

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biochimie et Biologie
Cellulaire et Moléculaire

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم الكيمياء الحيوية
والبيولوجية الخلوية والجزيئية

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Science Biologiques

Spécialité : *Biochimie*

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**Evaluation des activités biologiques de deux espèces végétales :
*Marrubium vulgare et Ocimum basilicum***

Présenté par : Attalah soundes
Zebbiche lamia

Le 22/06/2023

Jury d'évaluation :

Encadreur : Mme DAKHMOUCHE Scheherazed (MCA, ENS Assia Djebar, Constantine).

Examineur 1 : Mme BENNAMOUN Leila (MCB Université des frères, Mentouri,
Constantine 1).

Examineur 2 : Mme OUELBANI rayane (MAB Université des frères, Mentouri,
Constantine 1).

Année universitaire

2022-2023

REMERCIEMENTS

Pour commencer, nous tenons à remercier Allah, le clément et le miséricordieux de nous avoir éclairé le chemin qui mène à la réussite et d'avoir facilité toutes les tâches avant d'arriver au terme de ce travail. Nous remercions DIEU pour ça et pour tout le reste.

Nous souhaitons exprimer notre gratitude à Mme DAKHMOUCHE Scheherazed notre promoteur, pour avoir accepté l'encadrement de ce travail, pour nous avoir accordé votre temps, votre conseil précieux et pour votre confiance qui nous a suivi et guidé tout au long de ce travail, Merci pour d'avoir mis votre expérience à notre profit.

Nous avons également, l'honneur et le plaisir de présenter nos remerciements à Mme BENNAMOUN Leila et Mme OUELBANI Rayane pour avoir accepté de partager leurs remarques avisées en tant que membre de notre jury.

Merci Dr BOULDJADJ Redouane pour votre aide précieuse et pour s'être tenu à nos côtés pendant les derniers moments de ce travail.

On tient d'exprimer aussi notre sincère reconnaissance et notre plus profond respect à Mr BENSOUICI CHAOUKI Chef de laboratoire de biochimie au Centre de Recherche en Biotechnologie de Constantine (CRBT).

On adresse, d'autre côté, nos remerciements à tous le personnel existés pendant le travail en Laboratoire de biochimie, laboratoire de microbiologie, faculté de Science de la Nature et de la Vie Université des Frères Mentouri Constantine I et laboratoire de biochimie du Centre National de Recherche en Biotechnologie CRBT de Constantine, pour leurs orientations, leurs conseils et leurs disponibilités.

Merci pour tous ceux et celles qui ayant contribué de près ou de loin, d'une façon ou d'une autre à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Aujourd'hui, en cet instant rempli de bonheur et d'émotion, avec un cœur ouvert et une immense de joie je Dédie ce travail à

À mes parents, mon père Abdelhak, ma source d'inspiration, mon guide et mon modèle de persévérance pour aller toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras. Ma mère Aicha qui m'a entouré d'amour inconditionnel et qui met tout en œuvre pour que je réussisse. Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect et mon amour éternel pour les sacrifices que vous avez fait pour mon éducation et mon bien être.

Que ce modeste travail soit le reflet fidèle de vos désirs et le témoignage de tous que vous avez faits pour moi.

À mes adorables petits frères Abdallah et Seif Eddine, a toute ma famille, tantes et oncles, cousins et cousines, petit et grand.

À Lamia ma binôme, notre parcours commun dans la réalisation de cette mémoire a été une expérience inestimable et je sais que ce travail il va laisser une empreinte indélébile dans ma vie professionnelle et personnelle

À tous mes merveilleux amis sans exception ni oubli, qui ont partagées avec moi tous les moments de joie et de bonheur et ,merci à Chaque fois que j'avais des doutes, vous étiez là pour m'encourager et me rappeler ma propre valeur.

Merci à Tout ce qui m'aiment et a tout ce que j'aime



Dédicace

À mes chers parents "Zebbiche fouad et Bouhali Sophia" pour leur amour, leur soutien et leur confiance en moi tout au long de ce parcours académique. Votre encouragement constant a été ma principale source de motivation. Je vous dédie ce mémoire, fruit de mon travail acharné, en reconnaissance de tout ce que vous avez fait pour moi, Mes sœurs et mon frère.

À mes formidables professeurs, qui m'ont guidé avec passion, m'ont poussées à repousser mes limites et ont fait naître en moi la curiosité intellectuelle. Votre expertise et vos précieux conseils. Je vous suis profondément reconnaissante de votre enseignement inspirant.

À mes amies, qui ont été mes piliers tout au long de cette aventure académique. Vos encouragements, vos discussions stimulantes et votre amitié sincère ont rendu ce parcours mémorable. Merci d'avoir partagé cette expérience avec moi.

À mon binôme Soundes pour sa patience, je te souhaite tout le succès du monde.

À mes collègues de promotion de biochimie, avec qui j'ai partagé des moments d'apprentissage, des débats animés et des challenges communs. Ensemble, nous avons repoussé nos limites et surmonté les obstacles.

Enfin, à toutes les personnes qui m'ont encouragées soutenues et inspirées de près ou de loin, je vous suis infiniment reconnaissante.



Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction	1
CHAPITRE I : les plantes médicinales et la phytothérapie	4
I.1. Plantes médicinales	4
I.2. Phytothérapie	4
I.3. Avantages et les inconvénients de la phytothérapie	4
I.3.1. Avantages de la phytothérapie	4
I.3.2. Inconvénients de la phytothérapie	5
I.4. Modes de préparation des plantes pour la phytothérapie	5
I.4.1. Macération.....	5
I.4.2. Infusion	5
I.4.3. Décoctions.....	5
I.4.4. Poudre	5
I.4.5. Hydro-distillation.....	6
I.5. Extraction à l'aide d'un solvant	6
CHAPITRE II : Généralité sur les plantes étudiées	7
II.1. Famille des Lamiacées	7
II.2. Ocimum basilicum (le basilic)	7
II.2.1. Définition	7
II.2.2 . Description botanique	8
II.2.3. Repartition géographiques	8
II.2.4.Classification systématique.....	9
II.2.5 Domaines d'application d' <i>Ocimum basilicum</i>	10
II.3.Marrubium vulgare	10
II.3.1 . Définition	10
II.3.2. Description botanique	11
II.3.3. Repartition géographiques	11
II.3.4.Classification systématique.....	11
II.3.5. Utilisations de la plante.....	12
CHAPITRE III : Métabolites secondaires	13
III.1. Définition	13

Sommaire

III.2. Classification des métabolites secondaires.....	13
III.2.1. Composés phénoliques	13
III.2.1.1. Définition.....	13
III.2.1.2. Structure chimique	13
III.2.1.3. Classification des composés phénoliques.....	14
III.2.2. Alcaloïdes	16
III.2.2.1. Définition.....	16
III.2.2.2 Structure chimique	16
III.2.3. Terpénoïdes (Isoprénoides et Stéroïdes)	16
III.2.3.1. Définition.....	16
III.2.3.2. Structure Chimique	17
III.3. Composition chimique des plantes étudiées.....	17
III.3.1. Composition chimique d' <i>Ocimum basilicum</i>	17
III.3.2. La composition chimique de <i>MarrubiumVulgare</i>	17
CHAPITRE IV : Activités biologiques	19
IV.1. Activités antibactériennes.....	19
IV.1.1. Généralités sur les activités antibactériennes	19
IV.1.2. Evaluation de l'activité antibactérienne	19
IV.1.2.1. Méthode en milieu gélosé.....	19
IV.1.2.2. la méthode des disques	20
IV.1.2.3. Méthode en milieu liquide.....	20
IV.2. Activité antifongique	21
IV.2.1. Test antifongique	21
IV.2.2. Evaluation de l'activité antifongique	21
IV.3. Activités antioxydante	22
IV.3.1. Définition.....	22
IV.3.2. stress oxydatif	22
IV.3.3. Radicaux libres	22
IV.3.4. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante	22
IV.3.4.1. Test de piégeage du radical DPPh	22
IV.3.4.2 Test d' ABTS	23
IV.3.4.3 Dosage du pouvoir réducteur FRAP	23
IV.3.4.4 Total Phénol et Flavonoïds	23
IV.3.4.5 Activité réductrice par la formation du complexe Fe ²⁺ +phénanthroline	24

Sommaire

IV.4 Activités enzymatiques	24
IV.5. Activités anti-inflammatoires	24
CHAPITRE V : Matériels et méthodes	27
V.1. Matériel	27
V.1.1. Matériel végétale	27
V.1.2. Matériel microbien	27
V.2. Méthodes d'analyse	27
V.2.1. Préparations des extraits (Extraction solide-liquide)	29
V.2.2. Rendement d'extraction.....	30
V.2.3. Analyse chimique.....	30
V.2.3.1. Détermination de la teneur en composés phénoliques	31
V.2.3.1.1. Dosage des polyphénols totaux.....	31
V.2.3.2. Évaluation in vitro de l'activité antioxydante	34
V.2.3.2.1. Activité du piégeage du radical libre DPPH.....	34
V.2.3.2.2. Piégeage du radical-cation ABTS+	34
V.2.3.4. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro	37
CHAPITRE VI : Résultats et discussions	41
VI.1. Détermination du rendement de l'extraction	41
VI.2. Dosage des polyphénols totaux	42
VI.3. Dosage des Flavonoïdes totaux	43
VI.4. Evaluation du l'activité antioxydante	45
VI.4.1. Test DPPH.....	45
VI.4.2. Test ABTS+.....	46
VI.4.4. Test phénantroline.....	49
VI.5. Evaluation de l'activité enzymatique	50
VI.5.1. Activité inhibitrice de l'alpha-amylase :.....	50
VI.7. Evaluation de l'activité antibactérienne	53
VI.8. Evaluation de l'activité antifongique	58
VI.8. Discussion des résultats de l'activité antibactérien et antifongiques	61
Conclusion	63
Références bibliographiques	65
Listes des sites	
ANNEXES	
Résumés	

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : <i>Ocimum basilicum</i> (basilic) (site 1)	7
Figure 2 : Distribution mondiale d' <i>Ocimum basilicum</i> (site 2).....	9
Figure 3 : <i>Marrubium vulgare</i> (Marrube blanc) (site 3).....	11
Figure 4 : Structure de base des polyphénols (Manallah, 2012).....	13
Figure 5 : Structure chimique des flavonoïdes (Bruneton, 1999).....	14
Figure 6 : Structure générale des tanins hydrolysables (Hagerman, 2002).....	15
Figure 7 : Structure générale des tanins condensés (Hagerman, 2002).	15
Figure 8 : structure chimique des alcaloïdes [Morphine] (Aniszewski ,2007).....	16
Figure 9 : structure chimique d'isoprène (C ₅ H ₈) (Djahira, 2014).	17
Figure 10 : Schéma représentatif de la méthode des disques	20
Figure 11 : Mécanisme de réaction du DPPH avec un antioxydant.....	23
Figure 12 : Formation du complexe Fe ²⁺ -phenanthroline.....	24
Figure 13 : Schéma de la méthodologie suivis	28
Figure 14 : Étapes de l'extraction	30
Figure 15 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique	32
Figure 16 : Courbe d'étalonnage de quercétine	33
Figure 17 : Etape de la méthode des disques	39
Figure 18 : Résultats de dosage des polyphénols totaux	42
Figure 19 : Histogramme de dosage des polyphénols totaux.	42
Figure 20 : Résultats de dosage des flavonoïdes totaux.....	43
Figure 21 : Histogramme de dosages des flavonoïdes totaux	44
Figure 22 : La plaque de dosage de l'activité anti-radicalaire (DPPH) des extraits étudiés.....	45
Figure 23 : Histogramme des taux d'inhibition du radical DPPH par les extraits d'OB et MV.....	45
Figure 24 : La plaque de dosage de l'activité du piégeage du cation radical ABTS des extraits (MV /OB)	47
Figure 25 : Histogramme de taux d'inhibition du radical ABTS par les extraits d'OB et MV.....	47
Figure 26 : Plaque de dosage de l'activité de pouvoir réducteur (FRAP) des extraits étudiés.....	48
Figure 27 : Histogramme d'absorbance du pouvoir réducteur par les extraits d'OB et MV	48

Figure 28 : La plaque de dosage de l'activité de réduction par la formation du complexe Fe ⁺² - phénantroline par les extraits d'OB et MV.....	49
Figure 29 : La plaque de dosage de l'activité inhibitrice de l'alpha amylase	50
Figure 30 : Histogramme présente l'innocuité des extraits vis-à-vis de la cellule érythrocytes.....	51
Figure 31 : Histogramme represente Effet protecteur des extraits vis-à-vis d'un stress osmotique associé à un stress thermique	52
Figure 32 : Résultats de test antibactérien vis-à-vis <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	57
Figure 33 : Résultats de test antibactérien vis-à-vis <i>Staphylococcus aureus</i>	57
Figure 34 : Résultats de test antibactérien vis-à-vis <i>Escherichia coli</i>	58
Figure 35 : Résultats de test antifongique vis-à-vis <i>Candida albicans</i>	60
Figure 36 : Résultats de test antifongique vis-à-vis <i>Aspergillus niger</i>	60

Listes des tableaux

Tableau 1 : Classification systématique d' <i>O.basilicum</i>	9
Tableau 2 : Classification systématique de <i>Marrubium Vulgare</i>	12
Tableau 3 : les souches microbienne utilisées	27
Tableau 4 : Rendements d'extraction des différents extraits végétaux(<i>MVF/MVS</i> et <i>OBF/OBS</i>).....	41
Tableau 5 : Effet inhibiteur des extraits d' <i>Ocimum basilicum</i> et <i>Marrubium vulgare</i> contre la culture de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	54
Tableau 6 : Effet inhibiteur des extraits d' <i>Ocimum basilicum</i> et <i>Marrubium vulgare</i> contre la culture de <i>Staphylococcus aureus</i>	55
Tableau 7 : Effet inhibiteur des extraits d' <i>Ocimum basilicum</i> et <i>Marrubium vulgare</i> contre la culture <i>Escherichia coli</i>	56
Tableau 8 : inhibiteur des extraits d' <i>Ocimum basilicum</i> et <i>Marrubium vulgare</i> sur la culture de <i>Candida albicans</i>	58
Tableau 9 : Effet inhibiteur des extraits d' <i>Ocimum basilicum</i> et <i>Marrubium vulgare</i> sur la culture de <i>Aspergillus niger</i>	59

LISTE DES ABREVIATIONS

% : Pourcentage

A0.5 : Concentration indiquant 0,50d'absorbance

Abs : absorbance

ABTS : Acide 2,2'-azino-bis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique

Ac : absorbance de control

Act : Acétate d'éthyle

Al (NO₃)₃, 9H₂O : Nitrate d'aluminium

At : Absorbance de l'échantillon (test)

ATCC : American Type Culture Collection

BHA: Butylated hydroxyanisole

BHT: Butylated hydroxytoluene

But : Butanol

C° : Degré Celsius

CH₃COOK : Acétate de potassium

CI50 : Concentration d'inhibition à 50%

Cm : Centimètre

CMF : Concentration Minimale Fongicide

CMI : Concentration minimale d'inhibition

D : Diamètre

DMSO : Dimethylsulfoxyde

Doc : Densité du contrôle négatif

Doc+ : Densité du contrôle positif

DOE : Densité optique de l'échantillon

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

EAG : Equivalents d'acide galliq

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

FRAP : Pouvoir antioxydant réducteur ferrique

H : Heure

H₃PMO₁₂O₄₀ : Acide phosphomolybdique

Hcl : Acide chlorhydrique

IKI : Iodure de potassium iode

K₂S₂O₈ : Persulfate de potassium

MEch : Masse de l'échantillon végétal en g. (H₃PW₁₂O₄₀) acide phosphotungstique

MeOH : Méthanol

MExt : Masse de l'extrait après évaporation du solvant en g.

Mg: Milligramme

Min: Minute

ml: Millilitres

MV: *Marrubium vulgre*

MVF: *Marrubium vulgare* fraîche

MVS: *Marrubium vulgare* sèche

Na₂CO₃: Carbonate de sodium

OB: *Ocimum basilicum*

OBF: *Ocimum basilicum* fraîche

OBS: *Ocimum basilicum* sèche

OMS : Organisation mondiale de la santé

PBS : Phosphate buffered salin

Ph : Potentiel hydrogène

PI : Pourcentage d'inhibition

µg: Microgramme

µl : Microlitre



Introduction

Introduction

Au cours des siècles, en complément à la fonction nutritive assurée par les plantes, les grandes civilisations qui ont toujours distingué l'humanité ont été impressionnées par la beauté des couleurs, des formes et des constituants de cette nature, ce qui les a inspirés à découvrir de nombreuses autres fonctionnalités que les plantes pourraient fournir, particulièrement le pouvoir guérisseur. L'humanité est devenue capable de bénéficier du traitement de diverses maladies à travers l'environnement grâce à des médicaments thérapeutiques et de véritable pharmacie naturelle qui s'appuie sur l'expérience cultivée depuis de nombreuses années (**Beloued, 1998**).

La phytothérapie occupe une place importante dans la médecine traditionnelle, elle exploite les effets cicatrisants et apaisants des plantes médicinales, qui ont été toujours le premier réservoir de nouveaux médicaments car elles demeurent une source inépuisable de substances biologiquement actives.

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), plus de 80 % de la population mondiale consomme actuellement des médicaments à base principalement de matières végétales riches en métabolites secondaires qui dépassent actuellement 200000 substances identifiées, et catégorisés en fonction de leurs structures chimiques et leurs origines biosynthétique en composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes (**Ramawat et Merillon, 2008**).

L'Algérie possède un patrimoine botanique important par la richesse et la biodiversité de sa flore, il s'agit d'une plateforme géographique très importante avec environ 4000 espèces et sous-espèces de plantes vasculaires qui méritent d'être explorées dans le domaine de la recherche thérapeutique. Selon l'OMS, près de 6377 espèces végétales sont utilisées sur le continent africain, 146 seulement sont considérés comme médicamenteux en Algérie (**Hamel et al., 2018**).

De ces nombreuses plantes médicinales, nos recherches ont principalement porté sur la famille des Lamiacées qui couvre une grande variété de plantes aromatiques et médicinales réparties en majorité dans des pays à climat tempéré (**Derwich et al., 2011**). Environ 258 genres et plus de 6970 espèces en font partie (**Judd et al., 2002**). Elle a de grande importance à la fois pour l'utilisation de ses espèces dans l'industrie alimentaire et en parfumerie ainsi que dans les domaines thérapeutiques.

Introduction

Dans le cadre d'une valorisation de la famille des Lamiacées, en recherchant des ressources végétaux ayant des intérêts thérapeutiques, notre choix s'est porté sur deux espèces de cette famille *Marrubium vulgare* et *Ocimum basilicum*. Les deux plantes ont été utilisées dans le monde comme source d'extraits à propriétés hautement antimicrobiens, anti-inflammatoires et antioxydants.

Notre travail s'inscrit dans le cadre d'une étude phytochimique visant à évaluer les propriétés des activités biologiques des différents extraits des deux espèces *Marrubium vulgare* et *Ocimum basilicum*. Cette étude a été divisée en deux parties ; Dans la première partie, nous présentons une synthèse bibliographique qui regroupe quatre chapitres. Le premier englobe des généralités sur les plantes médicinales et la phytothérapie. Le deuxième chapitre est un aperçu général des plantes examinées. Le troisième chapitre attribue les métabolites secondaires ainsi que leur classification et leurs propriétés. Pour le quatrième chapitre, il illustre quelques méthodes d'évaluations des activités biologiques. La deuxième partie comporte la partie pratique renfermant deux chapitres. Le premier consacré aux protocoles suivis et aux matériaux utilisés dans ce travail, qui porte sur :

- Préparation des extraits par l'extraction méthanolique
- Etude quantitatifs des composés phénoliques dont les polyphénols totaux et les flavonoïdes,
- L'évaluation *in vitro* des activités antioxydantes, antibactériennes, antifongiques et enzymatiques par plusieurs essais et l'activité anti-inflammatoire *in vivo*.

Le deuxième chapitre présente les résultats et leurs discussions ainsi qu'une conclusion générale qui résume notre étude.



Partie I
Etude Bibliographique

CHAPITRE I

Plantes médicinales et la phytothérapie



CHAPITRE I : les plantes médicinales et la phytothérapie

I.1. Plantes médicinales

Les plantes médicinales sont des espèces botaniques qui, dans un ou plusieurs de ses organes contient des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou comme précurseurs pour la synthèse de médicaments utiles (**Sofowora et al., 2013**). Elles contiennent de nombreux composés bioactifs naturels qui facilitent les processus de cicatrisation et de régénération des tissus au niveau des plaies (**Trinh et al., 2022**). Ces plantes peuvent aussi avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques.

I.2. Phytothérapie

La phytothérapie est une discipline allopathique généralement définie comme l'étude de l'utilisation d'extraits d'origine naturelle comme médicaments ou agents de promotion de la santé (**Ghosh., 2016**). Au sens large, elle peut englober plusieurs familles de produits qui ne partagent pas toutes les mêmes propriétés : les plantes médicinales en vrac, les préparations pharmaceutiques, les médicaments à base de plantes fabriqués industriellement et les compléments alimentaires. Une phytothérapie efficace repose sur la qualité des plantes utilisées.

I.3. Avantages et les inconvénients de la phytothérapie

I.3.1. Avantages de la phytothérapie

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), environ 80% de la population mondiale utilise des médicaments à base de plantes pour maintenir la santé. Un grand intérêt en phytothérapie est le fait que les plantes sont bien tolérées lorsqu'elles sont utilisées au bon dosage. les effets secondaires, sont généralement mieux connus que pour les molécules de synthèse (**Arnal-Schnebelen, 2004**). Le coût des plantes médicinales est très faible par rapport aux médicaments pharmaceutiques. Selon Christopher Golden de Centre de l'Université de Harvard pour l'environnement, si les gens utilisent la phytothérapie au lieu de médicaments, ils peuvent économiser 22 à 63 % de ce qu'ils dépensent en soins de santé.

I.3.2. Inconvénients de la phytothérapie

la phytothérapie peut prendre un certain temps. Les produits à base des plantes peuvent contenir des contaminants toxiques : pesticides et métaux lourds, pollens, Champignons microscopiques ou moisissures qui pouvant provoquer des réactions allergiques et/ou toxiques. Un point à noter ici est que les plantes médicinales et les médicaments pour certaines maladies peuvent avoir des effets secondaires négatifs. Ces derniers ne peuvent pas être détectés immédiatement, mais ça prendra des mois voire des années.

I.4. Modes de préparation des plantes pour la phytothérapie

La préparation de plantes médicinales à des fins expérimentales est une étape initiale et essentielle pour obtenir de bons résultats de recherche. Les principales méthodes utilisées dans l'extraction des plantes médicinales sont :

I.4.1. Macération

Cette procédure d'extraction consiste à placer des substances médicinales en poudre grossière provenant de feuilles, d'écorce de tige ou d'écorce de racine dans un solvant à température ambiante pour au moins 3 jours. A la fin de l'extraction, les micelles sont séparées du marc par filtration ou décantation. Par la suite, les micelles sont séparées des menstrues par évaporation dans une étuve ou au bain-marie (**Ingle et al., 2017**).

I.4.2. Infusion

On peut l'obtenir en plongeant une plante dans de l'eau bouillante et laissez infuser entre 10 et 20min, dans un récipient couvert. Une infusion peut se conserver au réfrigérateur pendant 48 heures maximum. Cette méthode convient à l'extraction de composants bioactifs facilement solubles (**Majekodunmi, 2015**).

I.4.3. Décoctions

Elle se fait en mélangeant le macérât et le solvant à température ambiante. La chaleur est ensuite appliquée tout au long du processus pour accélérer l'extraction. Le processus dure une courte durée, généralement environ 15 minutes (**Pandey et Tripathi., 2014**).

I.4.4. Poudre

Elle est obtenue en écrasant la plante avec un mortier et un pilon. Cela se fait facilement en plaçant la plante dans un four à feu très doux pendant quelques instants (**Morigane, 2007**).

I.4.5. Hydrodistillation

C'est la méthode la plus ancienne pour l'extraction de composés bioactifs. Pour ce faire, la cuve du distillateur est remplie de plantes aromatiques et additionnée d'un volume d'eau équivalent à 2 à 6 fois le volume d'eau brute. L'ensemble est porté à la température nécessaire à la génération de vapeur d'eau et maintenu en-dessous de 100°C (Oreopoulou et al., 2019).

I.5. Extraction à l'aide d'un solvant

L'efficacité d'une extraction dépend du solvant utilisé et chaque solvant possède de différentes propriétés (Tiwari et al., 2011) :

- **Eau** : C'est le solvant le plus polaire, peu coûteux, non toxique et inflammable cependant, il favorise la croissance des bactéries et des moisissures.
- **Alcool** : Il est également de nature polaire, miscible à l'eau et pourrait extraire des métabolites secondaires polaires. Il est auto-conservateur, non toxique à faible concentration. Mais il ne dissout pas les graisses, les gommes et la cire et il est inflammable et volatil.
- **Chloroforme** : C'est un solvant incolore à odeur douce et soluble dans l'alcool. Il est également bien absorbé et métabolisé par le corps. Cependant, il est sédatif et cancérigène.
- **Éther** : Il est miscible à l'eau, a un point d'ébullition bas et est de nature insipide. C'est également un composé très stable et ne réagit pas avec les acides, les bases et les métaux. Il est de nature hautement volatile et inflammable.
- **Liquides ioniques (solvants verts)** : Ce sont des solvants d'extraction uniques qui sont hautement polaires et très stables thermiquement. Il peut rester liquide même à 3000°C. Il est ininflammable et adapté à l'extraction liquide-liquide et aux extractions hautement polaires. Cependant, il n'est pas idéal pour faire des teintures.

CHAPITRE II

GENERALITES SUR LES LES PLANTES ETUDIES



CHAPITRE II : Généralité sur les plantes étudiées

En phytothérapie l'une des familles végétales les plus importantes et la plus représentative des plantes est celle des Lamiaceae. Sont depuis longtemps un groupe reconnu et les plus étudiées pour ses multiples avantages.

II.1. Famille des Lamiacées

Les Lamiacées (Lamiaceae) ou Labiées (Labiatae), cette importante famille de plantes médicinales possède une immense diversité et variété qui contient environ 258 genres et plus de 6970 espèces (**judd et al.,2002**). Les espèces de cette famille sont facilement identifiables par des tiges carrées et opposées feuilles. Les fleurs sont zygotiques avec cinq pétales fusionnés et cinq sépales unis, généralement bisexués et verticillaster. Le fruit est un tétrakène situé au fond d'un calice persistant, chaque moitié de carpelle produisant un akène basal (**Guignard, 2001**). De nombreuses espèces de Lamiaceae sont appartiennent à la vie quotidienne et utilisées en de multiples occasions, par exemple le basilic (*Ocimum spp*) et (*Marrubium spp*).

II.2. *Ocimum basilicum* (le basilic)

II.2.1. Définition

Le nom *Ocimum basilicum* (**Figure 1**) vient du grec « Basilikom » qui signifie plante royale, improprement appelé pistou, "Lahbeq", herbe aux sauces ou basilic des jardins. les basilic sont des plante aromatique, thérophytes de la famille des Lamiacées, ont des propriétés biologiques intéressante : insecticides, antioxydantes, antibactériennes et antifongiques (**Rubab et al., 2017**) .



Figure 1: *Ocimum basilicum* (basilic) (site 1)

II.2.2 . Description botanique

Le basilic est une plante annuelle ou vivace, herbacée ligneuse, très ramifiée, parfumée, hermaphrodite et gélique. La plante peut atteindre une hauteur de 75 cm s'il est conservé plusieurs années (**Pousset, 1989**).

➤ Tige

Les tiges sont simples ou ramifiées, quadrangulaires généralement ligneuses à leur base, glabre ou couverte de poils blancs très courts, localisés sur les parties jeunes en œuds.

➤ Feuilles

Les feuilles du basilic sont opposées-décussées, ovale, cuvées à la base, parfois lobées ou découpées, jusqu'à 7cm de longueur et 3cm de largeur. Elles sont petites ou large et toujours très brillantes « vert pale à vert foncé ».

➤ Fleurs

Les fleurs sont petites et regroupées en épis à l'extrémité des rameaux et à l'aisselle des feuilles. Elles sont de couleur crème, blanche, rose ou violacée selon la variété et sont accompagnées de bractées de 1-1,5 cm (Arabaci et Bayram, 2004). Chaque fleur porte 4 étamines et des stigmates divisés en deux lobes à leur extrémité entourée d'une substance visqueuse qui gonfle comme des graines de lin lorsqu'elle est trempée dans l'eau.

➤ Fruit

Ils sont des tétrakènes formé de quatre parties. A maturité, chaque akène renfermant une seule graine marron-noire oblongue.

II.2.3. Repartition géographiques

Actuellement, le basilic est très répandu à travers le monde. Etant une plante originaire des pays chauds méditerranéen, il est introduit dans toutes les régions tropicales et subtropicales (Bulgarie, Madagascar, Italie, Comores et Maroc ...etc) et largement cultivé commercialement dans de nombreux pays chauds et tempérés du monde entier, y compris la France, la Hongrie, la Grèce et d'autres pays d'Europe du Sud, l'Égypte, le Maroc et l'Indonésie et plusieurs États américains (**Figure2**) (**Pushpangadan et George, 2012**).

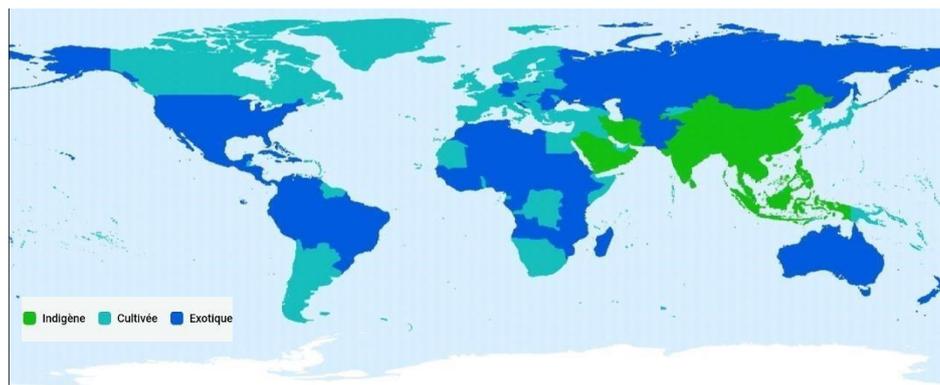


Figure 2: Distribution mondiale d'*Ocimum basilicum* (site 2).

II.2.4. Classification systématique

Ocimum.basilicum désigne un genre de Magnoliophyta de l'ordre des Lamiales et de la famille des Lamiacées et la classification taxonomique est présentée dans le tableau suivant (Tableau 1) :

Tableau 1 : Classification systématique d'*O.basilicum* (Dupont et Guignard, 2012)

Règne	Plantae
Embranchement	Magnoliophyta.
Classe	Magnoliopsida
S/Classe	Asteridae
Ordre	Lamiales.
Famille	Lamiaceae.
Genre	Ocimum.
Espèce	<i>Ocimum basilicum</i> L.

II.2.5 Domaines d'application d' *Ocimum basilicum*

➤ Basilic en tant que plante médicinale

Le basilic possède d'excellentes propriétés anti-inflammatoires et antibactériennes, en plus de ses propriétés antioxydantes et insectifuges. Il contient des enzymes hépatiques qui décomposent les graisses, ce qui est bénéfique pour les diabétiques. Le basilic contient également des tanins qui tuent les germes et favorisent la cicatrisation des muqueuses de la bouche, du nez, de l'estomac et des intestins. Il a également un effet positif sur le système immunitaire. La présence d'une quantité abondante de flavonoïdes aide à lutter contre les problèmes vasculaires et les problèmes d'approvisionnement en sang. Les saponines présentes dans le basilic aident à décongestionner les muqueuses. Aussi utilisé comme fongicide et anticancéreux, et traditionnellement contre le rhume, les rhumatismes, certains parasites cutanés et le paludisme. Il est efficace pour combattre les maux de tête, l'acné, la fièvre et certaines infections (Bauwens, 2008) .

➤ En parfumerie

Le Basilic est fréquemment utilisé en parfumerie, avec son parfum puissant et poivré comme huile essentielle pour les préparations de parfum et liqueurs la plante fraîche donne une essence contenant de l'eucalyptol et de l'eugénol.

➤ Pour l'alimentation

Il est considéré comme l'un des herbes les plus connus et les plus utilisés dans le monde culinaire, comme herbe aromatique fraîche et les feuilles sèches sont utilisées pour assaisonner des ragouts, des dressages et des potages.

II.3. *Marrubium vulgare*

II.3.1. Définition

Marrubium vulgare ou marrube blanc (**figure 3**), en arabe elle est connue par le nom Marrioua , en Anglais : Harehound, en Italien : Marrubioest. C'est une plante vivace, à tiges épaisses, cotonneuses, très feuillées, qui se perpétue et se multiplie par des bourgeons nés sur la tige souterraine (**Volák et al., 1983**). C'est une espèce très répandue dans le bassin méditerranéen et utilisé pour ses vertus thérapeutiques.



Figure 3 : *Marrubium vulgare* (Marrube blanc) (site 3)

II.3.2. Description botanique

Le Marrube blanc est une plante herbacée vivace, à odeur de thym au froissement, à tige quadrangulaire cotonneuse pouvant atteindre de 30 à 80cm de hauteur portant souvent de nombreuses pousses courtes et stériles. Les feuilles sont dentées, blanchâtres, cotonneuses, sur les faces inférieures, poilues mais vertes sur la face supérieure. Il possède de petites fleurs blanches de 12 à 15 mm de long, avec un calice à dents crochues sont groupées en verticilles globuleux à l'aisselle des feuilles. Le fruit est un tétra-akène (Volák et al., 1983).

II.3.3. Repartition géographiques

Le Marrube blanc préfère les sols calcaires d'Europe centrale et du nord. Il est distribué dans toute la Méditerranée et dans toute l'Afrique du Nord. En Algérie, l'espèce est largement distribuée dans toute la région et est très présente dans le nord. Le genre *Marrubium* pousse dans un terrain vague en Asie occidentale jusqu'en Inde. Elle est naturalisée dans l'Amérique du Nord et dans l'Amérique du Sud (Bonnier, 1909) .

II.3.4. Classification systématique

la position systématique du marrube est la suivante (Tableau 2) :

Tableau 2 :Classification systématique de *Marrubium Vulgare* (Quezel et Santa, 1963)

Règne	Végétale
Sous règne	Plantes vasculaires
Embranchement	Angiosperme.
Classe	Eudicots
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	Marrubium
Espèce	<i>Marrubium vulgare</i>

II.3.5. Utilisations de la plante

➤ En médecine

La plante *Marrubium Vulgare* est très utilisée en médecine traditionnelle dans le traitement symptomatique diurétique et comme antispasmodique, antidiabétique et en cas d'infections respiratoires (Boudjelal, 2013). En plus, cette espèce est exploitée pour lutter contre la cellulite et l'obésité. Les composants du marrube ont des actions régulatrices sur les muscles cardiaques. En outre, elle est indiquée également en usage externe et interne contre eczéma chronique et zona (Fadel et al., 2016).

➤ En cosmétique

Cette plante est utilisée en cosmétologie traditionnelle pour sa richesse en saponines, la décoction, en rinçage sur les cheveux, les embellis et les cataplasmes de la plante opposés sur les taches de rousseur et les éclaircit (Belakhdar, 1997; Ait youcef ,2006). Il agit comme un agent apaisant, aide à préserver la peau du corps, à préserver sa jeunesse et à éliminer les rides, de plus il peut participer à la composition des parfums.

CHAPITRE III

METABOLITE SECONDAIRE



CHAPITRE III : Métabolites secondaires

III.1. Définition

Les métabolites secondaires sont produits en très petites quantités. Plus de 200 000 composés métaboliques secondaires, y compris les terpènes, les aldehydes, les acétyléniques, les cires et les composés phénoliques sont classés selon leur composition chimique dans la nature (Vermerris, 2006).

III.2. Classification des métabolites secondaires

Généralement, il existe trois grandes catégories de métabolites secondaires des plantes qui sont les composés phénoliques, les composés azotés (Alcaloïdes) et les terpénoïdes (Stéroïdes et Isoprénoïdes).

III.2.1. Composés phénoliques

III.2.1.1. Définition

Les composés phénoliques sont des sous-produits métaboliques secondaires à forte pondération moléculaire, largement distribués dans le règne de la végétation (Harbone, 1993). La caractéristique structurelle de base qui les définit est la présence d'un ou de plusieurs arômes aromatiques qui sont directement liés à un ou plusieurs groupes hydroxyliques qui sont libres ou remplissent une autre fonction (ether, ester). Ces molécules fournissent la base des principes actifs identifiés au niveau des plantes médicinales. Ils ont un effet antibactérien, antifongique et antioxydant (Macheixet et al., 2005).

III.2.1.2. Structure chimique

Tous les polyphénols ont une structure chimique qui est similaire les uns aux autres (Figure 4). Ils peuvent avoir un ou plusieurs noyaux hydroxyl aromatiques comme caractéristique définitive.

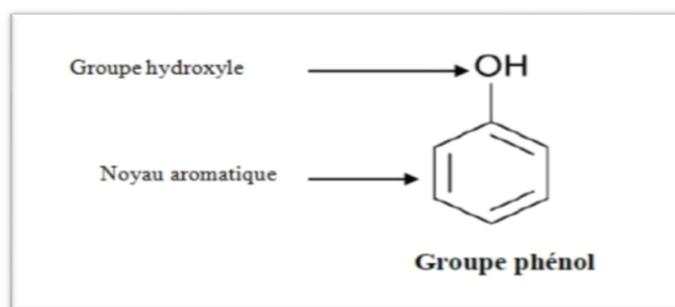


Figure 4: Structure de base des polyphénols (Manallah, 2012).

III.2.1.3. Classification des composés phénoliques

III.2.1.3.1. Flavonoïdes

Une partie de la raison de la couleur des fleurs, des fruits et même des feuilles est due aux pigments végétaux qui sont presque universels. Ils sont une collection de plus de 6000 composés végétaux naturels (Ghedira, 2005), qui se distinguent des autres polyphénols par la présence d'une structure flavonoïde et/ou d'un phénol dans leur molécule.

III.2.1.3.1.1. Structure chimique des flavonoïdes

La structure de base des flavonoïdes (**figure 5**) a 15 atomes de carbone et est composée de deux cycles C6 reliés par une chaîne C3. Un pyrone du troisième cycle est souvent formé par le pont 3 carbone reliant les deux phényles. Les flavones, les flavonols et les flavanones dont le nombre est d'environ 300 ont une origine biosynthétique commune. Selon le degré d'oxydation du noyau central, ils peuvent être divisés en une douzaine de classes. [Bruneton, 1987 ; 1999].

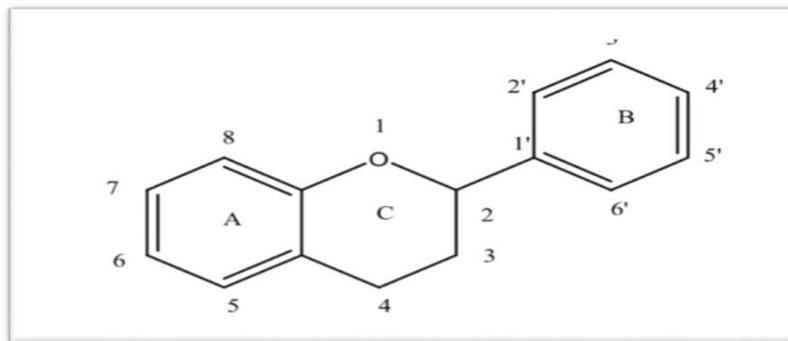


Figure 5: Structure chimique des flavonoïdes (Bruneton, 1999).

III.2.1.3.2. Tanins

Les tanins sont composés phénoliques naturellement présents, se trouvent sous forme polymérisée avec des poids moléculaires variant entre 500 et 3 000. En plus des caractéristiques typiques des phénols, ils possèdent également la capacité de rendre les peaux fraîches résistantes à la putréfaction, ce qui en fait du cuir (Doat, 1978). Deux catégories de tanins sont classées selon leur voie de biosynthétique et leurs propriétés chimiques : les tanins hydrolysables et les tanins condensés.

III.2.1.3.2.1. Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables (**Figure 6**) sont des composés constitués d'oligo ou de polyesters formés à partir d'un sucre et d'un acide phénol en différentes proportions. Dans la plupart des cas, le sucre utilisé est le D-glucose, tandis que l'acide phénol peut être l'acide gallique pour les gallotanins ou l'acide ellagique pour les tanins connus sous le nom d'ellagitanins. (**Bruneton en 1993**).

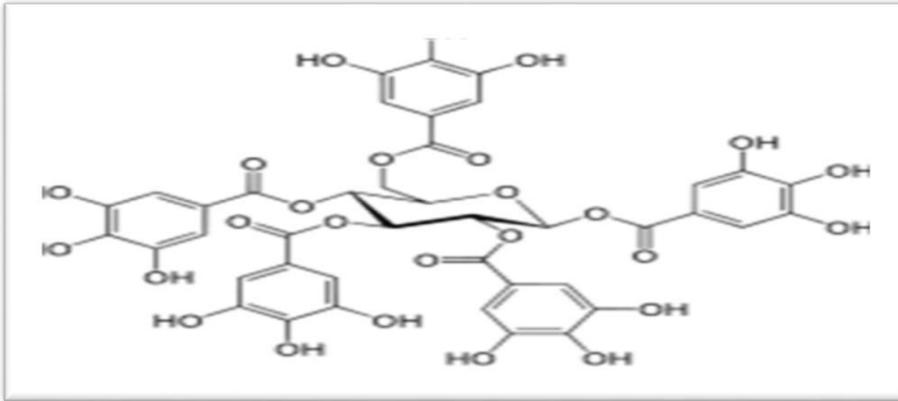


Figure 6: Structure générale des tanins hydrolysables (**Hagerman, 2002**)

III.2.1.3.2.2. Tanins condensés

Les tanins condensés (**figure 7**), non hydrolysables ou tanins catéchique, diffèrent fondamentalement des tanins qui peuvent être hydrolysés car ils manquent de sucre dans leur molécule et ont une structure similaire à celle des flavonoïdes. Ils se réfèrent aux polymères flavanes composés d'unités de flavan-3-ol reliées entre elles par des liaisons carbone-carbone (**Bruneton en 1993**).

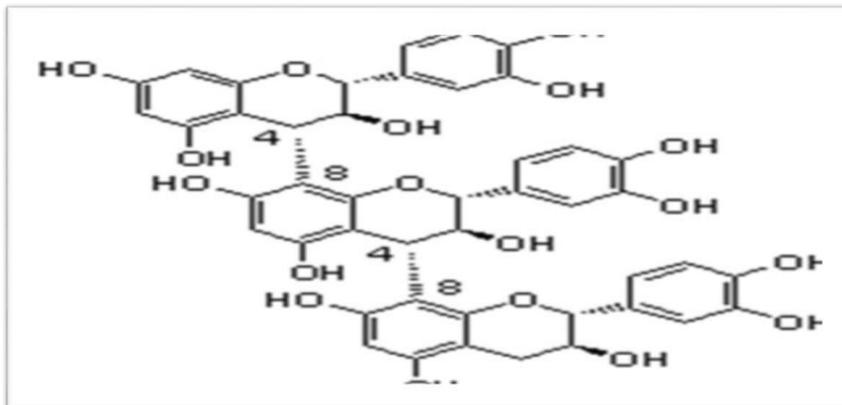


Figure 7: Structure générale des tanins condensés (**Hagerman, 2002**)

III.2.2. Alcaloïdes

III.2.2.1. Définition

Le mot "alcalin", à partir du quel ce nom dérive, a été utilisé à l'origine pour décrire toute base de Lewis contenant un hétérocycle d'azote. En tant que composés métaboliques secondaires, Les alcaloïdes se trouvent principalement dans les plantes, les champignons et quelques groupes d'animaux peu répartis, sont des molécules organiques hétérocycliques azotées avec une activité pharmacologique potentielle. Elle est considérée comme une base de Lewis car la paire d'électrons n'est pas attachée à l'azote. Typiquement, les alcaloïdes sont dérivés des acides aminés [Bruneton, 1999 ; Paris, 1976].

III.2.2.2 Structure chimique

Les alcaloïdes ont des structures moléculaires complexes (**figure 8**) avec des caractéristiques physiologiques distinctes même à faibles doses. Ils sont l'un des groupes de métabolites secondaires avec plus de 10 000 à 12 000 structures (**Donatien, 2009**)

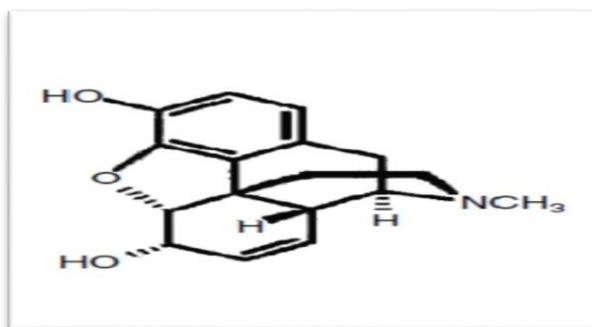


Figure 8: structure chimique des alcaloïdes [Morphine] (Aniszewski ,2007)

III.2.3. Terpénoïdes (Isoprénoïdes et Stéroïdes)

III.2.3.1. Définition

Les terpénoïdes sont des composés synthétisés par les plantes, les organismes marins, les champignons et même les animaux. Ils appartiennent à la catégorie des métabolites secondaires. Ils sont dérivés d'une structure de base composée de cinq atomes de carbone (C₅H₈) appelée communément isoprène. En fonction du nombre de répétitions de cette unité de base, on classe les terpénoïdes en trois catégories principales : les monoterpénoïdes (C₁₀), les sesquiterpénoïdes (C₁₅) et les diterpénoïdes (C₂₀). (Djahira., 2014)

III.2.3.2. Structure Chimique

Ils dérivent d'une structure de base à cinq carbones (C₅H₈), appelée isoprène (**figure 9**).

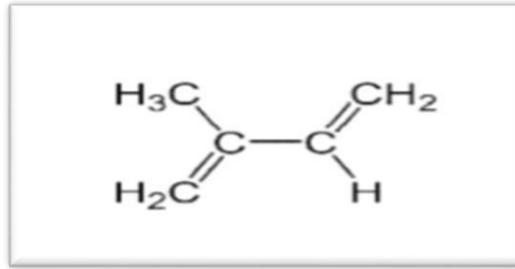


Figure 9: structure chimique d'isoprène (C₅H₈) (Djahira, 2014).

III.3. Composition chimique des plantes étudiées

III.3.1. Composition chimique d'*Ocimum basilicum*

Il est important de noter que la composition chimique de la plante peut différer d'une région à une autre selon **Zola et Garner, 1972** et en fonction de la partie de la plante utilisée.

Des études antérieures sur la phytochimie de ce genre ont mis en évidence la présence de métabolites secondaires tels que les huiles essentielles à des teneurs variant (linalol, eugénol, méthylchavicol et le citral), des flavonoïdes comme l'apigénine, le kaempférol et la lutéoline. Le basilic est une source de minéraux tels que le potassium, le calcium, le magnésium et le fer ainsi et des concentrations relativement élevées de vitamine (A, B1, B2, C et E) et l'acide rosmarinique (**Leung et Foster, 1996**).

III.3.2. La composition chimique de *Marrubium Vulgare*

Les études phytochimiques effectuées sur *Marrubium vulgare* confirment qu'elle contient de nombreux métabolites secondaires; des tanins, anthocyanes, stérols et diterpènes, des flavonoïdes, des phényléthanoïdes glucosidiques tels que l'acteoside et le forsythoside B, des saponosides et mucilages (**Djahra, 2014**). Les marrubes blancs contiennent également des minéraux tels que le potassium, notamment une teneur élevée en fer, et une proportion de composés azotés caractéristiques de la famille (**Schlempher et al., 1996**).

CHAPITRE IV

Activités biologiques



CHAPITRE IV : Activités biologiques

La diversité des constituants et La richesse en molécules bioactives dans lesquels les plantes médicinales sont composés, donne des rôles très différents et des caractéristiques biologiques connues qui ont été utilisées depuis longtemps. Actuellement, leur utilisation se fait sur une base scientifique et rationnelle car de nombreux travaux de recherche se concentrant sur les activités antibactériennes, antioxydants, antitoxiques, antivenimeuses, antifongique, antivirales et antiparasitaires.

IV.1. Activités antibactériennes

IV.1.1. Généralités sur les activités antibactériennes

Récemment, de nombreux chercheurs se sont tournés vers l'étude d'extraits de plantes et de bactéries, de métabolites secondaires purs et de molécules nouvellement synthétisées en tant qu'agents antibactériens potentiels. Lorsque l'on parle d'activités antibactériennes, on distingue deux sortes d'effets : une activité létale ou bactéricide et une inhibition de la croissance ou activité bactériostatique (**Buronzo, 2008**). La sélection des bactéries pour les tests antibactériens s'est portée sur deux souches bactériennes (Gram-positives et Gram-négatives).

IV.1.2. Evaluation de l'activité antibactérienne

Pour évaluer l'activité antibactérienne le choix de la méthode dépend de la solubilité des substances dans le milieu, de leur volatilité et de la nature du contact entre l'échantillon et l'agent pathogène.

IV.1.2.1. Méthode en milieu gélosé

C'est la méthode officielle utilisée dans de nombreux laboratoires de microbiologie clinique pour les tests de routine de sensibilité aux antibactérien. Des plaques de gélose sont inoculées dans des boîtes de Pétri avec un inoculum standardisé du micro-organisme testé etensemencées. Les boîtes sont incubées dans des conditions appropriées à 35°C pendant 24h. Généralement, l'agent antimicrobien diffuse dans la gélose et inhibe la germination et la croissance du microorganisme testé. Cette méthode permet de réaliser un classement en utilisant la relation entre la concentration on minimale inhibitrice (CMI) et le diamètre d'inhibition (**Fontanay et al., 2015**).

IV.1.2.2. Méthode des disques

La méthode des disques de diffusion (**figure 10**) est une technique permettant d'avoir une idée préliminaire sur la capacité d'un extrait à inhiber la croissance bactérienne. Des disques de papier Wattman stérile n° 3 et de diamètre 6 mm contenant le composé à tester à une concentration souhaitée, sont placés sur la surface de la gélose (**figure 10**). Les boîtes ont été ensuite incubées à 37°C pendant 24 h pour les bactéries et à 30°C pendant 48 h pour les champignons. La mesure des diamètres des zones d'inhibition entourant les disques contenant les échantillons à tester a été réalisée (**Balouiri et al., 2016**).

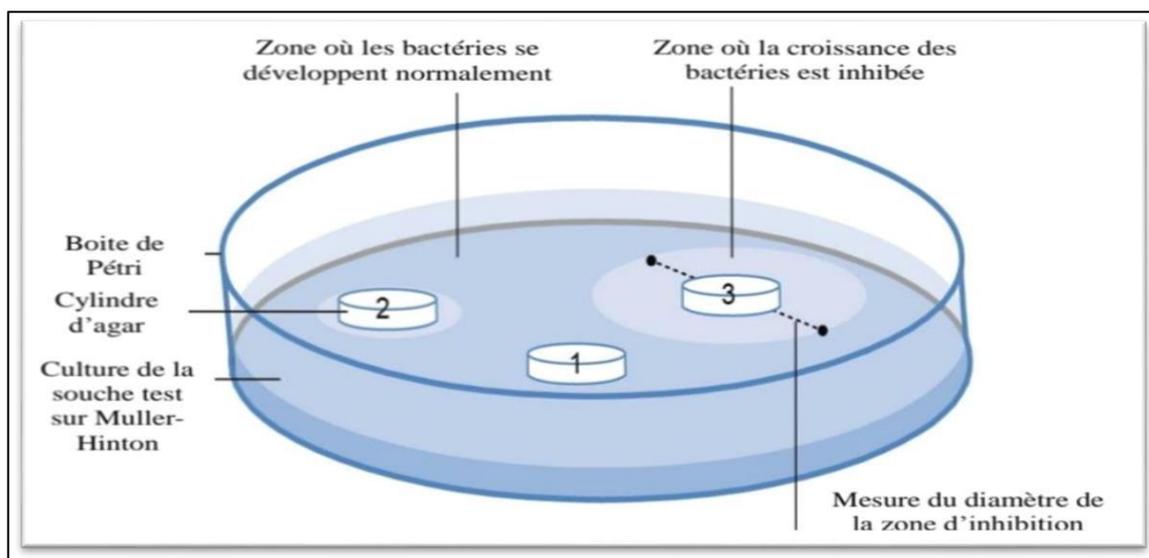


Figure 10: Schéma représentatif de la méthode des disques

IV.1.2.3. Méthode en milieu liquide

La méthode en milieu liquide est utilisée pour déterminer les paramètres de l'inhibition de la croissance bactérienne (CMI, CMB), des extraits actifs. Cette méthode consiste à mettre un inoculum bactérien standardisé au contact de concentrations croissantes d'antibiotiques selon une progression géométrique. Cela peut être divisé en deux techniques: soit en tube, appelée « macrométhode en milieu liquide », conduit à une consommation excessive de réactifs et de substances à tester. Soit en plaque à 96 puits appelée « microméthode en milieu liquide » qui est une technique automatisable contrairement à la macro-méthode. Après 18h à 24h d'incubation à 37°C, la CMI correspond à la concentration à laquelle l'inhibition de la Croissance bactérienne est visible à l'œil nu (absence de turbidité dans le tube) (**Fontanay et al., 2015**).

IV.2. Activité antifongique

Les antifongiques, également connus sous le nom d'antifungiques obtiennent leur nom du mot latin fungus, qui signifie champignons. Les infections causées par les champignons microscopiques, ou les mycoses, peuvent donc être traitées avec ces médicaments.

L'activité antifongique fait référence à la capacité d'un agent (comme un médicament, un produit chimique ou une plante) à inhiber ou à tuer la croissance de champignons pathogènes. Cette activité peut être mesurée par des tests de sensibilité *in vitro* où la substance est mise en contact avec le champignon et l'effet est mesuré en fonction de la croissance ou de la survie du champignon. Les agents antifongiques sont souvent utilisés pour traiter les infections fongiques chez les humains, les animaux et les plantes. Les exemples d'agents antifongiques comprennent les azoles, les polyènes, les échinocandines et les agents naturels tels que les extraits de plantes.

IV.2.1. Test antifongique

L'efficacité d'un médicament, composé chimique ou produit naturel pour prévenir ou éliminer les champignons et les levures responsables d'infections fongiformes est évaluée par un test antifongique. Les tests antifongiques sont effectués dans un environnement de laboratoire à l'aide de levures ou de champignons exposés à des concentrations croissantes de la substance testée. Les résultats des essais peuvent être exprimés en termes d'inhibiteur minimal de concentration (CMI), qui est la plus faible concentration possible d'un agent pouvant inhiber la croissance des champignons, ou de fongicide minimal (CMF), qui sont les concentrations les plus faibles possibles de l'agent pouvant éliminer complètement les champignons ou les piqûres. L'efficacité des médicaments antifongiques est évaluée à l'aide de tests antifongiques, qui sont cruciaux pour le développement de nouveaux traitements et pour étudier les propriétés antifongiques de divers composés naturels.

IV.2.2. Evaluation de l'activité antifongique

L'activité antifongique des extraits de plantes étudiées a été évaluée selon le pourcentage de l'inhibition de la croissance diamétrale des talles (%) :

- 30 à 40 %: faible activité,
- 50 à 60 %: activité modérée,
- 60 à 70 %: bonne activité,
- >70 %: excellente activité (Abd-ellatif et *al*, 2011).

IV.3. Activités antioxydante

IV.3.1. Définition

L'activité antioxydant est un bon exemple des bienfaits fonctionnels que peuvent apporter les extraits de plantes qui sont riches en vitamines, phénols, caroténoïdes et microéléments. Étant donné que les antioxydants naturels ont la capacité d'inhiber les processus d'oxydation et la croissance des micro-organismes, y compris de nombreux agents pathogènes (Flieger et al., 2021). L'activité antioxydante est appréciée par la mesure de l'efficacité des composés à piéger les radicaux libres ou par l'analyse des produits formés, ou par des techniques photométriques (Marc et al., 2004).

IV.3.2. Stress oxydatif

Le stress oxydatif, également appelé stress oxydant, est un phénomène physiopathologique, définie comme le déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène et la capacité de l'organisme à neutraliser et réparer les dommages oxydatifs (Boyd et al., 2003). Est un facteur clé favorisant l'apparition de nombreuses pathologies chroniques tels que le cancer, des maladies oculaires et neuro-dégénératives (Zbadi et al., 2018).

IV.3.3. Radicaux libres

Les radicaux libres, sont aussi appelés espèces réactives de l'oxygène (ERO). Par définition, les radicaux libres sont toute molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés qui interviennent dans de nombreuses fonctions physiologiques lors de la croissance Ou de la défense d'un organisme (Jacques et André, 2004). Ils sont donc réactifs et ont des durées de vie très courtes (Buguerne, 2012). En raison de leur grande réactivité, ils peuvent retirer des électrons d'autres composés pour les stabiliser.

IV.3.4. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

IV.3.4.1. Test de piégeage du radical DPPH

Le test DPPH est une méthode largement utilisée pour l'évaluation rapide et directe de l'activité anti-oxydante. il mesure l'efficacité antiradicalaire de molécules pures ou d'extraits végétaux dans un système modèle (solvant organique, température ambiante).

Cette méthode est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de DPPH. La DPPH est un radical organique se caractérise par sa capacité à générer des radicaux libres stables. Il absorbe dans le visible à la longueur d'onde de 515 à 520nm (bozin et al., 2008) .Le DPPH, initialement violet, se transforme en DPPH-H, jaune pâle selon l'équation suivante (figure 11) :

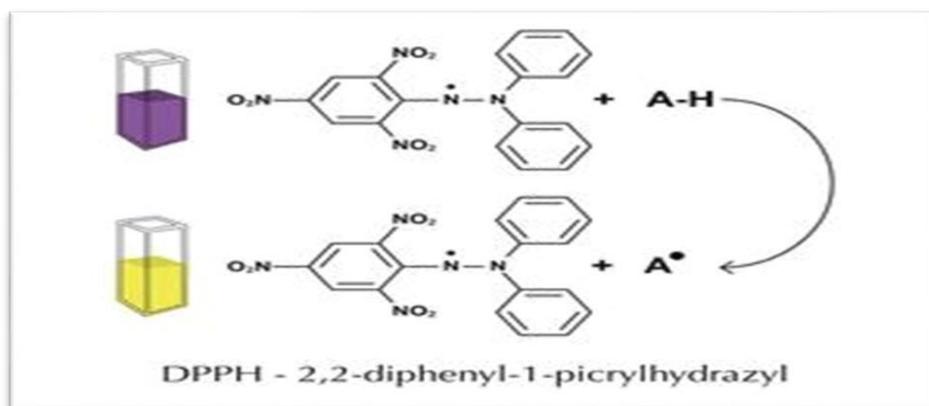


Figure 11: Mécanisme de réaction du DPPH avec un antioxydant

IV.3.4.2 Test d'ABTS

Ce test est basé sur la capacité des antioxydants à se stabiliser en convertissant le radical cationique bleu-vert ABTS⁺ en ABTS incolore lors du piégeage des protons par l'antioxydant. L'acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) ABTS est l'une des molécules les plus largement utilisées dans les études sur l'activité antioxydante. Il a une absorption maximale à 734nm. L'ajout d'un antioxydant à une solution de ce radical cationique réduit ce radical et diminue l'absorbance. Cette diminution dépend de l'activité antioxydante, du temps et de la concentration du composé testé (Re et al., 1999).

IV.3.4.3 Dosage du pouvoir réducteur FRAP

La méthode FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma), développée par BENZIE et STRAIN (1996), permet de déterminer le pouvoir réducteur des composés. Elle mesure la capacité d'un antioxydant à réduire le fer ferrique en cations ferreux. La présence d'un agent réducteur (AH) dans l'extrait végétal réduit le complexe Fe³⁺/ complexe ferricyanide à la forme ferreuse. Par conséquent, le Fe²⁺ peut donc être évalué en mesurant et en suivant l'augmentation de la densité de la couleur bleu cyanée dans le milieu réactionnel à 700 nm (Chung et al., 2002).

IV.3.4.4 Total Phénol et Flavonoïdes

Cette activité quantifiée le contenu total en phénols et en flavonoïdes (TPC et TFC) ainsi que les propriétés antioxydantes des extraits. Le TPC est déterminé par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu (Singleton et Rossi, 1965) en utilisant l'acide gallique comme étalon et en mesurant diverses concentrations de solutions d'extrait à 760 nm. Le TFC est calculé par une mesure colorimétrique à l'aide de chlorure d'aluminium (Topçu et al., 2007) et l'absorbance est mesurée à 510 nm en utilisant la quercétine comme standard.

IV.3.4.5 Activité réductrice par la formation du complexe Fe²⁺+phénanthroline

La 1,10-phénanthroline est un composé organique hétérocyclique qui forme un complexe rouge orange stable avec les ions Fe(II) appelé ferroïne (**figure 12**) et est utilisé comme indicateur pour les titrages de sel de Fe(II). Ce complexe est soluble à pH basique et peut être mesuré par absorbance au maximum 508 à 510 nm. (**Kolthoff et al., 1950**)

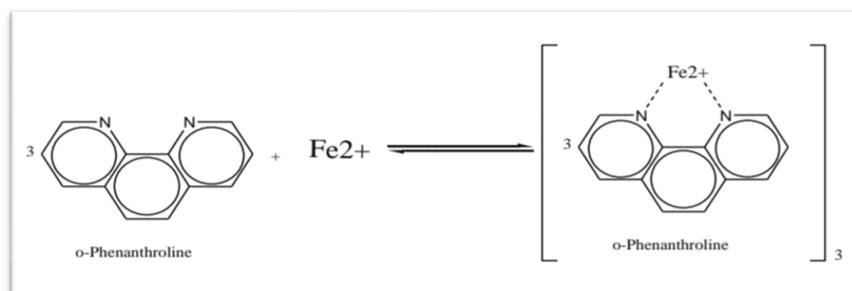


Figure 12: Formation du complexe Fe²⁺-phenanthroline.

IV.4 Activités enzymatiques

Les différents organismes produisent une large variété d'enzymes spécifiques aux différents substrats. Les enzymes sont des protéines qui jouent le rôle de catalyseurs biologiques et accélèrent les réactions chimiques chez les organismes vivants. Les plantes synthétisent des divers enzymes pour effectuer une variété de fonctions métaboliques. Parmi eux l' α -amylase, un complexe enzymatique qui catalyse l'hydrolyse de l'amidon en glucose (**Badot et Merlin, 1984**). Le contrôle de l'activité catalytique de cette enzyme entraîne une diminution de la production de glucose. Cette activité a été réalisée pour évaluer l'inhibition de l' α -amylase pour l'utilisation d'extraits de certaines plantes pour le traitement de l'obésité, du diabète et des complications qui y sont associées (**Gerrard et al., 2000**).

IV.5. Activités anti-inflammatoires

L'activité anti-inflammatoire est une caractéristique bien connue de nombreuses espèces végétales. L'inflammation est une réponse défensive naturelle de l'organisme à diverses agressions (**Rahmani et al., 2016**). Plusieurs études ont montré que les composés actifs présents dans les plantes ont des propriétés qui peuvent contribuer à réduire cette inflammation excessive par l'inhibition des médiateurs de l'inflammation. Les extraits des plantes aux propriétés anti-inflammatoires sont utilisés dans une variété de produits tels que les compléments alimentaires, les pommades topiques, les infusions et les décoctions. Ils sont parfois utilisés en tant que supplément ou en alternative aux médicaments anti-inflammatoires traditionnels.



Partie II
Partie expérimentale

CHAPITRE V

Matériels et méthodes



CHAPITRE V : Matériels et méthodes

V.1. Matériel

V.1.1. Matériel végétale

Les organes végétaux sélectionnés pour faire l'extraction des espèces utilisés dans cette étude expérimentale sont les feuilles de *Marrubium vulgare (MV)* et les fruits d' *Ocimum basilicum (OB)*. Les échantillons ont été récoltés durant la période du mois de Mars 2023, au niveau de la région EL Harrouche de la wilaya de Skikda (Algérie). Le matériel recueilli a été séché à température ambiante et protégé de la lumière du soleil, dans le but de préserver autant que possible l'intégrité des molécules.

V.1.2. Matériel microbien

Les tests microbiens ont été effectués à l'aide des souches suivantes (**tableau 3**)

Tableau 3 : les souches microbienne utilisées

Souche	Gram	Référence
<i>Escherichia coli</i>	–	ATCC 25922
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	ATCC 25923
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	–	ATCC 27853
<i>Candida albicans</i>	/	/
<i>Aspergillus niger</i>	/	/

V.2. Méthodes d'analyse

Lors de la réalisation d'une étude, il est indispensable de suivre un protocole méthodique et rigoureux pour parvenir à des résultats fiables et reproductibles. Ce qui suit est un plan détaillé qui décrit les étapes et les procédures particulières mises en œuvre pour mener à bien notre étude (**figure 12**).

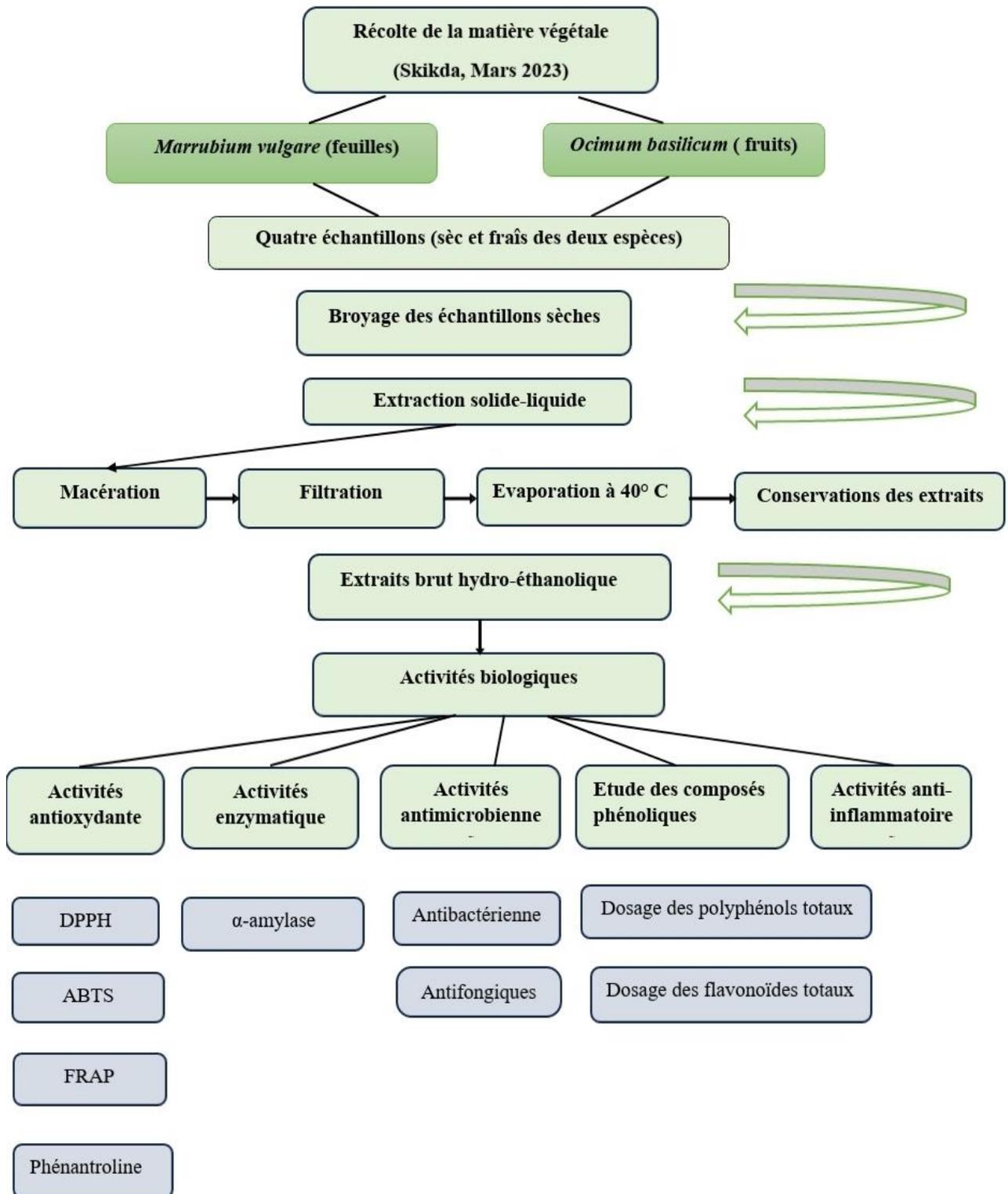


Figure 13: Schéma de la méthodologie suivis

V.2.1. Préparations des extraits (Extraction solide-liquide)

a) Préparation des échantillons: Notre étude est effectuée sur les plantes sèches et fraîches des deux espèces. Les fruits de basilic(*OFB /OBS*) et les feuilles de Marrube blanc (*MVF/MVS*) sont d'abord récoltées et très bien nettoyées. Puis sécher à température ambiante et protégé de la lumière du soleil, dans le but de préserver autant que possible l'intégrité des molécules. Ensuite, des parties sont hachées en petits morceaux et l'outre sont broyées à l'aide un broyeur électrique en poudre fine pour faciliter l'extraction.

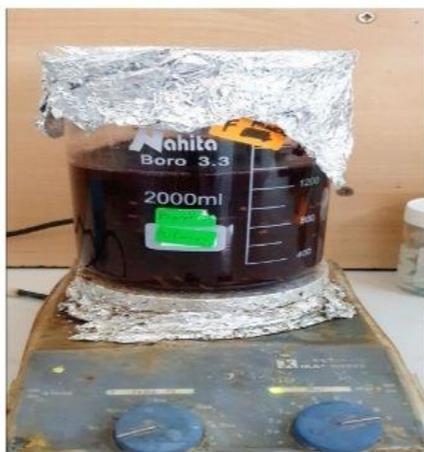
b) Macération : Il s'agit d'un simple contact entre le substrat solide et le solvant . 40 de poudre des feuilles de *Marrubium vulgare* et d' *Ocimum basilicum* sont mises en macération dans un mélange hydroalcoolique (Ethanol/Eau ; 8 : 2 ; v/v) pendant 24 heures sous agitation à une température ambiante . La quantité de matériel végétal obtenue (100 ,140 g) (sans broyage) est également macérée selon le même principe.

c) Filtration: Après l'extraction , chaque mélange est filter une fois sur coton hydrophile et une fois sur du papier filtre pour éliminer les résidus solides et obtenir le liquide extrait pur

d) Évaporation : le liquide extrait est ensuite évaporer par l'évaporateur rotatif sous vide a 40°C pour éliminer le solvant liquide et concentrer les composés souhaités .

e) Collecte et stockage: le produit final est récupéré par le méthanol et stocké dans un contenant propre (flacon).

Toutes ces étapes sont illustrées dans la **figure 14** ci-dessous.



a. Macération



b. Filtration



c. Evaporation



d. Extrait brut

Figure 14: Étapes de l'extraction

V.2.2. Rendement d'extraction

Le poids de l'extrait sec est déterminé par la différence entre le poids du ballon plein (après évaporation) et le poids du ballon vide (avant évaporation) (Mohammedi, 2006)

$$\text{Rendement Ext \%} = \text{MExt} / \text{MEch} \times 100$$

MExt: Masse de l'extrait après évaporation du solvant en g.

MEch: Masse de l'échantillon végétal en g.

V.2.3. Analyse chimique

V.2.3.1. Détermination de la teneur en composés phénoliques

V.2.3.1.1. Dosage des polyphénols totaux

a) Principe

La teneur des extraits en polyphénols totaux est déterminée à l'aide de réactif de Folin Ciocalteu (FCR) selon le protocole rapporté par **Singleton et Rossi, (1965)** par une méthode de dosage adoptée au lecteur microplaque décrite par **Müller et al., (2010)**. Le réactif Folin-Ciocalteu est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols. L'intensité de la couleur bleue est proportionnelle à la teneur en composés phénoliques du milieu, avec un maximum d'absorption autour de 750-765 nm.

b) Procédure

On mélange 20µl d'extrait avec 100 µl de Folin-Ciocalteu (dilué 1 /10ème) et 75 µl de carbonate de sodium (7,5%). Après une incubation à l'obscurité pendant 2h, la lecture est lue à 765nm. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le méthanol. La teneur totale en polyphénols de l'extrait est exprimée en microgrammes d'acide gallique par milligramme d'extrait.

c) Gamme d'étalonnage

Une gamme de sept concentrations d'acide gallique est effectuée parallèlement dans les mêmes conditions opératoires à partir de la solution mère par la dilution de la solution mère S1, Celle-ci est préparée en dissolvant 1 mg d'acide gallique dans 5 ml de méthanol. Les dilutions sont préparées en éppendorfs de la façon suivante:

25µg/ml → 25µl de S1+ 175µl de MeOH

50µg /m → 50µl de S1+ 150µl de MeOH

75µg/ml → 75µl de S1+ 125µl de MeOH

100µg/ml → 100µl de S1+ 100µlde MeOH

125µg /ml → 125µl de S1+ 75µl de MeOH

150µg /ml → 150µl de S1+ 50µl de MeOH

175 µg /ml → 175 µl de S1+ 25µl de MeOH

200µg /ml → 200µl de S1

Dans une microplaque 20 µl de chaque dilution avec 100µl FCR (1:10) et 75µl de Na_2CO_3 (7,5%). La plaque est ensuite incubée durant 2 heures et la lecture est effectuée à 765nm.

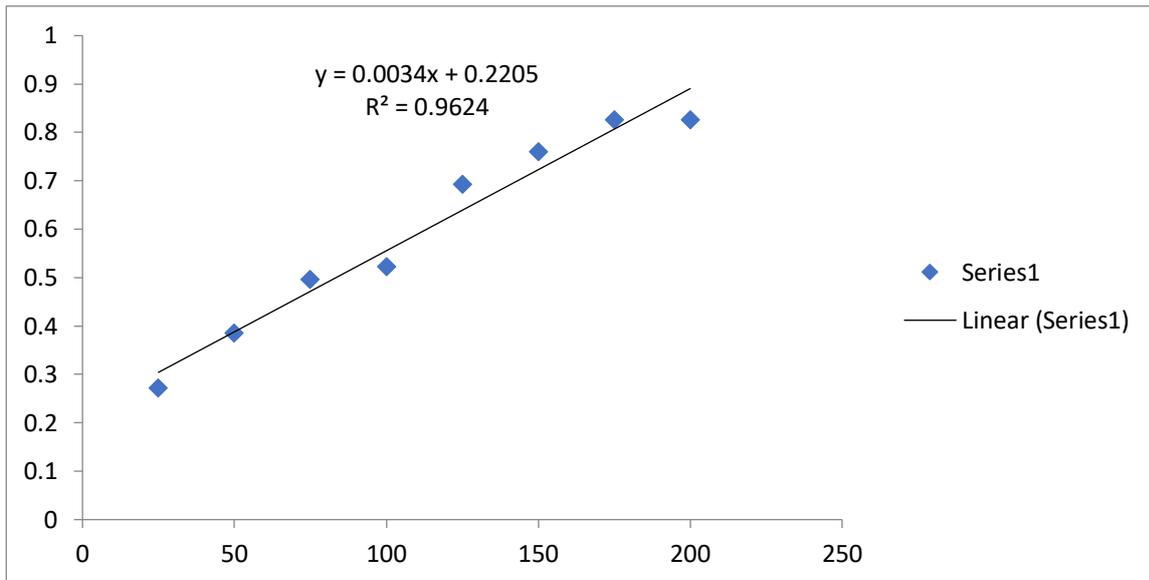


Figure 15 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique

V.2.3.1.2. Dosage des flavonoïdes totaux

a) Principe

Les flavonoïdes produisent des complexes jaunâtres pendant la chélation du métal. Les composés formés sont responsables de l'assimilation de la lumière dans le visible laquelle est proportionnelle à la concentration en flavonoïdes. Le dosage des flavonoïdes est réalisé selon la méthode de **Topçu et al., (2007)** avec des modifications sur microplaque 96 puits.

b) Procédure

Le protocole consiste à mélanger dans chaque puit 50 µl de l'échantillon avec 130 µl de méthanol, 10 µl d'acétate de potassium et 10 µl de nitrate d'aluminium. L'ensemble est incubée à température ambiante pendant 40 min. Le blanc est préparé au moyen du remplacement des réactifs par du méthanol (50µl extrait + 150µl méthanol). L'absorbance des échantillons est lu à 415 nm et l'activité est calculée à l'aide de quercétine comme standard, elle a été préparée de la même façon que l'échantillon.

c) Gamme d'étalonnage

1 mg de quercétine a été pris dissous dans 5 ml de méthanol Dans un éppendorff, afin d'obtenir une solution mère (S1) d'une concentration égale à 0,2 mg ml. De cette solution, des diluats sont préparés en eppendorfs de la façon suivante:

Quercetin (25) → 25µl de S1+ 175µl de MeOH

Quercetin (50) → 50µl de S1+ 150µl de MeOH

Quercetin (75) → 75µl de S1+ 125µl de MeOH

Quercetin (100) → 100µl de S1+ 100µl de MeOH

Quercetin (125) → 125µl de S1+ 75µl de MeOH

Quercetin (150) → 150µl de S1+ 50µl de MeOH

Quercetin (175) → 175 µl de S1+ 25µl de MeOH

Quercetin (200) → 200µl de S1

On transfère 50 µl de chaque dilution dans une microplaque de 96 puits contenant 130 µl de méthanol (MeOH), 10µl de la d'acétate de potassium (CH_3COOK) et 10 µl de nitrate d'aluminium ($\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$). Au bout de 40 minutes, on mesure l'absorbance à 415 nm.

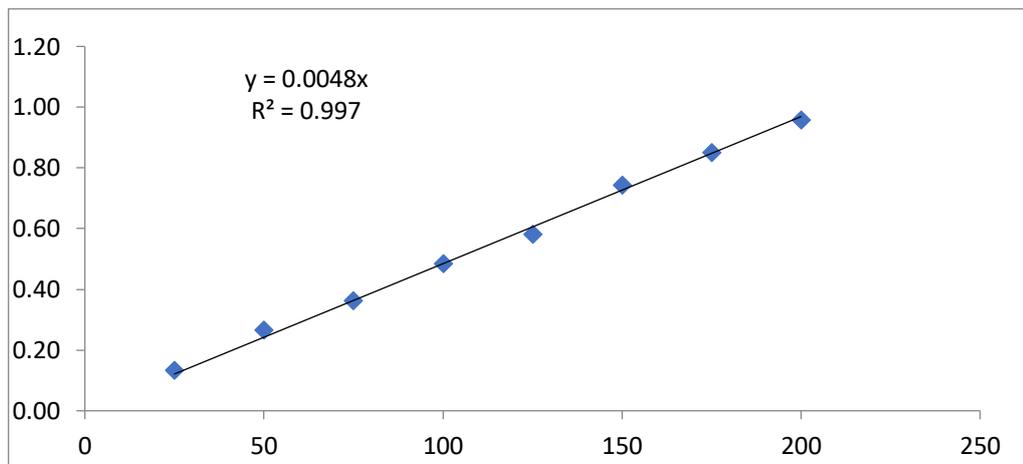


Figure 16: Courbe d'étalonnage de quercétine

V.2.3.2. Évaluation in vitro de l'activité antioxydante

Dans notre étude, la démonstration de l'activité anti-oxydante in vitro de nos extraits a été menée à travers quatre activités, à savoir: le piégeage du radical libre DPPH⁺, le piégeage du radical libre ABTS⁺, la méthode de la Réduction du fer FRAP (Ferric reducing-antioxydant power) et l'Activité phénanathroline.

V.2.3.2.1. Activité du piégeage du radical libre DPPH

a. Principe

La capacité des extraits à réduire les radicaux libres de la DPPH est mesurée par la méthode spectrophotométrie décrite par **Blois, (1958)**. Le changement de couleur violet à jaunâtre du DPPH en présence de composés antiradicalaires met en évidence le potentiel antioxydant de l'échantillon grâce à sa capacité à piéger les radicaux libres.

b. Procédure

Dans une microplaque de 96 puits, Le test se fait par le mélange de 40µl d'échantillon dilué dans des solutions de méthanol (dans des eppendorfs secs et stériles,une masse de 1mg d'extrait est dissoute dans un volume de 1000 µl de méthanol) avec une solution de 160 µl du DPPH. Le mélange est incubé pendant 30 min à l'abri de la lumière. La lecture de l'absorbance à 517 nm est réalisée par spectrophotomètre des microplaques. Le blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le méthanol. Un contrôle positif représenté par une solution d'un antioxydant standard (le α-tocophérol, BHA, BHT). Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH a été calculé selon la formule suivante :

$$PI\% = (A \text{ Controle} - A \text{ Extrait} / A \text{ Controle}) \times 100$$

A Controle : est l'absorbance de la réaction témoin contenant tous les réactifs à l'exception de l'extrait.

A Extrait : est l'absorbance de la réaction contenant de l'extrait.

V.2.3.2.2. Piégeage du radical-cation ABTS⁺

a) Principe

Spectrophotométrique de l'activité de piégeage du radical ABTS a été effectuée en utilisant la méthode de **(Re et al., 1999)**. Ce test porte sur la production directe du bleuvert ABTS + chromophore. Il a une absorption maximale à 734nm.

b) Procédure

Dans une microplaque à 96 puits, 40 µl de chaque échantillon à différentes concentrations (une quantité de 1mg d'extrait est mis en solution dans un volume de 1000 µl de méthanol) sont incubés avec 160 µl de la solution ABTS+ (réaction entre 7mM de la solution mère ABTS dans l'eau et 2,45mM de persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$), stocké à l'obscurité à température ambiante pendant 16h. Avant l'utilisation, l'ABTS a été diluée pour une absorbance de $0,703 \pm 0,020$ à 734 nm). Le blanc sans échantillon est préparé dans les mêmes conditions, incubée pendant 10 minutes à température ambiante et à l'obscurité. Le tocophérol et le BHA ont été utilisés comme étalons antioxydants. La capacité de capture l'ABTS+ a été calculée en fonction de la réaction suivante :

$$PI\% = (A_{\text{Contrôle}} - A_{\text{Extrait}} / A_{\text{Contrôle}}) \times 100$$

V.2.3.2.3. Activité du pouvoir réducteur (FRAP)**a) Principe**

La réduction du fer des extraits d'a été déterminée en utilisant la méthode de (Oyaizu, 1986). Cette méthode est basée sur le changement de couleur de l'échantillon vers le bleu en fonction du la puissance de réduction de chaque composé.

b) Procédure

Dans une microplaque à 96 puits, un mélange de 10 µl de l'extrait (4 mg /1 ml de méthanol), 40 µl d'une solution tampon phosphate (pH 6,6) et à 50 µl d'une solution de ferricyanide de potassium (1%) a été incubé dans l'étuve à 50°C pendant 20 min. Après incubation, nous avons ajouté 50 µl d'acide tri-chloroacétique (10%), 40 µl d'eau distillée et 10 µl de chlorure de fer anhydre (0,1%). L'absorbance a été mesurée à 700 nm contre un blanc préparé d'une manière similaire en remplaçant l'extrait par du méthanol.

V.2.3.2.4. Activité de réduction par formation du complexe Fe²⁺-Phénanthroline :**a) Principe**

Sémalrement a celle du FRAP. Pour cet essai, nous avons utilisé la méthode de (SzydłowskaCzerniak *et al.*, 2008). Le principe repose sur la formation du complexe O-Phénanthroline-Fe²⁺ et sa perturbation en présence d'agents chélatants.

b) Procédure

Un mélange de 10 µl de l'échantillon (4mg de l'extrait a été dissoute dans 1000µl de méthanol), 50 µl de chlorure de fer anhydre (0,2%), 30 µl de phénantroline (0,5%) et 110 µl de méthanol. Le mélange résultant a été incubé à 30°C pendant 20 min dans l'obscurité et l'absorbance a été mesurée à 510 nm. Le BHT ont été utilisés comme standards.

V.2.3.3. Evaluation de l'activité enzymatique**V.2.3.3.1. Activité inhibitrice de l'α-amylase :****a) Principe**

L'activité inhibitrice de l'α-amylase a été effectuée à l'aide de la méthode iode / iodure de potassium (IKI) (G. Zengin *et al.*2014) avec certaines modifications.

L'α-amylase décompose l'amidon en composés moins complexes, incapables de réagir avec l'iode. L'inhibition de la α-amylase par un inhibiteur provoque l'accumulation d'amidon qui réagit par la suite avec l'iode pour produire un complexe bleu-noir.

b) Réactifs

- 1- Enzyme α-amylase 1U.
- 2- Amidon 0.1% (mettre la solution dans la microonde à plusieurs cycles de 15 sec)
- 3- HCl 1M : Ajouter doucement à 45.83 ml d'eau, un volume de 4.17 ml d'HCL pure.
- 4- Solution IKI : -Dissoudre 3 gr de KI dans 100 ml d'eau ;
- 5 -Ajouter 127 mg d'iode (5mM), agiter jusqu'à dissolution complète.
- 6- Tampon phosphate (pH 6.9) avec 6mM NaCl (35.1 mg NaCl pour 100 ml de tampon)

c) Procédure

Dans une microplaque, 25 µl de chacun des extraits sont mélangés avec 50 µl de solution d'αamylase (1 U) La préparation est incubée à 37°C pendant 10 minutes. 50 µl d'amidon à 0,1 % est ajouté. Une seconde incubation pendant 10 minutes à 37 °C est réalisée. Une addition de 25µl HCl (1M) et 100µl de IKI est effectuée pour une lecture à 630 nm.

d) Calcul de pourcentage d'inhibition

Le calcul du pourcentage d'inhibition est effectué à l'aide de la formule suivante :

$$\%INH=1-[(Ac-Ae)-(As-Ab)/(Ac-Ae)]$$

Ac=Absorbance [Amidon+IKI+HCl+Vol de solvant d'extrait+Vol tampon Enzyme]

Ae=Absorbance [Enzyme+Amidon+IKI+HCL+ Vol de solvant d'extrait]

As=Absorbance [Enzyme+Extrait+Amidon+IKI+HCl]

Ab=Absorbance [Extrait+IKI+125µl de tampon]

V.2.3.4. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro**V.2.3.4.1. Préparation de la suspension des globules rouges (érythrocytes)**

Des rats mâles de souche Wistar albinos ont été utilisés pour prélever du sang frais à l'aide d'une seringue graduée. Ce sang a ensuite été placé dans des tubes héparine et centrifugé à 1300 g pendant 10 minutes à une température de 4°C. Cette centrifugation permet de séparer les globules rouges des autres composants sanguins. Après élimination du liquide supérieur, le sédiment obtenu a été récupéré et lavé trois fois avec une solution d'eau physiologique (0,9%) à température ambiante. Chaque lavage a été effectué en centrifugeant à 1300 g pendant 5 minutes. Le sédiment obtenu après la dernière centrifugation a été resuspendu dans une solution de tampon phosphate salin (PBS) à pH 7,4. Le ratio utilisé était d'un volume de sédiment pour 9 volumes de PBS, ce qui a permis d'obtenir un hématoците de 10% (v/v).

V.2.3.4.1.1. Innocuité des extraits vis-à-vis de la cellule érythrocytaire

Des extraits aqueux de plantes dissous dans une solution de NaCl à 0,9% ont été mélangés avec un tampon phosphate non salin à un pH de 7,4 et à une concentration de 0,15 M, dans des tubes à essais. Ensuite, une solution hyposaline contenant du NaCl à 0,36% a été ajoutée au mélange, suivi d'une incubation à une température de 37 °C pendant une durée de 20 minutes. Après cela, une suspension d'érythrocytes à une concentration de 10% a été ajoutée dans chaque tube, suivi d'une incubation à une température de 56 °C pendant 30 minutes. Les tubes ont été ensuite placés dans de l'eau ambiante pendant 20 minutes pour arrêter la réaction, puis centrifugés à une force de 1300g pendant 10 minutes. La mesure de l'absorbance du liquide surnageant a été effectuée à une longueur d'onde de 560 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Le contrôle consistait en un mélange contenant une solution hyposaline, un tampon phosphate PBS, une suspension de globules rouges et de l'eau physiologique, dans les mêmes proportions. Pour chaque concentration d'extrait ou de substance standard, un blanc a été

préparé pour éliminer l'absorbance provenant de l'extrait et du tampon PBS dans les résultats obtenus. L'acide gallique, utilisé comme molécule de traitement anti-inflammatoire, a été testé à différentes concentrations (0-800 g/ml), similaires à celles de l'extrait.

$$\text{Pourcentage d'hémolyse (\%)} = \frac{[D_{or} - D_{Oc-} / D_{oc+}] \times 100}{1}$$

DOE: Densité optique de l'échantillon

Doc: Densité du contrôle négatif

Doc+: Densité du contrôle positif

V.2.3.4.1.2. Stabilisation de la membrane des globules rouges :

a) Principe

Le test repose sur l'utilisation d'extraits aqueux des plantes étudiées afin de déterminer leur effet sur la stabilisation des érythrocytes. Ceux-ci sont préalablement soumis à une hémolyse provoquée par une solution hypotonique combinée à une température élevée (**Ganesh Gadamsetty et al., 2013**).

b) Mode opératoire

Pour ce test, une gamme de concentrations des extraits allant de 0 à 8 mg/ml a été préparée dans un tampon phosphate salin (pH 7,4 ; 0,9% NaCl). 1.6 ml de différentes concentrations des deux extraits à tester a été mélangée avec 0.4 ml de la suspension de globules rouges à 10 %. Le mélange a été incubé à 37°C pendant 30 min, puis centrifugé à 1300g pendant 10 min.

L'absorbance du surnageant a été lu à 540 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre. En respectant les mêmes conditions expérimentales, un contrôle incluant 0.4 ml de la suspension de globules rouges et 1.6 ml d'eau physiologique ou de l'eau distillé, à la place de l'extrait, a été préparé pour vérifier l'état des globules rouges ou le 100 % d'hémolyse, respectivement. Le diclofénac est utilisé dans les mêmes conditions.

Pour chaque concentration d'extrait ou de standard, un blanc constitué de 1.6 ml d'extrait et de 0,4 ml de tampon phosphate salin (PBS pH 7,5 ; 0,9 % NaCl) est préparé, qui a pour but de soustraire l'absorbance de l'extrait et du PBS des résultats obtenus. Les pourcentages d'hémolyses de chacune des concentrations utilisées sont calculés :

$$\text{inhibition de l'hémolyse \%} = \left(\frac{Ac - At}{Ac} \right) * 100$$

Ac : absorbance de control

At : absorbance de l'échantillon (test) .

V.2.3.5. Evaluation de l'activités antibactériennes et antifongiques

Ces tests sont réalisés au niveau du laboratoire de microbiologie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université des frères Mentouri Constantine. Notre objectif est déterminé parmi les extraits que nous avons étudiés, ceux qui avaient le plus grand effet inhibiteur sur la croissance bactérienne.

Ces activités ont été évalués par la méthode des disques de diffusion sur différentes souches bactériennes : *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 , *Staphylococcus aureus* ATCC 5538 et souche fongique : *Candida albicans* et *Aspergillus niger*.

a) Mode opératoire

La méthode est basée sur l'utilisation des disques de papier Whatman n°1 d'un diamètre de 6 mm (**figure 15**). Les disques ont été imprégnés de différentes solutions de l'extrait dissous dans du DMSO (diméthylsulfoxyde). Le milieu de culture Muler-Hinton sous lest utilisées pour les bactéries et le sabouraud pour les moisissures. Les milieux sont coulés sous la haute dans les boites de pétri. Après solidification du milieu de culture, 1 ml de chaque suspension microbienne a été étalé à la surface du milieu gélose au moyen d'une pipette de pasteurisation stérile. Après l'ensemencement de l'agar nutritif, les disques sont trempés dans chaque extrait (*Ocimum basilicum* et *Marrubium vulgare*), puis disposés sur la surface de la gélose (4 disques/par boite) à l'aide d'une pince stérilisée au bec bunsen.

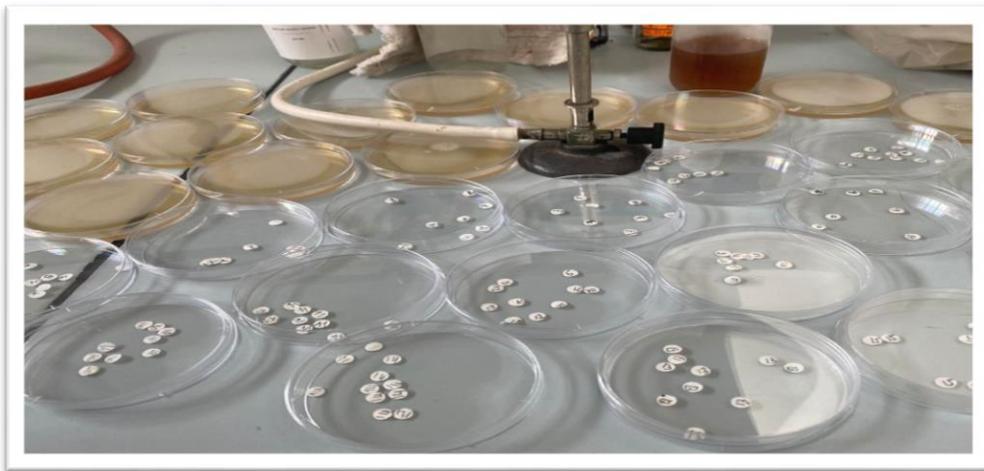


Figure 17 : Etape de la méthode des disques

b) Incubation

Les boîtes sont incubées à 37°C entre 18 à 24 heures pour les bactéries et à 30°C pendant 2-3 jours pour les champignons.

c) Lecture

En cas de toxicité pour l'espèce, une zone d'inhibition ou un halo clair se forme autour du disque. La lecture est effectuée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour du disque et considérée comme un résultat positif.

CHAPITRE VI

Résultats et discussions



CHAPITRES VI : Résultats et discussions

VI.1. Détermination du rendement de l'extraction

Les rendements d'extraction sont illustrés dans (tableau 4) suivant :

Tableau 4 : Rendements d'extraction des différents extraits végétaux(*MVF/MVS* et *OBF/OBS*).

Extraits	Masse de la matière végétale (g)	Couleur/aspect	Masse de l'extraits (g)	Rendement (%)
<i>Marrubium vulgare</i> frais (<i>MVF</i>)	100	Vert/Feuilles	14.74	14.74
<i>Marrubium vulgare</i> sec (<i>MVS</i>)	40	Vert/Poudreux	4.55	11.37
<i>Ocimum basilicum</i> frais (<i>OBF</i>)	140	Pourpre / Fruit	17.3	12.35
<i>Ocimum basilicum</i> sec (<i>OBS</i>)	40	Pourpre/Poudreux	10.22	25.55

L'analyse de ce tableau montre que ces rendements varient d'un extrait à l'autre. Ces rendements sont compris entre 11.37 ±25.55 %. Cette variabilité peut être attribuable à de nombreux facteurs, tels que le contenu chimique de chaque espèce, la saison de la récolte, la durée et les conditions de stockage et l'origine géographique de la plante (température et composition du sol) (Bruneton, 1993; Bennadja et al., 2013). En plus de la méthode d'extraction, peut avoir un effet sur la diffusion du solvant dans la poudre de la plante dans

l'étape de macération et probablement, la nature des solvants utilisés pour l'extraction a aussi une influence.

VI.2. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé en utilisant la méthode spectrophotométrique (figure 18) adapté de Müller et al.,(2010), qui implique l'utilisation du réactif de Folin. Les teneurs sont calculées à partir d'une courbe d'étalonnage de l'acide gallique (figure 19) exprimées en microgramme (μg) équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait d'extrait $\mu\text{g GAE/mg}$.

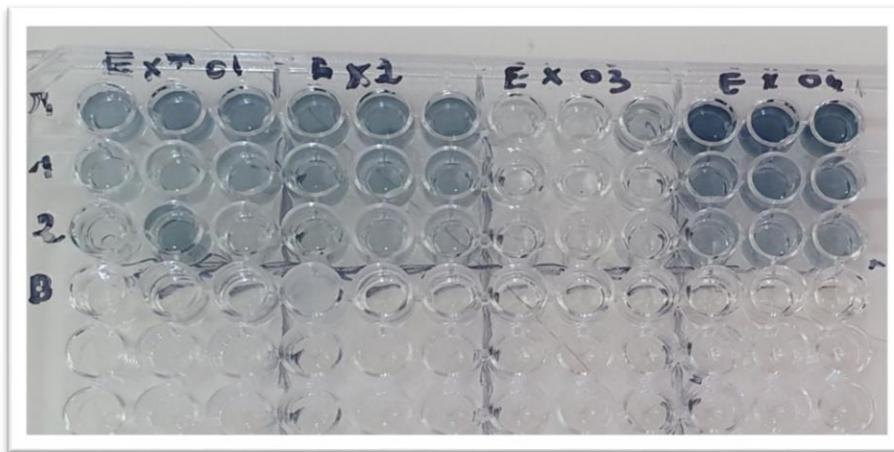


Figure 18 : Résultats de dosage des polyphénols totaux .

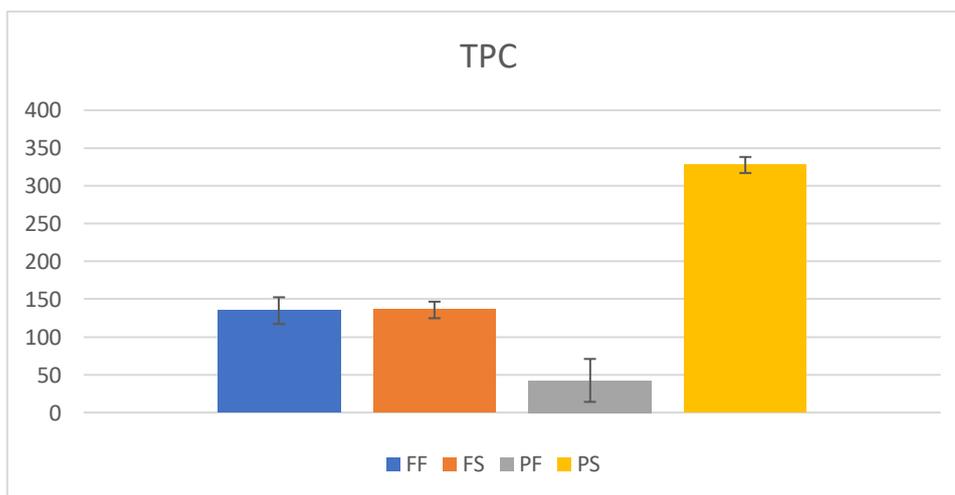


Figure 19: Histogramme de dosage des polyphénols totaux.

Notre étude a montré que les Fruits d'*Ocimum basilicum* (OB) sont riches en polyphénols dont l'extrait (OBF) a une excellente activité (134.88 ± 17.67) par rapport à l'extrait (OBS) (327.51 ± 10.61) de la même plante. Ses résultats s'accordent pas avec les résultats

de (Tuong et al., 2020) qui ont révélé que l'espèce d'*Ocimum basilicum* n'est pas riche en polyphénols et ont obtenu des teneurs très faible avec l'extrait éthanolique (0.92 mg GAE/g), l'extrait méthanolique (1.4 mg GAE/g), l'extrait acétonique (0.89 mg GAE/g) et l'extrait aqueux (0.70 mg GAE/g) et on a constaté que les valeurs de variations du contenu total en polyphénol de l'*OB* sont plus élevées que les variations du contenu de *Marrubium vulgare* (*MV*) d'autre part la teneur des feuilles de *MV* est très faible dans l'extrait (*MVF*) ($24,49 \pm 284$) contrairement au extrait ((*PS*) ($135,76 \pm 10,95$ phénolc comparaison avec l'étude faite par Bouterfas et al., (2013) les concentrations moyennes en phénols totaux notées sur les feuilles sèches pendant la période de végétation (0,189 g EAG /g de matière sèche) et la période de floraison (0,157 g EAG /g de matière sèche) et des concentrations moyennes en phénols totaux notées sur les fleurs (0,032 g EAG/g de matière sèche), par les feuilles fraîches (0,024 g EAG/g de matière sèche) pendant la période de végétation et la période de floraison (0,023 g EAG/g de matière sèche) ses résultats sont complètement différente par rapport à nos résultats car le profil polyphénolique des extraits de plantes peut varier sous l'influence de divers facteurs parmi lesquels la variété, le climat, la localisation géographique (Ryan et al., 1999; Benlarbi, 2004), les différentes maladies qui peuvent affecter la plante, la maturité de la plante (Park & Cha, 2003) la température et le solvant d'extraction (Sousa et al., 2008; Conde et al., 2009).

VI.3. Dosage des Flavonoïdes totaux

Le dosage quantitatif des flavonoïdes totaux des extraits bruts a été réalisé par la méthode spectrophotométrique de Topcu et al.,(2007) avec quelque modifications (figure 20). Les teneurs des flavonoïdes totaux dans les extraits sont exprimées en microgramme (μg) équivalent de Quercétine par mg d'extrait ($\mu\text{g EQ}$) (figure 21).



Figure 20 : Résultats de dosage des flavonoïdes totaux

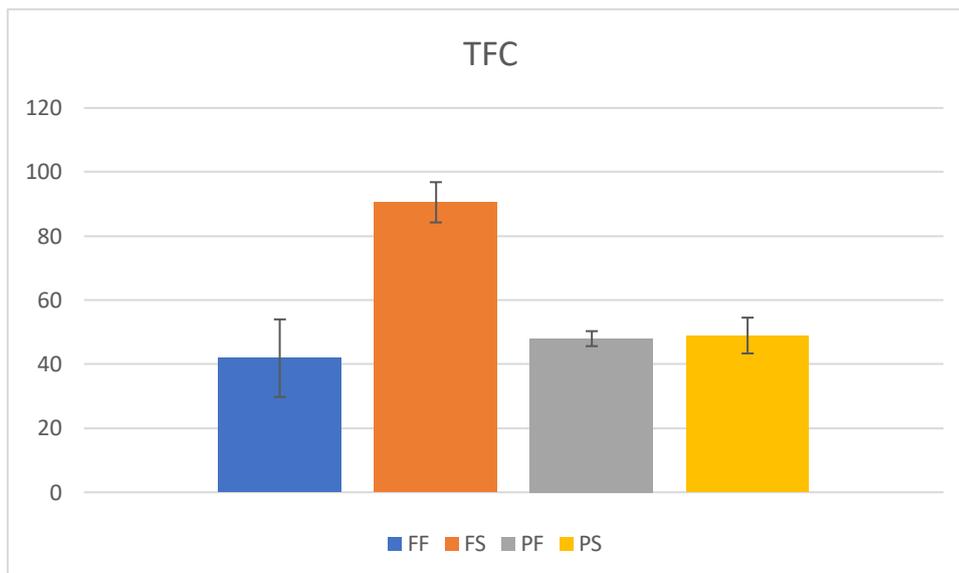


Figure 21 : Histogramme de dosages des flavonoïdes totaux

On Remarque pour la plante *MV*, l'extrait (*MVS*) est riche en flavonoïdes ($90,55 \pm 6,29$) par rapport à l'extrait (*MVF*) ($47,98 \pm 2,34$), les travaux de **Kouchache Hadjer et Diar Hind., (2021)** ont révélé la quantité de flavonoïde de la fraction BUT a révélé une valeur de 180,14 g EAG/mg qui a été supérieur à la fraction ACT avec valeur de 79,17 g EAG/mg. Par contre pour la plante d'*OB* l'extrait (*OBS*) est légèrement plus riche en flavonoïde par rapport à l'extrait (*OBF*) ($48,95 \pm 5,59$ contre $41,87 \pm 12,1$) ces résultats sont corroborés à ceux de

Messai et Haddada., (2022) qui ont montré une teneur de ($46,084 \pm 0,05$) de l'extrait hydro-alcoolique qui est supérieur à la teneur de l'extrait aqueux ($41,787 \pm 0,01$) En comparant les deux plantes, on peut constater que *MV* possède des teneurs en flavonoïde supérieur à ceux de d'*OB*, ces résultats ne sont pas en corrélation avec ceux des polyphénols ces variations des teneurs en composés phénoliques et flavonoïdes entre espèce du même genre sont liée à plusieurs facteurs tels que les facteurs environnementaux, biogénique stade de maturation ou période de stockage (**Nicolétti et al., 2015**).

VI.4. Evaluation du l'activité antioxydante

VI.4.1. Test DPPH

Dans cette étude, nous avons évalué à l'aide d'un lecteur de microplaque l'activité anti-radicalaire des quatre extraits, en mesurant leurs concentrations inhibitrices à 50% (IC50). nous avons utilisé la capacité de ces extraits à réduire le radical DPPH, par rapport à des antioxydants standards trolox et l'acide ascorbic, plus la valeur IC50 est faible, plus l'activité antioxydante est élevée (Jadid *et al.*, 2017). En suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune (figure 22).

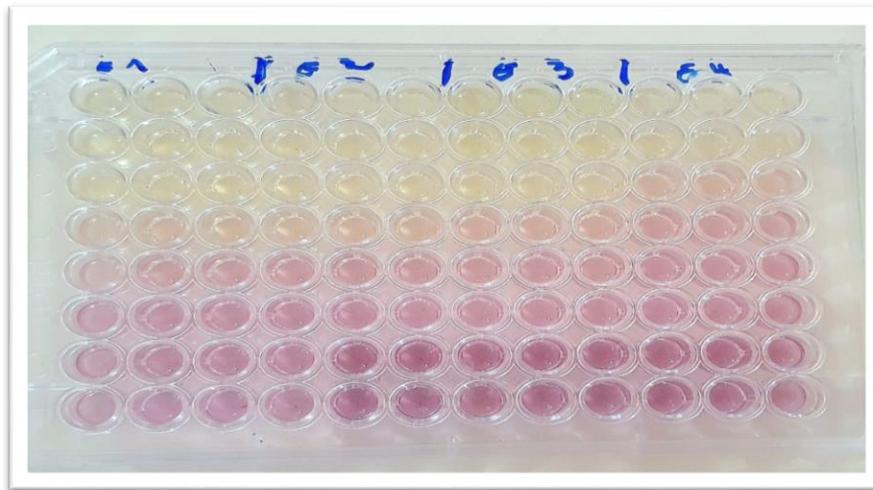


Figure 22 : La plaque de dosage de l'activité anti-radicalaire (DPPH) des extraits étudiés

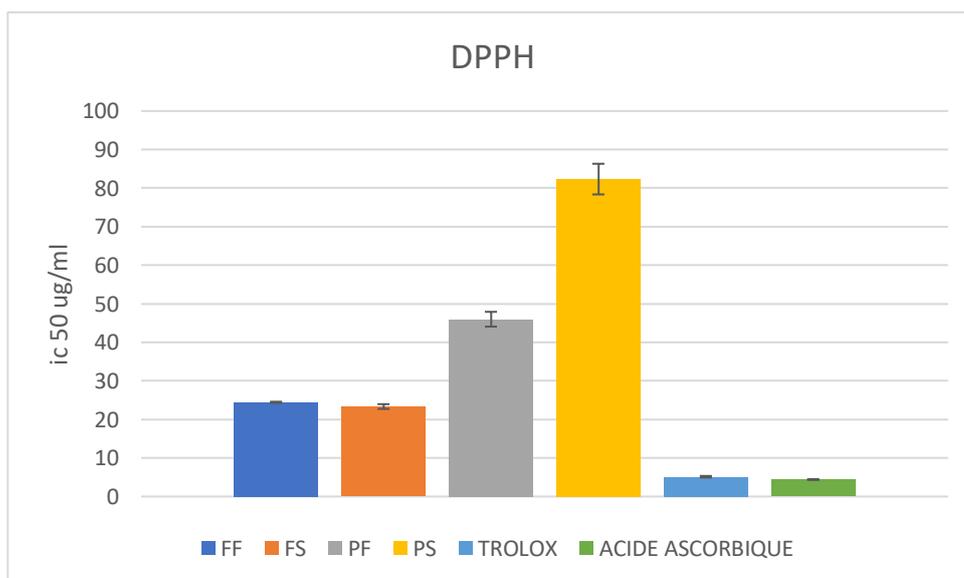


Figure 23 : Histogramme des taux d'inhibition du radical DPPH par les extraits d'*OB* et *MV*

D'après les résultats obtenus (**figure 23**), on constate que les deux plantes possèdent une faible activité anti-radicalaire dont les plus élevées sont celles de *MV* avec des valeurs identiques ($MVF= 24,44 \pm 0,15$ / $MVS=23,34 \pm 0,62$), les travaux de **Nawel et al, 2013** ont montré que les deux fractions butanolique et act des feuilles de *Marrubium vulgare* sont actives avec une Valeur de IC50 des deux fractions est de 0,13879 ug/ml. Les IC50 de Trolox ($5,12 \pm 0,21$) / ascorbic acid ($4,39 \pm 0,01$) utilisé comme molécule de référence, sont largement inférieures à celles des extraits testés et donc des activités antioxydantes très élevées. Tandis que les 2 extraits d'*OB* ont manifesté une faible activité radicalaire. Nous avons remarqué que pour la Concentration de 200 ug/ml. Les standards ont révélé les pourcentages d'inhibitions de DPPH suivants : pour Trolox ($87,72 \pm 0,47$), Ascorbic acid ($86,36 \pm 0,21$) à la même concentration. Les 4 extraits ont montré des résultats presque similaires ($83,56 \pm 3,19$ / $80,21 \pm 3,14$ / $81,23 \pm 1,03$ / $82,67 \pm 1,54$). Enfin, d'après les résultats, les extraits ne présentent pas des activités antioxydantes importantes par comparaison à ceux des standards.

Plusieurs auteurs ont observé que *Marrubium vulgare* possède une activité antioxydante attribuable à ses composants polyphénoliques, qui jouent un rôle crucial en tant que donateurs d'électrons dotés d'une capacité antioxydante significative.

VI.4.2. Test ABTS+

Selon **Re et al., (1999)**, la méthode de piégeage des radicaux ABTS est une approche optimale pour évaluer l'activité antioxydante totale des extraits de plantes en mesurant leur capacité à inhiber le radical ABTS. L'ajout des extraits ou des molécules de référence telles que le trolox et l'acide ascorbic entraîne une diminution de la couleur de la solution, indiquant ainsi la présence d'une activité antioxydante dans les échantillons. Cette diminution de couleur (**figure 24**) est ensuite mesurée à l'aide d'un lecteur de microplaque à une longueur d'onde de 734 nm.

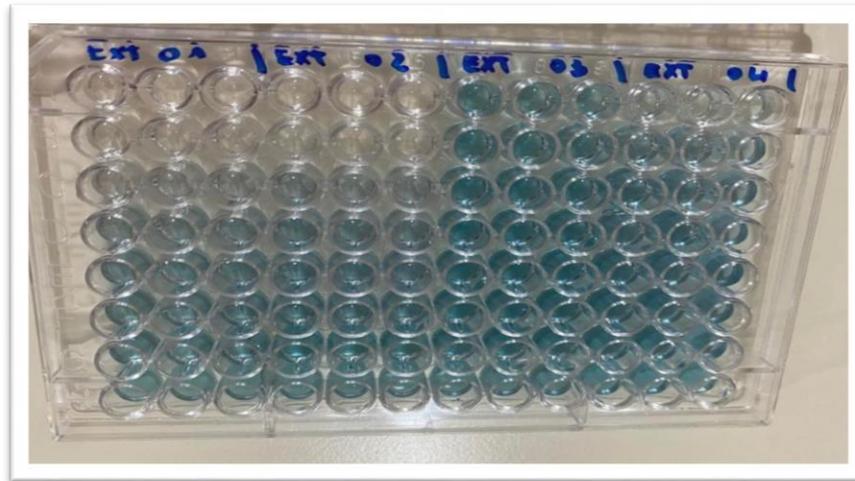


Figure 24 : La plaque de dosage de l’activité du piégeage du cation radical ABTS des extraits (*MV/OB*)

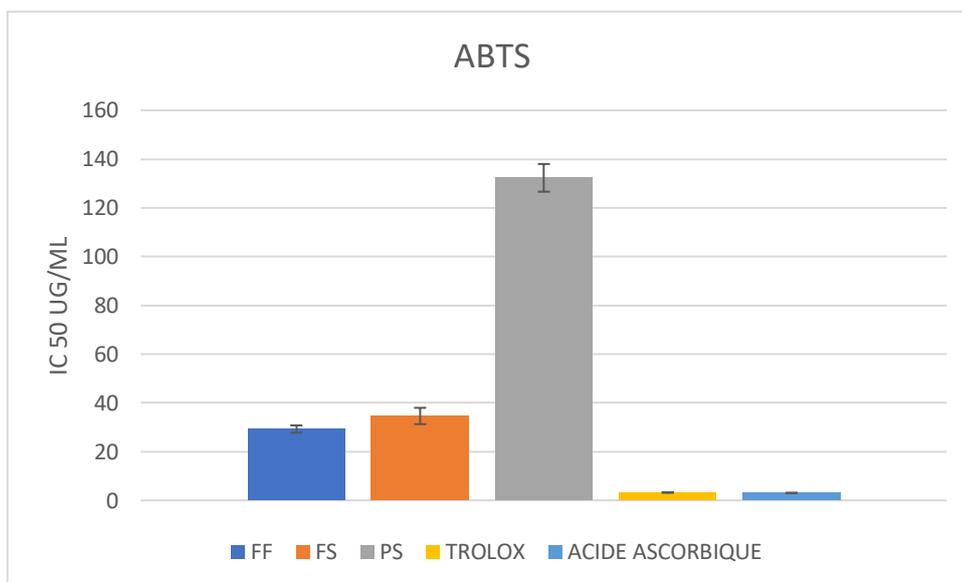


Figure 25 : Histogramme de taux d’inhibition du radical ABTS par les extraits d’*OB* et *MV*

D'après les résultats (**figure 25**) les extraits (FF/FS) ont considérablement réduit le radical ABTS, et leur Valeurs des IC₅₀ sont proches à celle duen revanche les autres extraits (PS /PF) ont Faiblement réduit le radical ABTS . L'extrait (FF) a manifesté un IC₅₀= 29, 27 ±1.49) 9 fois plus faible que LES STANDARDS trolox (3,21±0.06) et d'acide ascorbic (3,04 ± 0.05) est 10 fois plus faible pour (F.S), en comparaison avec l'étude faite par **Messai et Haddada, 2022** les résultats ont montré que l'extrait hydro-alcoolique Possède un pouvoir anti-radicalaire le plus actif (IC₅₀= 4.28±047).

VI.4.3. Test FRAP

Le suivi de cette activité repose sur la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe+3) de couleur jaune en fer ferreux (Fe+2) de couleur bleu verte (figure 26). Cette conversion est mesurée en évaluant les valeurs des A0,50 et en les comparant aux standards tels que l'acide ascorbique et le trolox.

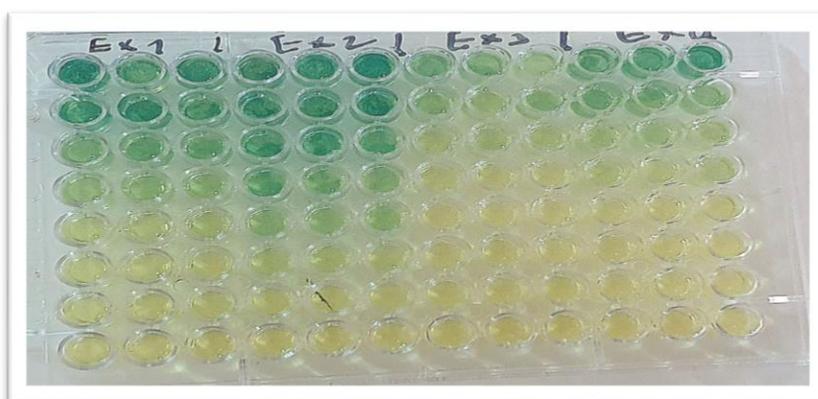


Figure 26 : Plaque de dosage de l'activité de pouvoir réducteur (FRAP) des extraits étudiés

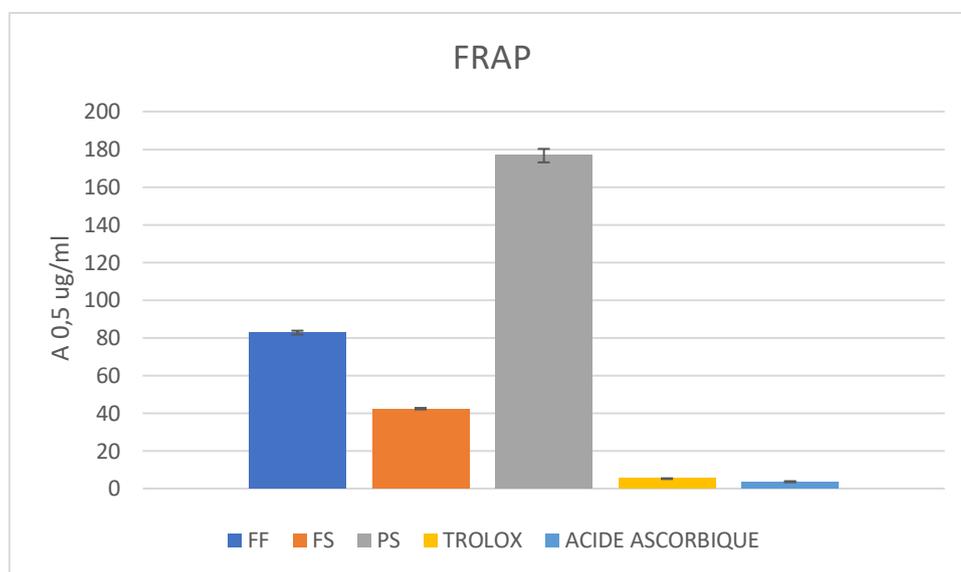


Figure 27 : Histogramme d'absorbance du pouvoir réducteur par les extraits d'OB et MV

L'Histogramme (figure 27) résulte que les extraits des deux plante OB et MV renferment un pouvoir réducteur dont le plus élevé à été prouvé par l'extrait OBS (42,387 ±0.401). En comparaison avec les résultats de Messai et Heddada, (2022) qui montre que le

pouvoir réducteur le plus élevé est enregistré par l'extrait aqueux d'**OB** ($11,61 \pm 0,16$) en revanche les 3 autres extraits présente des valeurs largement supérieur que celle exprimée par Le Trolox ($5,21 \pm 0,27$) et acid ascorbic ($3,08 \pm 0,02$) alors ils sont loin d'être comparé avec eux.

VI.4.4. Test phénantroline

La méthode repose sur la conversion du fer en Fe^{2+} , qui réagit ensuite avec la phénantrolinr pour former un complexe de couleur rouge orangé (**figure 23**) qui est mesurée par spectrophotomètre à 510 nm, les résultats obtenus à partir des extraits ainsi que des standards Trolox et l'acide ascorbique sont presents dans la figure ci-dessous



Figure 28 : La plaque de dosage de l'activité de réduction par la formation du complexe Fe^{2+} - phénantroline par les extraits d'**OB** et **MV**

Le résultats (**figure 29**) montre que la concentration des quatre extraits des plantes A0,5 est supérieure à $200 \mu\text{g/ml}$. Cette valeur indique la capacité des extraits de plante à réduire les ions fer (Fe^{2+}) en formant un complexe avec la phénanthroline. Comparativement, les résultats des standards Trolox et l'acide ascorbique ont été obtenus avec des valeurs de $5,21 \pm 0,27$ et $3,08 \pm 0,02$ respectivement. Ces valeurs représentent la capacité antioxydante connue de ces substances et servent de référence pour évaluer l'activité antioxydante des extraits de plante. Dans ce cas, les quatres extraits des plantes semble présenter une activité antioxydante supérieure à celle du Trolox et de l'acide ascorbique, comme le montre la valeur $A0,5 > 200 \mu\text{g/ml}$.

VI.5. Evaluation de l'activité enzymatique

VI.5.1. Activité inhibitrice de l'alpha-amylase

Ce test est basé sur l'activité inhibitrice de l'enzyme alpha-amylase par la détermination des concentrations inhibitrices CI_{50} par rapport au standard l'acarbose en se basant sur la capacité d'une substance à inhiber cette enzyme, ce qui a permis d'obtenir les résultats suivants (**figure 30**) :



Figure 29 : La plaque de dosage de l'activité inhibitrice de l'alpha amylase

On a réalisé des tests d'activité inhibitrice de l'alpha-amylase sur différents extraits (MVS /MVF, OBS/OBF) des deux plantes ainsi que sur l'acarbose. Les résultats (**figure 31**) indiquent que les extraits testés ont tous une IC_{50} supérieure à 400 $\mu\text{g/ml}$, ce qui signifie qu'ils n'ont une activité inhibitrice de l'alpha-amylase.

En revanche, l'acarbose a montré une IC_{50} de $3650,93 \pm 10,70 \mu\text{g/ml}$. L'acarbose est un Médicament utilisé pour traiter le diabète de type 2. Il fonctionne en inhibant l'alpha-amylase, une enzyme qui décompose les glucides complexes en sucres simples. En inhibant cette enzyme, l'acarbose retarde l'absorption des glucides dans l'intestin, ce qui aide à contrôler la glycémie chez les personnes atteintes de diabète. Il semble que l'acarbose soit plus efficace que les extraits testés dans cette étude, car sa valeur d' IC_{50} est plus faible.

Par ailleurs, une étude de **Bouasla et Rebaia , 2018** sur les extraits des deux plantes de *Lavandula multifida* (une espèce de la famille des Lamiaceae) récoltée de deux régions a donné que l'activité inhibitrice d'alpha amylase à été enregistrée uniquement au niveau de l'extrait hydrométhanolique avec une ($CI_{50}=64,17 \pm 1,81 \mu\text{g/ml}$). Cette activité est cinquante-six fois supérieure à celle du standard l'acarbose ($CI_{50}=3650,93 \pm 10,70 \mu\text{g/ml}$), de plus une étude sur l'extrait aqueux d'*Ocimum basilicum* de l'Arabie Saoudite a montré une activité inhibitrice d'alpha-amylase égale à 42,50 mg/ml (**El-Beshbishy et Bahashwan, 2012**).

VI.6. Evaluation de l'activité anti-inflammatoires

VI.6.1. Innocuité des extraits vis-à-vis de la cellule érythrocytaire

Afin d'étudier l'activité anti-hémolytique, il était essentiel d'évaluer également l'innocuité des extraits vis-à-vis des cellules érythrocytaires. Cette évaluation permet de déterminer les concentrations appropriées à utiliser. Les taux d'hémolyse ont été mesurés en incubant les érythrocytes avec les quatre extraits des plantes. Un témoin positif (érythrocytes avec de l'eau distillée) et un témoin négatif (érythrocytes avec un tampon phosphate salin) ont été utilisés comme références pour calculer les taux d'hémolyse obtenus. Les résultats présentés dans la figure suivante (**figure 31**) :

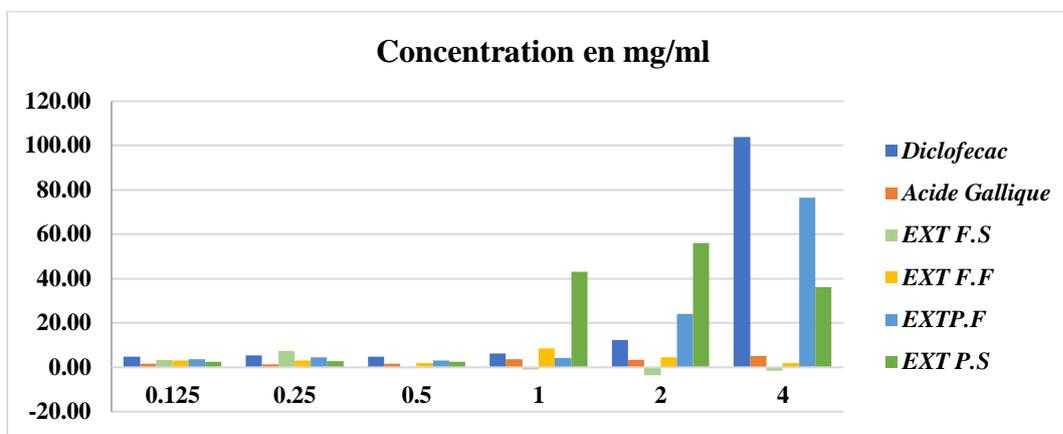


Figure 30 : Histogramme présente l'innocuité des extraits vis-à-vis de la cellule érythrocytes

D'après les résultats, il est observé que le diclofenac présente une activité hémolytique significativement plus élevée que l'acide gallique, jusqu'à un effet maximale de 103.99% à une concentration de 4mg/ml. De plus les résultats que nous avons obtenus montrent que l'*OB* présente une faible activité hémolytique qui n'a pas dépassée 7.48% pour l'extrait FS et une activité hémolytique modéré qui n'a pas dépassée 8.64% à des concentration variante de 0.125 à 4mg/ml. Il a également été observé un taux d'hémolyse faible dans des concentration allons de 0.125 à 1 pour l'extrait *MVF*, et de 0.125 à 0.5 pour l'extrait *MVS*, mais un taux très élevé dans les autres concentrations jusqu'à un effet maximale de 76.53% de l'extrait *MVF*. Ses résultats sont en accord avec les travaux de **Belalitet et al., (2019)** qui ont révélé que la plante *M.vulgare* possède une activité anti-hémolytique efficace.

VI.6.2. Effet protecteur des extraits vis-à-vis d'un stress osmotique associé à un stress thermique

Afin d'évaluer l'effet anti-inflammatoire in vitro des quatre extraits des plantes (MVS/ MVF / OBS / OBF) ,un test a été employée pour mesurer leur effet anti-hémolytique. Ce test implique la stabilisation des membranes des globules rouges pour éviter leur hémolyse, qui est provoquée par une solution hypotonique et la chaleur. Lorsque les membranes des globules rouges sont désorganisées, l'hémoglobine est libérée, ce qui colore le surnageant en rouge, proportionnellement au degré d'hémolyse. Les résultats présentent l'effet protecteur des extraits contre l'hémolyse induite par la solution hypotonique et la chaleur. L'acide gallique est utilisé comme molécule de référence pour le traitement anti-inflammatoire.

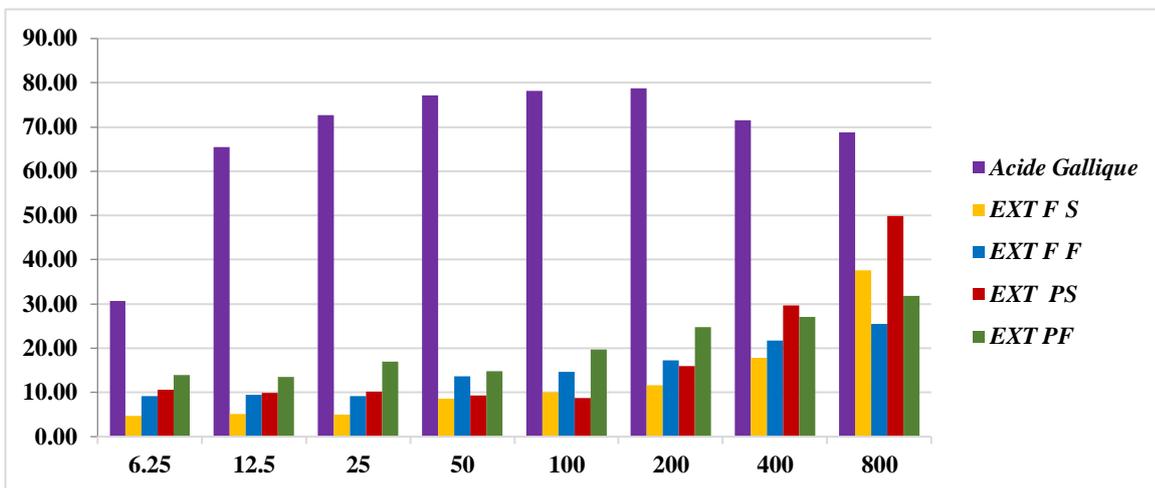


Figure 31: Histogramme represente Effet protecteur des extraits vis-à-vis d'un stress osmotique associé à un stress thermique

Les résultats obtenus (**figure 31**) indiquent que l'acide gallique exerce un effet protecteur dont l'intensité augmente graduellement avec la concentration, jusqu'à un effet maximal de 78,47 % à une concentration de 200µg/ml. Cependant cet effet protecteur a commencé à diminuer légèrement à partir de 400µg/ml. Par conséquent, l'effet de l'acide gallique contre l'hémolyse est particulièrement significatif à faible concentrations. De plus, l'extrait OBS et MVS ont montré des activités maximales de 49,93% et de 37,63% respectivement, à une concentration de 800 µg/ml, tandis que l'extrait OBF et MVF ont montré des activités de 25,43% et de 31,87% respectivement.

Pour l'extrait OBS, l'augmentation progressive des valeurs avec l'accroissement des concentrations suggère un effet protecteur potentiel contre le stress osmotique et thermique.

L'extrait OBF montre également une amélioration significative des valeurs avec les concentrations croissantes, indiquant un effet protecteur potentiel.

Cependant, l'extrait MVS présente une diminution de son effet protecteur en augmentant les concentrations, peut-être dû à l'effet protecteur limité contre le stress osmotique et thermique.

L'extrait MVF a augmenté progressivement jusqu'à la concentration de 100 µg/ml, au-delà, cet effet protecteur a diminué légèrement. Cela suggère une possible limite de l'effet protecteur à des concentrations plus élevées.

L'analyse de ces résultats indique que la plante de *M. vulgare* présente un effet anti-hémolytique supérieur à celui d'*O. basilicum*.

Des études faites par **Bouchehou Rania & Bouziaia Wiame.,(2022)** sur une espèce de la famille des lamiacées montre que tous les extraits (microonde, reflux, ultrason) montrent une activité protectrice très importante et supérieure à celle du standard utilisé à faibles concentrations. L'extrait micro-onde a présenté un effet très important $94.47\% \pm 0.07$ en comparant avec les autres extraits (reflux $94.21\% \pm 0.33$; ultrason $93.99\% \pm 0.26$).

VI.7. Evaluation de l'activité antibactérienne

Le diamètre de la zone inhibitrice varie d'une bactérie à l'autre ainsi que d'un extrait à l'autre. **Ponce et al., (2003)** fournissent l'échelle d'estimation de l'activité antibactérienne. Le diamètre des zones inhibant la croissance bactérienne a été catégorisé comme suit :

souche non sensible (-): $D \leq 8$ mm

souche sensible (+): $9 < D \leq 14$ mm

souche très sensible (++): $15 < D < 19$ mm

souche extrêmement sensible (+++): $D > 20$ mm

Les résultats obtenus sont résumés sous forme des tableaux suivants (**tableau 5**) (**tableau 6**) (**tableau 7**)

Tableau 5 : Effet inhibiteur des extraits d'*Ocimum basilicum* et *Marrubium vulgare* contre la culture de *Pseudomonas aeruginosa*

<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027			
Les extraits	Concentration (mg/ml)	Apparition de la zone d'inhibition	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)
<i>Ocimum basilicum</i> frais (OBF)	0.5	+	12.5
	1	+	12
	1.5	+	14.5
	2	+	12.5
<i>Ocimum basilicum</i> secs (OBS)	0.5	-	7
	1	-	7
	1.5	-	7
	2	-	7
<i>Marrubium vulgare</i> frais (MVF)	0.5	-	7
	1	-	7
	1.5	-	7
	2	-	7
<i>Marrubium vulgare</i> secs (MVS)	0.5	+	10
	1	+	11
	1.5	+	10.5
	2	+	12

Tableau 6 : Effet inhibiteur des extraits d'*Ocimum basilicum* et *Marrubium vulgare* contre la culture de *Staphylococcus aureus*

<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 5538			
Les extraits	Concentration (mg/ml)	Apparition de la zone d'inhibition	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)
<i>Ocimum basilicum</i> frais (OBF)	0.5	++	17
	1	++	16.5
	1.5	+	11.5
	2	-	7
<i>Ocimum basilicum</i> secs (OBS)	0.5	+	13.5
	1	+	11.5
	1.5	+	11
	2	+	14
<i>Marrubium vulgare</i> frais (MVF)	0.5	+	9
	1	++	17
	1.5	++	16
	2	+	14
<i>Marrubium vulgare</i> secs (MVS)	0.5	-	8
	1	+	9.5
	1.5	+	9.5
	2	+	9

Tableau 7: Effet inhibiteur des extraits d'*Ocimum basilicum* et *Marrubium vulgare* contre la culture *Escherichia coli*

<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739			
Les extraits	Concentration (mg/ml)	Apparition de la zone d'inhibition	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)
<i>Ocimum basilicum</i> frais (OBF)	0.5	+	9.5
	1	+	9
	1.5	+	10
	2	++	17
<i>Ocimum basilicum secs</i> (OBS)	0.5	+	12.5
	1	+	9
	1.5	+	10.5
	2	+	13
<i>Marrubium vulgare</i> frais (MVF)	0.5	+	10
	1	++	15.5
	1.5	+	9
	2	+++	20
<i>Marrubium vulgare secs</i> (MVS)	0.5	+	13
	1	-	7
	1.5	-	7
	2	+	10.5

➤ **Pouvoir antibactérien vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa***

l'activité des divers extraits est variable (figure 31). *Ocimum Basilicum frais (OBF)* à une activité moyenne vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa* dont les diamètres moyens varient entre 12.5mm et 14.5mm à différentes concentrations. Alors que la plante séchée (*MVS*) ne réagit pas de la même façon que la plante fraîche (*MVF*), cela n'a aucun effet sur la croissance de la souche pour *Marrubium vulgare*, dans le cas de la plante fraîche, les résultats montrent l'absence d'activité de la plante contre la souche utilisée. D'autre part, la plante sèche a montré une activité variée de moyennes de 10mm et 12mm. la souche microbienne est sensible à celle-ci.

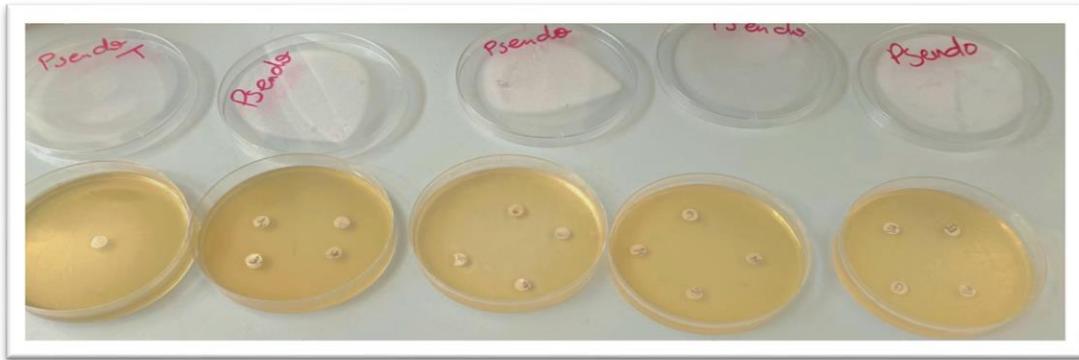


Figure 32: Résultats de test antibactérien vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa*

➤ **Pouvoir antibactérien vis-à-vis *Staphylococcus aureus***

Les quatre extraits ont montré un large spectre d'action sur *Staphylococcus aureus* (**figure 32**). Pour l'*Ocimum basilicum*, le diamètre des plus grandes zones d'inhibition est observé sur les extraits frais de moyennes de 17 mm. Pour le *Marrubium vulgare*, il réagit de la même manière qu'*Ocimum Basilicum*. le diamètre des zones d'inhibition les plus importantes est observé sur l'*OBF* de moyennes de 17 mm.

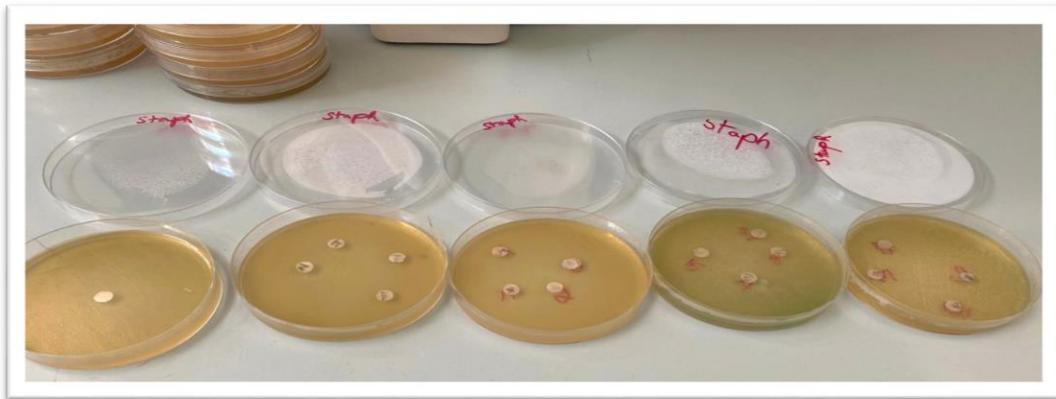


Figure 33 : Résultats de test antibactérien vis-à-vis *Staphylococcus aureus*

➤ **Pouvoir antibactérien vis-à-vis *Escherichia coli***

Les quatre extraits ont un impact important sur la souche d'*Escherichia coli* testée (**figure 33**), expressément pour les extraits frais. l'*OBF* agit bien sur la bactérie, il a démontré une action développée de diamètre 17 mm. alors que le *Marrubium vulgare frais* (*MVF*) Présente une activité antibactérienne hautement développée, une zone d'inhibition de 20 mm de diamètre a été observée. la souche est extrêmement sensible pour la plante.

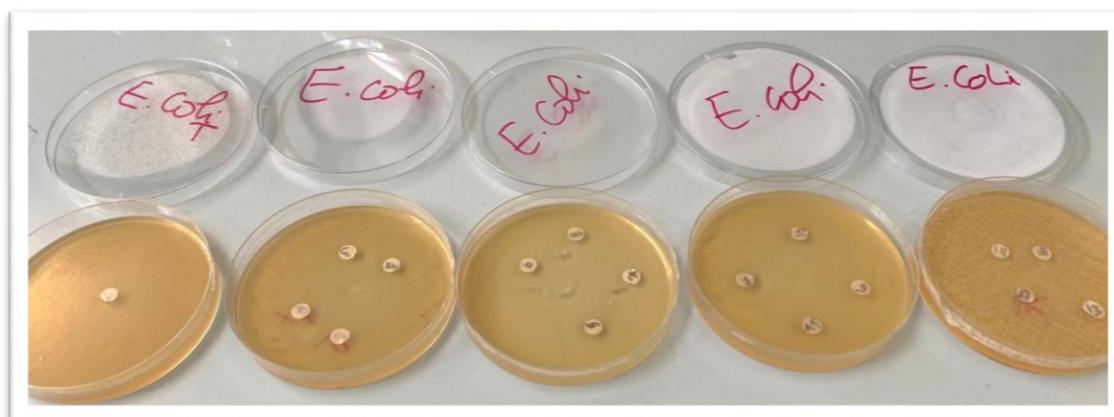


Figure 34 : Résultats de test antibactérien vis-à-vis Escherichia coli

VI.8. Evaluation de l'activité antifongique

Après 48 heures d'incubation à 30 °C, nous faisons une comparaison avec le témoin. Nos résultats sont présentés dans les (tableau 8) (tableau 9).

Tableau 8 : inhibiteur des extraits d'*Ocimum basilicum* et *Marrubium vulgare* sur la culture de *Candida albicans*

<i>Candida albicans</i>			
Les extraits	Concentration (mg/ml)	Apparition de la zone d'inhibition	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)
<i>Ocimum basilicum</i> frais (OBF)	0.5	++	15.5
	1	++	16.5
	1.5	+	13.5
	2	++	15
<i>Ocimum basilicum</i> secs (OBS)	0.5	++	17.5
	1	+	11.5
	1.5	+	11
	2	++	17.5
<i>Marrubium vulgare</i> frais (MVF)	0.5	-	7
	1	-	7
	1.5	-	7
	2	-	7
<i>Marrubium vulgare</i> secs (MVS)	0.5	+	12.5
	1	+++	21.5
	1.5	-	7
	2	++	15

Tableau 9 : Effet inhibiteur des extraits d'*Ocimum basilicum* et *Marrubium vulgare* sur la culture de *Aspergillus niger*

<i>Aspergillus niger</i>			
Les extraits	Concentration (mg/ml)	Apparition de la zone d'inhibition	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)
<i>Ocimum basilicum</i> frais (OBF)	0.5	–	7
	1	–	8
	1.5	–	8
	2	–	7
<i>Ocimum basilicum</i> secs (OBS)	0.5	–	7
	1	–	7
	1.5	–	7
	2	–	7
<i>Marrubium vulgare</i> frais (MVF)	0.5	+	9
	1	–	8
	1.5	–	7
	2	–	7
<i>Marrubium vulgare</i> secs (MVS)	0.5	–	7
	1	–	7
	1.5	–	7
	2	–	7

➤ **Pouvoir antifongiques vis-à-vis *Candida albicans***

Les résultats (figure 34) montre que le **OBF** et séché a montré un fort effet antifongique contre *Candida* avec une large zone d'inhibition d'un diamètre de 17,5 mm. D'autre part le *Marrubium vulgare* était très actifs contre la souche just avec l'extraits **MVS** qui a marqué une zone d'inhibition de 21.5 mm à la différence de l'extrait frais qui marquait des zones inhibitrices de 7 mm.

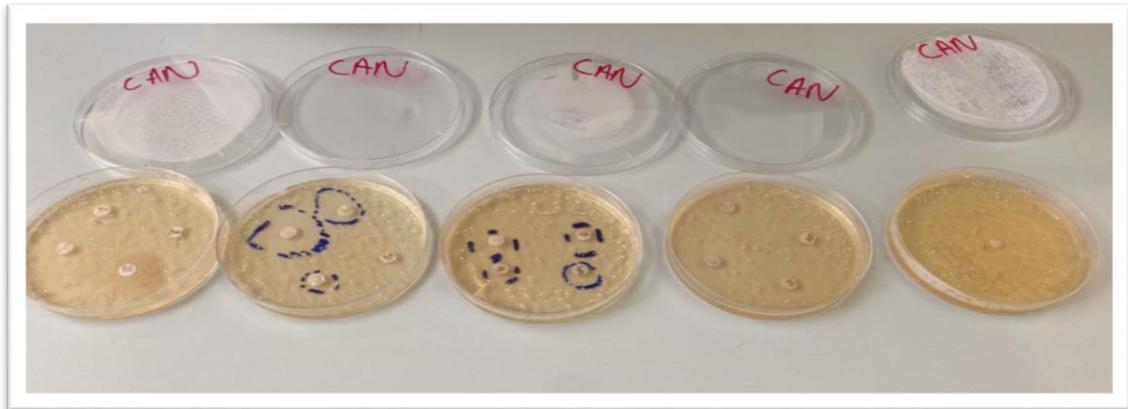


Figure 35 : Résultats de test antifongique vis-à-vis *Candida albicans*

➤ **Pouvoir antifongiques vis-à-vis *Aspergillus niger***

L'*Aspergillus* ne présente aucune sensibilité pour les quatre extraits (**figure 35**). Dans le *Marrubium vulgare* frais, seule une activité antifongique significative a été observée à de très faibles concentrations avec un diamètre de zoned'inhibition de 21.5 mm à la différence de l'extrait frais qui marquait des zones inhibitrices de 7 mm.

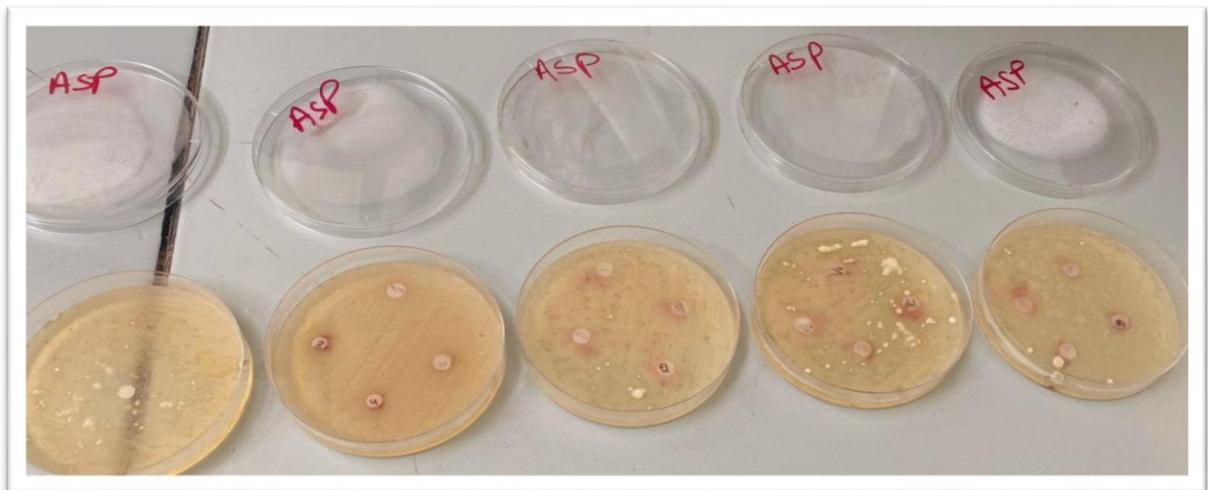


Figure 36 : Résultats de test antifongique vis-à-vis *Aspergillus niger*

VI.8. Discussion des résultats de l'activité antibactérien et antifongiques

➤ *Ocimum basilicum*

Nos résultats d'*Ocimum basilicum* ont été comparé avec ceux de l'étude de **TLILI et BENTAYEB, 2017** qui a mentionné l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*O. basilicum* L. sur les trois souches de bactéries (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923), Les résultats indiquent une activité antibactérienne significative contre deux souches bactériennes, à l'exception de *Pseudomonas*.

Une autre étude menée par **Moghaddam et al., 2011** traite des propriétés antibactériennes de l'huile essentielle de basilic ont été étudiées sur les bactéries gram-négatives standards dont *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, et les bactéries gram-positives dont *Staphylococcus aureus* par méthode de diffusion sur disque Les résultats ont montré les zones d'inhibition comme suit : *S. aureus* 29,20-30,56 mm, *E. coli* 17,48-23,58 mm et pour *P. aeruginosa* les zones d'inhibition maximales ont été observées.

Duraipandiyam et Ignachimuthu, 2011 découverts que les extraits de méthanol *Ocimum basilicum* n'étaient pas efficaces contre *Aspergillus Niger* lors d'un test de diffusion de puits.

Ahmet et al, 2005 ont déterminé que les extraits méthanoliques d'*Ocimum basilicum* agissant contre *Candida albicans*

➤ *Marrubium vulgare*

L'étude de **Zouaoui et Sadallah, (2020)** l'activité antibactérienne a été étudiée vis-à-vis des souches du : *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, et *Staphylococcus aureus* qui se sont révélées sensibles à l'extrait à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* qui s'est montrée plus résistante. L'étude de **Hamadeche, 2011** sur le Marrube blanc avec les mêmes souches qui on a choisis est également signalé que Les souches bactériennes à Gram positif sont plus sensibles aux extraits comparativement à celles à Gram négatif.

Une étude de **Bouterfas et al., (2016)** sur l'activité antifongique des flavonoïdes extraits des feuilles de *Marrubium vulgare* vis-à-vis de deux souches fongiques ; *Aspergillus niger* ATCC 16404 et *Candida albicans* ATCC 102311. Les résultats ont montré que il y a une activité antifongique contre *Candida albicans*. De nombreux facteurs peuvent expliquer la variation des résultats de l'inhibition de la croissance des souches tels que les méthodes d'extraction, la

concentration des extraits brut , la fraction utilisée, la composition du contenu de la plante, les variations saisonnières ainsi que l'origine géographique de la plante (**Ahmed et al., 2016**)



Conclusion

Conclusion

Cette étude a abouti à connaître les activités biologiques de deux espèces végétales, *Ocimum basilicum* (basilic) et *Marrube vulgare*, récoltées d'El Harrouche, Skikda. Elle a fourni des résultats significatifs qui contribuent à une meilleure compréhension de leurs propriétés médicinales et de leur potentiel d'application dans divers domaines.

D'après les résultats, les deux plantes sont riches en polyphénols et en flavonoïdes, les polyphénols sont plus importants dans les fruits secs d'*Ocimum basilicum* par rapport aux autres extraits avec un taux plus élevé ($327,52 \pm 10,61 \mu\text{g/ml}$). La plante sèche (*Marrube vulgare*) a présenté le taux le plus élevé en flavonoïdes totaux ($90,55 \pm 6,29 \mu\text{g/ml}$) et une activité anti-radicalaire élevée avec $\text{IC}_{50} = 23,34 \pm 0,62 \mu\text{g/ml}$ par rapport aux autres extraits et au standards Trolox ($5.12 \pm 0.21 \mu\text{g/ml}$), et l'acide ascorbique ($4.39 \pm 0.01 \mu\text{g/ml}$).

Relativement pour le test ABTS, on a révélé que les fruits frais d'*Ocimum basilicum* possèdent un pouvoir anti-radicalaire le plus actif avec une valeur d' IC_{50} de $29,27 \pm 1,49 \mu\text{g/ml}$. Contrairement aux feuilles sèches et fraîches de *Marrube vulgare* qui ont montré un très faible pouvoir anti-radicalaire.

L'activité antioxydante évaluée par la technique de réduction du fer FRAP a montré que la capacité réductrice des fruits sèches d'*Ocimum basilicum* ($42,38 \pm 0,40 \mu\text{g/ml}$) est la plus élevée. En ce qui concerne la réduction par la formation du complexe Fe^{2+} phénantroline, les valeurs obtenues d' $\text{A}_{0.5}$ étaient supérieures à $200 \mu\text{g/ml}$ chez les deux plantes. Aussi, aucune activité enzymatique n'a été enregistré et donc aucun effet d'activité inhibitrice de l'alpha-amylase.

Le criblage de l'activité antimicrobienne réalisé par la méthode de diffusion des disques sur trois souches bactériennes : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et deux souches fongiques à savoir *Candida albicans* et *Aspergillus niger*. Le profil d'inhibition contre ces différentes souches a révélé une activité sur *Candida albicans* par trois extraits des plantes à l'exception de la plante fraîche (*Marrube vulgare*), est aucune activité sur *Aspergillus niger*. Par contre les deux plantes ont montré une inhibition contre certaines souches bactériennes, notamment *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Conclusion

L'effet anti-inflammatoire in vitro est présenté par le test d'hémolyse des globules rouges et le test de la stabilisation membranaire. Il ressort que les deux plantes ont un effet anti-inflammatoire important.

Cependant, nos résultats actuels représentent seulement un point de départ dans ce domaine de recherche et requièrent des études supplémentaires. Ces études devraient se concentrer sur l'identification des doses efficaces, l'isolement et la caractérisation des composés spécifiques présents dans ces deux plantes, ainsi que l'exploration des mécanismes d'action des extraits. L'objectif principal est d'établir des liens entre les activités pharmacologiques observées et les constituants chimiques contenus dans ces plantes. Il est essentiel de continuer à explorer et à exploiter le potentiel de ces espèces végétales dans le développement de nouvelles thérapies et de produits naturels pour améliorer la santé humaine.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

- A. Beloued.** (1998). Plantes médicinales d'Algérie. Dép De Botanique A L'institut National agronomique d'El-Harrch-Algérie.P:277.
- Abd-Ellatif, S., Abdel Rahman, S. M., & Deraz, S. F.** (2011). Promising antifungal effect of some folkloric medicinal plants collected from El-Hammam habitat, Egypt against dangerous pathogenic and toxinogenic fungi. *ARP Journal of Agricultural and Biological Science*, 6(9), 26-32.
- Adigüzel, A., Güllüce, M., Şengül, M., Öğütçü, H., Şahin, F., & Karaman, İ.** (2005). Antimicrobial effects of *Ocimum basilicum* (Labiatae) extract. *Turkish Journal of Biology*, 29(3), 155-160.
- Ahmed, S., Yousaf, M., Mothana, R. A., & Al-Rehaily, A. J.** (2016). Studies on wound healing activity of some Euphorbia species on experimental rats. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 13(5), 145-152.
- Aït Youssef, M.** (2006). Plantes médicinales de Kabylie. *Éditions Ibispress, Paris, France*.
- Amina BOUASLA, Imane REBAIA, Nabila SOUILAH, Mohamed Djamel MIARA.** (2022). Total phenolic contents, in vitro antioxidant activity, enzymes inhibition and antiinflammatory effect of the selective extracts from the Algerian *Lavandula multifida*, *Acta Pharm. Sci.* Vol 60:(1).
- Aniszewski, T.** (2007). *Alkaloids-Secrets of Life:: Alkaloid Chemistry, Biological Significance, Applications and Ecological Role*. Ed : Elsevier.
- Arabaci, O., & Bayram, E.** (2004). The effect of nitrogen fertilization and different plant densities on some agronomic and technologic characteristic of *Ocimum basilicum* L.(Basil). *Journal of Agronomy*, 3(4),255-262
- Arnal-Schnebel B.** (2004). La place de la phytothérapie dans l'arsenal des traitements mis en œuvre par les médecins généralistes. Ed : Pierre Fabre. Paris.

Références bibliographiques

- Assila** , I . Ghougui, L . Rouaa , M. (2022). Évaluation de l'activité anti-inflammatoire et antioxydante des plantes *Paronychia argentea* et *Urtica dioica* L. Mémoire de Master. Département de Biologie Animal .Université Frères Mentouri Constantine 1.
- Badot**, P. M., and D. Melin. (1984). Métabolisme énergétique et mouvement révolutif chez le haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) : 7-12.
- Balouiri**, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of pharmaceutical analysis*, 6(2), 71-79.
- Bauwens**, P. (2008). *Le basilic: botanique, culture & gastronomie*. Ed : Édisud.
- Bellakhdar** J., (1997). Médecine Arabe Ancienne et Savoirs Populaires La pharmacopée marocaine traditionnelle. IBS Press. pp. 340-341.
- Bellalit**, H . Mayouf, Z. (2019). Etude de l'activité anti-radicalaire et antihémolytique en présence de glucose de *Marrubium vulgare* et *Laurus nobilis*. Mémoire de Master. En Spécialité de Biochimie. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.
- Benlarbi**, F. (2004). Caractérisation des lipides et des phénols de quelques groupes d'oliviers d'Algérie (Doctorat en Science biologique , Laghouat, Centre Universitaire Amar Telidji.
- Bennadja**, S., Kaki, Y. T. A., Djahoudi, A., Hadeif, Y., & Chefrour, A. (2013). Antibiotic activity of the essential oil of laurel (*Laurus nobilis* L.) on eight bacterial strains. *Journal of Life Sciences*, 7(8), 814-819;
- Blois**, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200
- Bonnier**, G. (1909). La Végétation de la France, Flore Complète. *Tome*, 9, 25-26.
- Bouchehou**,R.,Bouzaiai,W.(2022).Optimisation de l'extraction des composés phénoliques d'une espèce de la famille des Lamiacées et évaluation pharmacologique. Mémoire de Master en Chimie Pharmaceutique. Université Mohamed Seddik Ben Yahia – Jijel

Références bibliographiques

- Boudjelal, A.** (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 (Doctorat en Biochimie Appliquée, Université de Annaba-Badji Mokhtar).
- Bouguerne, B.** (2012). *Conception et synthèse de dérivés phénoliques hautement fonctionnalisés et études de leurs propriétés biologiques vis-à-vis des maladies cardiovasculaires (athérosclérose)* (Doctoral dissertation, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier).
- Bouterfas, K., Mehdadi, Z., Aouad, L., Elaoufi, M. M., Khaled, M. B., Latreche, A., & Benchiha, W.** (2016). La localité d'échantillonnage influence-t-elle l'activité antifongique des flavonoïdes de *Marrubium vulgare* vis-à-vis de *Aspergillus niger* et *Candida albicans*?. *Journal de Mycologie Médicale*, 26(3), 201-211.
- Bouterfas, K., Mehdadi, Z., Latrèche, A., & Cherifi, K.** (2013). Autoécologie du Marrube blanc (*Marrubium vulgare* L.) et caractérisation de la biodiversité végétale dans le Djebel de Tessala (Algérie nord-occidentale). *ecologia mediterranea*, 39(2), 39-57.
- Bozin B., Mimica-Dukic N., Bogavac M., Suvajdzic L., Simin N., Samojlik I., Couladis M.** (2008). Chemical composition, antioxidant and antibacterial properties of *Achillea collina* Becker ex Heimerl sl and *A. pannonica* Scheele essential oils. *Molecules*. 13(9), 2058-2068.
- Bruneton, J.** (1999). *Pharmacognosie: Phytochimie, Plantes médicinales*. Ed : Technique & Documentation, Paris, 721-741.
- Bruneton, J., & Barton, D. H. R.** (1987). *Eléments de Phytochimie et de Pharmacognosie*. Ed : Technique et documentation.
- Bruneton.,**1993. *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales*. 2ème édition. Lavoisier Technique & Documentation. Paris, 278-279 pp
- Buronzio, A.** (2008). *Grand guide des huiles essentielles*. Hachette Pratique.

Références bibliographiques

- Chenni, M.** (2016). Etude comparative de la composition chimique et de l'activité biologique de l'huile essentielle des feuilles du basilic *Ocimum basilicum* L extraite par hydro-distillation et par micro-ondes. Thèse de doctorat en chimie, Université Ahmed Ben Bella-Oran, 1.
- Chung, Y. C., Chang, C. T., Chao, W. W., Lin, C. F., et Chou, S. T.** (2002). Antioxidative activity and safety of the 50 ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMRNK1. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(8), 2454-2458.
- Conde, E., Cara, C., Moure, A., Ruiz, E., Castro, E., & Domínguez, H.** (2009). Antioxidant activity of the phenolic compounds released by hydrothermal treatments of olive tree pruning. *Food Chemistry*, 114(3), 806-812.
- Derwich, Elhoussine., Benziane, Zineb., Chabir, Rachida., & Taouil, Rachid.** (2011). In vitro antibacterial activity and GC/MS analysis of the essential oil extract of leaves of *Rosmarinus officinalis* grown in Morocco. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(3), 89-95.
- Djahira A B.** 2014 Etude photochimique et activité antimicrobienne, antioxydant, anti hépatotoxique du marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L. thèse : Doctorat en Biologie Végétale : Université Badji Mokhtar, Annaba
- Doat, J.** (1978). Les tanins dans les bois tropicaux. *BOIS & FORETS DES TROPIQUES*, 182, 37-54.
- Duraipandiyan V, Ignacimuthu S.** (2011). Antifungal activity of traditional medicinal plants from Tamil Nadu, India. *Asian Pac J Trop Biomed* ; 1(2): 204-215.
- El-Beshbishy H.A. and Bahashwan S.A.** (2012). Hypoglycemic effect of basil (*Ocimum basilicum*) aqueous extract is mediated through inhibition of α -glucosidase and α -amylase activities: An in vitro study. *Toxicology and Industrial Health*; 28(1): 42-50.

Références bibliographiques

- Fadel, H., Benayache, F., & Benayache, S.** (2016). Antioxidant properties of four Algerian medicinal and aromatic plants *Juniperus oxycedrus* L., *Juniperus phoenicea*., *Marrubium vulgare* L. and *Cedrus atlantica* (Manetti ex Endl). *Der Pharmacia Lettre*, 8(3), 72.
- Fayle, S. E., Gerrard, J. A., Simmons, L., Meade, S. J., Reid, E. A., & Johnston, A. C.** (2000). Crosslinkage of proteins by dehydroascorbic acid and its degradation products. *Food Chemistry*, 70(2), 193-198.
- Flieger, J., Flieger, W., Baj, J., & Maciejewski, R.** (2021). Antioxidants: Classification, natural sources, activity/capacity measurements, and usefulness for the synthesis of nanoparticles. *Materials*, 14(15), 4135.
- Fontanay, S., Mougnot, M. E., & Duval, R. E.** (2015). Évaluation des activités antibactériennes des huiles essentielles et/ou de leurs composants majoritaires. *Hegel*, (2).P: 109-118.
- Ganesh, G., Maru, S., et Sarada, N. C.** (2013). Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of the Methanolic Leaf Extract of Traditionally Used Medicinal Plant *Mimusops elengi* L. *Journal of pharmaceutical sciences and research*, 5:6, 125-130.
- Ghedira, K.** (2005). Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3(4), 162-169.
- Ghosh, D.** (2016). Seed to patient in clinically proven natural medicines. In *Nutraceuticals* (pp. 925-931). Academic Press.
- Guignard J.L.** (2001) – Biochimie végétale. 2ème Ed. De l'abrégé Dunod, Paris, pp.177-185.
- Hagerman A.E.**, 2002. Chemistry Condensed tannin accumulation and composition in skin of shiraz and cabernet sauvignon grapes during berry development American *Journal of Enolog and Viticulnre*. 60 (1), 13-23.

Références bibliographiques

- Hamadache**, N., & Touati, A. E. (2011). Criblage des extraits phénoliques d'origine végétale doués d'activité antibactérienne: recherche des inhibiteurs naturels de B-Lactamase. Magister en Biologie. Université A/MIRA de Bejaia
- Hamel T.**, Sadou S., Seridi R., Boukhdar S., Boulemtafes A. (2018). Pratique traditionnelle d'utilisation des plantes médicinales dans la population de la péninsule de l'edough (nord-est Algérien). *Ethnopharmacologia*, n°59.p :75.
- Harbone**, J.B., (1993). Introduction to Ecological Biochemistry, 4th Ed. Academic Press: London.
- Ingle**, K. P., Deshmukh, A. G., Padole, D. A., Dudhare, M. S., Moharil, M. P., & Khelurkar, V. C. (2017). Phytochemicals: Extraction methods, identification and detection of bioactive compounds from plant extracts. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(1), 32-36.
- Jacques B.**, André R. 2004. Biochimie métabolique Ed ellipses. Paris. Pp : 217-219-220-223-225
- Jadid**, N., Hidayati, D., Hartanti, S. R., Arraniry, B. A., Rachman, R. Y., & Wikanta, W. (2017, June). Antioxidant activities of different solvent extracts of *Piper retrofractum* Vahl. using dpph assay. In aip conference proceedings (Vol. 1854, No. 1, p. 020019). Aip Publishing llc.
- Judd W. S.**, Campbell C. S., Kellogg E. A., Stevens P. (2002). Botanique systématique, une perspective phylogénétique. 1ère Edition. Université de Boeck, Paris, 467p
- Kolthoff**, I. M., Leussing, D. L., & Lee, T. S. (1950). Reaction of ferrous and ferric iron with 1, 10-phenanthroline. III. The ferrous monophenanthroline complex and the colorimetric determination of phenanthroline. *Journal of the American Chemical Society*, 72(5), 2173-2177.

Références bibliographiques

- Koné, D.** (2009). Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes: extraction, identification d'alcaloïdes-caractérisation, quantification de polyphénols: étude de leur activité antioxydante . Doctorat en Biologie Végétale : Université Metz.
- Kouchache, H., Diar, H., & Mosbah, C.** (2021). Etude phytochimique et biologique des extraits de la plante médicinale Marrubium vulgare L. de la région de Graa-Saïda commune Ain Kercha. Master en Biochimie : Université Oum El Bouaghi
- Leung, A. Y., & Foster, S.** (1996). Oregano. *Encyclopedia of common natural ingredients used in food, drugs and cosmetics*, 2nd edition. Ed : John Wiley & Sons Inc., New York.
- Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C.** (2005). Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques.
- Majekodunmi, S. O.** (2015). Review of extraction of medicinal plants for pharmaceutical research. *Merit Res J Med*, 3, 521-527.
- Manallah, A.** (2012). Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea* L : Magister, Option :Biochimie Appliquée. Université Ferhat Abbas- sétif, 87p.
- Marc, F., Davin, A., Deglene-Benbrahim, L., Ferrand, C., Baccaunaud, M., & Fritsch, P.** (2004). Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *M/S: médecine sciences*, 20(4), 458-463.
- Messai, N., & Haddada, S.** (2022). Contribution à l'étude des activités biologiques de deux espèces végétales : *Stachys byzantina* et *Ocimum basilicum* . Mémoire de Master en Biochimie). Université Frère Mentouri Constantine 1, Algérie.
- Moghaddam, A. M. D., Shayegh, J., Mikaili, P., & Sharaf, J. D.** (2011). Antimicrobial activity of essential oil extract of *Ocimum basilicum* L. leaves on a variety of pathogenic bacteria. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(15), 3453-3456.

Références bibliographiques

- Mohammedi, Z.** (2006). Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et Flavonoids de quelques plantes de la region de tlemcen. Magister en Sciences biologique.Université Abou Bakr Belkaïd Tlemcen.
- Morigane.P.** (2007). Grimoire des plantes. Ce livre est publié sous la licence libre Creative Commons BYNCND. p 6-8.
- Müller, L., Gnoyke, S., Popken, A. M., & Böhm, V.** (2010). Antioxydant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT-Food Science and Technology*, 43(6), 992-999.
- Nawal, HM.,Atta, EM** (2013). Activité cytotoxique et antioxydante du Marrubium vulgare et des constituants flavonoïdes. Dans Actes de la 2e Conférence internationale sur les sciences chimiques, environnementales et biologiques, Dubaï, Émirats arabes unis.
- Nicoletti, M., Toniolo, C., Venditti, A., Bruno, M., Ben Jemia, M.** (2015) Antioxydantactivity and chemical composition of three Tunisian cistus libanotis. *Natural product research*. 29(3), 223-230
- Oreopoulou, A., Tsimogiannis, D., & Oreopoulou, V.** (2019). Extraction of polyphenols from aromatic and medicinal plants: an overview of the methods and the effect of extraction parameters. *Polyphenols in plants*, 243-259.
- Pandey, A., & Tripathi, S.** (2014). Concept of standardization, extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drug. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(5), 115-119.
- Paris R.R.,** Moyse H., 1976. Matière Médicale. Tome I. 2eme Ed : Masson, Paris. 406 p
- Park, H. J., & Cha, H. C.** (2003). Flavonoids from leaves and exocarps of the grape Kyoho. *Korean Journal of Biological Sciences*, 7(4), 327-330.
- Pousset, J. L.** (1989). *Plantes médicinales africaines: utilisation pratique* (Vol. 159). Ellipses..

Références bibliographiques

- Pushpangadan, P., & George, V. (2012).** Basil. In *Handbook of herbs and spices* (pp. 55-72). Woodhead publishing.
- Quezel P et Santa S., 1963 :** Nouvelle flore de l'Algerie et des regions desrtiques méridionales. CNRS, Paris.
- Rahmani, S., Belboukhari, N., Sekkoum, K., & Cheriti, A. (2016).** Evaluation de l'activité anti-inflammatoire d'extraits aqueux de feuilles *Limoniastrum feei* (Plumbaginacea). Algerian Journal of Arid Environment "AJAE", 6(1), 80-86.
- Ramawat, K. G., & Mérillon, J. M. (2008).** Bioactive molecules and medicinal plants (pp. 22-18). Ed : Springer.
- 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 Biology and Medicine*, 26(9-10): 1231–1237
- Rubab, S., Hussain, I., Khan, B. A., Unar, A. A., Abbas, K. A., Khichi, Z. H., ... & Khan, H. (2017).** Biomedical Description of *Ocimum basilicum* L. *Journal of Islamic International Medical College (JIIMC)*, 12(1), 59-67.
- Ryan, M. T., Müller, H., & Pfanner, N. (1999).** Functional staging of ADP/ATP carrier translocation across the outer mitochondrial membrane. *Journal of Biological Chemistry*, 274(29), 20619-20627.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Singleton, V., ET Rossi, J.A. (1965).** Colorimetry of total phénolics with phosphomotungstungstics acid reagent. *Am J Enol Viticulture*, 16: 144-158
- Sofowora, A., Ogunbodede, E., & Onayade, A. (2013).** The role and place of medicinal plants in the strategies for disease prevention. *African journal of traditional, complementary and alternative medicines*, 10(5), 210-229.

Références bibliographiques

- Sousa, R., Dias, S., & Antunes, J. C.** (2006). Spatial subtidal macrobenthic distribution in relation to abiotic conditions in the Lima estuary, NW of Portugal. *Hydrobiologia*, *559*, 135-148.
- Szydłowska-Czerniak, A., Dianoczki, C., Recseg, K., Karlovits, G., & Szlyk, E.** (2008). Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta*, *76*(4), 899-905.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., & Kaur, H.** (2011). Phytochemical screening and extraction: a review. *Internationale Pharmaceutica scientia*, *1*(1), 98-106.
- TLILI, A., & BENTAYEB, H.** Etude analytique comparative et caractérisation de l'huile essentielle des différentes parties d'*Ocimum basilicum* L. cultivées sous climat aride (Doctoral dissertation, Université Kasdi Merbah-Ouargla).
- Topçu, G., Ay, M., Bilici, A., Sarıkürkcü, C., Öztürk, M., & Ulubelen, A.** (2007). A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food chemistry*, *103*(3), 816-822.
- Topçu, G., Ay, M., Bilici, A., Sarıkürkcü, C., Öztürk, M., & Ulubelen, A.** (2007). A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food chemistry*, *103*(3), 816-822.
- Trinh, X. T., Long, N. V., Van Anh, L. T., Nga, P. T., Giang, N. N., Chien, P. N., ... & Heo, C. Y.** (2022). A Comprehensive Review of Natural Compounds for Wound Healing: Targeting Bioactivity Perspective. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(17), 9573.
- Tuong, T. T. K., Tran, D. K., Phu, P. Q. T., Hong, T. N. D., Chu Dinh, T., & Chu, D. T.** (2020). Non-alcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes: evaluation of hepatic fibrosis and steatosis using fibroscan. *Diagnostics*, *10*(3), 159.
- Vemmeris, W.** (2006). *Phenolic compound biochemistry*, Springer, Dordrecht. ISBN-10 1-4020-5163-8 (HB).

Références bibliographiques

- Volak, J., Faure, B., Severa, F., & Stodola, J. (1983).** *Plantes médicinales*. Ed : Gründ.
- Zbadi R., Mohti H. et Moussaoui F. (2018).** Stress oxydatif : évaluation du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales. *Médecine translationnelle*, 24(2), 134-141.
- Zengin, G., Sarikurkcu, C., Aktumsek, A., Ceylan, R., & Ceylan, O. (2014).** A comprehensive study on phytochemical characterization of *Haplophyllum myrtifolium* Boiss. endemic to Turkey and its inhibitory potential against key enzymes involved in Alzheimer, skin diseases and type II diabetes. *Industrial Crops and Products*, 53, 244-251.
- Zola A and Garnero J. (1972).** Contribution à l'étude de quelques essences de basilic de type européen, *Parfums Cosmétiques Savons* 3 : 15-19.
- Zouaoui, A., & Sadallah, M. S. (2020).** Étude de quelques activités biologiques de (*Marrubium vulgare* L.) récolté de la région de Tamanrasset (Mémoire de Master). Université Blida 1, Algérie.

Listes des sites

Site 1 : <https://www.shutterstock.com>

Site 2 : <https://www.picturethisai.com>

Site 3 : https://commons.m.wikimedia.org/wiki/File:Marrubium_vulgare_003.JPG

Annexes

Annexes

ANNEXE I : Résultats de dosage des polyphénols totaux

	Total phenolics (µg GAE/mg)
OBF	134,88±17,67
MVS	135,76±10,95
MVF	24,49±28,41
OBS	327,52±10,61

ANNEXE II : Résultats de dosage des flavonoïdes totaux

	Flavonoids (µg QE/mg)
OBF	41,87±12,12
MVS	90,55±6,29
MVF	47,98±2,34
OBS	48,95±5,59

ANNEXE III : Résultats de test DPPH

	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200	IC ₅₀ (µ/ml)
MVF	NA	12,74± 1,24	26,64± 0,71	50,89± 0,41	80,41± 1,46	84,52± 0,43	83,56± 3,19	24,44± 0,15
MVS	NA	10,41± 1,14	22,33± 1,25	54,59± 1,42	69,93± 1,56	83,97± 2,85	80,21± 3,14	23,34± 0,62
OBS	8,22± 0,12	12,26± 1,96	30,55± 1,91	30,55± 1,14	53,77± 1,88	80,41± 0,52	81,23± 1,03	45,99± 1,92
OBF	8,15± 1,83	9,38±1, 68	12,40± 2,74	21,23± 0,52	34,66± 2,09	58,36± 1,77	82,67± 1,54	82,34± 3,98
	0.7812 5 µg	1.5625 µg	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	IC₅₀ (µ/ml)
Trolox	6.42±0 .91	13.33± 2.14	30.19± 0.67	61.48± 2.98	87.16± 0.28	88.46± 0.11	87.72± 0.47	5.12±0 .21
Ascorbic acid	0.31±1 .02	12.90± 0.28	29.69± 0.39	76.67± 0.37	84.94± 0.84	87.78± 0.49	86.36± 0.21	4.39±0 .01

Annexes

ANNEXE IV : Résultats de test ABTS

	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200	IC₅₀ (µg/ml)
OBF	25,69±3, 95	30,54±2, 36	34,22±0, 76	47,76±1, 87	68,02±3, 44	82,41±1, 94	92,00±0, 28	29,27 ±1,49
OBS	NA	26,33±2, 17	31,29±3, 49	44,24±4, 79	61,25±1, 60	88,27±0, 88	91,31±0, 98	34,61 ±3,35
MVS	NA	NA	NA	5,76±0,4 4	10,02±2, 30	22,87±1, 77	33,85±5, 36	>200
MVF	NA	NA	8,53±6,3 3	23,08±8, 38	21,32±1, 89	39,98±0, 65	72,87±3, 79	132,3 1±5,6 9
	0.78125	1.5625	3.125	6.25	12.5	25	50	IC₅₀ (µg/ml)
Trolox	14.74±0. 37	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
Ascorbic acid	13.43±0. 82	28.76±0. 67	52.94±0. 94	93.21±0. 11	93.08±0. 19	92.40±0. 88	92.96±0. 11	3.04± 0.05

ANNEXE V : Résultats de test FRAP

	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200	A_{0,5}(µg/ml)
OBF	0,06± 0,01	0,06± 0,00	0,09±0, 01	0,19± 0,02	0,33± 0,04	0,59± 0,02	0,78± 0,14	82,72± 1,04
OBS	0,07± 0,00	0,13± 0,03	0,23± 0,01	0,34± 0,06	0,57± 0,03	0,69± 0,13	0,75± 0,05	42,38± 0,40
MVF	0,05± 0,01	0,05± 0,01	0,04± 0,00	0,06± 0,01	0,15± 0,05	0,23± 0,07	0,28± 0,14	>200
MVS	0,06± 0,02	0,06± 0,00	0,07±0, 01	0,15± 0,03	0,20±0, 00	0,32± 0,03	0,60 ± 0,10	176,63± 3,58
	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
Ascorbic acid	0.07±0. 00	0.09±0. 01	0.12±0. 01	0.17±0. 01	0.25±0. 02	0.47±0. 03	0.79±0. 09	3.62±0. 29

Annexes

ANNEXE VI : Résultats de test phénantroline

	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200	A_{0,5}(µg/ml)
OBF	0,13± 0,02	0,13± 0,02	0,14±0, 02	0,14± 0,01	0,18± 0,05	0,19± 0,01	0,28± 0,02	>200
MVS	0,13± 0,01	0,12± 0,01	0,13± 0,02	0,15± 0,01	0,19± 0,00	0,24± 0,02	0,38± 0,08	>200
MVF	0,11± 0,01	0,11± 0,01	0,11± 0,00	0,11± 0,00	0,10± 0,02	0,13± 0,01	0,17± 0,12	>200
OBS	0,11± 0,01	0,12± 0,01	0,12±0, 01	0,10± 0,00	0,11±0, 00	0,13± 0,01	0,16 ± 0,01	>200
	0.0976	0.195	0.390	0.781	1.562	3.125	6.25	A_{0,5}(µg/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
Ascorbic acid	0.26±0. 01	0.29±0. 00	0.29±0. 02	0.31±0. 01	0.37±0. 01	0.50±0. 00	0.80±0. 00	3.08±0. 02

Extraits	6.25 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	IC₅₀ (µg/ml)
OBF	NA	NA	NA	3,13±0,3 0	4,28±0,3 6	5,67±0,7 2	>400
MVS	NA	NA	NA	NA	3,13±0,6 3	5,03±0,6 3	>400
MVF	NA	NA	NA	NA	NA	3,47±0,1 7	>400
OBS	NA	NA	2,44±0,6 5	4,91±0,5 1	5,92±0,5 1	8,83±0,2 0	>400
	62,5 µg	250 µg	500 µg	1000 µg	2000 µg	4000 µg	IC₅₀ (µg/ml)
Acarbose	7,76±0, 17	9,46±0, 11	10,70±0, 96	31,81±2, 89	37,21±3, 54	53,05±1, 59	3650,93±10, 70

ANNEXE VII : Résultats de test alpha -amylase



Résumé

Résumé

Le présent travail consiste à l'évaluation des activités biologiques de deux espèces végétales, les fruits secs et frais d'*Ocimum basilicum* et la plante sèche et fraîche de *Marrubium vulgare*, récoltées dans la région d'El Harrouche, Wilaya de Skikda (Algérie).

L'extraction a été réalisée par la méthode de macération et le rendement le plus élevé est celui de fruits secs d'*Ocimum basilicum* (25,55%). Les résultats de l'étude indiquent que les fruits secs d'*Ocimum basilicum* sont les plus riches en polyphénols, avec un taux élevé de (327,51±10,61). Tandis que ses feuilles sèches ont présenté le taux le plus élevé en flavonoïdes totaux de (90,55 ±6,29) L'activité antioxydante des quatre échantillons a été estimée par quatre méthodes différentes : DPPH, ABTS, Phenanthroline, FRAP.

L'activité antioxydante est élevée pour les extraits sauf l'activité de phénantroline qui n'a enregistré aucun effet. Le meilleur résultat a été obtenu par DPPH chez la plante de Marrube vulgare (MVS) avec une activité antioxydante de (23,34±0,62). De plus, leur activité enzymatique a été évaluée en utilisant l'activité inhibitrice de l'enzyme alpha-amylase.

Les résultats obtenus ont démontré l'absence de cette activité enzymatique chez les deux plantes. Les extraits de deux plantes ont montré une inhibition contre certaines souches bactériennes, notamment *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. Ils ont également montré une activité antifongique contre *Candida albicans*, à l'exception de l'extrait frais de Marrube vulgare (MVF) . Cependant, aucun effet antifongique n'a été observé contre *Aspergillus Niger*. Les tests anti inflammatoire ont été réalisé in vitro à l'aide de tests d'hémolyse des globules rouges et de stabilisation des membranes. Les résultats ont montré que les deux plantes ont un effet important (76,53% et 49,93% respectivement).

Mots-clés : Anti-inflammatoire, Anti Bactérienne, Anti Fongique, Antioxydant, Marrube vulgare, *Ocimum basilicum*.

Abstract

The present work assesses the biological activities of two plant species, the dried and fresh fruits of *Ocimum basilicum* and the dry and fresh plant of *Marrube vulgare*, harvested in the region, from El Harrouche, Wilaya of Skikda, Algeria. The extraction was carried out by the maceration method and the highest yield was that of dried fruits of *Ocimum basilicum* (25.55%). The results of the study indicate that the dried fruits of *Ocimum basilicum* are the richest in polyphenols, with a high level of (327.51±10.61). While its dry leaves showed the highest level of total flavonoids of (90.55±6.29). samples were estimated by four different methods DPPH, ABTS, Phenanthroline. FRAP. The antioxidant activity is high for the extracts except for the activity of phenanthroline which showed no effect. The best result was obtained by DPPH in the plant of *Marrube vulgare* (MVS) with an antioxidant activity of (23.34±0.62). In addition, their enzymatic activity was evaluated using the inhibitory activity of the alpha-amylase enzyme. The results obtained demonstrated the absence of this enzymatic activity in both plants. Extracts from two plants have shown inhibition against certain bacterial strains, including *Escherichia coli* *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. They also showed antifungal activity against *Candida albicans*, with the exception of the fresh extract of *Marrube vulgare* (MVF). However, no antifungal effects have been observed against *Aspergillus niger*. In vitro anti-inflammatory tests were performed using red blood cell haemolysis and membrane stabilisation tests. The results showed that both plants have a significant effect (76.53% (76.53% and 49.93% reectively).

Keywords *Ocimum basilicum*, *Marrube vulgare*, Anti-inflammatory, Antioxidant, Antibacterial, Antifungal.

ملخص

يتمثل العمل الحالي في تقييم الأنشطة البيولوجية لنوعين من النباتات الفواكه المجففة والطازجة لـ *Ocimum basilicum* و *Marrubium vulgare* ، محصودة في منطقة الحروش الموجودة في ولاية سكيكدة (الجزائر). تم الاستخراج بطريقة النقع وأعلى عائد هو يعود لفواكه *Ocimum basilicum* الجافة بنسبة (25.55%) تشير نتائج الدراسة إلى أن الفواكه المجففة لـ *Ocimum basilicum* هي الأغنى بالبوليفينول، بنسبة (10,61±327,51). بينما أظهرت أوراقها المجففة أعلى مستوى من إجمالي الفلافونويد بنسبة (90,55 ± 6,29) (تم تقدير النشاط المضاد للأكسدة للعينات الأربع بأربع طرق مختلفة، DPPH, ABTS, Phenanthroline, FRAP تم الحصول على أفضل نتيجة من خلال DPPH في مستخلص *Marrube vulgare* الجاف بنسبة 0,62*23,34 النشاط المضاد للأكسدة مرتفع للمستخلصات الأربعة باستثناء نشاط الفينانثرولين وعلاوة على ذلك، تم تقييم نشاطها الانزيمي باستخدام النشاط المثبط لإنزيم الأميلاز ألفا، وقد أظهرت النتائج عدم وجود هذا النشاط الانزيمي في كلا النباتين. وأظهرت مقتطفات من نباتين تثبيط بعض السلالات البكتيرية، بما في ذلك *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* وأظهروا أيضاً نشاطاً مضاداً للفطريات ضد *Candida albicans* ، باستثناء مستخرج طازج من *Marrube vulgare* (MVF). ومع ذلك، لم تلاحظ أي آثار مضادة للفطريات ضد *Aspergillus niger*. وأجريت اختبارات مضادة للالتهاب في الأنبوب باستخدام اختبارات لتحليل خلايا الدم الحمراء وتثبيت الأغشية. وأظهرت النتائج أن لكلا النباتين أثراً هاماً (76,53% و 49.93% على التوالي).

الكلمات الرئيسية *Ocimum basilicum* ، *Marrube vulgare* مضاد للالتهاب، مضاد للأكسدة، مضاد للبكتيريا، مضاد للفطريات

Année universitaire : 2022-2023	Présenté par : Attalah soundes Zebbiche lamia
Evaluation des activités biologiques de deux espèces végétales : <i>Marrubium vulgare</i> et <i>Ocimum basilicum</i>	
Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie	
<p>Le présent travail consiste à l'évaluation des activités biologiques de deux espèces végétales, les fruits secs et frais d'<i>Ocimum basilicum</i> et la plante sèche et fraîche de <i>Marrubium vulgare</i>, récoltées dans la région d'El Harrouche, Wilaya de Skikda (Algérie). L'extraction a été réalisée par la méthode de macération et le rendement le plus élevé est celui de fruits secs d'<i>Ocimum basilicum</i> (25,55%). Les résultats de l'étude indiquent que les fruits secs d'<i>Ocimum basilicum</i> sont les plus riches en polyphénols, avec un taux élevé de (327,51±10,61). Tandis que ses feuilles sèches ont présenté le taux le plus élevé en flavonoïdes totaux de (90,55 ±6,29) L'activité antioxydante des quatre échantillons a été estimée par quatre méthodes différentes : DPPH, ABTS, Phénanthroline, FRAP. L'activité antioxydante est élevée pour les extraits sauf l'activité de phénanthroline qui n'a enregistré aucun effet. Le meilleur résultat a été obtenu par DPPH chez la plante de Marrube vulgare (MVS) avec une activité antioxydante de (23,34±0,62) . De plus, leur activité enzymatique a été évaluée en utilisant l'activité inhibitrice de l'enzyme alpha-amylase. Les résultats obtenus ont démontré l'absence de cette activité enzymatique chez les deux plantes. Les extraits de deux plantes ont montré une inhibition contre certaines souches bactériennes, notamment <i>Escherichia coli</i>, <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i>. Ils ont également montré une activité antifongique contre <i>Candida albicans</i>, à l'exception de l'extrait frais de Marrube vulgare (MVF) . Cependant, aucun effet antifongique n'a été observé contre <i>Aspergillus Niger</i>. Les tests anti inflammatoire ont été réalisé in vitro à l'aide de tests d'hémolyse des globules rouges et de stabilisation des membranes. Les résultats ont montré que les deux plantes ont un effet important (76,53% et 49,93% respectivement).</p>	
Mots-clefs : Anti-inflammatoire , Anti Bactérienne , Anti Fongique , Antioxydant, Marrube vulgare <i>Ocimum basilicum</i> .	
<p>Laboratoires de recherche :</p> <p>Laboratoire de biochimie, faculté de Science de la Nature et de la Vie (Université des Frères Mentouri Constantine 1), laboratoire de Microbiologie faculté de Science de la Nature et de la Vie (Université des Frères Mentouri Constantine 1) et laboratoire de biochimie du Centre National de Recherche en Biotechnologie (CRBT) de Constantine.</p>	
Encadreur : Mme DAKHMOUCHE Scheherazed (MCA, ENS Assia Djébar, Constantine).	
Examineur 1 : Mme BENNAMOUN Leila (MCB Université des frères, Mentouri, Constantine 1	
Examineur 2 : Mme OUELBANI rayane (MAB) Université des frères, Mentouri, constantine 1	