



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITE ABBES LAGHROUR - KHENCHELA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT : DE BIOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

FILIERE : Biologie

OPTION : Biochimie appliquée

Thème

**Étude phytochimique et évaluation de l'activité
antioxydante et antipyrétique de la plante médicinale
*Marrubium vulgare L.***

Présenté par :

Bouziane Wafa

Gharbi Meriem

Soutenu le : 31/05/2016

Jury de soutenance :

Présidente : M^{lle} Benredjem Lamia, (M.A.A) Univ.Abbès Laghrou-Khenchela

Encadreur : M^{me} Krim Meriem, (M.A.B) Univ.Abbès Laghrou-Khenchela

Promotrice : M^{me} RAÏS Linda, (M.A.A) Univ.Abbès Laghrou-Khenchela

Année scolaire : 2016

Le travail a été réalisé au niveau de Laboratoire de faculté des sciences de la nature et de la vie
Université ABBES LAGHROUR – KHENCHELA.

Remerciement

Avant tout, je remercie Allah, le bon Dieu, qui m'a donné l'ambitieux, le défi, la santé et le courage pour terminer ce travail.

*Nous tenons à présenter notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à **M^{me} Krim Meriem** qui a accepté de nous encadrer et qui nous a fait bénéficier de son savoir et de ces conseils éclairés afin de perfectionner ce travail.*

*Nos profonds remerciements s'adressent à **M^{eur} Habibatni** pour avoir accepté de diriger ce travail, pour son aide, ses encouragements, ses précieux conseils, malgré sa situation sanitaire.*

*Notre sincères remerciements à **M^{elle} Benrdjem Lamia** d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.*

*Nous exprimons nos vifs remerciements à **M^{me} Rayisse Linda** pour sa précieuse aide et ses conseils, et pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant d'examiner ce mémoire.*

Un immense merci à nos amies Hani Khalida et Zohra Absessalam pour les encouragements et les soutiens inaltérables, sans qui ce travail de mémoire n'aurait pas été possible.

Enfin, que toutes les personnes qui y ont contribué de près ou de loin trouvent ici ma sincère reconnaissance et mes remerciements.

Dédicaces

À mon mari, Hamza.

Qui chaque jour, par sa compréhension, sa sollicitude, sa tendresse et ses critiques a soutenu mes efforts et fait avancer cette étude. Ce travail existe grâce et pour lui.

À mes parents,

Qui m'ont entouré de leur affection, m'ont fait grandir dans l'envie de comprendre et de découvrir. Pour leur dévouement, leur présence constante au cours de toutes ces années d' « études », en espérant que ce travail sera digne de leurs espoirs et de leur confiance.

À mes sœurs et leurs maris, mon frère et son mari

Sources constantes d'encouragement, j'espère que Dieu vous garde et vous montre le droit chemin.

À mes beaux-parents, belles-sœurs, beaux-frères et leurs maries

Pour leur confiance et leur présence, leur soutien et leur compréhension, je leur adresse mon plus sincère respect.

À mes amis, Fadia, Khaoula, Mokhtar, Halima, Wissem,

Hanou, Meriem.

Nous avons partagé chaque instant du travail, émerveillements et galères, mais toujours avec passion et bonne humeur.

Aux petits, Nounou et Dida

Wafa

Dédicace

A mes très chers parents

Aucune dédicace aussi parfaite et douce soit-elle ne saurait exprimer toute ma reconnaissance et tout l'amour que je vous porte.

*A ma très chère soeur Amina, son mari et ces enfants Wadim, Tamim**

A mes chers frères Youcef et Amine

Pour leur soutien et leur encouragement tout au long de la réalisation de ce travail.

Je dédie ce modeste travail à tous mes amis sans exception surtout Khalida Hani, Zohra Abdslame, Sara Boutabba, Khaoula, Fadia, Halima, Wissem, Oulfa, Mokhtar, Imen, Kahina, , Marwa, Amina, Mia, Houda.

Et spécialement à Salah N et Baha D.

Pour leurs fidélité, leurs aide. En témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenir de tous les moments que nous avons passé ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

A mes collègues de travail, Hamida, Lamia, Sabah, Assma, Hamza, Fathi, Bilel, Saleh B, Khaled.

À tous mes amis (es) de la promotion avec lesquels j'ai partagé mes moments de joie et de bonheur.

A tous mes enseignants depuis mes premières années d'études.

A tous ceux qui me sens chers et que j'ai omis de citer.

Meriem

Résumé

Le présent travail est pour objectif l'étude phytochimique et l'action pharmacologique de l'extrait méthanolique et butanolique de *Marrubium vulgare*.

Nous avons tout d'abord procédé au screening phytochimique, la quantification des teneurs des polyphénols totaux et des flavonoïdes par dosage colorimétrique par un spectrophotomètre UV-VIS, ainsi que l'analyse qualitative des flavonoïdes par chromatographie sur couche mince (CCM).

Cette étude phytochimique a révélé la présence des principaux métabolites notamment ; les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, les saponines et les coumarines, comme étant majoritaires à exprimer les activités biologiques.

Les dosages quantitatifs des polyphénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu et des flavonoïdes par la méthode d'AlCl₃ ont été révélés la richesse du *Marrubium vulgare* en polyphénols (159,01±2.08mg EAG/g d'extrait) et en flavonoïdes (17,31±0.03mg EQ/g d'extrait).

L'analyse qualitative par CCM a permis d'isoler plusieurs composés flavonoïdiques.

Dans le test de réduction du radical libre DPPH, l'extrait méthanolique est doté d'une activité antioxydante élevée (89,2 %).

L'efficacité de l'extrait butanolique de *Marrubium vulgare* a été démontrée à travers l'activité antipyrétique *in vivo*. L'administration intrapéritoniale de la levure de bière (20 %) chez les rats wistar a montré clairement une hyperthermie importante. L'administration orale de l'extrait à différentes doses (200, 400 mg/kg) temporelise l'effet de levure et normalise les valeurs de la température durant les 4 heures en comparaison avec les contrôles positif et négatif.

Mots clés : *Marrubium vulgare*, flavonoïdes, Pouvoir Antioxydant, activité antipyrétique, extrait méthanolique, extrait butanolique.

Abstract

This work is aimed to study the phytochemical and pharmacological action of methanol and butanol extracts of *Marrubium vulgare*.

Firstly we proceeded the phytochemical screening, quantification of total polyphenols and flavonoids contents by colorimetric determination by UV-VIS spectrophotometer and the qualitative analysis of flavonoids by thin layer chromatography (TLC).

This phytochemical study revealed the presence of major metabolites including polyphenols, flavonoids, tannins, saponins and coumarins, , as majority to express biological activities.

Quantitative determinations of total polyphenols by the Folin-Ciocalteu and flavonoids by the method of $AlCl_3$ were revealed a wealth of *Marrubium vulgare* in polyphenol (159.01 ± 2.08 mg EAG / g of extract) and flavonoids (17.31 ± 0.03 mg EQ / g of extract).

The analysis by TLC qualitative helped to isolate several flavonoid compounds.

In the test of the reduction of free radical DPPH, the methanol extract has a higher antioxidant activity (89.2%).

The effectiveness of the butanol extract of *Marrubium vulgare* has been demonstrated through the antipyretic activity. The intraperitoneal administration of yeast (20%) in Wistar rats is clearly shown a significant hyperthermia. Oral administration of the extract at different doses (200, 400 mg / kg) temporizes yeast effect and normalizes the temperature values during 4 hours as compared with the positive and negative controls

Keywords: *Marrubium vulgare*, flavonoids, antioxidant power, antipyretic activity, methanol extract, butanol extract.

Table des matières

Résumés	I
Liste des abréviations	VI
Liste des figures	IX
Liste des tableaux	X
Table des matières	XI
Introduction	01
Partie 1 : Partie bibliographique	
Chapitre 01 : Généralités	
I. La phytothérapie	03
I.1. Les plantes médicinales	03
I.2. Principes actifs des plantes médicinales.....	04
II. Description de <i>Marrubiumvulgare L.</i>	04
II.1. Caractères généraux des Lamiacées.....	04
II.2. Répartition et habitat	04
II.3. Noms vernaculaires	04
II.4. Systématique de la plante	05
II.5. Description botanique	05
II.6. Utilisations traditionnelles	06
Chapitre 2 : Métabolites secondaires	
I. Métabolites secondaires	07
I.1. Les flavonoides.....	07
I.1.1. Définition	07
I.1.2. Localisation et distribution.....	07
I.1.3. Structures chimiques.....	08
I.1.4. Propriétés biologiques	09
I.1.5. Intérêt thérapeutiques.....	09
I.2. Les tannins.....	10
I.2.1. Définition	10
I.2.2. Localisation et distribution dans la plante.....	10
I.2.3. Structure chimique et classification.....	10
I.2.4. Activité biologique et intérêt pharmacologiques	12

I.3. Les alcaloïdes.....	12
I.3.1. Définition.....	12
I.3.2. Activité biologique	13
I.4. Les coumarines	13
I.4.1. Définition	13
I.4.2. Propriétés biologiques	14
I.5. Les saponosides.....	14
I.5.1. Définition.....	14
I.5.2. Propriétés biologiques	14
I.6. Les terpènes.....	15
I.6.1. Définition	15
I.6.2. Propriétés biologiques	15

Chapitre 3 : Généralités sur les activités étudiées

I. L'activité antioxydante.....	16
I.1. Définition des antioxydants	16
I.2. Les principales sources d'antioxydants.....	16
I.2.1. Les antioxydants synthétiques	16
I.2.2 Les antioxydants naturels	17
I.2.2.1 Les vitamines	17
I.2.2.2 Les composées phénoliques	18
I.3. Types d'action des antioxydants.....	19
I.4.L'oxydation.....	20
I.5. Les maladies liées à l'oxydation.....	20
I.6. Les utilisations des antioxydants.....	20
II. L'activité antipyrétique	21
II.1. L'hyperthermie	21
II.2. la fièvre	21
II.3. Mécanisme de la fièvre.....	21
II.4. les antipyrétiques.....	22

Partie 2 : Etude expérimentale

Chapitre1 : Matériel et méthodes

I. Matériel.....	23
I.1. Matériel végétal.....	23
I.2. Matériel animal.....	23
I.3. Réactifs chimiques et appareillages	24

II. Méthodes	24
II.1. Extraction et préparation des extraits.....	24
II.2. Analyses phytochimiques.....	27
II.2.1. Screening phytochimique de l'extrait.....	27
II.2.1.1. Test des composés phénoliques.....	27
II.2.1.2. Test des flavonoïdes	27
II.2.1.3. Test des tanins.....	27
II.2.1.4. Test des alcaloïdes	27
II.2.1.5. Test des saponines.....	28
II.2.1.6. Test des coumarines.....	28
II.2.1.7. Test de terpenoïdes et stéroïdes.....	28
II.2.1.8. Test d'anthocyanosides.....	28
II.2.1.9. Test d'anthraquinones.....	28
II.2.2. Analyses quantitatives.....	29
II.2.2.1. Dosage des polyphénols totaux.....	29
II.2.2.2. Dosage des flavonoïdes.....	30
II.3. Analyse qualitative.....	30
II.4. Etude <i>in vitro</i> de l'activité antioxydante.....	32
II.4.1. Effet radical-balayage de DPPH.....	32
II.4.2. Evaluation du potentiel anti-radicalaire par le calcul de l'IC50.....	33
II.5. Etude <i>in vivo</i> de l'activité anti pyrétique	33

Chapitre 2 : Résultats et discussions

I. Calcul de rendement	36
II. Tests phytochimiques.....	37
II.1. Criblage phytochimique.....	37
II.2. Analyse quantitative.....	38
II.3. Analyse qualitative.....	41
III. Evaluation <i>in vitro</i> de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique.....	42
III.1. Evaluation de l'IC50.....	44
III.2. Corrélation entre l'activité antioxydante et le dosage chimique.....	44
IV. Evaluation <i>in vivo</i> de l'activité antipyrétique de l'extrait Butanolique.....	45
Conclusion et perspectives.....	47
Références bibliographiques.....	49
Annexes	

Liste des Figures

Figure 1. La plante <i>Marrubium vulgare</i> L.....	06
Figure 2. Structure de base des flavonoïdes.....	08
Figure 3. Structure des différentes classes de flavonoïdes.....	08
Figure 4. Structure des tanins hydrolysables.....	11
Figure 5. Structure des tanins condensés.....	11
Figure 6. Structure des coumarines.....	14
Figure 7. Structure des saponosides.....	15
Figure 8. Les rats dans des cages en polypropylène	24
Figure 9. Différentes étapes de l'extraction des feuilles de <i>Marrubium vulgare</i> L.....	26
Figure 10. La réduction du DPPH° par un antioxydant.....	33
Figure 11. Protocole expérimentale.....	35
Figure 12. Les différents rendements de la plante <i>Marrubium vulgare</i>	36
Figure 13. Criblage phytochimique de l'extrait méthanolique de la plante.....	37
Figure 14. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (moyenne ± SD de trois mesures).....	39
Figure 15. Courbe d'étalonnage de la Quercétine (moyenne ± SD de trois mesures).....	39
Figure 16. Les plaques CCM sous lampe UV à 365 nm des deux systèmes solvants BAW (A) et CME (B).....	41
Figure 17. L'activité antioxydante et virage de la couleur violette vers le jaune.....	42
Figure 18. Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'extrait brut méthanolique de <i>Marrubium vulgare</i> L.....	43
Figure 19. Courbe de corrélation entre l'activité antioxydante et la teneur en polyphénols.....	44
Figure 20. Relation effet-temps de l'extrait butanolique des feuilles de <i>Marrubium vulgare</i> et de l'acetylsalicylate de lysine sur l'hyperthermie induite chez les rats par la levure de bière.....	46

Liste des Tableaux

Tableaux 1. Rendements des extraits de la plante <i>Marrubium vulgare</i>	36
Tableaux 2. Résultats des tests préliminaires des extraits méthanoliques et butanoliques de la partie aérienne de <i>Marrubium vulgare</i>	38
Tableaux 3. Teneurs des polyphénols et flavonoïdes de l'extrait méthanolique des feuilles de <i>Marrubium vulgare</i>	40
Tableaux 4. Fluorescences et Rf des spots des plaques CCM.....	41
Tableaux 5 Pourcentages de réduction du radical libre DPPH par l'extrait brut méthanolique de <i>Marrubium vulgare</i>	43
Tableaux 6. Effet antipyrétique de l'extrait butanolique des feuilles <i>Marrubium vulgare</i> sur l'hyperthermie induite chez les rats par l'injection de la levure de bière.....	45

Liste d'Abréviation

A : absorption
AAS : Acide Acétylsalicylique
ADN : Acide désoxyribonucléique
AlCl₃ : chlorure d'aluminium
AINS : Anti inflammatoire non stéroïdienne
ANOVA : Analyse de variance
BAW: n-Butanol/Acide acétique/eau
BHT : Butylated hydroxytoluen
Bu(OH) : butanolique
C : Concentration
% : Pourcentage
°C : Degré celsius
CCM : Chromatographie sur couche mince
Chl : chloroformique
C₂H₅OH : Éthanol
Cu : cuivre
DMSO : Diméthylsulfoxyde
D : distance
DO : Densité Optique
DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl
EAc : Extrait acetate
EAE : Extrait acétate d'éthyle
Eaq: Extrait aqueux
EB : Extrait butanolique
EC : ether/chloroforme
EEP Extrait éther de pétrole
EMB Extrait méthanolique brut
ERO :espèces réactives de l'oxygène
Fe²⁺ : fer
FeCl₃ : chlorure de fer(III)
g : Gramme
GPXs : glutathion peroxydases
h : heure
HCl chlorure d'hydrogène
H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène
H₂O : Eau
H₂SO₄: Acide sulfurique
H₂O_d : eau distillée
H₃ PW₁₂ O₄₀ : acide phosphotungstique
H₃ PMO₁₂ O₄₀ : d'acide phosphomolybdique
IC₅₀ : concentration inhibitrice 50 %
IL-1 : Interleukine 1
IL-6 : Interleukine 6
Kg : Kilogramme
LDL : Low Density Lipoprotein
m : masse
M : mole

Me (OH) : Méthanol
mg : Mili-gramme
mg EAG / g E : milligramme équivalent acide gallique /gramme extrait
mg EQ / g E: milligramme équivalent quercitine /gramme extrait
min : minute
ml : Mili-litre
NaCl : Chlorure de Sodium
Na₂CO₃: Carbonate de Sodium
NaOH : Hydroxyde de sodium
NH₄OH: Ammoniaque
Nm : Nanomètre
NO*: monoxyde d'azote
O₂* : radical superoxyde
OH*: radical hydroxyle
OMS : Oraganisation Mondiale de la Santé
P : Probabilité
PP polyphénols
PGE₂ : prostaglandines E 2
PTGs :
R : Rendement
Rf : Rapport frontal
ROOH : peroxydes organiques
SD: Standard deviation
SOD : Superoxyde dismutase
Spp: Espèce
T° : Température
TNF α : tumor necrosis factor alpha
 μ g : microgramme
 μ M : micromolaire
UV: Ultraviolet
UV-Vis : Ultra violet-Visible
V: Volume.
Zn : Zinc

Introduction

Introduction

Selon l'organisation mondiale de la santé (O.M.S); la médecine traditionnelle se définit comme l'ensemble de toutes les connaissances pratiques explicables ou non pour diagnostiquer ou éliminer un déséquilibre physique, mental en s'appuyant exclusivement sur l'expérience vécue et l'observation, transmises de génération en génération (oralement ou par écrit) (**Adjanohoun J. et al., 1979**).

Les plantes médicinales ont toujours eu un rôle de grande importance sur la santé (**Carillon, 2000**). À l'heure actuelle, les substances naturelles dans les plantes sont encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles représentent près de 60% des médicaments, dont nous disposons (**O.M.S, 2000**). Les 40 % restants ou médicaments de synthèse sont souvent nées de la synthèse chimique de molécules ou parties de molécules naturelles prises comme tête de séries (**Fouchés et al., 2000**).

L'utilisation des plantes en thérapeutique (phytothérapie) est très ancienne et connaît actuellement un regain d'intérêt auprès du public. Il est possible d'utiliser les plantes entières ou les produits d'extraction qu'elles fournissent (**Marc, 2001**).

L'étude de la chimie fait l'objet d'intenses investigations pour aider à déterminer les constituants chimiques présents dans les plantes médicinales. Pour mener à bien ces investigations, plusieurs travaux sont consacrés afin de déterminer leurs constituants et analyser leurs éventuels effets pharmacologiques.

Ce travail vise à étudier l'activité antioxydante et antipyrétique de l'extrait d'une plante endémique de la famille des Lamiacées *Marrubium vulgare L.* ou Marrube blanc une plante largement utilisée dans le bassin méditerranéen pour ses nombreuses vertus thérapeutiques contre le diabète, les infections des voies respiratoires et les troubles de la sécrétion biliaire, les affections bronchiques aiguës bénignes et les rhumes.

Notre travail sera donc repartit en deux parties, initié par une recherche bibliographique ou nous apportons dans le premier chapitre un abrégé de l'histoire de l'utilisation des plantes médicinales, et la description botanique et systématique de la plante étudiée.

Le deuxième chapitre élucidera la classification, la composition et l'intérêt thérapeutique de quelques groupes importants des métabolites secondaires. Et le dernier chapitre présente un résumé des activités biologiques étudiées.

La partie expérimentale sera subdivisée en deux chapitres, le premier présente le matériel et les méthodes utilisées pour la réalisation de ce travail et le deuxième chapitre comportera les résultats obtenus dans cette étude.

Partie 1: Partie bibliographique

Chapitre 1 : Généralités

Chapitre 2: Métabolites secondaires

Chapitre 3: Généralités sur les activités étudiées

I. La phytothérapie

C'est l'utilisation thérapeutique des plantes médicinales et de leurs extraits (**Lambert, 2013**). A travers les siècles, les traditions humaines ont vu développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales (**Attou, 2011**). Toutefois, malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre des multiples avantages (**Nadia, 2009; Attou, 2011; Belfadel, 2013**).

La phytothérapie fait donc partie de l'arsenal thérapeutique à la disposition du personnels médicales. C'est une médecine dite « de terrain », de type allopathique, (**Lambert, 2013**) qui repose sur l'utilisation des propriétés thérapeutiques des plantes médicinales (**Medjdoub, 2007; Zeghad, 2009**). La phytothérapie est le traitement des maladies par des plantes dites médicinales (**Mohammedi, 2013**). Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (**OMS**) plus de 80% de la population mondiale ont recours à la pharmacopée traditionnelle pour faire face aux problèmes de la santé (**Nadia, 2009**). La phytothérapie peut être vue comme un précurseur de la pharmacologie moderne (**Firenzuoli et Gori, 2007**).

I.1. Les plantes médicinales

Les plantes médicinales sont des plantes dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (**Razek O. et El Sayed haykle M, 1993**). Elles sont impliquées dans différents secteurs sous formes de principes actifs, des huiles, des extraits, des solutions aqueuses ou organiques ou même telles qu'elles sont (**Faraj A., 1995**). Elles contiennent, au niveau de ses organes, un ou plusieurs principes actifs utilisables à des fins thérapeutiques. En fait il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. (**Farnsworth et al., 1986**).

L'Algérie, pays connu pour sa biodiversité, dispose d'une flore particulièrement riche et variée. On compte environ 3000 espèces de plantes dont 15% endémique et appartenant à plusieurs familles botaniques. Ce potentiel floristique constitué de plantes médicinales, toxiques et condimentaires, est peu exploré du point de vue chimique et pharmacologique. A cet effet, il constitue à notre avis, une source non négligeable de recherche de substances naturelles (**Quezel et Santa, 1963**).

I.2. Principes actifs des plantes médicinales

De nos jours, nous comprenons de plus en plus, que les principes actifs des plantes médicinales sont souvent liés aux produits des métabolites secondaires. Leurs propriétés sont actuellement pour un bon nombre reconnue et répertorié, et donc mises à profit, dans le cadre des médecines traditionnelles et également dans la médecine allopathique moderne (Bourgaud *et al.*, 2001, Kar, 2007).

II. Description de *Marrubium vulgare* L.

II.1. Caractères généraux des Lamiacées

La famille des Lamiacées est composée de près de 258 genres et 6970 espèces d'herbes, d'arbustes et d'arbres, à tige quadrangulaire et à inflorescences verticillées. Les feuilles sont généralement opposées ou verticillées, simples ou très rarement pennatiséquées ; il n'y a pas de stipule. Les fleurs sont bisexuées et zygomorphes, les inflorescences sont en cymes bipares puis unipares. Le calice est synsépale, typiquement 5-mère, parfois bilabié et porte 5 à 15 nervures protubérantes. La corolle est sympétale et typiquement bilabiée, avec deux lobes formant une lèvre supérieure et trois lobes formant la lèvre inférieure. L'androcée peut consister soit en quatre étamines didyames, soit en seulement deux étamines soudées au tube de la corolle ou à la zone périgyne et alternant avec les lobes (Guignard, 2001, Quezel et Santa, 1963).

II.2. Répartition et habitat

Le marrube pousse dans toute l'Afrique du Nord et presque dans toute l'Europe, au centre et au Sud-ouest de l'Asie et au Canaries. Elle est naturalisée dans l'Amérique du Nord et dans l'Amérique du Sud (Bonnier, 1909).

II.3. Noms vernaculaires

En Algérie le *Marrubium vulgare* est connu par le nom de Marriouth (Al kadi, 1989). Au Maroc c'est Merriwt (Novak et al, 1966) et un autre en Tunisie Marroubia (Bellakhdar, 1997).

II.4. Systématique de la plante (APG III)

Règne	Végétale
Sous règne	Tracheobiontes
Embranchement	Spermatophytes
Division	Magnoliophytes
Classe	Magnolipsides
Sous classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Marrubium</i>
Espèce	<i>vulgare</i>
Nom binomial	<i>Marrubium vulgare. L</i>

II.5. Description botanique

Le *Marrubium vulgare* fait partie de la famille des Lamiacées, est une plante herbacée pérenne de couleur grisonnante qui peut atteindre 25 à 45 cm de hauteur. Les tiges carrées sont simples ou ramifiées, droites ou légèrement couchées à la base, blanche et cotonneuses. Les feuilles duveteuses sont opposées, pétiolées, ovales-arrondies, bordées de dents inégales, ridées et blanchâtres. Les fleurs sont petites, blanches, sessiles, disposées en verticilles serrés et globuleux dans toute la partie supérieure de la tige et des rameaux, et à l'aisselle des feuilles supérieures. La récolte possède deux lèvres, la lèvre inférieure est trilobée et la supérieure possède deux lobes. Quatre étamines sont cachées dans le tube de la récolte. Le calice est velu à 10 dents courtes et crochues. (Aouadhi, 2010).

En fin quatre petites akènes sont cachés à la base du calice persistant. Ils sont lisses et glabres et murissent en automne. Toute la plante dégage une odeur forte, est une saveur âcre et amère (Aouadhi, 2010).



Figure 1. La plante *Marrubium vulgare L.*

II.6. Utilisations traditionnelles

Le marrube blanc est un prescrit dans le traitement des difficultés respiratoires, des bronchites, des bronchites asthmatiformes et des toux sèches. Il fluidifie les mucosités. La décoction est employée comme antidiabétique. L'espèce *Marrubium vulgare L.* appelée localement Marriouth, est largement utilisée en médecine traditionnelle. Il est prescrit également comme anti-typhoïdique, anti-diarrhéique, fébrifuge, anti-ictérique, expectorant, tonique et stimulant (**Bellakhdar, 1997**).

En usage externe, la plante hachée et couramment utilisée en cataplasmes sur le front et les tempes contre les fièvres, et contre les maux de dents. le décocté préparé à partir de la plante entière est utilisé dans l'hypertension, les hémorroïdes et aussi antirhumatismal, analeptique cardiaque, antiseptique pulmonaire. Il est utilisé en bain de bouche et en usage externe dans le traitement des brûlures (**Bellakhdar, 1997**).

I. Métabolites secondaires

Les plantes produisent un grand nombre de composés pour lesquels on ne sait pas toujours le rôle qu'ils jouent exactement pour la plante. Ces composés ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse, mais résultent de réactions chimiques ultérieures. On les appelle donc des métabolites secondaires (**Judd *et al.*, 2002**).

Les métabolites secondaires sont un groupe de molécules qui interviennent dans l'adaptation de la plante à son environnement ainsi que la régulation des symbioses et d'autres interactions plantes-animaux. La défense contre les prédateurs et les pathogènes, comme agents allélopathiques et pour attirer les agents chargés de la pollinisation ou de la dissémination des fruits (**Judd *et al.*, 2002**)

I.1. Les flavonoïdes

I.1.1. Définition

Le terme flavonoïde provenant du latin "flavus", signifiant "jaune", désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux. Ce groupe comprend comme son nom l'indique des composés jaunes mais aussi d'autres couleurs ou incolores. Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules. En effet plus de 6500 structures ont été identifiées (**Bruneton, 1999 ; Harborne et Williams, 2000**).

I.1.2. Localisation et distribution

Les flavonoïdes peuvent être présents dans toutes les parties des plantes. Dans la majorité des cas, les flavonoïdes sont présents sous forme glycosylée dans les plantes car la glycosylation a pour effet de les rendre moins réactifs et plus hydrosolubles permettant alors leur stockage dans les vacuoles des cellules épidermiques des fleurs, de l'épiderme et du mésophylle des feuilles, des parenchymes des tiges et racines. Les génines seules sont présentes dans les exsudats farineux de certaines plantes, dans les cuticules des feuilles, écorces et bourgeons ou sous forme de cristaux dans les cellules de certaines *Cactaceae* et plantes de régions arides (**Lhuillier ,2007**).

I.1.3. Structures chimiques

Les flavonoïdes se divisent en six sous-catégories : les flavones, les isoflavones, les flavanols (catéchines et proanthocyanidines), les flavanones et les anthocyanidines (Charles et Benbrook, 2005). Les flavonoïdes présentent un squelette de base à 15 atomes de carbone (figure 2), fait de deux cycles benzéniques C6 reliés par une chaîne en C3.

Le pont à 3 carbones entre les deux phényles forme généralement un troisième cycle pyrone (Milane, 2004).

Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et de ce fait possèdent le même élément structural de base. Ils peuvent être regroupés en différentes classes selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central (Dacosta, (2003).

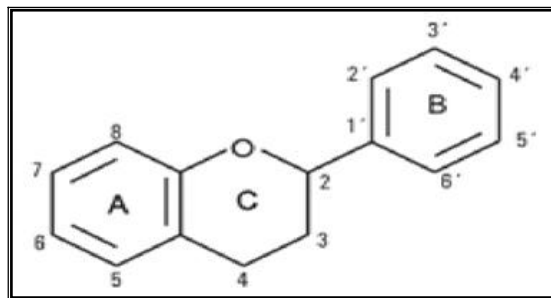


Figure 2. Structure de base des flavonoïdes (Gamet-Payraastre *et al.*, 1999).

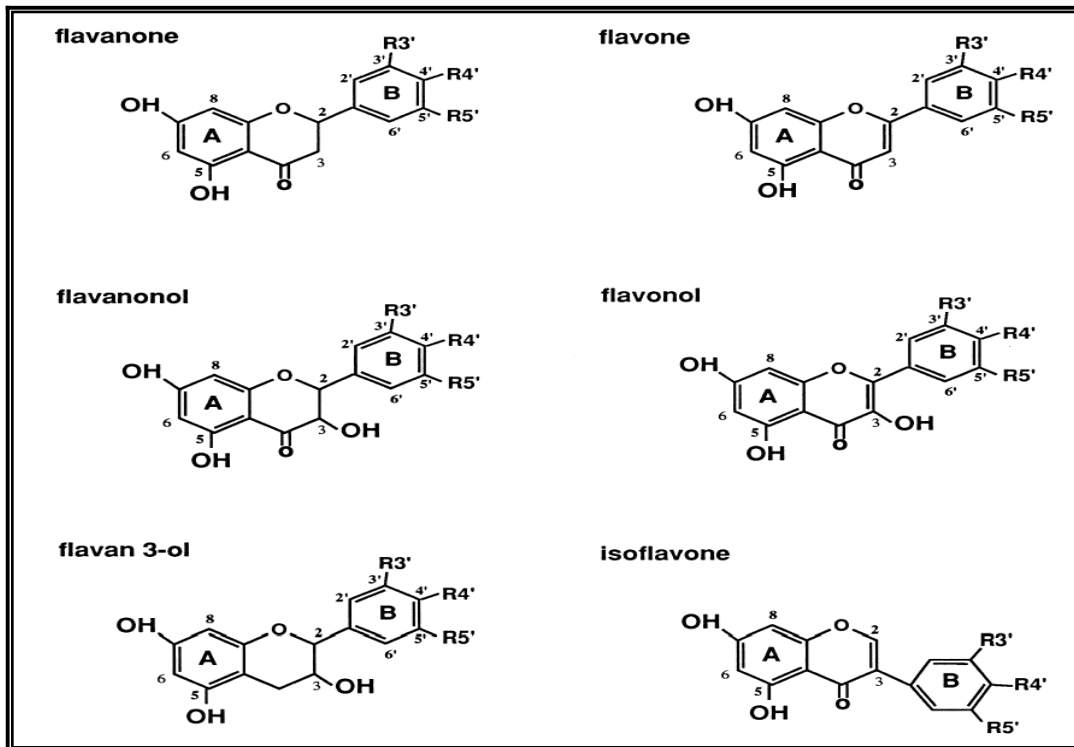


Figure 3. Structure des différentes classes de flavonoïdes (Gamet-Payraastre *et al.*, 1999).

I.1.4. Propriétés biologiques

Une des propriétés majeures des flavonoïdes est de contribuer à la couleur des plantes et notamment à celle des fleurs. Or, c'est par la couleur de ses fleurs que la plante exerce un effet attracteur sur les insectes et les oiseaux pollinisateurs, assurant par ce biais une étape fondamentale de sa reproduction. On peut également noter que les flavonoïdes, en repoussant certains insectes par leur goût désagréable, peuvent jouer un rôle dans la protection des plantes (Nijveldt *et al.*, 2001).

I.1.5. Intérêt thérapeutique

La principale propriété initialement reconnue aux flavonoïdes est d'être "veino-actifs", c'est-à-dire capables de diminuer la perméabilité des capillaires sanguins et de renforcer leur résistance (Bruneton, 1999).

L'utilité thérapeutique de ces composés a été démontrée dans les hémorragies gastro-intestinales, avortement habituel, ménorragie, cystite saignante, tuberculose hémoptysie, la maladie de Meniere, épistaxis, rétinopathie. Plus en plus employé dans le traitement de l'hépatite virale aiguë et diverses autres maladies du foie (Parmar et Ghosh, 1980).

Une étude clinique a permis de montrer une activité anticancéreuse de la quercétine, administrée par voie intraveineuse chez des patients atteints du cancer (Martin et Andriantsitohaina, 2002). De nos jours, les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités antivirales, anti-tumorales, anti-inflammatoires, antiallergiques, anti-oxydantes et anticancéreuses (Meddleton et Kaedasnami, 1993). Ils peuvent aussi empêcher le diabète ou du moins le réduire en inhibant l'enzyme aldose réductase (Quezel et Santa, 1963).

Les flavonoïdes parviennent à capturer les espèces réactives de l'oxygène associées au stress oxydatif, les empêchant ainsi de créer des dommages cellulaires. En effet, ils sont capables d'inactiver et de stabiliser les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle fortement réactif. Ils inhibent aussi l'oxydation des LDL et, de ce fait, peuvent prévenir l'athérosclérose et diminuer les risques de maladies cardiovasculaires (Tu *et al.*, 2007).

I.2. Les tannins

I.2.1. Définition

Les tanins sont des composés phénoliques solubles dans l'eau caractérisé par leur astringence, ils ont la propriété de précipiter les protéines et les métaux lourds. Le rôle biologique des tanins dans la plante est lié à sa propre protection contre les infections, les insectes et les animaux herbivores (**Khanbabaee et Ree, 2001**), en plus de la protection contre les attaques fongiques et bactériennes (**Peronny, 2005**).

I.2.2. Localisation et distribution dans la plante

Les tanins sont très répandus dans le règne végétal, ils sont particulièrement abondants chez les Fagacée, les Rosacée (**Ghestem et al., 2001**). Tous les organes végétaux peuvent en renfermer : l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits, les racines, les graines (**Khanbabaee et Ree, 2001**). Les tanins sont présents dans une variété de plantes utilisées dans l'alimentation notamment les céréales et les légumineuses (sorgho, orge, haricots secs, petits pois, caroube) et les fruits comme: pomme, mûre, datte, raisin, pêche poire, kaki, prune, framboise et fraise (**Peronny, 2005**).

I.2.3. Structure chimique et classification

Leur structure chimique Leur confère une capacité très développée de se fixer sur des molécules telles que les alcaloïdes, la gélatine, les polysaccharides, et essentiellement les protéines (**Zimmer et Cordesse, 1996 ; Bruneton, 1999**).

➤ Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des esters de glucoses, c'est à dire un noyau central de glucose sur lequel se fixe, au moyen d'une liaison ester, des acides (acide galliques pour le groupe des gallotanins, et acide ellagique pour le groupe des ellagitanins). Leur hydrolyse, par des acides, des bases ou certaines enzymes, libère le glucose ainsi que les acides galliques ou phénoliques liés (**Chung et al., 1998**).

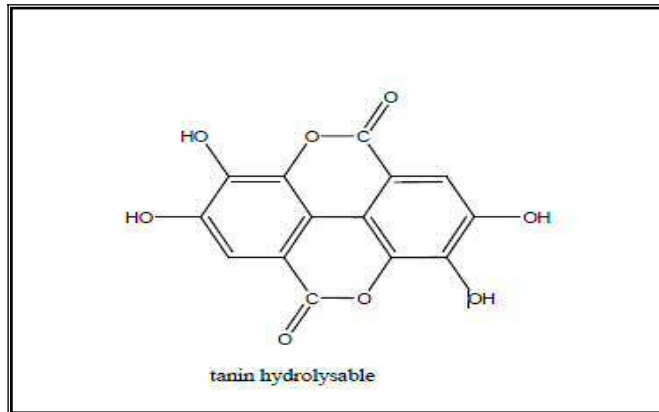


Figure 4. Structure des tanins hydrolysables (Peronny, 2005).

➤ **Tanins condensés**

De structure plus complexe, les tanins condensés (proanthocyanidines) sont de loin les tanins les plus largement rencontrés dans les plantes vasculaire, des dicotylédones aux plantes plus primitives, fougères et gymnospermes. Les proanthocyanidines soient des polymères de flavan-3-oles (Catechines) et de flavan-3,4-dioles (leucoanthocyanidines), ou un mélange des deux (Okamura *et al.*, 1993).

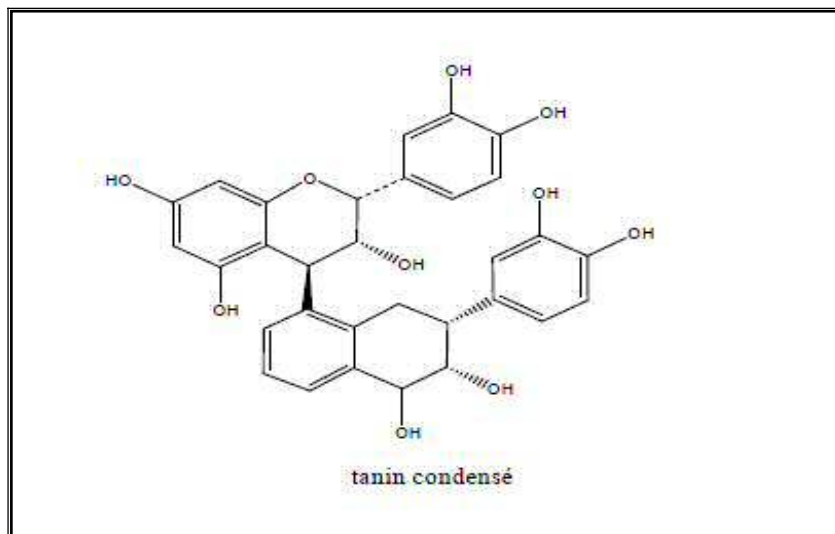


Figure 5. Structure des tanins condensés (Peronny, 2005).

II.2.4. Activités biologiques et intérêts pharmacologiques

Les applications médicales des plantes à tanins découlent de leur affinité pour les Protéines, ils ont un effet anti-diarrhéique, et par voie externe, ils imperméabilisent les couches superficielles de la peau, sont vasoconstricteurs et limitent la perte en fluides. Ces propriétés, ajoutées par ailleurs à leur effet antiseptique, en font des molécules intéressantes pour la régénération des tissus en cas de blessures superficielles ou de brûlures, et les rendent utilisables dans le traitement des diarrhées infectieuses (**Okuda et al, 1983; Bruneton, 1999**). Les tanins ont des grandes capacités antioxydantes dues à leurs noyaux phénol. Les tanins hydrolysables et condensés sont 15 à 30 fois plus efficaces que les phénols simples (**Frutos et al., 2004**).

La consommation de plantes à tanins pouvait affecter la biologie de certaines espèces de parasites intestinaux en diminuant la production des œufs. De nombreuses études ont montrés l'effet antimicrobien des tanins sur différentes bactéries, virus et champignons (**Hatano et al., 2005**). Les tanins ont aussi des propriétés proches de celles des flavonoïdes augmentation de la résistance capillaire, diminution de la perméabilité capillaire et stabilisation du collagène (**Bruneton, 1999**).

Les tanins contiennent de nombreux groupements hydroxyles (sur les noyaux phénoliques), ce qui leur permet de former des complexes insolubles avec les hydrates de carbone, des protéines et des ions métalliques. Ils se lient à la quasi-totalité des protéines solubles, donnant naissance à des polymères insolubles à pH et forces ioniques normaux. Cette réaction avec les protéines est à l'origine de nombreux effets biologiques des tanins, les enzymes complexées de cette façon montrent une réduction marquée de leurs activités (**Chung et al., 1998**). Les tanins peuvent également former des complexes avec d'autres polymères naturels comme les acides nucléiques et les polysaccharides (**Chung et al., 1998**).

Les tanins inhibent la peroxydation lipidique des mitochondries du foie et des microsomes mais aussi l'oxydation de l'acide ascorbique et du linoléate. Lors de la peroxydation les tannins donnent des protons face aux radicaux libres, et ainsi des radicaux tanniques stables sont formés. Ce qui permet de stopper la réaction en chaîne de l'auto-oxydation lipidique (**Mogode, 2005**).

I.3. Les alcaloïdes

I.3.1. Définition

Les alcaloïdes ont des substances organiques azotées d'origine naturelle, à caractère alcalin et présente une structure complexe (**Hemingway et Phillipson, 1980**). Leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique. Ils peuvent être isolés à partir de sources végétales, animales ou de microorganismes (**Waller et Nowacki, 1978**). Les alcaloïdes sont le plus souvent localisés dans les tissus périphériques : téguments des graines, assises externes des écorces de tige et de racine ; on en découvre également dans certains cas dans la partie supérieure des plantes (feuilles, fruits) (**Waller et Nowacki, 1978**).

I.3.2. Activités biologiques

Plusieurs alcaloïdes sont très toxiques et offrent, par conséquent, un arsenal chimique de défense des plantes contre l'attaques des herbivores et des microorganismes (**Harbone J.B., 1995**). En outre, certains alcaloïdes protègent les plantes contre les dommages provoqués par la lumière UV. Ils constituent aussi une réserve de substances capables de fournir l'azote ou d'autre fragment nécessaires au développement de la plante (**Badigaga, 2011**). Les alcaloïdes agissant au niveau du système nerveux central sont soit dépresseurs (morphine, scopolamine) ou stimulants (strychnine, caféine). Ils peuvent être utiliser comme des curarisants, d'anesthésiques locaux (cocaine), d'antifibrillants (quinidine), d'antitumoraux (vinblastine, ellipticine), d'antimalariques (quinine) antihypertensives (réserpine), antitussive (codéine). Ils jouent ainsi le rôle d'antibiotique comme la cyclosérine, la mytomycine (**Bhat et Nagasampagi, 2005**).

I.4. Les coumarines

I. 4.1. Définition

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de fève tonka d'ou fut isolée en 1982 (**Bruneton, 1993**). Elles se trouvent dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits et les huiles essentielles des graines. Elles sont issues du métabolisme de la phénylalanine via un acide cinnamique, l'acide P-coumarique. Les coumarines libres sont solubles dans les alcools et les solvants organiques (**González-gallego et al., 2007**).

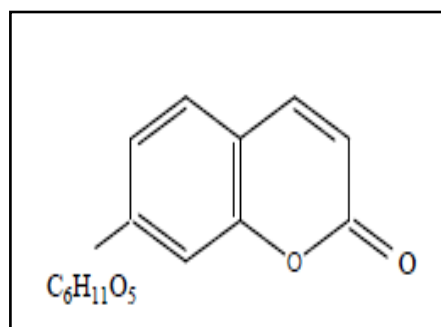


Figure 6. Structure des coumarines (Peronny, 2005).

I.4.2. Propriétés biologiques

Les coumarines sont les constituants caractéristiques du règne végétal chlorophyllien. Les familles les plus riches en coumarines sont : Légumineuses, Rutacées, Apiécées, et Thymelacées. Les coumarines sont des molécules biologiquement actives, elles manifestent diverses activités : anti-agrégation plaquettaire, anti-inflammatoire, anti-tumorale, diurétiques, antimicrobienne, antivirale, et analgésique (Bruneton, 1993), et présentent des effets cytotoxiques, immunostimulantes, tranquillisantes, vasodilatrices, hypotensives, elles sont aussi bénéfiques en cas des affections cutanées (González-gallego *et al.*, 2007).

Ils ont la capacité de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes, et peroxydes. Ils préviennent également la peroxydation des lipides membranaires (Mogode, 2005).

Les conditions structurales requises pour l'activité antioxydant des coumarines sont similaires à celles signalées pour les flavonoïdes (Amadou S, 2005).

I.5. Les saponosides

I.5.1. Définition

Les saponosides constituent un vaste groupe d'hétérosides très fréquents chez les végétaux. Ils se caractérisent par des effets tensio-actifs leur conférant la propriété de former des solutions moussantes lorsqu'ils sont dissous dans l'eau. Ils peuvent être classés en deux groupes selon la nature de leur génine qui peut être stéroïdique ou triterpénique (Dacosta, 2003).

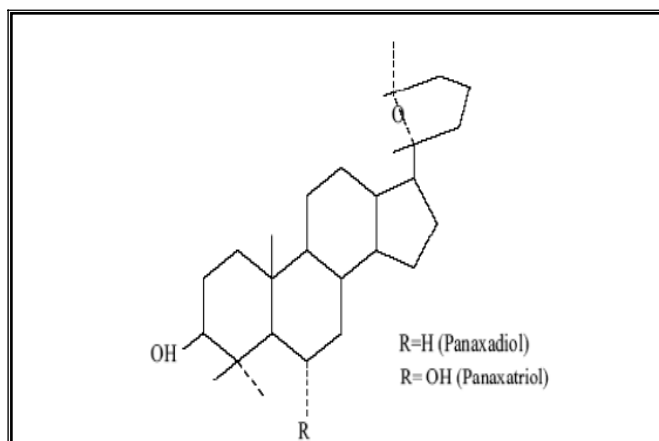


Figure7. Structure des saponosides (**Peronny, 2005**).

I.5.2. Propriétés biologiques

Il semble que les saponosides jouent un rôle de défense du végétal contre les pathogènes microbiens. Les interactions mises en jeu avec les stérols de la membrane ont pour conséquence des propriétés hémolytiques et une activité spermicide de certaines molécules. Elles sont toxiques pour les animaux à sang froid et en particulier pour les poissons et les mollusques. Certaines drogues à saponosides sont utilisées pour leurs propriétés antitussives, mais aussi anti-œdémateuses ou encore analgésiques (**Dacosta, 2003**).

I.6. Les terpènes

I.6.1. Définition

Ce sont des produits naturels, formés de l'assemblage d'un nombre entier d'unités pentacarbonées ramifiées dérivées du 2-méthyl butadiène, appelées unités isopréniques (**Paris et Moyse, 1965**). La très grande majorité des terpènes est spécifique du règne végétal, mais cette spécificité n'est pas absolue. On rencontre des sesquiterpènes et des di terpènes de structures variées chez les animaux marins (Coelanthérés, Spongiaires).

Dans les plantes où se trouvent les terpènes, ils se repartissent dans tous les organes fleurs feuilles, rhizomes, écorces et fruits ou graines (**Gars et al., 1999**).

I.6.2. Propriétés biologiques

Les terpènes sont les constituants majeurs de l'huile essentielles.ils sont en grande partie responsable de l'odeur des plantes et des fleurs et dont quelques-unes sont employées

en parfumerie. Ces substances possèdent aussi des propriétés pharmacodynamiques très variées (**Paris et Moïse, 1965**). Ils manifestent diverses activités : Anti-hypertensive, antirétrovirale, anti-tumorale, anti-inflammatoire, analgésique, anti-oxydante, édulcorante, antibactérienne, antivirale, antibiotique, antimalarique, stupéfiante.

Chi nait (**Paul, 2002**).

I. L'activité antioxydante

I.1. Définition des antioxydants

Les termes antioxydants et radicaux libres sont des termes populaires utilisés par les nutritionnistes et autres professionnels de la santé **(Benarous K, 2009)**. Les antioxydants sont toutes substances qui, présentes à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retardent ou inhibent significativement l'oxydation de ce substrat, et dont les produits de la réaction entre l'oxydant et l'antioxydant ne doivent pas être toxiques et ne branchent pas la réaction radicalaire. Le radical libre est important de signaler que les radicaux libres ne sont pas forcément des oxydants. De même, tous les oxydants ne sont pas des radicaux libres. Les radicaux libres sont cependant une cible privilégiée pour améliorer les thérapeutiques à différents stades pathologiques **(Boumaza A, 2009)**.

Les formes de l'oxygène provoquant ces troubles sont: l'oxygène O₂, le peroxyde d'hydrogène H₂O₂, le radical superoxyde, les peroxydes alkyles ROOH, et les radicaux hydroxyles, perhydroxyle et alkoxyles. Les conséquences au niveau de l'organisme se font ressentir sur l'ADN, les lipides et les protéines **(Amadou S, 2005)**.

I.2. Les principales sources d'antioxydants

I.2.1. Les antioxydants synthétiques

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques sont utilisés pour empêcher les aliments gras de rancir et pour protéger les vitamines liposolubles (A, D, E et K) contre l'oxydation. Les esters d'acides galliques, le butylhydroxytoluène et le butylhydroxyanisole, appartiennent à cette catégorie. Les vitamines C et E ont également des propriétés antioxydantes et ont l'avantage d'augmenter la valeur nutritive des aliments **(Maamri S, 2008)**.

Ils sont généralement préparés en laboratoire, et principalement à partir de composants chimiques. Dans l'industrie alimentaire, l'ajout d'antioxydants naturels dans les aliments est une technique complètement nouvelle. Depuis à peu près 1980. Toutefois, le fait de trouver communément une substance dans un aliment ne constitue pas une garantie de son absence totale de toxicité. Les antioxydants synthétiques ont été testés quant à leurs effets carcinogènes ou mutagènes, mais de nombreux constituants naturels des aliments n'ont pas encore été testés **(Benarous K, 2009)**.

I.2.2 Les antioxydants naturels

Les antioxydants naturels sont présents dans toutes les parties des plantes supérieures. Elles incluent le bêta carotène, l'albumine, les vitamines (E, C, P), les composés phénoliques (**Amadou S, 2005**). Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres (**Mohemmedi Z, 2006**).

I.2.2.1 Les vitamines

➤ **Acide ascorbique (la Vitamine C)**: est largement répandue dans les fruits comme : les légumes, les choux, le poivron, le persil, les agrumes et le kiwi. Elle joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E (**Mogode, 2005**).

L'apport de suppléments de vit c prévient également des dégâts oxydants sur les protéines induits par fumée de cigarettes (**Mohemmedi Z, 2006**).

➤ **La vitamine E** : Elle semble devoir fixer le radical hydroxyle avec formation d'une molécule d'ouverture de cycle. On la retrouve dans les huiles végétales (arachides, soja, chardon, tournesol, olive pressé à froid), les amandes, les graines, le lait, les oeufs, les légumes à feuilles vertes (**Mogode, 2005**).

Cette molécule liposoluble protège les graisses circulantes contre l'oxydation, ce qui constitue la première défense contre l'athérosclérose et en fait un protecteur cardiovasculaire majeur. Elle limite également la formation d'aldéhydes génotoxiques (**Hennebelle T, 2006**).

Est un antioxydant important qui protège les cellules contre les dommages associés aux radicaux libres et par conséquent, prolonge la vie cellulaire tout en ralentissant le processus de vieillissement (**Mohemmedi Z, 2006**).

➤ **Le β -carotène**: Il est présent dans les légumes verts, la salade, les carottes, l'abricot, le melon, les épinards, la papaye (**Mogode, 2005**).

Les caroténoïdes, pigments rouges (lycopène de la tomate), oranges (β -carotène des carottes) ou jaunes (lutéine et zéaxanthine du maïs) d'origine végétale, sont particulièrement efficaces dans la neutralisation de l'oxygène singlet et jouent le rôle de boucliers contre la photo-initiation de réactions radicalaires par les rayonnements UV. Le β -carotène (provitamine A), diffusant mieux que les tocophérols dans les lipides, protège les graisses profondes (**Hennebelle, 2006**).

Sont une classe de composés phytochimique très important, empêchent les dommages génétiques, protègent contre les dommages oxydants en augmentant le métabolisme de désintoxication, empêchent l'expression des oncogènes, augmentant l'activité de communication des gaps jonctions (**Mohemmedi Z, 2006**).

I.2.2.2 Les composés phénoliques :

Les composés phénoliques végétaux regroupent une grande variété de composés comportant entre autres les flavonoïdes, les tanins, On trouve parmi leurs nombreux intérêts potentiels la chélation de certain métaux et la captation de radicaux libres. De plus, une synergie peut être observée entre leur action et celle de vitamine C (**Hennebelle, 2006**).

I.3. Types d'action des antioxydants

Il existe deux types d'action des antioxydants :

- **Les antioxydants primaires ou vrais :** Ils permettent l'interruption de la chaîne auto Catalytique $AH + R^* = A^* + RH$

La molécule AH est antioxydant, si le radical A* peut s'expliquer par sa conversion en composés non radicalaires (**Ferhat et al., 2009**).

La production physiologique des ERO (espèce réactif d'oxygène) est régulée par des systèmes de défense composés d'enzymes (superoxyde dismutases (SODS), catalase, glutathion peroxydases (GPXS), couple thiorédoxine/thiorédoxine réductase, hème oxygénase, peroxyrédoxine...), de molécules antioxydants de petite taille (caroténoïdes, vitamines C et E, glutathion, bilirubine, acide lipoïque, ubiquinone, ...) et de protéines (transferrine, ferritine, céruléoplasmine). Certains oligo-éléments comme le cuivre, le zinc et le sélénium sont indispensables pour l'activité des enzymes antioxydants (Cu, Zn-SOD, MnSOD, SeGPx). Le zinc est également un inducteur des métallothionéines (protéines à activité antioxydant) et un inhibiteur des réactions de production d'ERO induite par le cuivre. Toutes ces défenses peuvent être renforcées par des apports oxygènes en flavonoïdes (**Amadou S, 2005**).

➤ **Les antioxydants secondaires ou préventifs**

Qui assurent l'inhibition de la production des radicaux libres, un système de défense composé de phospholipases, d'ADN endonucléases et de macroxyprotéinases empêche l'accumulation dans la cellule de lipides, d'ADN et de protéines oxydés et participe à l'élimination de leurs fragments toxiques (**Amadou S, 2005**).

I.4.L'oxydation

On décrit l'oxydation en trois phases distinctes, mais pratiquement simultanées:

- L'initiation : Formation d'hydroperoxydes, initiée par la chaleur et l'UV ou les ions métalliques et aboutit à la formation des espèces très réactives : ROOH et R*.
- Propagation : Destruction des hyperoxydes et apparition des composés responsables des goûts et odeur de rance par rupture des liaisons O-O.
- Terminaison : Apparition de nouvelles espèces moléculaires anarchiques (formation des polymères ou au contact avec un autre radical), les molécules créées n'ont plus de fonctions biologiques (**Ferhat et al., 2009**).

I.5. Les maladies liées à l'oxydation

La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge, car le vieillissement diminue les défenses anti-oxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux. En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et en sur-exprimant certains gènes, le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré.

Le stress oxydant est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tel que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (**Favier, 2003**).

I.6. Les utilisations des antioxydants

- L'activité éventuelle de molécules médicamenteuses déjà connues, qui présentent les avantages d'une biodisponibilité et de paramètres pharmacocinétiques et toxicologiques déjà bien connus ;
- Sont concernées par l'utilisation dans l'industrie alimentaire ;
- L'industrie de lubrifiants : elle produit notamment les huiles pour moteurs et transmissions automobiles ;

- L'industrie des matières plastiques : des additifs sont utilisées pour protéger les polymères de l'oxygène de l'air ;
- L'industrie cosmétique : les molécules utilisées sont plus ou moins les même que dans l'industrie alimentaire. **(Hennebelle, 2006).**

II. L'activité Antipyrétique

II.1. L'hyperthermie

L'hyperthermie est l'élévation locale ou générale de la température du corps au-dessus de la valeur normale (37 à 37,5 °C chez l'humain), en raison de l'accumulation de chaleur exogène. Elle peut résulter d'une exposition à la chaleur du soleil (l'insolation), à la chaleur ambiante (canicule, ambiance industrielle, incendie) ou d'un effort intense avec une mauvaise évacuation de la chaleur **(Alain, 2006).**

II.2. la fièvre

Il faut noter la différence entre fièvre et hyperthermie : la fièvre est une des composantes de la réaction inflammatoire primaire. C'est une augmentation de la température due à une accumulation de chaleur d'origine endogène.

L'élévation de la température corporelle est produite par le corps. Par contre l'hyperthermie résulte de l'accumulation de chaleur exogène c'est-à-dire issue de l'environnement et non pas produite par le corps. Bien que les deux mots soient souvent pris comme synonymes, utiliser hyperthermie au lieu de fièvre est impropre **(Alain, 2006).**

II.3. Mécanisme de la fièvre

Relevons en premier lieu que la fièvre est souvent un symptôme (et non une maladie) caractéristique d'un problème de l'organisme et qui peut être associé à d'autres symptômes que la fièvre comme par exemple des douleurs musculaires ou osseuses, de la fatigue, des maux de tête ou encore des douleurs. La fièvre est au début habituellement accompagnée de frissons en raison de la production de chaleur par le corps **(Alain, 2006).**

Le mécanisme de la fièvre peut être comparé à un thermostat d'une maison pour signaler et régler la température. En effet lorsque la fièvre augmente (par exemple au début d'un refroidissement) le corps émet des substances qui augmentent la température du "thermostat" du cerveau, de ce fait le corps croit que la température normale est supérieure à 37°C par exemple à 39°C. C'est pourquoi on peut ressentir des frissons au début de l'apparition de la fièvre, car le corps a froid (vu qu'il est en dessous de la valeur du

"thermostat" du cerveau) et va donc réagir en augmentant progressivement la température du corps jusqu'à la valeur de 39°C (pour cet exemple) (**Alain, 2006**).

A l'inverse lorsque la fièvre descend (par exemple après avoir pris des médicaments) on transpire et on a chaud, car le thermostat revient à 37°C mais la température du corps étant toujours à 39°C, il devra ainsi transpirer pour évacuer cette chaleur. Dans ce cas pour accélérer la diminution de la fièvre un bain froid est tout à fait conseillé et justifié. En général la fièvre disparaît après quelques jours (**Alain, 2006**).

II.4. les antipyrétiques

Ce sont des médicaments à action symptomatique qui atténuent ou abolissent-les sensations douloureuses ou de la fièvre sans provoquer une perte de conscience ou une dépression des autres sensations. Ils constituent une famille hétérogène du point de vue chimique et pharmacologique (**Igor, 2003**). Ils sont soit périphériques, agissant à l'endroit de la douleur, soit centraux, agissant sur le système nerveux central (dans le cas de la fièvre) (**Denis, 2010**).

➤ **Acide Acétyl-salicylique (AAS) ou Aspirine**

L'aspirine, comme les autres AINS, présente la propriété de diminuer la perception de la douleur par un mécanisme central encore mal connu. L'aspirine présente en outre, une activité antipyrétique. Cette dernière est parfois présente dans quelques antalgiques non AINS. Elle est en fait caractérisée par la possibilité qu'ont ces substances de ramener à la normale une température qui s'est élevée suite à une agression de l'organisme (infection virale ou bactérienne par exemple). Les symptômes sont la douleur, la chaleur, Ces symptômes sont accompagnés éventuellement de la perte de la fonction de l'organe affecté. Il est bien établi que ce n'est pas le processus causal (quelque soit son origine) (**Kadima, 2004**). L'action analgésique de l'aspirine s'exerce à la fois au niveau périphérique et au niveau central, mais les effets périphériques prédominent. Son action analgésique est habituellement associée à l'action antipyrétique. Toutes ces actions sont produites par l'inhibition de l'action des prostaglandines endopyroxyde synthèse (PTGs), responsables de la production des prostaglandines (**Neal, 2003**).

Partie 2: Partie expérimentale

Chapitre 1: Matériels et méthodes

Chapitre 2: Résultat et discussions

I.1. Etude *in vitro* de l'activité antioxydante

I.1.1. Effet radical-balayage de DPPH

De point de vue méthodologique, le test du radical libre DPPH est recommandé pour des composés contenant SH, NH et OH groupes (Salah *et al.*, 1995). Il s'effectue à température ambiante, ceci permettant d'éliminer tout risque de dégradation thermique des molécules thermolabiles. Le test est largement utilisé au niveau de l'évolution des extraits hydrophiles très riches en composés phénoliques (Yi-Zhong *et al.*, 2006, Hatzidimitriou *et al.*, 2007).

La technique consiste à mettre le radical libre DPPH (de couleur violette), en présence de l'antioxydant (extrait méthanolique) va être réduit et vire vers le jaune. Ce changement se traduit par une diminution de l'absorbance. La réaction de DPPH est représentée dans la figure suivante :

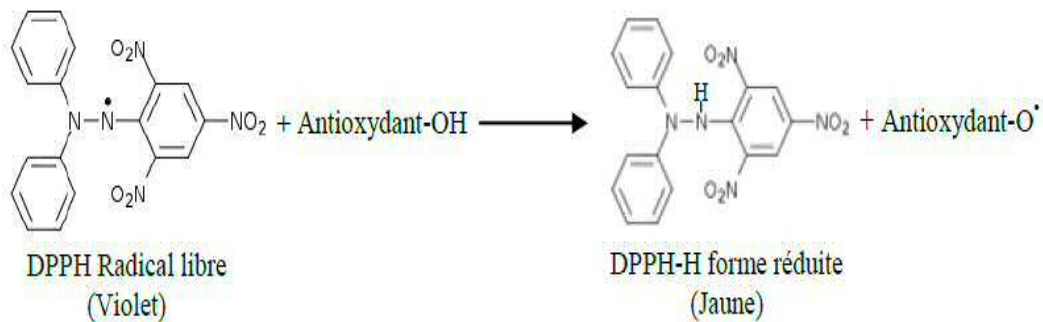


Figure 10. La réduction du DPPH° par un antioxydant (Derbel et Ghedira, 2005).

➤ Principe

Afin d'étudier l'activité antiradicalaire des différents extraits des feuilles de *Marrubium vulgare*, nous avons utilisé la méthode fondée sur le DPPH (1,1- diphényl-2-picrylhydrazyl) comme un radical relativement stable, selon le protocole décrit par Parejo *et al.* (2000).

➤ **Protocole**

La solution du DPPH est préparée à l'avance par solubilisation de 3,9 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol absolu. 500 µl de l'extrait à différentes concentrations sont ajoutés à 500 µl de DPPH. Des solutions d'antioxydant de référence ou acide ascorbique sont également préparées dans les mêmes conditions pour servir de témoin positif. Le témoin négatif est constitué uniquement de DPPH et du méthanol. Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min jusqu'à décoloration. Le dosage est réalisé par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 517 nm.

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Inhibition du DPPH (\%)} = (1 - (\text{DO essai} / \text{DO blanc})) \times 100$$

I.1.2. Evaluation du potentiel anti-radicalaire par le calcul de l' IC₅₀

L'IC₅₀ (Concentration inhibitrice 50), est la concentration de l'extrait testé nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. La IC₅₀ de l'extrait testé est calculée graphiquement dont l'abscisse représente la concentration de l'extrait brut et l'ordonnée l'activité antioxydante en pourcentage.

I.2. Etude *in vivo* de l'activité anti pyrétique

Seize (16) heures avant le test, les rats sont mis à jeun de nourriture et reçoivent en injection intra-péritonéale dans la région dorso-latérale d'une suspension aqueuse de levure de bière à 20% (1ml/100 g de poids corporel). On opère sur quatre lots de quatre rats pour chacun (**Colot, 1972**) :

- Lot (01) : Solution eau physiologique NaCl 9 ‰ (Témoin).
- Lot(02) : Aspirine 500mg/kg.
- Lot (03): 200 mg/kg d'extrait de *Marrubium vulgare*.
- Lot (04): 400mg/kg d'extrait de *Marrubium vulgare*.

Une heure après l'administration des extraits par gavage, la prise de température a été faite toutes les heures pendant quatre heures.

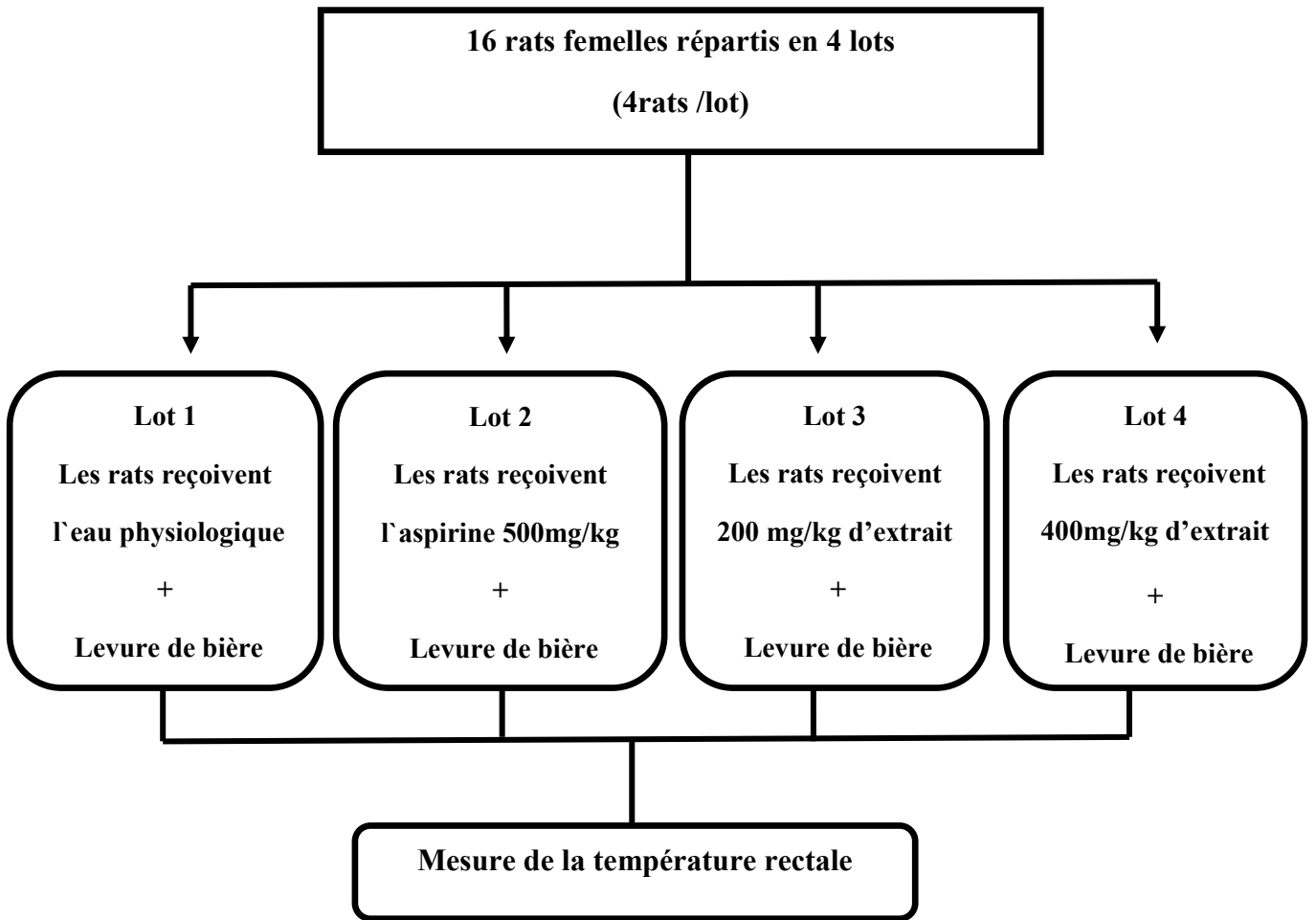


Figure 11. Protocole expérimentale

➤ **L'analyse statistique**

L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel **MINITAB**. La comparaison des moyennes des températures entre lots a été faite à l'aide du test **Anova**.

I. Calcul de Rendement

Les extraits de la plante récupérés après l'évaporation à sec et sous pression ont été pesés pour déterminer le rendement. Le rendement des extractions et la couleur des extraits sont reportés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 1. Rendements des extraits de la plante *Marrubium vulgare*

Matière végétale (g) <i>Marrubium vulgare</i>	Extrait	Couleur	Masse (g)	Rendement %
300	Brut méthanolique	Noire	57.97	18
	D'ether de pétrole	Vert foncée	6.69	2.31
	Chloroformique	Noire	4.18	1.39
	D'acétate d'éthyle	Marron	2.43	0.81
	Butanolique	Marron	10.5	3.5

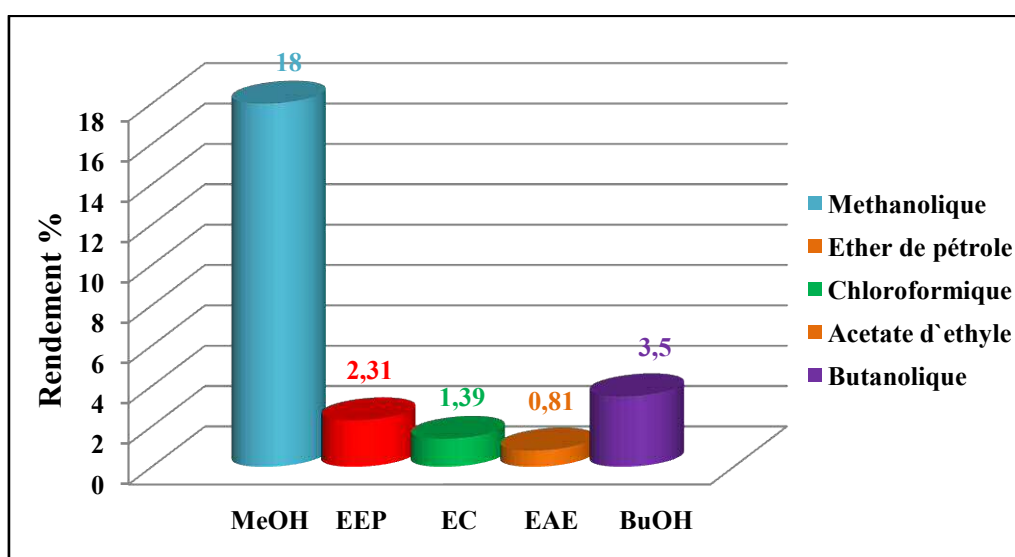


Figure 12. Les différents rendements de la plante *Marrubium vulgare*

Selon le tableau ci-dessus, les cinq solvants ont donné des masses en extraits secs inférieures à 60g/g de la plante en poudre.

A partir de l'histogramme et du point de vue rentabilité en poids, l'extrait méthanolique polaire (MeOH) a donné un rendement de l'ordre de 57.97 g, ce qui correspond à un pourcentage de 18 %. Cette proportion est la plus élevée en comparaison avec celles des extraits apolaires (EEP, EC, EAE et BuOH).

Il est difficile de comparer les résultats avec ceux de la bibliographie, le rendement n'est que relatif et dépend de la méthode et des conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée (Lee *et al.*, 2003).

Les teneurs en extraits secs varient non seulement d'une plante à une autre de la même famille mais également en fonction de la méthode d'extraction appliquée, elle doit tenir compte de la qualité d'extrait, autrement dit de la bioactivité de ces principes actifs. (Lee *et al.*, 2003).

L'utilisation de solvants à polarités différentes permet de séparer les composés de la poudre de feuilles selon leur degré de solubilité dans le solvant d'extraction et donc permet de séparer ses flavonoïdes selon leur degré de glycosylation (Lee *et al.*, 2003).

Dans la présente étude, la méthode d'extraction liquide –liquide à température ambiante ainsi que l'épuisement du solvant à pression réduite permet d'obtenir le maximum des composés et de prévenir leur dénaturation ou modification probable dues aux températures élevées utilisées dans d'autres méthodes d'extraction.

II. Tests Phytochimiques

II.1. Criblage phytochimique

L'analyse phytochimique réalisée sur les extraits des feuilles du *Marrubium vulgare* nous a permis de mettre en évidence la présence de quelques métabolites secondaires. La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilité des constituants, des réactions de précipitation, un changement de couleur ou un examen sous la lumière ultraviolette.



Figure 13. Criblage phytochimique de l'extrait méthanolique de *Marrubium vulgare*

Les résultats de criblage sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 2. Résultats des tests préliminaires de l'extrait méthanolique et butanolique des feuilles de *Marrubium vulgare*.

Les composés	Réaction, réactif	L'extrait méthanolique	L'extrait butanolique
Composés phénoliques	FeCl ₃ (1%)	++	++
Flavonoïdes	Coupeau de magnésium	++	++
Tannins	FeCl ₃ (1%)	+++	++
Coumarines	NH ₄ OH, UV	+++	++
Alcaloïdes	Mayer	-	-
Saponines	La mousse	+++	++
Tri terpènes	Liebermann-Burchard	++	++
Stéroïdes	Liebermann-Burchard	-	-
Anthraquinones	Mélange E-C	+	+
Anthocyanines	H ₂ SO ₄ (1%)	+	+

(+++): présence plus forte, (++): présence forte, (+): présence faible, (-): absence

Les résultats obtenus des tests phytochimiques, des extraits de la partie aérienne (feuilles) du *Marrubium vulgare*, ont révélés la richesse de cette plante en polyphénols, flavonoïdes et surtout en tanins, en saponines et en coumarines et une petite quantité des anthraquinones et des anthocyanines.

Par contre, les tests des alcaloïdes et des stéroïdes sont marqués négatif dans les deux extraits.

II.2. Analyse quantitative

➤ Teneur en polyphénols et flavonoïdes

L'étude quantitative de l'extrait méthanolique au moyen des dosages spectrophotométrique, avaient pour l'objectif la détermination de la teneur totale des polyphénols et des flavonoïdes.

Deux courbes d'étalonnage (**fig.17 et fig.18**) ont été tracées pour cette objectif, une réalisée par l'acide gallique et l'autre par la quercétine. La quantité de polyphénols et flavonoïdes correspondantes ont été rapportées en équivalent de l'étalon.

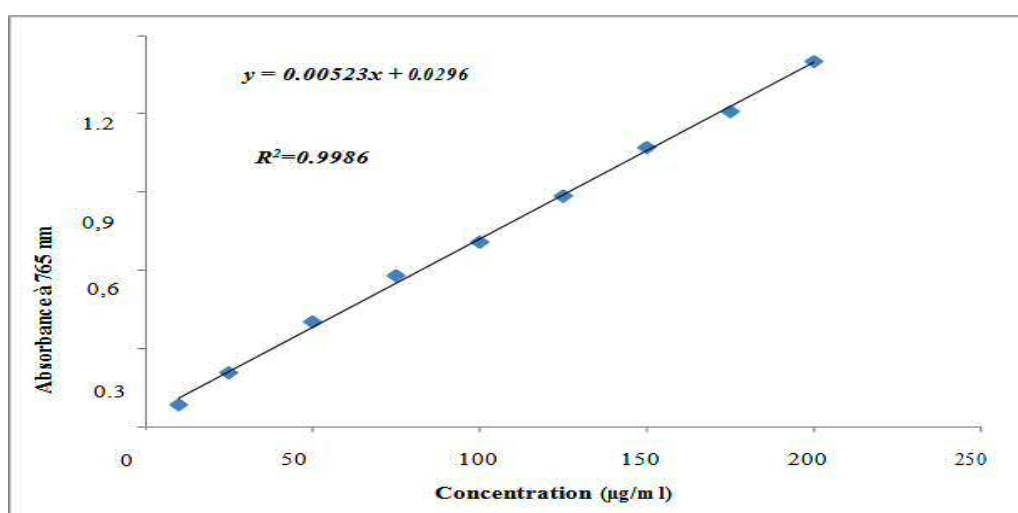


Figure 14. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (moyenne ± SD de trois mesures)

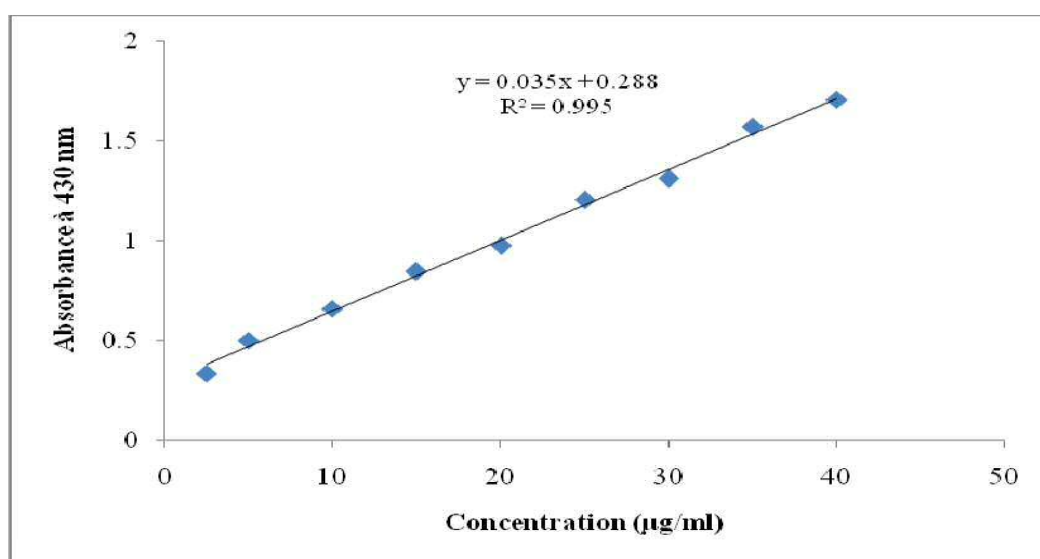


Figure 15. Courbe d'étalonnage de la Quercétine (moyenne ± SD de trois mesures)

Les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes sont mentionnées dans le suivant :

Tableau 3. Teneurs des polyphénols et flavonoïdes de l'extrait méthanolique des feuilles de *Marrubium vulgare*.

Concentration initiale (mg/ml)	0,2	0,4	0,6	0,8	1
Teneur en polyphénols (mg EAG/g d'extrait)	31,8±1.10	63,6±2.02	95,4±1.20	127,2±2.11	159,01±2.08
Teneur en flavonoïdes (mg EAG/g d'extrait)	3,46±0.09	6,92±0.09	10,38±0.02	13,84±0.03	17,31±0.03

Les valeurs représentent la moyenne de trois mesures ± SD

On remarque que la teneur en phénols et en flavonoïdes est proportionnelle à la concentration de l'extrait.

Ces résultats de dosage révèlent que l'extrait brut de l'espèce *Marrubium vulgare* contient une teneur de l'ordre de 159±2.08mg équivalent d'acide gallique par g d'extrait (mg EAG/g d'extrait). Et une teneur en flavonoïdes équivalente à 17.35±0.03mg EQC/g d'extrait. Nos valeurs sont proches des résultats de **Ghedadba *et al.*, (2014)** et assez loin à celles de **Djahra (2014)**.

Les résultats décalés résultent vraisemblablement de:

➤ La faible spécificité des réactifs de Folin-Ciocalte et trichlorure d'aluminium est l'inconvénient principal du dosage colorimétrique. Les réactifs sont extrêmement sensibles à la réduction de tout les groupes d'hydroxyles non seulement celles des composés phénoliques (**Prior *et al.*, 2005 ; Chebrouk, 2009**).

➤ Le solvant d'extraction emporte des substances non phénoliques comme les sucres, les protéines et les colorants qui peuvent interférer pendant toute évaluation phénolique (**Djeridane *et al.*, 2006**).

➤ La distribution des métabolites secondaires peut changer pendant le développement de la plante. Ceci peut être lié aux conditions climatiques dures (la température élevée, exposition solaire, sécheresse, salinité), qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols (**Falleh *et al.*, 2008**).

➤ La teneur de phénols totaux n'est pas stable, et se diffère d'une plante à une autre et entre les espèces du même genre. Cela dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) (Falleh *et al.*, 2008 ; Podsedek, 2007).

II.3. Analyses qualitatives

Cette technique informe sur le contenu en polyphénols et en particulier en flavonoïdes de l'extrait méthanolique. Les spots sont visualisés sous UV à 365 nm.

Le tableau suivant illustre les différentes tâches obtenues dans le chromatogramme avec leurs fluorescences et Rf (rapport frontal).

Tableau 4. Fluorescences et Rf des spots des plaques CCM

	Fluorescence	Rf	Type de molécule
BAW	Rouge	0.92	Anthocyanidine3-glycoside
	Rouge	0.87	Anthocyanidine3-glycoside
	Bleu blanc fluorescent	0.57	Flavonols Flavones Isoflavones, Flavanones
CME	Rouge	0.94	Anthocyanidine3 glycoside
	Rouge	0.50	Anthocyanidine3 glycoside Flavones

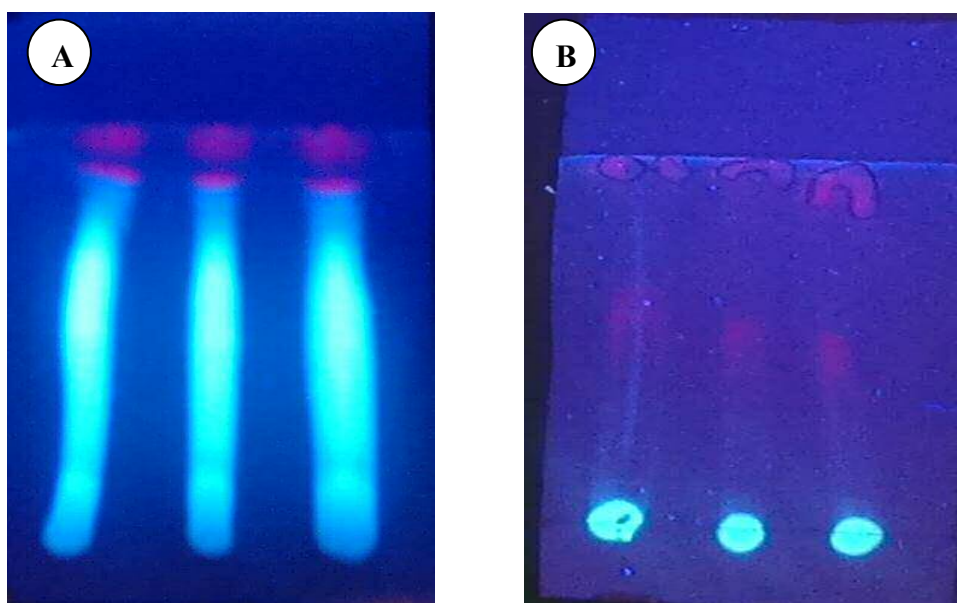


Figure 16. Les plaques CCM sous lampe UV à 365 nm des deux systèmes solvants BAW (A) et CME (B).

Les plaques obtenues des deux systèmes solvants présentent une bonne migration par conséquent une bonne séparation qui permet l'analyse qualitative des composés, les spots sont bien distincts et montrent une richesse considérable de la plante en substances flavonoïques. L'identification des composés était basée sur la comparaison de leurs fluorescences et Rf avec ceux des étalons.

L'extrait de *Marrubium vulgare* est riche en Anthocyanidine-3-glycoside, flavones qui correspondent aux tâches rouges et en flavonols, isoflavones, flavanones qui présentent la couleur bleu blanc fluorescent, Ceci est conforme avec les travaux de **Lima et ses collaborateurs (2007)**, ainsi que **Kosar et son équipe (2005)**. Ces derniers mentionnent que les plantes appartenant à la famille des lamiacées sont riches en flavonoïdes de type flavones et flavonols.

Les Rf différents sont dus à la polarité des composés vis-à-vis le système solvant de migration, et la phase stationnaire. Celle-ci s'installe suite à une différence au niveau du squelette moléculaire, dont les molécules méthylées ont un Rf plus élevé que celles glycosylées.

III.1. Evaluation *in vitro* de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique

La mise en évidence du pouvoir antioxydant de l'extrait de la plante a été réalisée par la méthode de piégeage du radical libre DPPH, dans le but de déterminer les concentrations d'inhibition du radical DPPH.

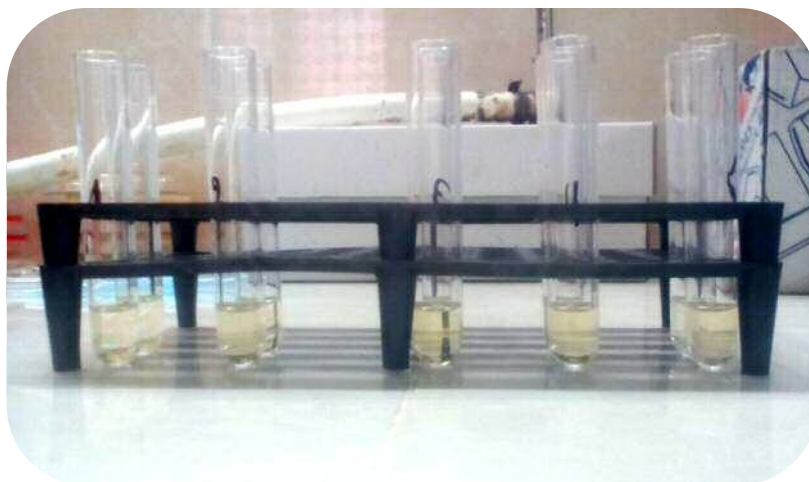


Figure 17. L'activité antioxydante et virage de la couleur violette vers le jaune

Les pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH par l'extrait méthanolique sont présentés dans le tableau ci-dessous

Tableau 5. Pourcentages de réduction du radical libre DPPH par l'extrait méthanolique de *Marrubium vulgare*.

Concentration initiale (mg/ml)	0,25	0,5	0.75	1	1,5	2
Concentration dans le mélange réactionnel	0.125	0.25	0.375	0.5	0.75	1
% d'inhibition	41.11±0.49	58.03±1.80	65±2.08	75±2.5	85.6±1.9	89.2±1.61

Les valeurs représentent la moyenne de trois mesures ± SD

Le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH par l'extrait sont portés sur la figure ci-dessous.

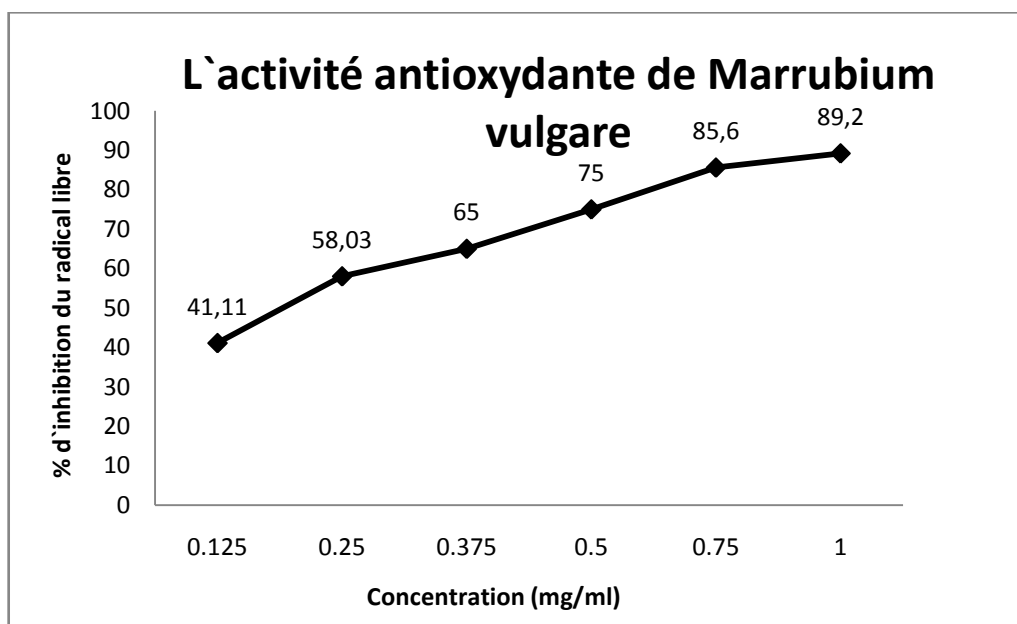


Figure 18. Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'extrait brut méthanolique de *Marrubium vulgare*.

D'après la figure ci-dessus, on remarque que le pourcentage d'inhibition du radical libre est proportionnel à l'augmentation de la concentration de l'extrait testé dans le mélange réactionnel. Le taux d'inhibition du DPPH le plus fort est environ 89,2%, obtenu avec la concentration 1mg/ml. Ce pourcentage est inférieur en comparaison avec le pourcentage obtenu par le standard (Quecetine) 95,94% avec la même concentration (1mg/ml) trouvé par **Bouzaher (2015)**.

III.1.1. Evaluation de l'IC50

IC50 est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC50 est basse plus l'activité antioxydante d'un composé est élevée (**Pokorny et al, 2001**). Elle a été calculée par régression linéaire de pourcentage d'inhibition calculé en fonction de différentes concentrations de l'extrait préparé.

Nos résultats indiquent que l'extrait méthanolique présente une activité remarquable vis-à-vis du piégeage du DPPH avec un IC50 de 0,175 mg/ml. Cette valeur est inférieure à celles trouvés par **Boudjelal (2012)** et **Djahra (2013)** obtenus à partir de l'extrait méthanolique des feuilles de *Marrubium vulgare* qui ont montré une activité antioxydante avec une valeur d'IC50 de l'ordre de 0,49 mg/ml et 0.45mg/ml et supérieure par rapport à celle obtenue avec le standard qui est de l'ordre de 0.01.

III.1.2. Corrélation entre l'activité antioxydante et le dosage chimique

Selon **Brunneton (2009)**, la famille des composés phénolique est dotée de nombreuses activités biologiques. Nous avons donc voulu vérifier s'il ya une corrélation positive entre l'activité antioxydante et la teneur en flavonoïdes totaux de notre plante.

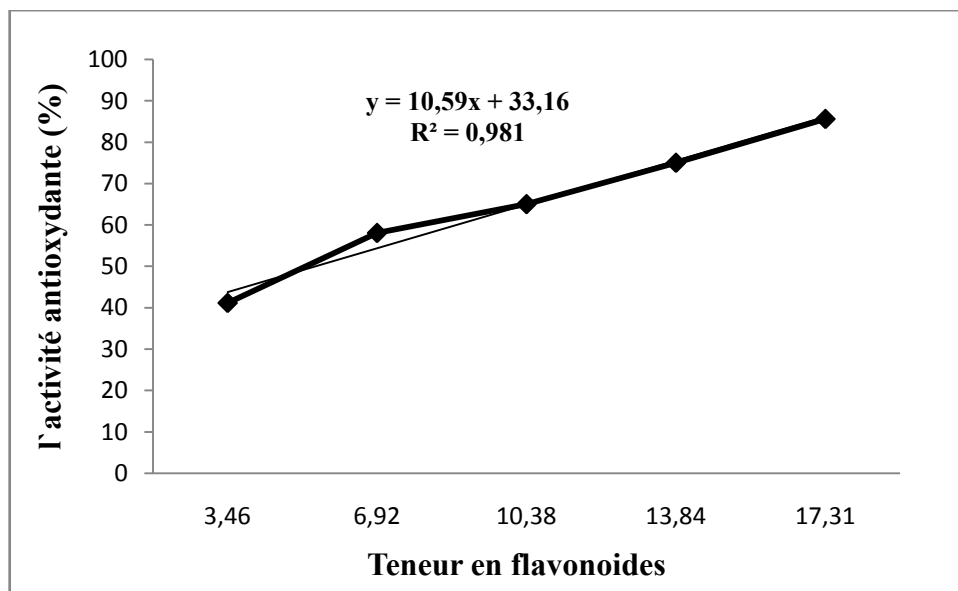


Figure 19. Courbe de corrélation entre l'activité antioxydante et la teneur en flavonoïdes.

D'après la courbe de corrélation (**figure 22**), une corrélation significative ($R^2=0.990$) a été signalée entre la teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait avec son activité antioxydante.

III.2. Evaluation *in vivo* de l'activité antipyrétique de l'extrait Butanolique

Cette partie de notre étude s'encadre dans le but de vérifier l'action antipyrétique de la plante *Marrubium vulgare* sur les rats *wistar*.

L'hyperthermie est induite par administration intraperitoniale, d'une suspension aqueuse de la levure de bière (20%).

Tableau 06 : Effet antipyrétique de l'extrait butanolique des feuilles *Marrubium vulgare* sur l'hyperthermie induite chez les rats par l'injection de la levure de bière

Lot	Dose (mg/kg)	Température (°C)					
		0 heure	1/2 heure	1 heure	2heure	3heure	4heure
NaCl	(0,9%)	36,36±0,41	36,94±0,25	37,46±0,2	37,96±0,1	38,18±0,2	38,68±0,2
E.BuOH	200	37,1±0,39	37,5±0,47	36,77±0,46	36,27±0,37	36,25±0,32	36,9±0,32
	400	37,8±0,58	38,1±0,41	36±0,29	35,47±0,19	34,62±0,11	34,82±0,34
Aspérine	500	36,54±0,2	37,38±0,4	36,8±0,5	38,42±0,4	37,92±0,4	37,41±0,3

p<0.001 est considéré très hautement significatif par rapport au témoin.

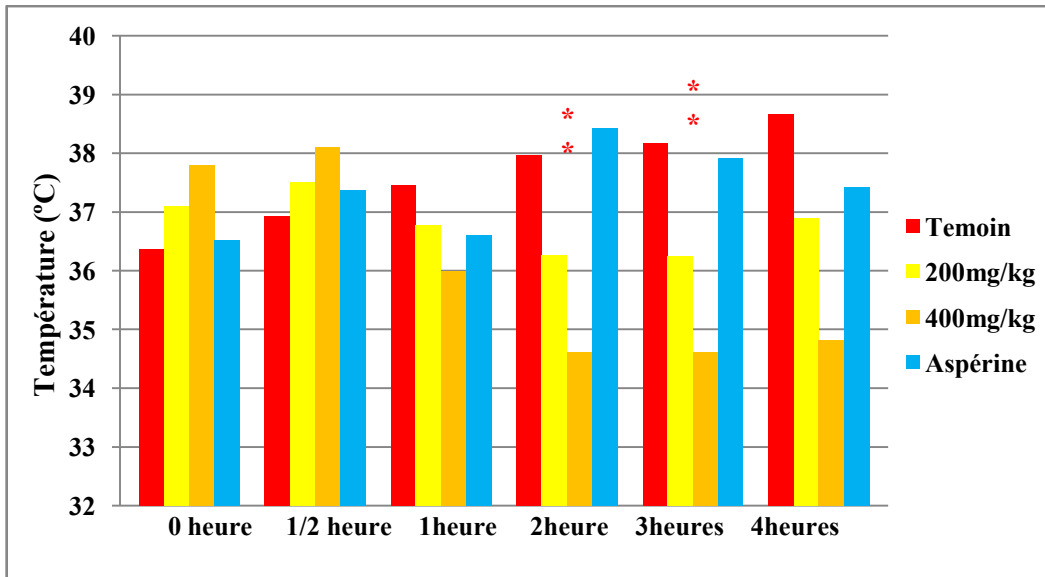


Figure 20. Relation effet-temps de l'extrait butanolique des feuilles de *Marrubium vulgare* et de l'acide acetylsalicylate de lysine sur l'hyperthermie induite chez les rats par la levure de bière.

On constate une diminution notable de la température du 1^{ère} heure jusqu'à 3^{ème} heure qui précède l'injection de la levure de bière, à une moyenne de **36,25 °C et 34,62°C** pour les dose de 200mg/kg et 400mg/kg successive. Cette diminution correspond à l'inhibition de la libération des cytokines (TNF α , IL 1 β , IL6) qui ayant atteint les vaisseaux sanguins stimulent la biosynthèse des prostaglandines (PGE2) aux environs du centre hypothalamique thermorégulateur (réactions immuno-inflammatoires) (**Ribeiro R. et al., 2010; Sajeli B. et al., 2010**).

Le test **anova** indique que l'extrait testé et l'acide acetylsalicylate concorde significativement l'hyperthermie induite par la levure de bière chez les rats, c-à-dire que leurs effets sur l'hyperthermie sont identiques et on a besoin d'une dose plus élevée pour une différence remarquable.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

La phytothérapie, proposant des remèdes naturels, est bien acceptée par l'organisme. Elle connaît actuellement un renouveau exceptionnel en occident du fait des effets secondaires induits par les médicaments inquiétant les utilisateurs qui font alors appel à une médecine plus douce. Les recherches pharmacologiques des plantes médicinales visent d'une part à valoriser les ressources liées à la biodiversité végétale et les connaissances empiriques associées à cette flore et D'autre part, tendent à découvrir les composés bioactifs des plantes médicinales.

Les études présentes dans ce manuscrit s'inscrivent dans la continuité de ces recherches pharmacologiques, Le travail que nous avons mené, a eu pour principal objectif l'étude phytochimique de la plante *Marrubium vulgare* et la vérification de son efficacité à savoir les activités biologiques.

Les résultats obtenus de criblage phytochimique des extraits méthanolique et butanolique montrent la richesse de la plante en métabolites secondaires, notamment les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, les saponines et les coumarines.

Le dosage colorimétrique a permis la quantification des polyphénols et des flavonoïdes de *Marrubium vulgare*, en adoptant les méthodes de Folin-Ciocalteu et de Trichlorure d'aluminium, les résultats ont constatés que cette plante est une source importante de polyphénols avec une teneur de $159,01 \pm 2.08$ /g d'extrait et de flavonoïdes avec une teneur de $17,31 \pm 0.03$ mg EQ/g d'extrait. Ces résultats sont confirmés par l'analyse qualitative (CCM) qui a montré la présence de plusieurs composés flavonoïdiques dans l'extrait testé.

On ce qui concerne l'activité antioxydante par le test de piégeage du radical libre DPPH, les résultats ont montrés un pourcentage d'inhibition élevé (89,2 %). Ce fort pouvoir de réduction et d'élimination de radicaux libres de l'extrait brut serait lié à la complexité en composés polyphénoliques présents et la synergie entre eux pour une meilleure activité biologique.

L'effet de l'extrait butanolique de la plante *Marrubium vulgare* sur l'hyperthermie induite par la levure de bière chez les rats *wistar* a révélé que les deux doses de l'extrait influent sur la température d'une façon significative, Néanmoins, avec la même influence de

l'acide acetylsalicylate, c'est pour cela on a besoin d'une dose plus élevée pour une différence remarquable.

Nos résultats préliminaires montrent que la plante *Marrubium vulgare* possède des propriétés pharmacologiques à savoir l'activité antioxydante *in vitro* et l'activité antipyrétique *in vivo*.

En perspectives :

➤ les résultats obtenus de l'étude de l'activité antioxydante confirment que l'extrait méthanolique pourrait bien rivaliser les produits chimiques synthétiques. Néanmoins, des travaux complémentaires restent fortement recommandés pour approfondir non seulement les connaissances sur les différentes molécules responsables de cette activité mais aussi pour cerner d'une manière plus fine les différentes actions possibles de ces composés et leur synergie.

➤ Partant du fait qu'une substance pouvant être très active *in vitro*, peut perdre cette activité une fois pénétrée dans le corps ; Une étude *in vivo* est souhaitable, pour obtenir une vue globale sur l'activité antioxydante de l'extrait testé.

➤ l'effet antipyrétique observé pourrait être amélioré par l'utilisation des concentrations plus fortes que celles testées, voire même supérieures à 700 mg/kg, mais aussi l'investigation des autres extraits à base de cette plantes.

➤ La contribution à l'étude de la toxicité de cette plante.

Références bibliographiques

- **Adjanohoum J.; Aké L.; Floret J.; Guinko S.; Koumaré M.; Ahyi A. et Raynal J., 1979.** Médecine traditionnelle et Pharmacopée Contribution aux études ethnobotaniques et florestiques au Mali, ACCT, Paris : 291.
- **Faraj A., 1995.** Plantes médicinales et aromatiques dans le monde arabe, l'agriculture et la fabrication de plantes médicinales dans le monde arabe. Institution arabe pour les études et publication : 2-22.
- **Al kadi, 1989.** Usage de quelques plantes dans la médecine populaire en libie, Vol1-2.
- **Amadou S., 2005.** Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Combretum glutinosum* Perr. Ex DC (Combretaceae), Thèse Présentée pour obtenir le diplôme de Doctorat, Univ. de Bamako : 13-20.
- **Aouadhi S., 2010.** Mémoire Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle étude de 57 plantes recommandées par les herboristes.
- **APG III, 2009.** An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: Bot. J. Linn. Soc.; 161: 105-121.
- **Attou A., 2011.** Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Rutachalepensis* (Fidjel) de la région d'Ain Témouchent, Mémoire de Magister en Biologie, Univ. Abou Bekr Belkaid -Tlemcen : 9-39.
- **Bahaz M., et Rachdi H., 2010.** Quantification des principes actifs (Les composés phénoliques) de *Rhinolepis lonandoides* Coss (Tichert), Mémoire de fin d'étude d'ingénieur, Univ. Kasdi Merbah-Ouergla.
- **Belfadel A., 2013.** Etude phytochimique et évaluation in vitro de l'activité antibactérienne de la partie aérienne de la plante médicinale «*Rutamontana*». Mémoire de Master en Microbiologie. Univ. Abbès Laghrour-Khenchela : 1-5.
- **Bellakhdar J., 1997.** Médecine Arabe Ancienne et Savoirs Populaires La pharmacopée marocaine traditionnelle, ibis Press.
- **Benarous K., 2009.** Effets des extraits de quelques plantes médicinales locales sur les enzymes: α -amylase, trypsine et lipase, Mémoire de fin d'étude d'Ingénieur d'état en génie biologique, Univ. Amar Telidji-Laghouat.
- **Bhat S. ; Nagasampigi B. et Sivakumar M., 2005.** Chemistry of Natural Products; Ed 1: NAROSA, SPRINGER: 115-252.
- **Bonnier G., 1909,** La Végétation de la France, Flore Complète. Tome 09. Ed : Suisse et Belgique. Paris, 25-26.
- **Bosserdet et Rivolier, 1977.** Secret et vertus des plantes médicinales of the Missouri Botanical Garden.Paris : 479-535.

- **Boudiaf K., 2006.** Etude des effets anti-xanthine oxydoréductase et anti-radicalaires des extraits des grains de *Nigella sativa*, Mémoire de magister. Sétif.
- **Boudjelal A. ; Henchiri C. ; Siracusa L. ; Sari M. et Ruberto G., 2012.** Compositional analysis and in vivo antidiabetic Activity of Wild Algerian *Marrubium vulgare* L, infusion. *Fitoterapia* 83: 286-292.
- **Boumaza A., 2009.** Effet de l'extrait méthanolique de *Zygophyllum cornutum* coss contre le stress oxydant associé au diabète sucré et les organes en relation, Thèse pour l'obtention du diplôme de Magister, Univ. Mentouri - Constantine : 40-51.
- **Bourgaud F.; Gravot A.; Milesi S. et Gontier E., 2001.** Production of plant secondary metabolites: a historical perspective, *Plant Science*. 161: 839-851.
- **Braithwaite A. et Smith F., 1999.** *Chromatographic Methods*, 5^{ème} Ed Academic Publishers. London: 548.
- **Bruneton J., 1993.** *Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales*, 2ème Ed Tec&Doc. Paris.
- **Bruneton J., 1999.** *Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales*. 3ème Ed Tec&Doc. Paris.
- **Bruneton J., 1987.** *Eléments de phytochimie et de pharmacognosie*, Ed : Tec & Doc Lavoisier. Paris. 584.
- **Charles M. et Benbrook P., 2005.** Accroître la teneur en antioxydants des aliments grâce à l'agriculture et à la transformation alimentaire biologiques, Rapport sur l'état des connaissances scientifiques. The Organic Center : 10.
- **Chebrouk F., 2009.** Caractérisations analytique de quelques composés polyphénoliques et terpéniques issus de la plante *Marrubium deserti* de la région de Ghardaïa, Mémoire de magister chimie organique appliquée. Univ. Kasdi Merbah - Ouargla: 60.
- **Chung K.; Wong T.; Wei C.; Huang Y. et Lin Y., 1998.** Tannins and human health, *Crit Rev Food Sci Nutr*, 38(6):421-64.
- **Dacosta Y., 2003.** *Les phytonutriments bioactifs*, Ed Yves Dacosta. Paris : 317.
- **Debete J., 2005.** Etude phytochimique et pharmacologique de *Cassia*.
- **Denis, S., 2010.** *Pharmacologie B.P : classes pharmacologique*, 4^{ème} édition. France : 84.
- **Derbel S. et Ghedira K., 2005.** Les phytonutriments et leur impact sur la santé, *Phytothérapie*, 1 : 28-34.
- **Djahra A., 2013.** Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L., Univ. Badji Mokhtar Annaba.

- **Djeridane, A.; Yous, M.; Nadjemi B.; Boutassouma D.; Stocker P. et Vidal N., 2006.** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds, *Food chem.* 97: 654-660.
- **Ekoumou C., 2003.** Etude phytochimique et pharmacologique de 5 recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite, Thèse de doctorat de l'université de Bamako.
- **Erlund I., 2004.** Review of the flavonoids, quercetin, hesperetin and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability and epidemiology. *Nutr Res* 24: 851-74.
- **Falleh H.; Ksouri R.; Chaieb K.; Bouraoui N.; Trabelsi N.; Boulaaba M. et Abdelly C., (2008)** Phenolic composition of *Cynara caradunculus* L. organs, and their biological activities, *C. R. Biologies.* 331: 372-379.
- **Farnsworth N.; Akerele O.; Bingel A.; Soejarto D. et Guo Z., 1986.** Place des plantes médicinales dans la thérapeutique, *Bulletin de l'organisation mondiale de la santé*, 64 (2) : 159-164.
- **Favier A., 2003.** Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique, *L'actualité chimique* : 108-115.
- **Ferhat M.; Kadi I. et Lahouaou A., 2009.** Recherche de substances bio actives de *centaurea microcarpa* coss et dur, Mémoire de Diplôme des Etudes Supérieures en Biologie, Univ. de Mohamed Boudiaf - M'sila: 3,4,10.
- **Ferrari J., 2002.** Contribution à la connaissance du metabolisme secondaire des Thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elles : *Gnidia involucrata* Steud. Ex A. Rich, Thèse de doctorat. Lausanne.
- **Firenzuoli F. et Gori I., 2007.** Herbal medicine today: clinical and research issues, *Evid Based Complement Alternat Med.* 4 (1): 37-40.
- **Fouché J. ; Marquet A. et Hambuckers A., 2000.** Les plantes médicinales de la plante au médicament, Observatoire du monde des plantes sart- Tilman.
- **Frutos P.; Hervás G.; Giráldez F. and Mantecón A., 2004.** Tannins and ruminant nutrition, *Spanish Journal of Agricultural Research*, 2 (2): 191-202.
- **Gamet L.; Manenti, S.; Gratacap M.; Tulliez J.; Chap, H. et Payrastré B., 1999.** Flavonoids and the inhibition of PKC and PI 3-kinase. *General Pharmacology.* 32: 279- 286.
- **Gars S.; Charles R. et Kumar S., 1999.** A new cyclic monoterpene glucoside from the capitula of *Tagetes patula*, *Fitoterapia*: 472- 474.

- **Ghedadba N.; Bousselfela H. ; Hambaba L. ; Benbia S. et Mouloud Y., 2014.** Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuries de *Marrubium vulgare* L, *Pharmavogues* : 10298-0832.
- **Ghedira K., 2005.** Flavonoids: structure, biological activities, prophylactic function and therapeutic uses, *Phytothérapie*, 3(4): 162-169.
- **Ghestem A.; Seguin E. ; Paris M. et Orecchioni A., 2001.** Le préparateur en pharmacie. Dossier 2, Editions TEC & DOC Paris : 275.
- **Gonzalez-Trujano M.; Pena E.; Martinez A. ; Moreno J. ; Guevara-Fefer P.; Deciga-Campos M. et Lopez-Munoz F., 2007.** Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents. *J Ethnopharmacol.* 111: 476-482.
- **Guerrida Z., 2011.** Contribution à l'étude de l'activité antioxydant De *Rhadinolobos lonadioides* Coss, Univ. kaasdi Merbah-Ouergla.
- **Guignard J., 2001.** Botanique systématique moléculaire. Ed: Masson. Paris : 290.
- **Guignard J.; Cosson L. et Henry H., 1995 :** Abrégé de phytochimie; Masson :224.
- **Harborne J. et Herbert B., 1995.** *Phytochemical Dictionary: A Handbook of Bioactive Compounds from Plants.* Bristol: Taylor & Francis.
- **Harborne J., 1998.** *Phytochemical Methods: A guide to moderne techniques of plant analysis* 3^{ème} Ed.: Chapman and Hill: 303.
- **Harborne J. et Williams C., 2000.** Advances in flavonoid research since 1992, *Phytochemistry.* 55: 481-504.
- **Hatzidimitriou E.; Nenadis N.; Tsimidou M., 2007.** Changes in the catechin and epicatechin content of grape seeds on storage under different water activity (aw) conditions, *Food Chemistry.* 105: 1504-1511.
- **Hemingway R., 1992.** Structural variation in proanthocyanidins and their derivatives. In: *Plant polyphenols: synthesis, properties, significance.* Laks P.E, New York.
- **Hennebelle T., 2006.** Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de lamiales productrices d'antioxydants : *Marrubium peregrinum*, *Ballota larendana*, *Ballota pseudodictamnus* (Lamiacées) et *Lippia alba* (verbénacées), Thèse Présentée pour obtenir le diplôme de Doctorat, Univ. de Lille-lille1 : 14, 22, 27, 29.
- **Igor, P., 2003.** Etude des activités biologiques de fagara, *Journal of Royal Society of Chemistry.* 18: 641-649.
- **Judd W.; Campbell C.; Kellogg E. et Steven P., 2002.** Botanique systématique: Une perspective phylogénétique, 1^{ère} Ed : Paris et Bruxelles : 369-384.

- **Kaabeche M., 1990.** Les Groupements Végétaux de la région de Boussaâda, Thèses Univ. Paris Sud.
- **Kar A., 2007.** Pharmacognosy and pharmabiotechnologie, 2^{ème} Ed: New Age International Publishers: 1-30.
- **Kessemi N., 2006.** Relation entre un insecte phytophage et sa principale plante hôte : cas du bruche du haricot (*Acanthoscelides obtectus*), (Coleoptera Bruchidae). Thèse de Magistère, Univ. Abou Bakr Belkaid - Tlemcen.
- **Khanbabae K and Ree T.R. 2001.** Tannins:Classification and Defenition.
- **Kosar M., Dorman H.J.D., et Hiltunen R. 2005.** Effect of an acid treatment on the
-
- **Kumaran A. et karunakaran R., 2005.** Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*, *Food chemistry*, **97**: 109-114.
- **Lambert N., 2013.** Apport de la phytothérapie dans la gestion médicale des chevaux âgés, Thèse de Doctorat. Univ. Claude-Bernard: p31-47.
- **Lechat et al (1982).** Pharmacologie. Secrétariat Faculté de médecine Pitié-Salpêtrière, Paris.
- **Lee K.; Kim Y. J.; Lee H. J et Lee C. Y. (2003)** Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxydant Capacity than Teas and Red wine. *J. Agric. Food Chem* .51: 7292-7295.
- **Lhuillier, A. (2007)** Contribution a l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia* Hook.f ex Oliver, *Agauria polyphylla* Baker (Ericaceae), *Tambourissa trichophylla* Baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* Baker (Myrsinaceae). Thèse de doctorat. Toulouse.
- **Lima C., Patricia C., Valentao R., Andrade P., Seabra.R., Fernandes- Ferreira. M., et pereira-Wilson C. 2007.** Water and méthanolic extracts of *Salvia officinalis* protect HepG2 cells from t-BHP induce oxidative damage. *Chemiobiological interaction.*, **167** : 107-115.
- **Maamri S,** « Etude de *Pistacia atlantica* de deux régions de sud algérien : dosage des lipides, dosage des polyphénols, essais antileishmaniens », Thèse pour l'obtention du diplôme de Magister (Université M'HAMED BOUGARA Boumerdes), 2008.
- **Mamadou B.** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Other. Universit_e Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, 2011. French.
- **Markham K.; 1982.** Techniques of flavonoids identification, Academic press, London. P 6-10.

- **Martin S., Andriantsitohaina R. (2002)** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*. 51: 304-315.
- **Meddleton, E; Kardasami, J.C. (1993)**. The flavonoids *Advances*. In: research since 1986. J B Harbone, Chapman and Hall, London, p 617-652.
- **Medjdoub H. (2007)**. Etude Phytochimique et Activité Biologique de *Zygophyllum geslini* Coss. Mémoire de Magister. Univ. Abou Bekr Belkaid, Tlemcen : p2.
- **Milane, H., (2004)** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat. Strasbourg.
- **Miliauskas. G., Venskutonis P.R., et Van Beek T.A. 2004**. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract. *Food chemistry.*, 85 : 231-237.
- **Miliauskas. G., Venskutonis P.R., et Van Beek T.A. 2004**. Screening of radical
- **Mogode J,** Etude phytochimique et pharmacologique de *Cassia nigricans* Vahl (Caesalpiniaceae) utilisé dans le traitement des dermatoses au Tchad », Thèse Présentée pour obtenir le diplôme de Doctorat (Université de Bamako), 2005, P 25-P 33.
- **Mohammedi Z. (2013)**. Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. Thèse de Doctorat. Univ. Tlemcen : 22-25.
- **Mohemmedi Z,** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen », Thèse pour l'obtention du diplôme de Magister (Université Abou Bakr Belkaïd Tlemcen), 2006.
- **Nadia Z. (2009)**. Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire de Magister en Biotechnologie Végétale. Univ. Mentouri Constantine : 17-32.
- **NEAL, M. (2003)**. Pharmacologie médicale. Paris:DeboeckPolytechniqueFédérale, Zurich, Suisse. (Prom. No. 1937).Thèse présentée pour l'obtention du grade de Docteur ès Sciences Techniques. *EcolezanthoxyloidesLam (Rutaceae)*. Thèse, pharmacie, Bamako, Mali, p17.
nigricans Vahl (Caesalpiniaceae) utilisé dans le traitement des dermatoses au
nigricans Vahl (Caesalpiniaceae) utilisé dans le traitement des dermatoses au
- **Nijveldt R. J., van Nood E., van Hoorn D. E. C., Boelens P. G., van Norren K., vanLeeuwen P. A. M. (2001)**: Flavonoids: a review of probable mechanisms of actionsandpotential applications. *American Journal of Clinical Nutrition* 74 418.

- **Novak, I.; Buzas, G.; Minker, E.; Kolfai, M. et Szendrei, K.** *Planta med.* **1966**, 14, p: 57.
of plant analysis 3e ed. :chapman and hill.1998. 303p.
- **Okamura H, Mimura A and Yakou Y (1993).** Antioxydant activity of Tannins and flavonoid in Eucalyptus rostarta. *Phytochem*, 33, 557-561.
- **Okuda T, Kimura Y, Yoshida T and Hatanv T (1983).** Studies on the activities of tannins And Related coumpounds from medicinal plant and drugs. Inhibition effects of lipid peroxidation in mithchordria and microsome of liver. *Chem pharm Bull*, 31, 1625-1631.
- **Razek O. et El Sayed haykle M, 1993:** plantes médicinales et aromatiques deuxième édition, installations connaissances d'Alexandrie, p: 13-134.
- **OMS (Organisation Mondiale de la Santé), 2000 :** Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation relatives à la médecine traditionnelle; 1 : 1-79.
- **Pajero I., Codina C., Petrakis C. & Kefalas P., 2000.** Evaluation of scavenging activity assesses by Co (II)/ EDTA- induced luminal chemilunes-cence and DPPH (2,2-diphényl-1- pycryl- hydrazyl) free radical assay. *J Pharmacol Toxicol assay. J Pharmacol Toxicol Method.* 44: 507-512.
- **Paris R.R, Moysse H., 1965,** Précis de matière médicale, Tome 1, Masson et Cie, Editeurs.
- **Parmar, N.S., Ghosh, M. N. (1980)** Current trends in flavonoid research. *Ind. J. Pharmac.*12: 213-228.
- **Paul Mdeurick.** Medicinal natural products, a biosynthetic approach. 2ème edition, Wiley,2002.
- **Peronny S ,2005)Peronny S. (2005).** La perception gustative et la consommation des tannins chez le MAKI (Lemur Catta).Thèse de Doctorat du Muséum national d'histoire naturelle. Discipline Eco-Ethologie .151p
phytochemical and antioxidant characteristics of extracts from selected lamiaceae
- **Podsedek., A. (2007)** Natural antioxydant capacity of Brassica vegetables : A review. *LWT.* 40:1-11.
- **Pokorny J., Yanishlieva N. et Gordon M. (2001).** Entioxydants in food, practical applications. Woodhead publishing limited. ISBN 1 85573 463 X.
- **Prior R.I., WU X.L. Schaich K. (2005).** Standardisez methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agric. Food Chem.,* 53 (10): 4290-4302.
- **Quezel P., Santa, S., 1963.** La nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques mériionales. Tome II, Ed : CNRS. Paris. 360-361 p.
Rev, 52, 673-751

- **Sawadogo WR, Boly R, Lompo M, et al. (2006)** Antiinflammatory, analgesic and antipyretic activities of *Dicliptera verticillata*. *Int J Pharmacol* 2(4) :435-8 .
scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract. *Food chemistry*.,
species. *Food chemistry*., **91** : 525-533.
Tchad. Thèse de doctorat de l'université de Bamako
Tchad. Thèse de doctorat de l'université de Bamako.

- **Torres R.**, Faini F., Modak B., Urbina F., Labbe C., Guerrero J., 2006 : Antioxydant activity of coumarins and flavonols from the resinous exudate of *Haplopappus multifolius*. *Phytochemistry*. 67:984-987.

traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite. Thèse de doctorat de l'université de Bamako.

- **Treki A. 2002.** Effets biologiques de polyphénols extraits de plantes médicinales *Ranunculus repens* et *Thymus hirtus* sur l'activité de microorganismes responsables de certaines pathologies. Thèse de magistère de l'université de Constantine.

- **Trese G.E et Evans W.C, 1989.** *Pharmacognosy* 2nd Edn. Braille Tiridel and Macmillan Publishers.

- **Tu Y.C., Lian T.W., Yen J.H., Chen Z.T., Wu M.J. ; 2007.** Antiatherogenic effects of kaempferol and rhamnocitrin. *J. Agric. Food Chem.*, 55(24), 9969-9976

- **Vuorela S. (2005)** Analysis, isolation. and bioactivities of rapeseed phenolics. Helsinki.p,100.105.

- **Waler, G.R. And Nowacki, E.K.** *Alcaloids Biology and Metabolism plants*. Plenum Press, New York, (1978) 294p.

- **Wong, C.C., Li H.B., Cheng, K.W., Chen, F. (2006)** A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chem*. 97: 705-711

- **Yi-Zhong C., Mei S., Jie X., Qiong L., Corke H., 2006.** Structure-radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. *Life Sciences*.78(25): 2872-2888.

- **Zeghad N. (2009).** Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité. Mémoire de Magister. Univ. Mentouri Constantine : 2-4.

- **Zimmer N et CordesseR. ,1996)** Influence des tannins sur la valeur nutritive des aliments des ruminants Ed INRA ProdAnim, 9 :167-179. INFLAMMATION. Annual Review of Nutrition, 25, 151-175. nutrition.Spanish Journal of Agricultural Research, 2 (2), 191-202. Zoueglache S, 2008).

Annexes

Annexes 01

➤ L'eau physiologie

NaCl..... 9g
 Eau distillée..... 1000 ml
 Stérilisation à l'autoclave

➤ Réactif de MAYER :

Chlorure de mercure.....1,36 g
 Iodure de potassium.....5 g
 Eau distillée.....jsq 100 ml

Réactifs chimiques et appareillages

Produits chimiques et solvants	Methanol (CH ₃ -OH), Chloroform (CHCl ₃), Ether de pétrole, Acétate d'ethyle, Butanol, Les copeaux de magnésium, Acide sulfurique, Ethanol, Iodure de Potassium, FeCl ₃ , NH ₄ OH, NaOH, Na ₂ CO ₃ .
Solutions de travail	Réactifs de Folin-Ciocalte, réactif AlCl ₃ , levure de bière, DPPH (1,1- diphényl-2-picrylhydrazyl).
Appareillage	Rota vapeur, Balance électriques, Etuve, Vortex, Agitateur, Spectrophotomètre UV-VIS, Chambre d'observation UV, thermomètre.



Figure 1. Evaporation des phases organiques obtenues par Rotavapeur



Figure 2. Extraction liquide-liquide de la phase chloroformique (A) et butanolique (B)



Figure 3. Injection par voie orale de l'extrait (gavage) (A) et mesure de température (B)