée : pour une médecine des substances végétales.
- ❖ **Ito, N; Fukushima, S; Tsuda, H. 1985.** Carcinogenicity and modification of the carcinogenic responses by BHA, BHT and other antioxidants. *CRC Critical Reviews in Toxicology*, 15 : 109-150.
- ❖ **Jaadan H. a,b, Mustapha A. a, Abdelmajid M. a, Mourad B. a, Ali Skalli a, Said E. c, Saadia B. b. 2020.** Phytochemical screening, polyphenols, flavonoids and tannin content, antioxidant activities and FTIR characterization of *Marrubium vulgare* L. from 2 different localities of Northeast of Morocco
- ❖ **Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A. & Steven P. 2002 :** Botanique systématique : Une perspective phylogénétique. *1ere Ed* : Paris et Bruxelles. pp. 369-384.
- ❖ **Kaloustian, (2010).** Composition chimique de l'huile essentielle d'Artemisia herba-alba provenant de la région de Biskra (Algérie). *Phytothérapie*, 2010. 8(5): p. 277-281.
- ❖ **Kanoum, K. 2011.** Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine), En vue de l'obtention du Diplôme de Magister En Biologie, université Abou Bekr Belkaid Tlemcen.
- ❖ **KHIREDDINE H., 2013-** Comprimés de poudre de dattes comme support universel des principes actifs de quelques plantes médicinales d'Algérie. thèse Magistère : Technologie Alimentaire. WEPIERRE J. 1981- Abrégé de pharmacologie générale et moléculaire. Ed. Masson, Paris. 203p
- ❖ **Khoudali S., Benmessaoudleft D., Essaqui A., Zertoubi M., Azzi M. & Benaissa M., 2014 :** Étude de l'activité antioxydante et de l'action anti corrosion de l'extrait méthanolique des feuilles du palmier nain (*Chamaerops humilis* L.) du Maroc. *J. Mater. Environ. Sci* 5 (3), 887-898.

- ❖ **Kohen R. and Nyska A.** 2002. Invited Review: Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. *Toxicol. Path.* 30 : 620-650.
- ❖ **Krippeit-Drews P., LANG F., Haussinger D. et Drews G.** 1994. H₂O₂ induced hyperpolarisation of pancreatic B-cells, *Pflugers Arch.* 426, 552-554.
- ❖ **Kumbhare M.R., Guleha V. & Sivakumar T.,** 2012: Estimation of total phenolic content, cytotoxicity and invitro antioxidant activity of stem bark of *Moringaoleifera*. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* ,144-150.
 - ❖ **Kundan S., and Anupam S. (2010).** The Genus *Artemisia*: A Comprehensive Review. *J. Pharm. Biol.* pp:1-9L
- ❖ **Kurbatova NV, Muzychkina RA, Mukhitdinov NM, ParshinaGN.** 2003 comparative phytochemical investigation of the composition and content of biologically active substances in *Marrubium vulgare* and *Marrubium alternidens*. *Chem Nat Comp* 39: 501–2.
- ❖ **Lahsissene, H., Kahouadji, A., & Hseini, S.** 2009. Catalogue des plantes medicinales utilisees dans la region de Zaër (Maroc Occidental). *Lejeunia, Revue de Botanique*, (186),1-30.
- ❖ **Le Houérou, H.N.** 1995. Bioclimatologie et biogéographie des steppes arides du Nord de l'Afrique : diversité biologique, développement durable et désertisation. Montpellier : CIHEAM, (Options Méditerranées : Série B. Etudes et Recherches ; n. 10) Lefebvre, C. 2011. Intérêt de la cytogénétique conventionnelle et moléculaire.
- ❖ **Lindau-sehpard, B ; Shaffer, J.** 1993. Expression of human catalase in acatalasemic murine SVB2 cells confers protection from oxidative damage, *free rad boil Med*, 15:581-8.
- ❖ **Lisu. W; Jui-Hung, Y; Hsiao-Ling, L; Ming-Juan, W.** 2003. Antioxydant effect of methanol extracts from Lotus Plumule and Blossom (*Nelumbo nucifeca* Gertn), *Journal of food and drug analysis*, 11(1): 60-66.
- ❖ **Lodhi, S., Vадnere, G. P., Sharma, V. K., & Usman, M. R.** 2017. *Marrubium vulgare* L: A review on phytochemical and pharmacological aspects. *Journal of intercultural ethnopharmacology*, 6(4), 429-452.
- ❖ **Lüttge U., Kluge M., Bauer G.,** 1992. *Botanique: traité fondamental* (traduction française). Ed. Tec. & doc. Lavoisier, Paris. 205-218 p.
- ❖ **Macheix J., Fleuriet A., Jay C.** 2005. Les composés phénoliques des végétaux, un

- exemple des métabolites secondaires. Collection Biologie, pp.1-11
- ❖ **Mahmoudi S., Khali M. et Mahmoudi N. (2013).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynarascolymus L.*). *Nature et Technologie.*, 09 : 35-40.
 - ❖ **Mansour A., 2009** - Investigation phytochimique de l'extrait n-butanol de l'espèce *centaurea africana*. Mémoire de magister, Univ. Constantine, 8 p.
 - ❖ **Marfak, A. 2003.** Radiolyse gamma des flavonoïdes, étude de leur réactivité avec les radicaux libres issus des alcools : Formation de depsides Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université de Limoges.
 - ❖ **Matkowski A, Piotrowska M 2006** Antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants from the Lamiaceae. *Fitoterapia* 77 : 346–353.
 - ❖ **Meddleton, E; Kardasnam, J.C. 1993.**The flavonoids *Advances*. In: research since 1986. J B Harborne, Chapman and Hall, London, p 617-652.
 - ❖ **Medic Sanic, M; Japrica, I; Smolcic Bubalo, A; et Mornar, A. 2004.** Optimization of chromatographic conditions in thin layer chromatography of flavonoids and phenolic acids, *Croatica Chemica Acta*, p 361-366.
 - ❖ **Medjili S. et Zaghdane W.2018.** Etude de l'activité antioxydante de la plante *Artemisia herba alba*. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.
 - ❖ **Mehimmedetsi R. et Rabia M. 2018.** Pouvoir antioxydant de l'espèce *Artemisia herba alba*. Université des Frères Mentouri Constantine.
 - ❖ **Messai L, (2011).** Etude phytochimique d'une plante médicinale de l'est algérien (*Artémisia herba Alba*). Thèse de doctorat en sciences. Université Mentouri Constantine.
 - ❖ **Meyre-Silva C, Yunes RA, Schlemper V, et al. 2005.** Analgesic potential of marrubiin derivatives, a bioactive diterpene present in *Marrubium vulgare L.* (Lamiaceae). *Il Farmaco* 60 : 312–26.
 - ❖ **Mohammedi Z. 2006.** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse de Magistère de l'université Abou Bakr Belkaid de Tlemcen.
 - ❖ **Monnier C.** Les plantes médicinales - vertus et traditions, Ed. Privat, 2002.
 - ❖ **Moreau B.,** maître de conférences de pharmacognosie à la faculté de Pharmacie de Nancy. Travaux dirigés et travaux pratiques de pharmacognosie de 3ème année de doctorat de pharmacie, 2003

- ❖ **Müller L., Gnoyke S., Popken A.M., V. Böhm V.** 2010. Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT - Food Science and Technology*, 43 : 992–999.
- ❖ **Nabli Ma.** Essai de synthèse sur la végétation et la phytoécologie tunisiennes. Tome I. Ed. MAB (Faculté des sciences de Tunis), 1989 ; 186-188 p.
- ❖ **Namoune, I., Khettal, B., Assaf, A. M., Elhayek, S., & Arrar, L.** 2018. Antioxidant and Antiinflammat
- ❖ **ory Activities of Organic and Aqueous Extracts of Northeast Algerian Marrubium vulgare.** *Phytothérapie*, 1-11.
- ❖ **Nawwar-Mahmoud AM, El-Mousallamy AMD, Barakat HH, et al.** 1989 Flavonoid lactates from leaves of *Marrubium vulgare*. *Phytochemistry* 28 : 3201–6.
- ❖ **Nicolas, M., et Daniel, C.** 1998. Activités technologiques en microbiologie- Techniques de base et méthodologie. Editeurs CRDP D'Aquitaine-Bordeaux. Cité par Allane, T. (2009).
- ❖ **Nkhili, Ez.,** 2009 : Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Diplôme de Doctorat, Spécialité: Sciences des Aliments. Université Cadi Ayyad. Marrakech Université D'avignon Et Des Pays De Vaucluse Ecole Doctorale 306 – SPSA, Montpellier. 378p.
- ❖ **Novelli G. P.** 1997 Role of free radicals in septic shock. *J. Physiol. Pharmacol.* 48: 517-527.
- ❖ **OMS (2002).** Perspectives politiques de l'OMS sur les médicaments. Médecine Traditionnelle : Besoins croissants et potentiel. Genève.
- ❖ **Ouyahya, A.** 1987. Systematique du genre *Artemisia* au Maroc, Thèse de Doctorat ès Sciences, Univ. Aix-Marseille III, 433 p.
- ❖ **Oyaizu, M.** (1986). Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44, 307–315.
- ❖ **Ozenda P.,** 2004. Flore et végétation des Sahara. 3^{ième} Ed : CNRS édition. Paris. pp.399-402.
- ❖ **Packer, L; Tritschler, H.J; and Wessel, K.** 1997. Neuroprotection by the metabolic antioxidant alpha – lipoic acid, *Free Radic Biol Med*, 22: 359 – 378.

- ❖ **Patocka J., Plucar B.,2003.** Journal of Applied Biomedicine1: 199–205, ISSN 1214-0287.
- ❖ **Paris R., Moyse H.,** 1969. Précis de matière médicinale. Paris : Masson.
- ❖ **Pavela R.,** 2004. Insecticidal activity of certain medicinal plants, Fitoterapia., Vol. 75, 745–749.
- ❖ **Pelt J.-M.** Les drogues. Leur histoire, leurs effets, Ed. Doin, 1980.
- ❖ **Ponce A G., Fritz R., Del Valle C., Roura S. I.** 2003. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. LWT-Food Science and Technology 36(7) : 679-684.
- ❖ **Pottier G, (1981).** Artemisia herba-alba. Flore de la Tunisie : angiospermes–dicotylédones–gamopétales, 1012p
- ❖ **Pukalskas A, Rimantas Venskutonis P, Salido S, et al. (2012).** Isolation, identification and activity of natural antioxidants from horehound (*Marrubium vulgare* L.) cultivated in Lithuania. Food Chem 130 : 695–701.
- ❖ **Quezel. P., Santa. S.** 1963. Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Vol (2). CNRS, Paris.
- ❖ **Quezel, P & Santa, S.** 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Centre Nationale de la Recherche Scientifique. Paris 7. 1170 P.
- ❖ **Ozenda P., 2004.** Flore et végétation des Sahara. 3^{ième}Ed : CNRS édition. Paris. pp.399-402.
- ❖ **Raynaud J.,** 2007. Prescription et conseil en phytothérapie. Ed. Tec & Doc. 215p.
- ❖ **Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C.,** 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Bio. Med. 26, 1231–1237.
- ❖ **Rigano D., Aviello G., Bruno M., Formisano C., Rosselli S., Capasso R., Senatore F., Izzo A.A. & Borrelli F., 2009.** Antispasmodic Effects and Structure–Activity Relationships of Labdane Diterpenoids from *Marrubium globosum* ssp. *libanoticum*, J. Nat. Prod., Vol.72, 1477-1481.
- ❖ **Rock, E.** 2003. Stress oxydant, micronutriments et santé. Inra – CRNH, unité des maladies métaboliques et micronutriments 63122 St Genès Campanelle. Université d'été de nutrition– Clermont- Fenand, 37-42.
- ❖ **Rodríguez Villanueva, J., & Martín Esteban, J.** 2016. An Insight into a Blockbuster Phytomedicine; *marrubium vulgare* L. Herb. More of a Myth than a Reality ?

- Phytotherapy research, 30(10), 1551-1558.
- ❖ **Roman R.R., Alarcon-Aguilar F., et al., 1992.** Hypoglycemic effect of plants used in Mexico as antidiabetics. Archives of Medical Research. 23(1): 59-64.
 - ❖ **Savard P. Y.,** Caractérisation structurale et dynamique de la bêta-lactamase TEM-1 de la bactérie Escherichia coli par RMN liquide, Philosophiae Doctor de Biochimie et de Microbiologie, Faculté des Sciences et de Génie, Université Laval, Québec, (2003) 224 p.
 - ❖ **Sahpas S, Hennebelle T, Bailleul F.** 2002 Marruboside, a new phenylethanoid glycoside from Marrubium vulgare L. Nat Prod Lett 16: 195–9.
 - ❖ **Sahpaz S, Garbacki N, Tits M, Bailleul F** 2002 Isolation and pharmacological activity of phenylpropanoid esters from Marrubium vulgare. J Ethnopharmacol 79 : 389–392
 - ❖ **Salido, S., Valenzuela, L.R., Altarejos, J., Noguerras, M., Sanchez, A. & Cano, E.** 2004. Composition and infraspecific variability of Artemisia herba-alba from southern Spain. Biochemical Systematics and Ecology, 32 : 265-277
 - ❖ **Schlempher V (1996).** « Antispasmodic effects of hydroalcoholic extract of Marrubium vulgare on isolated tissues » Phytomedicine, 3 (2), 211-216.
 - ❖ **Seenivasan P,** 2006. In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. Journal of complementary and alternative medicine. Vol. (9) : 6-39).
 - ❖ **Segal R., Breuer A.,** 1980. Feuerstein I., Phytochemistry (1980) 19(12): 2761-2762.
 - ❖ **Segal R., Eden L., Danin A., Kaiser M., Duddeck H.,** 1985. Phytochemistry 24,1381-1382.
 - ❖ **Saleh N., El-Nougoumy S., Abd-Allah M., Abou-Zaid M., Dellmonica G., Chopin J.,** 1985. Phytochemistry 24(01): 201-203.
 - ❖ **Servais, S.** 2002. Altérations mitochondriales et stress oxydant pulmonaire en réponse à l'ozone : effets de l'âge et d'une supplémentation en oméga-3. Thèse de doctorat de l'Université de Claude Bernard.
 - ❖ **Singleton V.L and Rossi J.A.J.** 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Amer. J. Enol. Viticult. 16:144-58.
 - ❖ **Shen XL., Nielsen M., Witt MR., Sterner O., Bergendorff O., Khayyal M., Zhongguo.,** 1994. Yao Li Xue Bao. Sep, 15(5):385-8.
 - ❖ **Sohal R. S., Mockett R. J. and Orr W. C.** 2002. Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. Free Radical Biol. Med. 33 : 575-586.

- ❖ **Soldermann, N.** juin 2002. « Etude et développement du processus Tandem réaction de Diels Alder/réarrangement de Irland-Claisen : Application à la synthèse de la Juvabione », These de Doctorat. Université de Neuchâtel,
- ❖ **Stamler, J.S; slivka, A.** 1996. Biological chemistry of thiols in the vasculature and in vascular- related disease, Nuts Rev, 54: 1 – 30.
- ❖ **Stöckigt J, Sheludko Y, Unger M, Gerasimenko I, Warzecha H, Stöckigt D** 2002 Highperformance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoreticelectrospray ionization mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups, Journal of chromatography A, 967, 85-113.
- ❖ **Szydłowska-Czerniaka A, Dianoczki C, Recseg K, Karlovits G, Szlyk E.** 2008 Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. Talanta ; 76 :899-905.
- ❖ **Thangara J. H. S., Adjei O., Allen B. W., and Portaels F.,**2000. In-vitro activity of ciprofloxacin, sparfloxacin, ofloxacin, amikacin and rifampicin against Ghanian isolates of Mycobacterium ulcerans. Journal Antimicrobial Agents Chemoter, 45 (2), 231-233.
- ❖ **Topçu G., Ay A., Bilici A., Sarkürkcü C., Öztürk M., and Ulubelen A.** 2007. A new flavone from antioxidant extracts of Pistacia terebinthus. Food Chemistry 103: 816–822.
- ❖ **Twaij Ha, Al-Badr Aa. (1988).** Hypoglycemic activity of Artemisia herba alba, J Ethnopharmacol. 1988 Dec ;24(2-3) :123-6.
- ❖ **Vergara-Galicia J, Aguirre-Crespo F, Tun-Suarez A, et al. (2012)** Acute hypoglycemic effect of ethanolic extracts from Marrubium vulgare. Phytopharmacology 3 : 54–60.
- ❖ **Wagner H. 1993.** Pharmazeutische Biologie. Drogen und irhe inhaltsstaffe, Gustav Fisher Verlag. Sturtgart-New-York, 50 p
- ❖ **Warda K., Markouk M., Bekkouche K., Larhsini M., Abbad A., Romane A. & Bouskraoui M.,** 2009. Antibacterial evaluation of selected Moroccan medicinal plants against Streptococcus pneumoniae, Afr. J. Pharm. Pharmacol., Vol. 3 (3), 101-104.
- ❖ **Wichtl M., Anton R., 2003.** Plantes thérapeutiques : Traditions, Pratique officinale, Sciences et Thérapeutique. 2 e Ed : TEC & DOC. Paris. pp. 1-364
- ❖ **Weel K.C.G., Venskutonis P.R., Pukalskas A., Gruzdiene D. & Linssen J.P.H.**1999. Antioxidant activity of horehound (Marrubium vulgare) grown in

- Lithuania, *J. Fett/Lipid.*, Vol. 101(10), 395-400.
- ❖ **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.
 - ❖ **Yu, R; Mandlekar, S; Tony Kong, A.N.** 2000. Molecular mechanisms of butylated hydroxyanisole-induced toxicity: induction of apoptosis through direct release of cytochrome c. *Molecular Pharmacology*, 58: 431- 437. EPHE.
 - ❖ **Zaabat, N., Darbour, N., Bayet, C., Michalet, S., Doléans-Jordhem, A., Chelr-Ghedira, L., Akkal, S., et Dijoux-Franca, M. G. (2010).** Étude préliminaire de *Marrubium deserti* de Noé, une Lamiaceae endémique algérienne. *Pharmacognosie*, 8, pp 353-358.
 - ❖ **Zaabat, N., Hay, A. E., Michalet, S., Darbour, N., Bayet, C., Skandrani, I., Ghedira, L. C., Akkal, S., et Dijoux-Franca, M. G. (2011).** Antioxidant and antigenotoxic properties of compounds isolated from *Marrubium deserti* de Noé. *Food and Chemical Toxicology*, pp 1-8.
 - ❖ **Zenk H. and Juenger M.** 2007. Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds. *Phytochemistry* 68 : 2757-2772

Activités antioxydante, enzymatique et antibactérienne de quelques plantes médicinales algérienne

Résumé :

Ce travail est une contribution à l'évaluation de l'activité antioxydante, l'activité enzymatique et l'activité antibactérienne des extraits obtenus à partir de deux plantes qui ont une grande valeur pharmaceutique, le *Marrubium vulgare* et l'*Artemisia herba alba*.

L'activité antioxydante est réalisée en utilisant quatre méthodes à savoir, le piégeage du radical DPPH, le piégeage du radical-cation ABTS, le test du pouvoir réducteur FRAP et le test du phénantroline. L'étude de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes de ces extraits a montré une richesse en polyphénol et en flavonoïde des extraits d'*Artemisia herba alba*. L'activité anti radicalaire du DPPH a montré que l'*Artemisia Herba Alba* a manifesté une activité anti radicalaire au DPPH ($IC_{50}=88,76\pm 1,78 \mu\text{g/ml}$) supérieure à celle de l'extrait du *Marrubium Vulgare* ($IC_{50} > 200 \mu\text{g/ml}$), et très inférieure à celle du standard Trolox ($IC_{50}=5.12\pm 0.21 \mu\text{g/ml}$). Le test ABTS a montré que la capacité de piégeage des radicaux libres présentée par l'*Artemisia Herba Alba* ($IC_{50}=30,10\pm 0,61 \mu\text{g/ml}$) est très faibles par rapport au standard ($IC_{50}=3.21\pm 0.06 \mu\text{g/ml}$) et supérieure à celle du *Marrubium Vulgare* ($IC_{50}=96,69\pm 0,20 \mu\text{g/ml}$). Les résultats du test du FRAP ont montré que les extraits du *Marrubium Vulgare* et d'*Artemisia Herba Alba* ont une activité de pouvoir réducteur très faible ($A_{0,50}$ supérieure à $200 \mu\text{g/ml}$) par rapport à celle du standard (**Trolox**) ($A_{0,50}=5.25\pm 0.20 \mu\text{g/ml}$). Les résultats obtenus par le test du phénantroline ont montré que les deux extraits sont révélés capables de réduire le fer et de former un complexe Fe^{+2} -phénantroline mais l'extrait d'*Artemisia Herba Alba* a une activité de réduction par la formation du complexe Fe^{+2} -phénantroline.

L'étude de l'activité enzymatique a montré que les deux extraits ne possèdent pas une activité inhibitrice d'acétylcholinestérase.

Pour l'activité antibactérienne, l'extrait d'*Artemisia Herba Alba* ne marque aucune activité sur les bactéries *E. coli* et *P. aeruginosa*, par contre sur la bactérie *S. aureus* il montre une faible activité antibactérienne. Alors que l'extrait de *Marrubium Vulgare* montre une faible activité sur les bactéries *E. coli* et *S. aureus*, et sur la bactérie *P. aeruginosa* ne marque aucune effet.

Mots clés : *Marrubium vulgare*, *Artemisia herba alba*, antioxydante, antibactérienne, enzymatique, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*.

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mme Bennamoun Leïla (Maitre de conférences B, UFM- Constantine 1)

Examineur : Mme Djaalab-Mansour Hadria (Maitre de conférences A, UFM- Constantine 1)

Encadreur : Mme Riachi-Kahlouche Foulla (Maitre de conférences A, UFM- Constantine 1)