

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère De l'Enseignement Supérieur et De la Recherche Scientifique



UNIVERSITE ABBES LAGHROUR - KHENCHELA

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE

**MEMOIRE**

**Présenté pour l'obtention du diplôme de**

**MASTER**

**Filière : Biologie**

**Option : Biochimie appliquée**

**Thème**

**Etude de l'effet antipyrétique et antioxydant de  
la plante médicinale *Marrubium vulgare* de la  
région de Khenchela**

**Présenté par :**

M<sup>elle</sup> AGABA HANA

M<sup>me</sup> BAHRI MERYEM

**Encadré par :**

M<sup>me</sup> KARAALI WAHIBA

**Jury de soutenance :**

Président : M<sup>r</sup> LAABASSI A

(M.C.B) Univ. Abbès Laghrou-Khenchela

Rapporteur : M<sup>me</sup> KARAALI W

(M.A.A) Univ. Abbès Laghrou-Khenchela

Examineur: M<sup>r</sup> LARBAA R

(M.A.B) Univ. Abbès Laghrou-Khenchela

**Promotion : Juin 2016**

---

Travail réalisé au niveau du Campus des Laboratoires Pédagogiques, Université de Khenchela.

## *Remerciements*

*Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements à DIEU de nous avoir donné le courage et la Volonté d'achever ce travail.*

*Nous exprimons nos profonds remerciements et nos vives reconnaissances à Madame KARALI W, Maitre assistant à l'Université Abbès Laghrour de Khenchela, d'avoir dirigée ce travail.*

*Je remercie Monsieur LABASSI A, Maitre de conférences à l'Université Abbès Laghrour de Khenchela d'avoir accepté d'assurer la présidence du jury de soutenance.*

*Nous adressons également nos sincères remerciements à Monsieur LARBAA R, Maitre assistant à l'Université Abbès Laghrour de Khenchela, d'avoir accepté de juger ce modeste travail*

*Nous tenons également à exprimer notre gratitude et notre respect à Monsieur Zeraïb A Maitre assistant à*

*l'Université Abbès Laghrour de Khenchela, pour l'aide précieuse qu'ils nous ont apporté.*

*Un grand merci à toute l'équipe du Campus des Laboratoires Pédagogiques de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, qui ont mis à notre disposition tout le matériel nécessaire pour la réalisation de ce travail.*

*Mes sentiments de reconnaissance et mes remerciements vont également à l'encontre de toute personne qui a participé de près ou de loin directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.*

# *Dédicace*

*Je dédie se travail à*

*Mes chers parents pour leur sacrifice,  
amour, tendresse et encouragement*

*Mes chères sœurs : Meriem et son marie  
Abed el Basset et leurs enfants Loulou,  
Midou et Jouri, Hayette et son marie,  
Iman et Mounira*

*Mon cher frère : Djalel*

*Je remercie très spécialement R.M pour  
l'inlassable soutient qu'il m'a toujours  
accordé*

*A tout le groupe de ma promotion, Qui  
resteront un bon souvenir pour toujours*

*HANA*



# *Dédicace*

*Je dédie ce travail à mes très chers parents, Qu'ils trouvent ici toute ma Gratitude pour leur patience, Leurs sacrifices et leur soutien tout au long de mes études. Qu'Allah leurs prête Santé*

*A mon très cher mari HASSAN L'homme de ma vie et la lumière de mon chemin pour sa compréhension, et ses encouragements*

*A mes chers frères et mes chères sœurs que Dieu les bénisse*

*A tous les membres de ma deuxième famille*

*A tous mes amies et collègues*

*A tout le groupe de ma promotion*

*Meryem*



## SOMMAIRE

page

Liste Des Abréviations

Liste Des Figures

Liste Des Photos

Liste Des Tableaux

## Introduction

01

## CHAPITRE I : Partie Bibliographique

<b>I. Généralités sur les plantes médicinales et les métabolites secondaires</b>	03
I.1. Définition	03
I.2. Principes actifs des plantes médicinales	03
I.3. La phytothérapie	03
I.4. Les métabolites secondaires des plantes médicinales	04
I.4.1. Définition des métabolites secondaires	05
I.4.2. Les différents types des métabolites secondaires	05
1.4.2.1. Les polyphénols	05
1.4.2.2. Les Flavonoïdes	06
1.4.2.3. Les tanins	06
1.4.2.4. Les alcaloïdes	07
1.4.2.5. Les Coumarines	08
1.4.2.6. Les Saponosides	08
<b>II. Aperçu bibliographique sur la plante étudiée :</b>	09
<i>Marrubium vulgare</i>	
II .1. Description de la plante	09
II .2. Systématique de <i>Marrubium vulgare</i>	10
II.3. Localisation et répartition	10
II .4. Les Métabolites secondaires de la plante	11
II .5. Utilisation en médecine traditionnelle	11
<b>III. La fièvre</b>	12
III.1. Définition	12
III.2. La physiopathologie de la fièvre	12
III.2.1. Les substances pyrogènes	13
III.2.2. Mécanismes d'apparition de la fièvre	13
III.3. Les systèmes antipyrétiques	14
III.3.1. Mode d'action des antipyrétiques	14
<b>VI. Radicaux libres, stress oxydatif et antioxydants</b>	16
VI.1. Le stress Oxydant	16
VI.2. Les radicaux libres	16

VI.2.1. Source des radicaux libres	18
VI.2.2. Rôles biologiques des radicaux libres	19
VI.2.3. Les maladies liées au stress oxydatif	19
VI.3. Les antioxydants	20
<b>V. les Flavonoïdes</b>	22
V.1. Définition	22
V.2. Structure des flavonoides	22
V.3. Classification des flavonoides	23
V.4. Propriétés des flavonoïdes	24
<b>Chapitre II. Matériels et Méthodes</b>	
<b>I. Matériels</b>	26
I.1. Matériel biologique (Echantillonnage)	26
I.1.1. Matériel végétal	26
I.1.2. Matériel animale	26
I.2. Réactifs chimiques et instrumentations	26
<b>II. Méthodes</b>	27
II.1. Méthodes concernant le matériel végétal	27
II.1.1. Préparation de l'extrait méthanolique	27
II.1. 2. Préparation de l'extrait aqueux	27
II.1.3. Screening chimique de la plante	27
II.1.3.1. Recherche des tanins	28
II.1.3.2. Recherche des saponosides	28
II.1.3.3. Recherche des flavonoïdes	28
II.1.3.4. Recherche des composés réducteurs	28
II.1.3. 5. Recherche des alcaloïdes	28
II.1.3. 6. Recherche des anthraquinones	29
II.1.3. 7. Recherche des quinones	29
II.1.3. 8. Recherche des coumarines	29
II.1.3.9. Recherche des stéroïdes	29
II.1.3.10. Recherche des composés phénoliques	29
II.1.4. Etude quantitative- Dosage des flavonoïdes-	30
II.1.5. Etude qualitative	30
II.1.5.1. Chromatographie sur couche mince	30
II.1.5.3. Calcul du Rapport frontal	31
II.2. Etude des activités biologiques des extraits de <i>Marrubium vulgare</i>	31
II.2.1. Estimation <i>in vitro</i> de l'effet scavenger de l'extrait méthanolique vis-à-vis du radical libre DPPH°	31
II.2.2. Etude de l'activité antipyrétique	32

II.3. Etude statistique .....	33
<b>Chapitre III. Résultats et discussion</b>	
I. Le rendement des Extraits .....	35
II. Tests de mise en évidence de certains métabolites phytochimiques .....	36
III. Dosages des flavonoïdes .....	37
IV. Essai d'identification des flavonoides par la chromatographie sur couche mince .....	38
V. Etude des activités biologiques de l'extrait méthanolique de <i>M.vulgare</i> .....	45
V.1. Détermination de l'activité anti-radicalaire des extraits <i>M.vulgare</i> par la méthode de DPPH° (effet scavenger) .....	45
V.2. Résultats de l'activité antipyrétique .....	48
V.3. Etude statistique .....	49
<b>Conclusion et perspectives</b> .....	51
<b>Références bibliographiques</b> .....	53

**Résumés**

**Abstract**

**المخلص**

# LISTE DES ABRÉVIATIONS

- A<sub>B</sub>** : L'absorbance du blanc
- ABTS** : Acide 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzoline-6-sulphonique)
- A<sub>E</sub>** : L'absorbance de l'échantillon
- AINS** : Anti-inflammatoires non stéroïdiens
- AlCl<sub>3</sub>** : Chlorure d'aluminium :
- ANOVA** : Analyse de la variance à un critère de classification
- AO** : Antioxydants
- BHA** : 2,3-ter-butyl-4-methoxyphenol
- BHT** : 2,6-di-terbutyl-4-methylphenol
- C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH** : Éthanol
- CAT** : Glutathion peroxydase GPX
- CCM** : Chromatographie sur couche mince
- CH<sub>3</sub>OH** : Méthanol
- CHCl<sub>3</sub>** : Chloroforme
- DPPH** : Diphénylpicryl-hydrazyl
- EAMV** : Aqueux de *Marrubium vulgare*
- EMMV** : Extrait méthanolique de *Marrubium vulgare*
- EQ / g E** : Equivalent de la quercitine par gramme d'extrait
- ERN** : Espèces réactives de nitrogène
- ERO** : Espèces réactives de l'oxygène
- FeCl<sub>3</sub>** : Chlorure de fer(III)
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Le peroxyde d'hydrogène
- HCl** : Chlorure d'hydrogène
- HClO** : Myéloperoxydase

**IL** : Interlukines

**K<sub>3</sub>Fe(CN)** : Ferricyanure de potassium

**Lps** : Lipopolysaccharides

**Na Cl** : Chlorure de sodium

**NaOH** : Hydroxyde de sodium

**NH<sub>4</sub>OH** : Hydroxyde d'ammonium

**NO<sub>2</sub>** : Dioxyde d'azote

**OH** : Le radical hydroxyle

**O<sub>2</sub><sup>-</sup>** : Le radical superoxyde

**OH•** : Radical hydroxyl

**OMS** : l'Organisation Mondiale de la Santé

**PG** : Propylgallate

**PGE<sub>2</sub>** : prostaglandines E<sub>2</sub>

**Pp** : Poids de la poudre en gramme (g)

**PP** : polyphénols

**Ps** : Poids de l'extrait sec en gramme (g)

**R** : Rendement

**Rf** : Rapport frontal

**RLO** : Radicaux libres de l'oxygène

**SOD** : Superoxyde dismutase

**TBHQ**: Tert-butyl hydroquinone

**TNF** : Tumor necrose factor

**UV** : Rayonnements Ultra Violet

**V/V**: Volume/Volume

## LISTE DES FIGURES

Figure	Titre	page
<b>01</b>	La répartition de <i>Marrubium vulgare</i> en Algérie et dans la zone d'étude (daïra de chechar wilaya de kenchela).	<b>10</b>
<b>02</b>	Mécanisme de la fièvre (Robin E,2014)	<b>14</b>
<b>03</b>	Mode d'action des antipyrétiques (Robin E,2014)	<b>15</b>
<b>04</b>	Formation des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et nitrogène (ERN) (Codoner-Franch P et al., 2010)	<b>17</b>
<b>05</b>	Les systèmes de défense contre les radicaux libres (Dacosta, 2003)	<b>21</b>
<b>06</b>	Structure de base des flavonoïdes ; (B) : Schéma simplifié des flavonoïdes (Lugasi et al.,2003)	<b>22</b>
<b>07</b>	Structure de radical DPPH° (A) Forme radicalaire (B) Forme réduit(Koleva et al., 2002)	<b>31</b>
<b>08</b>	Le pourcentage de rendement des extraits de <i>M. vulgare</i> , (A) extrait méthanolique, (B) extrait aqueux	<b>35</b>
<b>09</b>	Courbes d'étalonnage de la quercétine	<b>38</b>
<b>10</b>	Les concentrations des extraits méthanolique de <i>M.vulgare</i> qui inhibent 50 % du radical DPPH°.	<b>47</b>

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Titre	page
<b>01</b>	Les différentes classes et structure des flavonoïdes	<b>23</b>
<b>02</b>	Le rendement d'extrait méthanolique (EMMV) et aqueux (ETAMV) de <i>Marrubium vulgare</i>	<b>35</b>
<b>03</b>	Analyse phytochimique préliminaire d'extrait méthanolique et aqueux de <i>M.vulgare</i>	<b>36</b>
<b>04</b>	Teneur en flavonoïdes de l'EMMV	<b>38</b>
<b>05</b>	Résultat de la CCM de EMMV : <b>système solvant</b> Butanol/ Acide acétique/ Eau distillée (4 :1:5): <b>Adsorbant</b> : gel de silice	<b>39</b>
<b>06</b>	Résultat de la CCM de EMMV : <b>système solvant Acide acétique/ Eau distillée</b> (15:85) <b>Adsorbant</b> : gel de silice	<b>40</b>
<b>07</b>	Résultat de la CCM de EMMV : système solvant Acétone/ Eau (1 : 1)V /V Adsorbant : gel de silice distillée	<b>41</b>
<b>08</b>	Résultat de la CCM de l'EMMV : <b>système solvant</b> Acétate d'éthyle/ Ac formique/ Ac acétique/ Eau distillée (100 :11 :11 :26) <b>Adsorbant</b> : gel de silice	<b>42</b>
<b>09</b>	Résultat de la CCM de l'EMMV : système solvant Chloroforme / Acétone/ammoniaque10% (80 :40 :18)	<b>43</b>
<b>10</b>	Interprétation des couleurs des spots en différentes classes de flavonoïdes	<b>45</b>
<b>11</b>	Les pourcentages de réduction du radical DPPH°	<b>46</b>
<b>12</b>	Effet de l'extrait méthanolique de <i>M. vulgare</i> sur la fièvre induite par la levure de bière chez des rats Wistar	<b>48</b>
<b>13</b>	Effet de l'extrait aqueux de <i>M. vulgare</i> sur la fièvre induite par la levure de bière chez des rats Wistar.	<b>48</b>

## LISTE DES PHOTOGRAPHIES

Photos	Titre	page
<b>01</b>	Vue générale de la plante de <i>Marrubium vulgare</i> prise à partir du site d'étude en 2016 ,(A) la plante entière,(B) les fleurs ,(C) les feuilles.	<b>09</b>
<b>02</b>	photo de chromatogramme résultant de l'analyse EMMV par Chromatographie sur gel de silice par le système solvant : Butanol/ Acide acétique/ Eau distillée (4 :1:5) révélation à l'UV, $\lambda=365\text{nm}$	<b>40</b>
<b>03</b>	photo de chromatogramme résultant de l'analyse EMMV par Chromatographie sur gel de silice par le système solvant Acide acétique/ Eau distillée (15:85): révélation à l'UV, $\lambda=365\text{nm}$	<b>41</b>
<b>04</b>	photo de chromatogramme résultant de l'analyse EMMV par Chromatographie sur gel de silice par le système solvant Acétone/ Eau distillée (1 : 1) v/révélation à l'UV, $\lambda=365\text{nm}$	<b>42</b>
<b>05</b>	photo de chromatogramme résultant de l'analyse EMMV par Chromatographie sur gel de silice par le système solvant Acétate d'éthyle/ Ac formique/Ac acétique/ Eau distillée (100 :11 :11 :26) :révélation à l'UV, $\lambda=365\text{nm}$	<b>43</b>
<b>06</b>	photo de chromatogramme résultant de l'analyse EMMV par Chromatographie sur gel de silice par le système solvant Chloroforme /Acétone/ammoniaque10%	<b>44</b>



# ***Introduction***

### Introduction

Les antipyrétiques de type anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) comme Ibuprofen, Ketoprofen et l'Aspirine sont largement prescrits en raison de leur efficacité dans la prise en charge de la fièvre. Cependant, leur utilisation thérapeutique à long cours est souvent associée à des effets indésirables tels que les ulcères gastro-intestinaux et l'insuffisance rénale, (**Corrado B et al.,2008**) ainsi que pour les antioxydants commerciaux utilisés qui étaient des antioxydants synthétiques, tels que le 2,3-ter-butyl-4-methoxyphenol (BHA), 2,6-di-terbutyl-4-methylphenol (BHT), le tert-butyl hydroquinone (TBHQ) et le propylgallate (PG), qui ont été suspectés parce qu'ils possédaient une certaine toxicité et qu'ils étaient responsables des dommages causés dans le foie et de la carcinogénèse. (**Tawaha, K et al.,2007**).

Dans ce contexte, le recours aux ressources naturelles et plus particulièrement aux plantes médicinales devient une importante voie alternative à explorer (**Chebaibil ,1986**) afin de découvrir des antipyrétiques et des antioxydants efficaces à moindre effets secondaires et cela pour remplacer ceux qui sont synthétiques.

Les produits naturels occupent une place importante dans la découverte de nouveaux médicaments. On estime que près de 50% des agents thérapeutiques utilisés actuellement sont de sources naturelles (plantes, champignons et animaux).

Pour l'OMS, plus de 80% des populations africaines ont constamment recours à la médecine traditionnelle et à la pharmacopée traditionnelle pour faire face aux problèmes de santé. (**Sofowora A, 1993**).

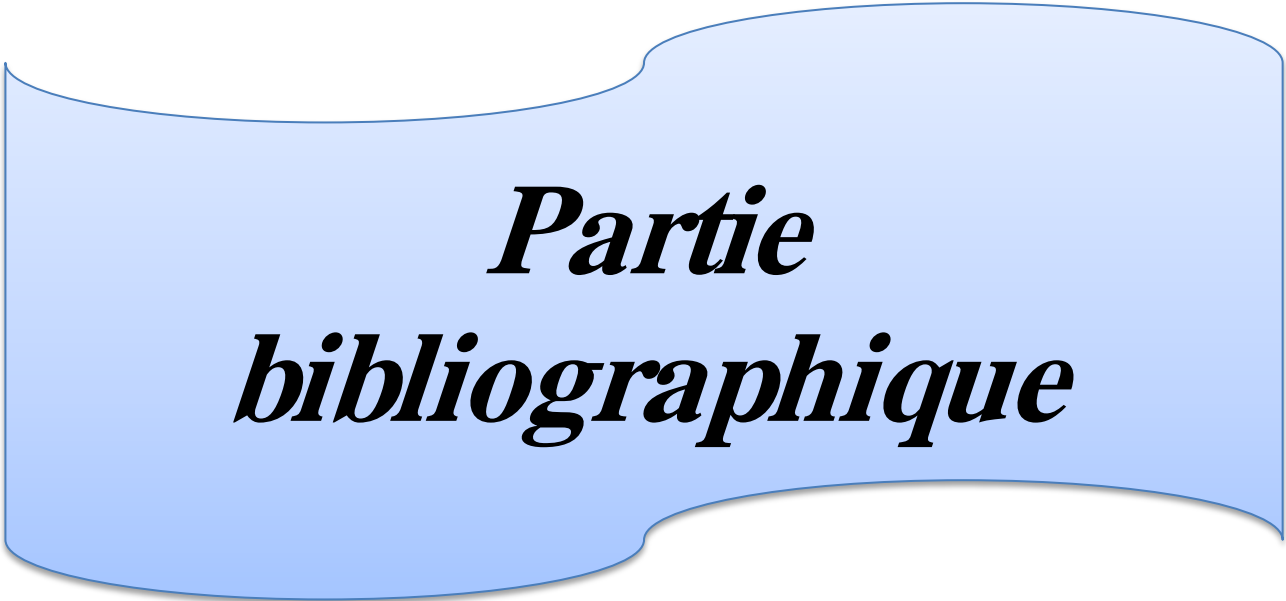
L'Algérie, pays connu pour sa biodiversité et son climat, dispose d'une flore particulièrement riche et variée. On compte environ 3000 espèces de plantes dont 15% endémique et appartenant à plusieurs familles botaniques, est une plate-forme géographique très importante qui mérite d'être explorée dans le domaine de la recherche des molécules à activité biologique originaires de plantes. (**BOULDJADJ R, 2009**).

C'est pourquoi, nous nous sommes intéressés à étudier *Maribium vulgare.L.*, famille des Lamiacées communément connu par le nom Marriouth ou Marrube blanc, c'est une plante spontanée très répandue dans la région méditerranéenne. Elle est très utilisée en médecine traditionnelle comme antispasmodique, antidiabétique, diurétique et en cas d'infections respiratoires. Il est aussi employé pour combattre la cellulite et l'obésité. Plusieurs de ces

utilisations traditionnelles ont été confirmés par des essais scientifiques ; le marrube blanc est considéré comme antidiabétique. (BOUDJELAL A, 2013).

A cet effet, il constitue à notre avis, une source non négligeable de recherche de substances naturelles à activité antioxydante et antipyrétique. Notre présente étude s'inscrit dans cet objectif et elle a porté sur :

- Une étude phytochimique qui a permis d'identifier certains groupes chimiques bioactifs contenus dans les extraits aqueux et méthanoliques de la plante étudiée *Marrubium vulgare* .
- Etude quantitative afin d'estimer la quantité des flavonoïdes dans l'extrait méthanolique ainsi que la séparation des principaux flavonoïdes dans cet extrait par l'utilisation de la chromatographie sur couche mince.
- Estimation *in vitro* de l'effet scavenger de l'extrait méthanolique vis-à-vis du radical libre DPPH°.
- Evaluer l'activité antipyrétique d'extrait méthanolique et aqueux de *Marrubium vulgare in vivo* chez des rats wistar.



***Partie  
bibliographique***

## **I. Généralités sur les plantes médicinales et les métabolites secondaires**

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. Acte effet, il constitue à notre avis, une source non négligeable de recherche de substances naturelles. **(Quezel, 1963).**

La médication par les plantes ou phytothérapie, était d'usage courant dans les plus Anciennes civilisations qui s'intéressaient aux vertus curatives de certains végétaux. On peut dire qu'il s'agit d'une des premières manifestations de l'effort immémorial de l'homme pour comprendre et utiliser la nature. **(Bossardet et Rivolier, 1977).**

### **I.1. Définition**

Définition d'une plante médicinale est très simple. En fait il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. **(Farnsworth et al., 1986).**

Environ 35 000 espèces de plantes sont employées par le monde des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne. **(Eelqaj et al., 2007).**

### **I.2. Principes actifs des plantes médicinales**

Le métabolisme de la plante verte produit avant tous des glucides (sucres) et des protides. Une fraction des glucides est ensuite transformée en composés divers dont les lipides sont les plus importants pour la plante, mais le métabolisme fournit aussi plusieurs corps secondaires que l'homme utilise dans son arsenal thérapeutique, il s'agit des alcaloïdes, des hétérosides, des huiles essentielles et des tanins, les végétaux nous fournissent également des vitamines, des oligoéléments, et des antibiotiques (champignons microscopique). **(Bruneton J, (1999).**

### **I.3. La phytothérapie**

La phytothérapie fait partie des médecines parallèles ou des médecines douces. C'est le traitement ou la prévention des maladies par l'usage des plantes. La phytothérapie est

l'usage courant dans les plus anciennes civilisations qui s'intéressaient aux vertus curatives de certains végétaux. On peut dire qu'il s'agit d'une des premières manifestations de l'effort immémorial de l'homme pour comprendre et utiliser la nature (**Bosserdet et Rivolier, 1977**). Il existe différents types de la phytothérapie ;

- **Aromathérapie** thérapeutique qui utilise les essences des plantes, ou huiles essentielles, substances aromatiques secrétées par de nombreuses familles de plantes.
- **Gemmothérapie** Se fonde sur l'utilisation d'extrait alcoolique de tissus jeunes des végétaux tels que les bourgeons et les radicules. (**Strange, 2006**).
- **Herboristerie** Correspond à la méthode de phytothérapie la plus classique et la plus ancienne. Elle utilise la plante soit comme décoction, infusion ou macération. Ces préparations existent aussi sous forme plus moderne de gélule de poudre de plante sèche que le sujet avale. (**Strange, 2006**).
- **Phytothérapie pharmaceutique** Utilise des produits d'origine végétale obtenus par extraction et qui sont dilués dans l'alcool éthylique ou un autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés sous forme de sirop, de gouttes, de gélules, de lyophilisats. (**Strange, 2006**).

#### **I.4. Les métabolites secondaires des plantes médicinales**

Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (**Farnsworth et al, 1986**). Qui sont utilisées pour prévenir, soigner ou soulager divers maux.

Le métabolisme de la plante verte produit avant tout des glucides (sucres) et des protéides. Une fraction des glucides est ensuite transformée en composés divers dont les lipides sont les plus importants pour la plante, mais le métabolisme fournit aussi plusieurs corps secondaires que l'homme utilise dans son arsenal thérapeutique. (**Bruneton J, 1999**).

**I.4.1. Définition des métabolites secondaires**

On désigne par « métabolite secondaire » toute substance présente chez un organisme et qui ne participe pas directement aux processus de base de la cellule vivante.

Pour ce qui concerne leurs fonctions chez les plantes, les métabolites secondaires exercent un rôle majeur dans l'adaptation des végétaux à leur environnement. (**Newman J. et Cragg G.M., 2012**).

Sur le plan agronomique, le rôle de ces composés dans la protection des cultures est connu (résistance aux maladies cryptogamiques, aux infections bactériennes, à certains insectes).

D'un point de vue pharmacologique, les métabolites secondaires constituent la fraction la plus active des composés chimiques présents chez les végétaux et on estime aujourd'hui qu'environ 1/3 des médicaments actuellement sur le marché contiennent au moins une telle substance végétale. Cette efficacité pharmacologique des métabolites secondaires s'est traduite par le développement de médicaments majeurs sur les 30 dernières années, tel que le Taxotère, ou la Vinorelbine utilisés dans le traitement de certains cancers. (**Gobbi R. et Khebbaz W., 2014**).

**I.4.2. Les différents types des métabolites secondaires**

Chez les végétaux, les composés secondaires regroupent plusieurs dizaines de milliers de molécules différentes, généralement rassemblés en superfamilles chimiques tel que les polyphénols, les terpènes, les stéroïdes et les alcaloïdes, etc.

**1.4.2.1. Les polyphénols**

Les polyphénols sont des composés phénoliques hydrosolubles et ayant outre les propriétés habituelles des phénols, (**Dangleset 1992 et al**), ils sont produits par les plantes afin d'accomplir des fonctions précises, les plus notoires étant : Défense contre les moisissures et les bactéries phytopathogènes, la résistance à l'attaque des insectes et l'attraction des pollinisateurs. (**Bahorun, 1997**).

Les polyphénols sont répartis en plusieurs classes: Les flavonoïdes, Les acides phénoliques de types benzoïques ou cinnamiques les tanins, les hydrolysables, Les stilbenes, les lignines et les subérines , **Ces classes** montrent une extrême variété d'activités

biologiques (**Queiroz-Monici et al, 2005**), tel que; des activités anti-carcinogènes, anti-inflammatoires, antiathérogènes, anti-thrombotiques, analgésiques, antibactériens, antiviraux, (**Babar et al, 2007**), anti-allergènes, vasodilatateurs (**Falleh et al., 2008**), et antioxydants. (**Gomez-Caravaca et al., 2006**).

#### **1.4.2.2. Les Flavonoïdes**

Les flavonoïdes au sens large sont des pigments quasiment universels des végétaux (**Rice-Evans et al., 1996**). Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, dont les plus importantes sont les flavones, les flavonols, les flavanones, les dihydroflavonols, les isoflavones, les isoflavanones, les chalcones, les aurones et les anthocyanes. Ces diverses structures se rencontrent à la fois sous forme libre (aglycone) ou sous forme de glycosides. On les trouve, d'une manière très générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits.

Les flavonoïdes sont largement connus par leurs activités antivirales, antispasmodiques, anti tumorales, anti agrégation plaquettaires, antiallergiques, hypocholestérolémiantes, anti-inflammatoires, anti-hypertensives et antimicrobiennes. À côté des activités citées précédemment, Les flavonoïdes sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire (**Middleton et Elliott., 1996**), ils sont de puissants inhibiteurs de la prolifération des lymphocytes B et T. (**Mookerjee et al., 1986**).

#### **1.4.2.3. Les tanins**

Les tanins sont des métabolites secondaires polyphénoliques très répandus dans le règne végétal, (**Ghestem et al., 2001**). (**Khanbabae et Ree,2001**), hydrosolubles de masse molaire entre 500-2000D. A la base de leur caractéristique structurale, il est possible de diviser les tanins en 2groupes : Tanins condensés (pro-anthocyanidines) qui sont des polymères ou oligomères flavanique avec un degré de polymérisation entre deux et plus de 50 unités (**Khanbabae et Ree,2001**) et les tanins hydrolysables qui sont des oligo ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable d'acide phénolique.

Tous les organes végétaux peuvent en renfermer (l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits, les racines, les graines) (**Khanbabae et Ree ,2001**). Les tanins sont présents dans une variété de plantes utilisées dans l'alimentation notamment les céréales et légumineuses et les fruits comme (**Peronny,2005**). 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**).

Les tanins montrent plusieurs activités biologiques ils ont un effet anti-diarrhéique, vasoconstricteurs, antiseptique, (**Okuda et al., 1983**), antioxydantes antiparasitaires, antimicrobienne (**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**).

#### **1.4.2.4. Les alcaloïdes**

Les alcaloïdes sont des métabolites décrivent des matières protéiques. (**M. Bouloux, 2000**), On les trouve principalement chez les végétaux, mais aussi chez les animaux et chez certains micro-organismes.

Leur structure chimique de base est un hétérocycle azoté sauf pour quelques substances dans lesquelles l'azote est extra cyclique (c'est le cas de la colchicine et de l'éphédrine par exemple). Il existe plus de six mille alcaloïdes mais ce chiffre est en constante augmentation (**Judd et al., 2002**).

Les alcaloïdes sont utilisés dans plusieurs médicaments, ils affectent chez l'être humain le système nerveux particulièrement les transmetteurs chimiques tels l'acétyl choline, norepinephrine, acide  $\alpha$  aminobutyrique (GABA), dopamine et la serotonine d'autres effets pharmacologiques sont attribués également aux alcaloïdes telles que l'effet analgésique(cocaïne), anticholinergique (atropine), anti-malaria (quinine), anti-hypertensive (réserpine), antitussive (codéine), stimulant centrale (caféine), dépressant cardiaque et diurétique narcotique (morphine), anti-tumeur et sympathomimétique (éphédrine) . (**Badiaga, 2011**).

**1.4.2.5. Les Coumarines**

Les coumarines sont des substances naturelles connues, Il s'agit de composés à neuf atomes de carbone possédant le noyau benzo (2 H) -1 pyranone-2.(**Hamimed S., 2009**) (**SAHIR.,2011**) (**Djemoui D., 2012**). Les coumarines se localisent dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits et les huiles essentielles des graines, elles sont fréquemment à l'origine des hétérosides. (**Benkiki, 2006**).

Ils sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes. (**Belfadel, 2013**).

Les coumarines sont des composés aromatiques dérivant de l'acide O-hydroxy-Z-cinnamique, de même que la coumarine elle-même dérive de l'acide ortho-coumarinique. (**Mansour A., 2009**)

**1.4.2.6. Les Saponosides**

Mot latin « sapon », l'herbe à savon. Ils sont des métabolites secondaires hétérosidiques présents dans de nombreuses plantes et quelques organismes marins. Ces molécules sont connues pour leur propriété tensio-active ou encore leur capacité à lyser les globules rouges (hémolyse). ( **Belfadel, 2013**).

L'hydrolyse d'une saponine, par l'action d'un acide ou d'enzyme, produit un sucre ou plusieurs (dont souvent le glucose) et un aglycone nommé sapogénine selon que cette dernière étant, soit un triterpène, soit un stéroïde. On distingue les saponines triterpènes et les saponines stéroïdiques, certains auteurs distinguent une troisième catégorie de saponines ; celles des amines stéroïdiques qui sont traitées par d'autres comme des alcaloïdes stéroïdiques. (**Saihi R., 2011**).

## II. Aperçu bibliographique sur la plante étudiée : *Marrubium vulgare*

Le genre *Marrubium* appartient à la famille des lamiacées, comprenant plus de 30 espèces différentes.

### II .1. Description de la plante

Le Marrube vulgaire est une Arbuste, ligneuse, peut atteindre 60cm de hauteur, d'aspect blanchâtre très rameux, à poils laineux appliqués, Sa tige rameuse, dure et presque carrée, velue et grisâtre est peu ou pas ramifiée. Ses feuilles petites arrondies en coin à la base, faiblement dentées, tomenteuses sont vert blanchâtre. Ses fleurs petites, blanches, en glomérules compacts à l'aisselle de bractées linéaires, pointues, à sommet crochu. Son odeur est légèrement aromatique ; sa saveur chaude est amère. (Lucienne D, 2007). La plante est connue par le nom Marriouth en Algérie (Quezel et Santa, 1963), Merrîwt au Maroc (Bellakhdar, 1997), Marroubia en Tunisie (Boukef, 1986), En Anglais : Harehound et en Italien : Marrubio.



**Photo1.** Vue générale de la plante de *Marrubium vulgare* prise à partir du site d'étude en 2016 ,(A) la plante entière,(B) les fleurs ,(C) les feuilles.

## II .2. Systématique de *Marrubium vulgare*

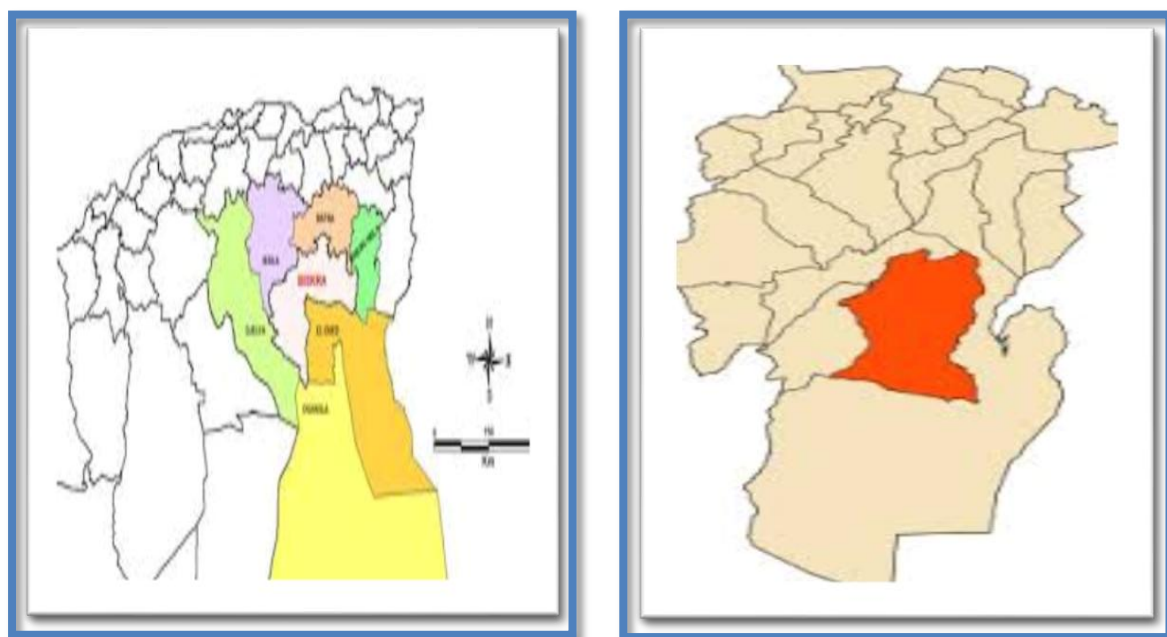
Selon **Judd et al., (2002)** la position systématique de l'espèce *Marrubium vulgare* est :

<i>Règne</i>	<i>Végétale</i>
<i>Embranchement</i>	<i>Angiosperme.</i>
<i>Classe</i>	<i>Eudicotylédones.</i>
<i>Sous-classe</i>	<i>Gamopétale.</i>
<i>Ordre</i>	<i>Lamiales.</i>
<i>Famille</i>	<i>Lamiacées.</i>
<i>Genre</i>	<i>Marrubium.</i>
<i>Espèce</i>	<i>Marrubium vulgare L.</i>

**Nom vernaculaire algérien : Meriwet**

## II.3. Localisation et répartition

Elle pousse dans toute l'Afrique du Nord et presque dans toute l'Europe, au centre et au Sud ouest de l'Asie et aux Canaries. Elle est naturalisée dans l'Amérique du Nord et dans L'Amérique du Sud. (**Bonnier, 1909**). En Algérie C'est une plante qu'on rencontre un peu partout en Algérie.



**Figure1. La répartition de *Marrubium vulgare* en Algérie et dans la zone d'étude (daïra de chechar wilaya de khenchela).**

**II .4. Les Métabolites secondaires de la plante**

La partie aérienne du marrube blanc contient plusieurs métabolites secondaires tels que les diterpenes dont la marrubine responsable de la majorité des propriétés biologiques du *Marrubium vulgare* (Çitoğlu G et al.,2002), les flavonoïdes (apigénine et lutéoline) (Nawwar M et al.,1989), ainsi que plusieurs phenylpropanoïdes esters tels que les verbascosides (Papoutis Z et al.,2006) ,Tanin, huile essentielle et un principe amer :lamarrubine.(Lucienne D, 2007).

**II .5. Utilisation en médecine traditionnelle**

Dans l'Égypte de la haute Antiquité, le Marrube blanc était déjà reconnu pour ses propriétés apaisantes contre la toux. On s'en servait également comme insectifuge et comme antidote contre plusieurs poisons. Les Grecs de l'Antiquité l'utilisaient contre les morsures de chiens enragés. En médecine ayurvédique (Inde), chez les aborigènes d'Australie et les Amérindiens d'Amérique du Nord, le Marrube servait à traiter les infections des voies respiratoires. John Gerard, herboriste élisabéthain du XVI<sup>e</sup> siècle, le recommandait contre les sifflements respiratoires. Nicholas Culpepper, médecin herboriste anglais du XVII<sup>e</sup>siècle, Cette plante est traditionnellement utilisée dans le traitement symptomatique de la toux et au cours des affections bronchiques aiguës et bénignes. Elle est considérée comme expectorante et fluidicatrice des sécrétions bronchiques en cas de toux productive. Elle donne des résultats satisfaisants dans le cas des bronchites et les inflammations de la gorge, elle pourrait être antispasmodique et tonique amer.

Selon les populations anciennes, le Marrube aurait une action hypoglycémiante. (Roman et al.,1992, Novaes et al., 2001). Cependant, les résultats d'un essai conduit récemment au Mexique sur 43 sujets diabétiques qui résistaient au traitement classique révèlent que le Marrube n'a pas eu d'effet significatif sur la glycémie (Herrera et al., 2004). La prudence s'impose tout de même pour l'heure. Il n'y a pas eu sur le Marrube d'essais cliniques en double aveugle. Ses usages sont des usages traditionnels bien établis et des études pharmacologiques sur l'animal. On recommande généralement aux femmes enceintes d'éviter le Marrube blanc parce que, selon la Commission Européenne, la plante stimulerait l'utérus et pourrait avoir une action abortive. Selon la même source (Commission Européenne) le Marrube ne possède jusqu'à présent aucun effet indésirable. Les vertus curatives de l'espèce *Marrubium vulgare* sont sans doute liées à l'existence de certaines substances chimiques dans la totalité de la plante.

### **III. La fièvre**

La fièvre est une réponse normale et adaptative de l'organisme à une agression de nature variable, souvent infectieuse, et s'intègre à une réaction de défense plus vaste : la réaction inflammatoire aiguë. Les médiateurs de la fièvre sont principalement produits par l'hôte et correspondent à des cytokines pyrogènes comme l'interleukine-1, le TNF $\alpha$  (tumor necrosis factor), l'interleukine-6 et les interférons, qui agissent sur l'hypothalamus par le biais des prostaglandines E2. Bien que conservée tout au long de l'évolution des espèces, la fièvre confère à l'homme un avantage qui n'est pas clairement établi. (Gilles K, 2002).

#### **III.1. Définition**

La fièvre est définie par une élévation de la température centrale au-dessus de 38°C, en l'absence d'activité physique intense. (Robin E, 2014), Elle reflète une élévation de la température du « thermostat hypothalamique », par contre l'hyperthermie est une élévation de la température corporelle qui ne dépend pas de la commande hypothalamique. Elle correspond à une dysrégulation des mécanismes périphériques de perte et/ou de production de chaleur. (Gunard H, 2001) (Ganong W, 2005). Elle peut être provoquée par une température extérieure élevée, une diminution de la sudation ou une insuffisance d'apports hydriques. (Gimprel E et al., 2000).

#### **III.2. La physiopathologie de la fièvre**

La température corporelle humaine est fixée par un thermostat situé au niveau du cerveau : c'est l'hypothalamus. La température corporelle s'adapte à la température extérieure et aux conditions climatiques grâce à lui.

L'hypothalamus envoie des informations vers la périphérie, à destination corticale, et qui entraînent des modifications du comportement pour s'adapter à la température extérieure (se couvrir, se découvrir, boire...) et vers les tissus périphériques (peau, foie, muscles...) via des neurones efférents pour contrôler la production de chaleur.

Au niveau du sang circulant, il y a des substances qui induisent la fièvre (**substance pyrogène**).

**III.2.1. Les substances pyrogènes**

La fièvre résulte de l'augmentation de la température du thermostat hypothalamique sous l'effet de substances sanguines dites pyrogènes. On distingue des pyrogènes exogènes et endogènes. (Dinarello CA et al.,1988).

**III.2.1.1. Les pyrogènes exogènes**

Les pyrogènes exogènes sont des molécules de poids moléculaire de 300 kDa, d'origine microbienne ; Les bactéries Gram – produisent des lipopolysaccharides (LPS) et les bactéries Gram+ produisent des toxines. Les pyrogènes exogènes sont reconnues par des récepteurs présents à l'état basal sur les cellules de l'organisme, en particulier les cellules phagocytaires. (Dinarello CA et al.,1988).

**III.2.1.2. Les pyrogènes endogènes**

Dans les années 80, ils ont identifié la nature des pyrogènes endogènes, qui sont des cytokines comme l'interleukine **IL-1  $\beta$**  et **IL-6**, le **TNF  $\alpha$**  (Tumor Necrosis Factor) et l'interféron  **$\alpha$**  et  **$\beta$**  (IFN  $\alpha$  et  $\beta$ ) Les pyrogènes endogènes sont reconnus par des récepteurs spécifiques qui transmettent des signaux au niveau de la cellule, qui conduisent à l'activation de facteurs de transcription dans la cellule permettant la production des prostaglandines E2, via l'hydrolyse de l'acide arachidonique et d'autres mécanismes d'actions. Ils induisent la réponse inflammatoire. (Robin E,2014).

**III.2.2. Mécanismes d'apparition de la fièvre**

Les cytokines et LPS augmentent la température du thermostat hypothalamique. Les cytokines circulantes viennent au contact de l'hypothalamus et, sans pénétrer dans le système nerveux central, activent les cellules endothéliales des organes, qui possèdent des récepteurs membranaires pour les cytokines produisent ainsi de grandes concentrations de prostaglandines E2 (PGE2). Les PGE2 pénètrent dans l'hypothalamus, activent les cellules hypothalamiques en se fixant sur leurs récepteurs spécifiques EP-3, induisant ainsi la production du neurotransmetteur adénosine monophosphate cyclique (AMPc) et l'augmentation de la température du thermostat. **Figure2.**

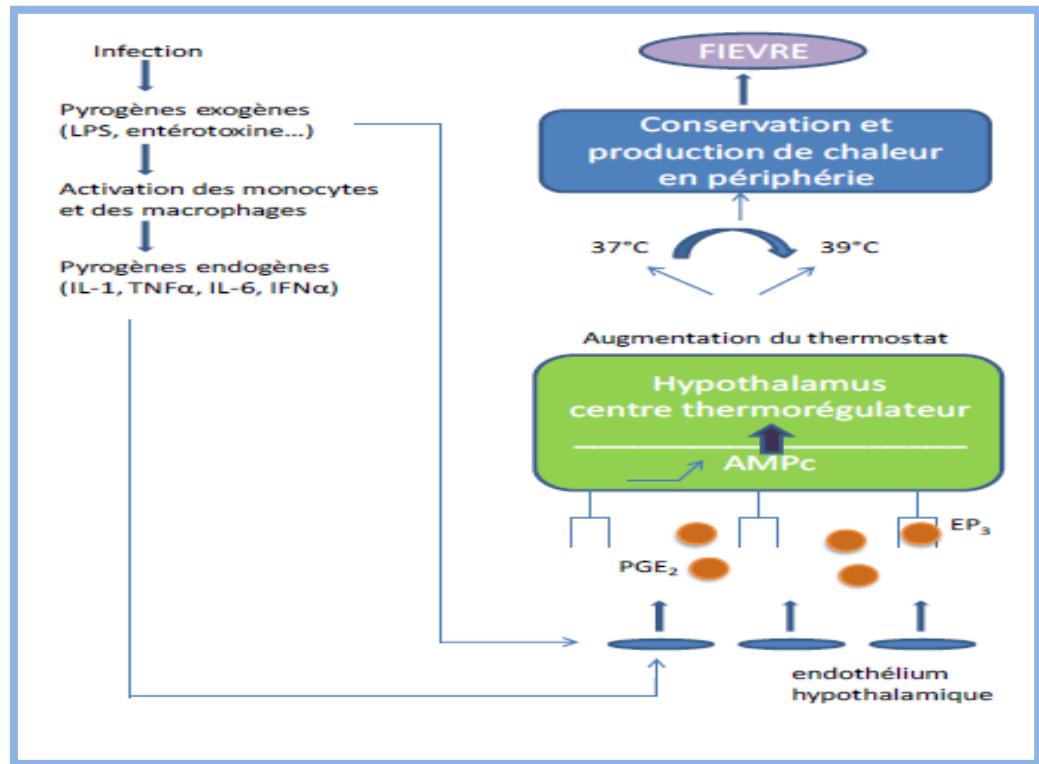


Figure2. Mécanisme de la fièvre (Robin E,2014)

### III.3. Les systèmes antipyrétiques

Ce sont des médicaments à action symptomatique qui atténuent ou abolissent les sensations 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. Agissant sur le système nerveux central (dans le cas de la fièvre). Exemples d'antipyrétiques : paracétamol, classe des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), acide acétylsalicylique (aspirine), ibuprofène, quinine. (Gunard H, 2001).

#### III.3.1. Mode d'action des antipyrétiques

L'aspirine, le paracétamol et les anti-inflammatoires bloquent la synthèse des PG à partir de l'acide arachidonique en agissant sur la cyclooxygénase. Ils n'agissent que sur la fièvre. Les corticoïdes agissent plus haut, en inhibant la synthèse de l'acide arachidonique à partir de phospholipides membranaires en agissant sur la phospholipase A2. Cela leur permet d'avoir une action sur la réponse inflammatoire. Le résultat final est le même : la diminution de la température. (Robin E,2014).

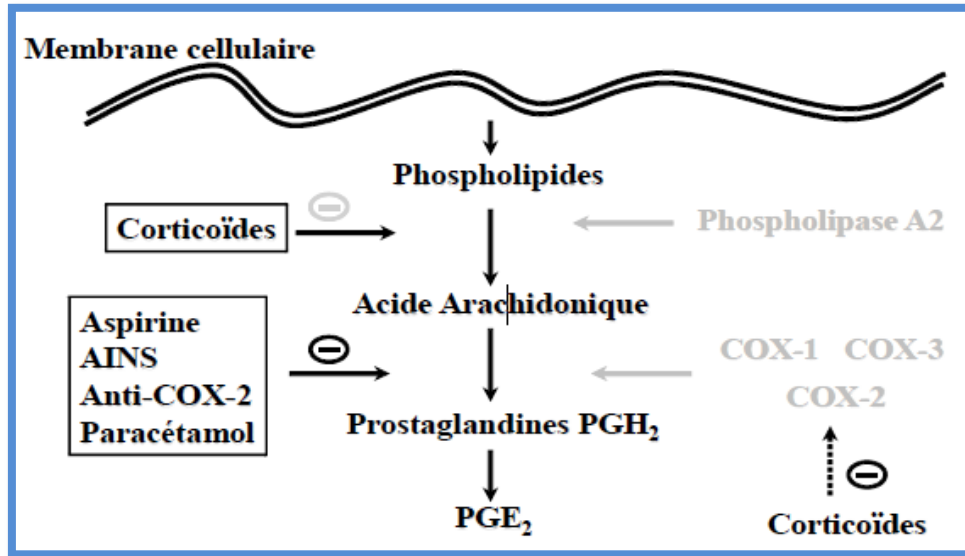


Figure3. Mode d'action des antipyrétiques (Robin E,2014)

**VI. Radicaux libres, stress oxydatif et antioxydants**

L'oxygène (O<sub>2</sub>) est indispensable à la plupart des espèces vivantes, fournit un énorme pouvoir métabolique pour la production d'énergie. Cependant, en raison de sa conformation chimique, la molécule d'O<sub>2</sub> peut, dans certaines circonstances, s'avérer toxique. Cette toxicité est induite des éléments réactifs, instables et pro-oxydants : les radicaux libres de l'oxygène (RLO) ou espèces réactives de l'oxygène (ERO) Dérivés pour la plupart de l'O<sub>2</sub> et produits par divers mécanismes physiologiques ; ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable.

Inopportunément, ils peuvent induire des dommages oxydatifs souvent irréversibles au niveau d'un grand nombre de substrats biologiques. Afin que les ERO n'exercent pas de façon incontrôlée leurs effets délétères, l'organisme dispose d'un vaste réseau de défense constitué par les antioxydants (AO). Dans les circonstances quotidiennes normales, des ERO sont produits en permanence en faible quantité, et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par les AO qui sont produits d'ailleurs en fonction des radicaux générés. La balance oxydants/antioxydants est alors en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en AO ou par suite d'une surproduction d'ERO, le déséquilibre observé correspond au "stress oxydatif. (Halliwell B, 2013).

**VI.1. Le stress Oxydant**

Le stress oxydant est défini comme un déséquilibre entre les processus biochimiques de production des ERO et ceux qui sont responsables de leur contrôle et élimination. Ce (Sayre L.M et al.,2008), déséquilibre peut se produire quand le système de défense antioxydant est surmené par l'augmentation des oxydants ou lorsque les défenses sont affaiblies par une carence d'apport et/ou de production d'antioxydants (Kirschvink N, et al.,2008), L'équilibre ou homéostasie redox est perturbé et les cellules deviennent vulnérables aux attaques par les ERO. (Mac Laren D,2007).

**VI.2. Les radicaux libres**

Par définition, un radical libre est défini comme toute molécule ou atome possédant un ou plusieurs électrons non appariés, capables d'exister sous forme indépendante, contenant au moins un électron libre sur sa couche externe; Cela qui augmente considérablement sa réactivité par nécessité de se combiner avec un autre électron pour atteindre la stabilité selon un phénomène d'oxydation (Mac Laren D et al.,2007), Sa durée

de vie est très courte (quelques millisecondes voir quelques nanosecondes) et il est symbolisé par un point qui indique où l'électron libre se situe (exemple :  $\cdot\text{OH}$ ) (Sayre L et al.,2008). Les principales espèces réactives de l'oxygène sont: le radical superoxyde ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ), le radical hydroxyle ( $\text{OH}^{\cdot}$ ), le monoxyde d'azote (NO), mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante tel que le peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). (Roberts R et al.,2010).

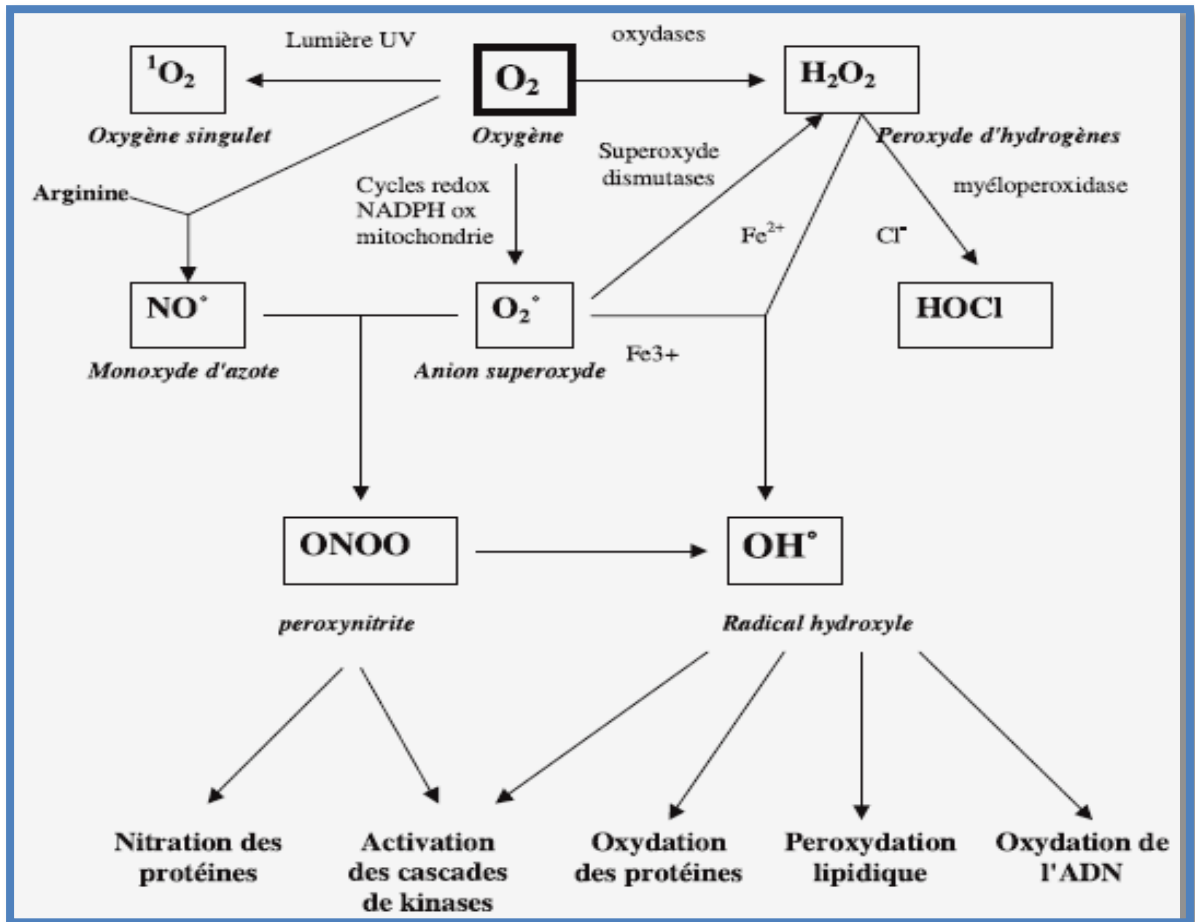


Figure4. Formation des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et nitrogène (ERN) (Codoner-Franch P et al., 2010)

### VI.2.1. Source des radicaux libres

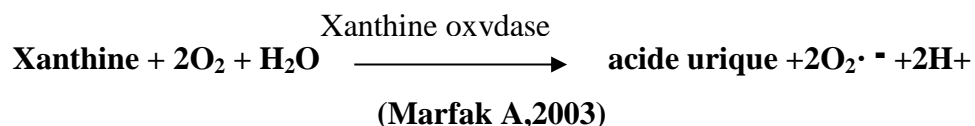
On distingue deux sources des radicaux libres

#### VI.2.1.1. Les sources endogènes

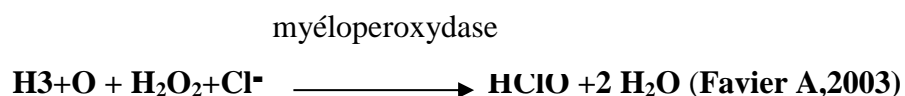
L'une des sources majeures des ERO est la chaîne respiratoire mitochondriale. Cette production résulte de l'addition d'un électron à l'oxygène moléculaire. Une telle réaction est catalysée par le cytochrome oxydase mitochondrial. (Marfak A,2003).



D'autre part les ERO peuvent se produire au cours des processus pathologiques ou la production du radical répond à une stimulation et intervient dans le processus inflammatoire (NADPH oxydase et xanthine oxydase) (Antwerpen P.V,2006). Les cellules phagocytaires activées sont le siège d'un phénomène appelé "explosion oxydative", consistant en l'activation du complexe NADPH oxydase, enzyme capable d'utiliser l'oxygène moléculaire pour produire de grandes quantités d'anions superoxydes au niveau de la membrane cellulaire. Ce mécanisme lorsqu'il est contrôlé est capital dans la lutte infectieuse car il permet la phagocytose des bactéries et des corps étrangers (Favier A,2003). D'ailleurs le système xanthine/xanthine oxydase permet aussi la production de l'anion superoxyde :



Une autre espèce réactive oxygénée produite au cours de l'inflammation est le peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) ; en vue de réagir directement ou de produire l'acide hypochloreux par l'intervention de myéloperoxydase ( $\text{HClO}$ ). Cette espèce est caractérisée par un pouvoir oxydant nettement plus élevé que le  $\text{H}_2\text{O}_2$ .



Le monoxyde d'azote est produit aussi par un système enzymatique NO synthétase (NOS), à des fins de médiation par les neurones, les cellules endothéliales ou les macrophages. (**Favier A,2003**).

D'autres systèmes sont capables de produire les ERO, citons par exemple : les réactions catalysées par les lipooxygénases et cyclooxygénases dans la voie de synthèse des leucotriènes, et prostaglandines ( **Babior B.et al.,2002**) ; les aldéhydes oxydases ou les protéines hémiques qui peuvent oxyder leur fer (I) en fer (III) avec production du radical  $O_2\cdot$ (**Antwerpen P.V,2006**).C'est ainsi l'auto-oxydation des monoamines (dopamine, épinéphrine, et norépinéphrine) ; et l'hémoglobine en présence de traces de métaux peut également être à l'origine de la production des ERO. (**Gueye P.M,2003**).

#### **VI.2.1.2. Les sources exogènes**

L'organisme humain est soumis à l'agression de différents agents capables de donner naissance à des radicaux libres. Les rayonnements UV (ultra-violet) induisent la synthèse de radicaux libres et de molécules génératrices de radicaux libres par l'intermédiaire d'agents photo-sensibilisants. Les radiations ionisantes provoquent également la génération de radicaux libres dérivés de l'oxygène (**Afonso V,2007**). L'ingestion d'alcool est suivie de la formation de radicaux libres selon divers mécanismes (**Hadi M,2004**). Des toxiques tels que l'oxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote (NO<sub>2</sub>), présents dans notre environnement (goudron, tabac, polluants industriels), sont responsables d'une auto-oxydation des acides gras polyinsaturés des alvéoles pulmonaires. (**Hadi M,2004**).

#### **VI.2.2. Rôles biologiques des radicaux libres**

Les ERO remplissent en effet de très nombreuses fonctions utiles qui à part la phagocytose, ont été découvertes récemment. Les radicaux libres participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à la destruction par apoptose des cellules tumorales, à la régulation de la dilatation capillaire, au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire, à la fécondation de l'ovule, à la régulation des gènes (**Favier A,2003**), à la production énergétique, au règlement de la croissance des cellules et à la signalisation intracellulaire. (**Ardestani A et al.,2011**).

**VI.2.3. Les maladies liées au stress oxydatif**

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 aigüe, œdème, pulmonaire, vieillissement accéléré, Alzheimer, Parkinson, infections intestinales, rhumatisme, l'athérosclérose, le diabète etc....(Atawodi S et al.,2003).

**VI.3. Les antioxydants**

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques d'ERO (Vansant, 2004). Notre organisme réagit donc de façon constante à cette production permanente de radicaux libres et on distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule. (Favier, 2003).

**VI.3.1. Les antioxydants primaires**

La cellule est pourvue d'enzymes antioxydantes qui sont des systèmes de défense très efficaces puisque les enzymes ont la propriété de pouvoir réaliser un travail de façon permanente. Cette ligne de défense (Figure 5) est constituée de superoxyde dismutase (SOD), de catalase (CAT) et de glutathion peroxydase (GPX) (Lehucher-M, 2001). Ces enzymes antioxydantes permettent l'élimination des radicaux libres primaires. De ce fait elles préviennent la formation des radicaux libres organiques à partir des lipides membranaires notamment et contribuent donc à la protection des membranes de la peroxydation lipidique. (Dacosta, 2003).

**VI.3.2. Les antioxydants secondaires**

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

Plusieurs substances peuvent agir en tant qu'antioxydants *in vivo* ont été proposés. Elles incluent : la vitamine E, l'acide ascorbique, la  $\beta$ -carotène, les flavonoïdes, les composés phénoliques, ...etc. Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres. (Kohen et N, 2002).

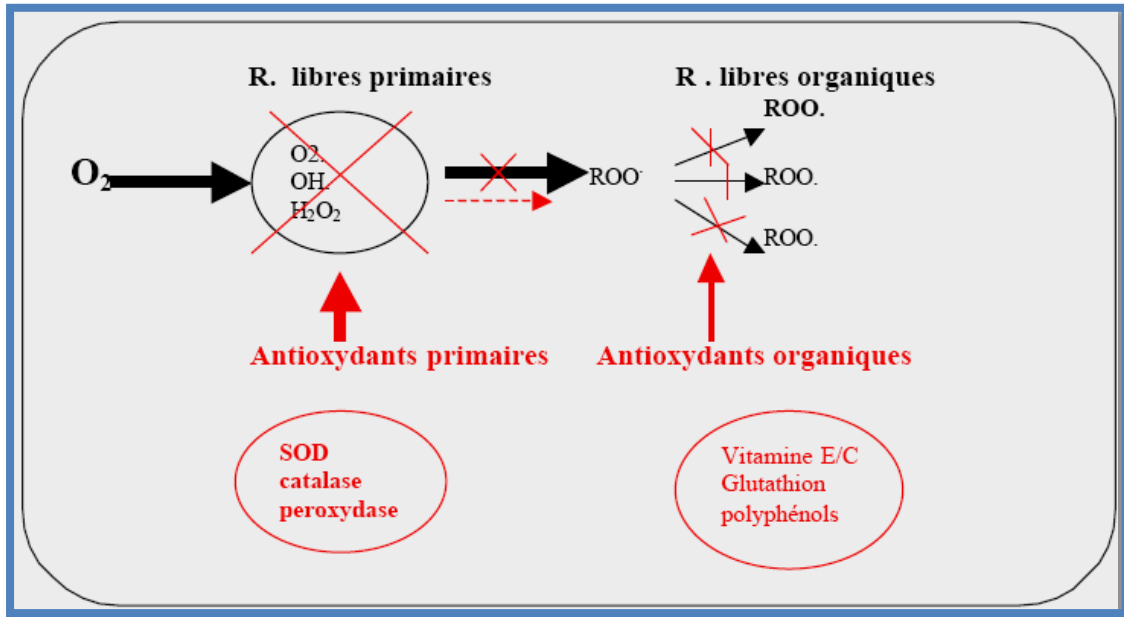


Figure 5. Les systèmes de défense contre les radicaux libres (Dacosta, 2003)

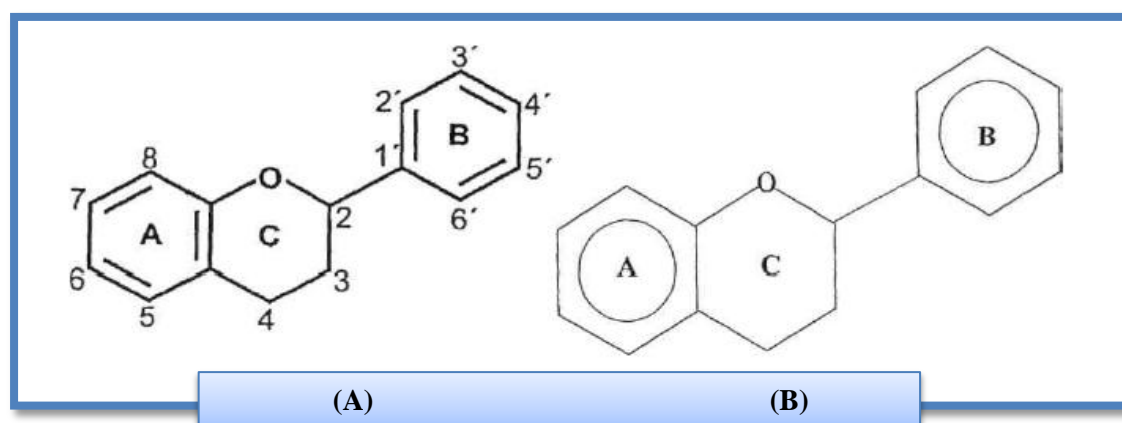
## V. les Flavonoïdes

### V.1. Définition

Les flavonoïdes occupant une place prépondérante dans le groupe des phénols, sont des métabolites secondaires ubiquistes des plantes. 2 % environ du carbone organique photo-synthétisé par les plantes, soit quelques 109 tonnes par an, est converti en flavonoïdes. (Tapiero H et al.,2002). Les flavonoïdes présents dans différentes parties des végétaux supérieurs selon le type de l'espèce : racines, tiges, feuilles, fleurs, pollen, fruits, graines, bois...etc. Aussi, ils varient quantitativement et qualitativement selon le stade de développement du végétal. (Tapiero H et al.,2002). ils peuvent être considérés parmi les agents responsables des couleurs de plante à côté des chlorophylles et caroténoïdes. (WICHTL, 2009).

### V.2. Structure des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau flavone ou 2-phényl chromone, à 15 atomes de carbone (C6-C3-C6), constitué de deux noyaux aromatiques, que désignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné, que désigne la lettre C, portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides. (Figure 6). Les flavonoïdes existent sous forme libre dite aglycone (WICHTL , 2009). Ou sous forme d'hétérosides, chacun portant une ou plusieurs groupes hydroxyles phénoliques et reliées par un pont carboné. (HELLER, 1993).

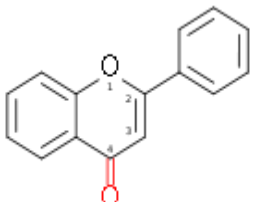
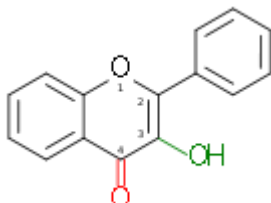
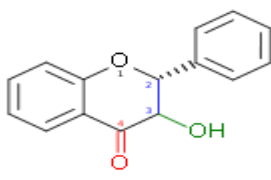


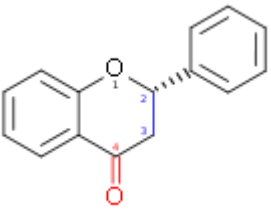
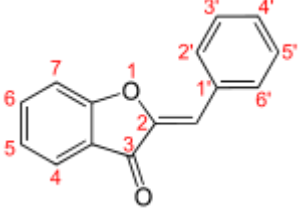
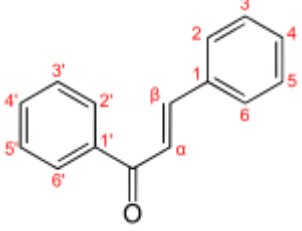
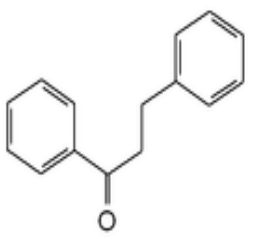
**Figure 6. Structure de base des flavonoïdes ; (B) : Schéma simplifié des flavonoïdes (Lugasi et al.,2003)**

## V.3. Classification des flavonoïdes

Les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules Selon les variations hétérocycle oxygéné « C » Les différentes classes des flavonoïdes sont représentées dans le tableau1.

Tableau1. Les différentes classes et structure des flavonoïdes

Classe	Structure	Exemple
FLAVONE	 <p>2-phénylchromen-4-one</p>	Lutéolol (OH:5,7,3',4'), Apigénol (OH:5, 7,4').
FLAVONOL	 <p>3-hydroxy-2-phénylchromen-4-one</p>	Quercétol, Kaempférol, Myricétol, Fisétol.
FLAVANONOL	 <p>3-hydroxy-2,3-dihydro-2-phénylchromen-4-one</p>	dihydro-kaempféroldihydroquercétol

FLAVANONE	 <p>2,3-dihydro-2-phenylchromen-4-one</p>	Naringétole, Eriodictyol, Butine
AURONE		Hispidol, Aureusidine, Sulfurétine, Maritimétine.
CHALCONE		Iso-liquiritigénine, Butéine.
DIHYDRO CHALCONE		Phlorétine.

## V.4. Propriétés des flavonoïdes

### V.4.1. Propriétés physiologiques pour les plantes

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. (Rehman A et al., 1999).

**V.4.2. Propriétés thérapeutiques**

De nos jours, les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités antivirales, antitumorales (**Rizzo A.M et al.,2011**), anti carcinogènes (**Lehucher et al.,2001**), anti-inflammatoires (**Halliwell B et al .,2006**), hypotenseurs, diurétiques (**Kohen R et Nyska A;2002**)et antioxydantes .(**Flora S,2009**).

Les flavonoïdes peuvent aussi empêcher le diabète ou du moins le réduire en inhibant l'enzyme aldose réductase (**Gardès.A et al.,2003**). Certains flavonoïdes peuvent entraver l'athérosclérose et par conséquent réduisent le risque des maladies cardiovasculaires. (**Ito N et al.,1985**).



***Matériel  
et méthodes***

**Chapitre II. Matériels et Méthodes**

Notre travail expérimental ayant pour objet l'étude de l'activité **antipyrétique et antioxydante** de la Plante médicinale *Marrubium vulgare*. L'étude expérimental a été effectuée au sein du laboratoire de Biochimie, Université Abbés Laghrour - Khenchela.

**I. Matériels****I.1. Matériel biologique (Echantillonnage)****I.1.1. Matériel végétal**

Il est constitué d'extrait méthanolique et aqueux de la partie aérienne de la plante médicinale *Marrubium vulgare* récolté dans la région de Chachar wilaya de Khenchela en 2016 et identifiée par M<sup>r</sup> Zeraib A docteur à l'université Abbés Laghrour - Khenchela.

**I.1.2. Matériel animale**

L'activité antipyrétique de l'extrait méthanolique et aqueux a été réalisée sur des rats Wistar albinos mâles provenant de l'institut Pasteur d'Alger, Algérie, pesant entre 130-190g les animaux sont répartis en 4 lots ayant libre accès à l'eau et à la nourriture. Les animaux destinés au traitement sont préalablement mis en période d'adaptation allant de 7 à 15 jours.

**I.2. Réactifs chimiques et instrumentations**

Plusieurs réactifs chimiques et solvants ont été utilisés dans nos expériences, parmi ces produits : FeCl<sub>3</sub>, acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), HCl, acide acétique, NaOH, NH<sub>4</sub>OH, KI, I<sub>2</sub>, NaCl, AlCl<sub>3</sub>, FeCl<sub>3</sub>, Quercétine, méthanol, n-butanol, acétate d'éthyle, chloroforme proviennent tous de Sigma-Aldrich.

Parmi l'appareillage utilisé: Rotavapeur(HAHNVAPOR), spectrophotomètre UV-Vis à double faisceau (JENWAY 6305 UV/VIS),Chambre d'observation UV(VILBER COURMAT), Bain Marie(MEMMERT), Etuve, Agitateurs magnétiques(SCIOLOGEX), vortex(VELP), Autoclave et Balance (OHAUS).

**II. Méthodes****II.1. Méthodes concernant le matériel végétal****II.1.1. Préparation de l'extrait méthanolique**

Les parties aériennes (feuilles, fleurs et tiges) de la plante ont été bien nettoyées et séchées à température ambiante et à l'abri de l'humidité et de la lumière du soleil pendant 15 jours. Enfin, la plante sèche a été pulvérisée à l'aide d'un broyeur électrique pour obtenir une poudre fine pour qu'elle soit prête à l'utilisation. La méthode de Markham (**Markham K. R., 1982**), était suivie pour la préparation d'extrait méthanolique; 306g de la poudre végétale est introduit dans un bécher qui contient le mélange hydroalcooliques; méthanol /H<sub>2</sub>O (7:3) pendant une nuit (macération alcoolique). Cette technique est effectuée quatre fois, suivie chaque fois d'une filtration. Le méthanol est ensuite éliminé du filtrat par évaporation sous pression réduite à 55 °C dans un Rotavapeur (HAHNVAPOR) pour obtenir l'extrait brut méthanolique. (**Markham K. R., 1982**).

**II.1. 2. Préparation de l'extrait aqueux**

La préparation de cet extrait consiste à macérer 80 g de la partie aérienne de poudre végétale dans 2L d'eau distillée. Le macérât est homogénéisé pendant 24 heures à l'aide d'un agitateur magnétique de type (SCIOLOGEX). L'homogénat est filtré successivement 2 fois sur du coton hydrophile puis une fois sur du papier filtre Wattman N°1. Le filtrât obtenu est évaporé à l'aide d'une étuve de type (MEMMERT) à 50°C pour donner une poudre qui constitue EARM. (**Moroh J et al., 2008**).

**II.1.3. Screening chimique de la plante**

Le screening chimique est un ensemble de réactions chimiques qui permettent d'identifier la présence des principales catégories des substances chimiques naturelles contenues dans une plante et responsables de propriétés pharmacologiques.

Les tests phytochimiques sont réalisés sur l'extrait brut méthanolique et l'extrait aqueux de la plante *Marrubium vulgare*.

### II.1.3.1. Recherche des tanins

2 à 3 gouttes de la solution de  $\text{FeCl}_3$  à 2%, sont ajoutées à 2 ml de l'extrait brut. La solution obtenue est reposée pendant quelques minutes. Le test est considéré positif s'il ya l'apparition d'une coloration bleue-noire et un précipité. (Edeaga H et al., 2005).

### II.1.3.2. Recherche des saponosides

- **Test 1** : 5 ml de l'extrait brut sont mélangés avec 10 ml d'eau distillée pendant 2 min. La formation d'une mousse persistante après 15 min confirme la présence des saponosides (Edeaga H et al., 2005).
- **Test 2** : 5 ml de l'extrait sont mélangés avec 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré. Une couleur rouge-marronne de la couche d'interface indique la présence des triterpèneshétérosidiques (Benmahdi A, 2001).

### II.1.3.3. Recherche des flavonoïdes

5 ml de l'extrait sont traités avec quelques gouttes d' $\text{AlCl}_3$  (1%). La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une couleur jaune (Benmahdi A, 2001).

### II.1.3.4. Recherche des composés réducteurs

Ce test est basé sur la réaction de Keller-Kiliani, 5 ml d'acide acétique contenant des traces de  $\text{FeCl}_3$  et 5 ml d'acide sulfurique contenant des traces de  $\text{FeCl}_3$  sont ajoutés à 1 ml de l'extrait. La présence des composés réducteurs est confirmée par la formation de deux phases, une colorée en brun rouge (acide acétique) et la deuxième en bleu-vert (acide sulfurique). (Edeaga H et al., 2005).

### II.1.3. 5. Recherche des alcaloïdes

Ce test est fait pour révéler la présence ou l'absence des alcaloïdes sels. 5 ml d' $\text{HCl}$  (2N) sont ajoutés à l'extrait et chauffer dans un bain marie. Après la Filtration, le filtrat est traité avec le réactif de Wagner (2g de KI et 1,27g d' $\text{I}_2$  solubilisé dans 100 ml d'eau distillée). La présence de turbidité ou de précipitation indique la présence des alcaloïdes sels. (Benmahdi A, 2001).

**II.1.3. 6. Recherche des anthraquinones**

Quelques gouttes de la solution aqueuse de KOH (10 %) sont ajoutés à l'extrait, après agitation la présence des anthraquinones est confirmée par le changement de couleurs de la phase aqueuse vers le rouge. **(Rizk ,1982).**

**II.1.3. 7. Recherche des quinones**

Placer 1 g d'échantillon de la poudre de plante dans un tube à essai et ajouter 15 à 30 ml d'éther de pétrole après agitation, La solution obtenue est reposée pendant 24 heures. Après la filtration, le filtrat est traité avec quelque goutte de NaOH (10%) Le test est considéré positif s'il ya l'apparition d'une coloration rouge violet dans la phase aqueuse. **(Ribérreau,1968).**

**II.1.3. 8. Recherche des coumarines**

La mise en évidence des coumarines se fait selon la méthode décrite par **(Benmahdi A, 2001)**. Placer 1 g d'échantillon de la plante humide dans un tube à essai. Couvrir le tube avec un papier imbibé d'une solution de NaOH et le placer dans un bain marie pendant quelques minutes. Ajouter 0,5 ml de NH<sub>4</sub>OH (10%). Mettre deux taches sur un papier filtre et examiner sous la lumière ultraviolette. La fluorescence des taches confirme la présence des coumarines.

**II.1.3.9. Recherche des stéroïdes -Test de Liebermann-Burchard-**

100 mg de l'extrait sont mélangés avec 3 ml de chloroforme et 4 gouttes d'anhydride acétique et d'acide sulfurique concentré. Le développement d'une coloration bleue à l'interface confirme la présence des stéroïdes **(Bruneton, 1999)**.

**II.1.3.10. Recherche des composés phénoliques**

100 mg de l'extrait sont mélangés avec 3 ml d'éthanol et 5 gouttes de FeCl<sub>3</sub>. Le développement de la coloration bleue verdâtre confirme La présence des composés phénoliques. **(Bruneton, 1999)**.

**II.1.4. Etude quantitative- Dosage des flavonoïdes-**

Les flavonoïdes de l'extrait méthanolique de *Marrubium vulgare* a été quantifiés par la méthode du trichlorure d'aluminium (Boharun T et al., 1996); 1 ml de l'extrait (préparés dans le méthanol pour avoir des concentrations convenables) a été ajouté à 1 ml de la solution d'AlCl<sub>3</sub> (2 %, dans le méthanol). Après 10 minutes d'incubation, l'absorbance a été lue à 430 nm. La concentration des flavonoïdes dans l'extrait a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage  $y = ax + b$  établie avec la quercétine à différentes concentrations (0-40 µg / ml, chacune a été préparée dans le méthanol) pratiquée dans les mêmes conditions opératoires que l'extrait servira à la quantification des flavonoides. La teneur en flavonoides à été exprimé en milligrammes équivalents de quercétine par grammes du poids d'extrait (mg EQ / g E).

**II.1.5. Etude qualitative****II.1.5.1. Chromatographie sur couche mince**

Cette méthode se repose sur la séparation des différents constituants d'un extrait selon leur force de migration dans la phase mobile qui est en générale un mélange de solvant, adapté au type de séparation rechercher, et leur affinité vis-à-vis la phase stationnaire qui peut être un gel de silice ou de polyamide. Les techniques chromatographiques ne sont pas suffisantes pour identifier un produit mais elles apportent des renseignements (Rapport frontal -Rf- et coloration) susceptibles d'orienter vers une hypothèse de structures.

**II. 1.5.2. Protocole de CCM sur gel de silice**

Les analyses par CCM ont été effectuées sur l'extrait methanolique avec des plaques de gel de silice, sur support rigide en aluminium.

L'EMMV est déposé à l'aide d'une micropipette (2 µl) à des points repères à 1.5 cm du bord inférieur de la plaque. Ensuite, les plaques sont placées dans les cuves de développement dans lesquelles se trouve un système de solvants approprié appelé phase mobile, à environ 0,5 cm de hauteur. La migration est effectuée par l'utilisation des systèmes suivants :

- Système 1. Butanol/ Acide acétique/ Eau distillée (4 :1:5)
- Système 2. Acide acétique/ Eau distillée (15 : 85)
- Système 3. Acétone/ Eau distillée (1: 1 )

- Système 4. Acétate d'éthyle/ Ac formique/Ac acétique/ Eau distillée (100 :11 :11 :26)
- Système 5. Chloroforme / Acétone/ammoniaque 10% (80 :40 :18)

Après développement dans une cuve en verre et séchage, les plaques ont été observées sous lampe UV à 254 et 365 nm. Les couleurs des spots ont été enregistrées ainsi de même pour les Rf.

### II.1.5.3. Calcul du Rapport frontal

Pour chaque spot on a calculé le facteur de rétention qui est égal à la distance parcourue par le constituant / la distance parcourue par le solvant. Ce facteur permet de mentionner une information préliminaire sur la structure des substances flavoniques.

## II.2. Etude des activités biologiques des extraits de *Marrubium vulgare*

### II.2.1. Estimation *in vitro* de l'effet scavenger de l'extrait méthanolique vis-à-vis du radical libre DPPH°

La capacité de l'extrait à piéger les radicaux libres est déterminée par une méthode colorimétrique, simple et rapide. La méthode de Koleva (Koleva et al.,2002). Utilise le radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH°) qui, à l'état stable, possède une coloration violette foncée, cette dernière devient jaune pâle, à l'état réduit du radical **Figure7**. Ce changement de couleur est traduit par une décroissance du radical DPPH° à 517 nm.



Figure7. Structure de radical DPPH° (A) Forme radicalaire (B) Forme réduit (Koleva et al.,2002).

**II.2.1.1. Réalisation de l'essai**

Le DPPH° 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>) est solubilisé dans du méthanol absolu pour avoir une solution de 100µM.

A partir d'une solution méthanolique mère de C<sub>1</sub>= 40 mg/ml de l'extrait, les dilutions suivantes ont été préparées : C<sub>2</sub> = 20mg/ml, C<sub>3</sub>= 10mg/ml, C<sub>4</sub>= 5mg/ml, C<sub>5</sub>=3mg/ml, C<sub>6</sub>= 2 mg/ml, C<sub>7</sub>= 1 mg/ml, C<sub>8</sub>= 0.5mg/ml, C<sub>9</sub>= 0.250 mg/ml, C<sub>10</sub> : 0.125mg/ml.

A chaque volume de 1,5 ml de la solution méthanolique du DPPH°, un volume de 15 µl de chaque concentration préparée de l'extrait est ajouté. Après agitation et incubation à la température ambiante pendant 15 min, les densités optiques des mélanges réactionnels sont mesurées par le spectrophotomètre à 517nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions par le méthanol.

L'activité antioxydante est comparée à celle d'un flavonoïde commercial qui est la quercétine qui est à son tour déterminée de la même façon que celle de l'extrait.

**II.2.1.2. Expression des résultats**

Pour obtenir la concentration efficace qui réduit la concentration initiale de DPPH° de 50%, les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition du DPPH° et donnés selon la formule suivante :

$$\text{Activité anti-radicalaire \%} = [(A_B - A_E) / A_B] \times 100$$

A<sub>B</sub> et A<sub>E</sub> sont les valeurs de l'absorbance du blanc et de l'échantillon respectivement à 517 nm. Les résultats sont exprimés par la moyenne de trois mesures ± écart type.

**II.2.2. Etude de l'activité antipyrétique**

20 Rats wistar sont utilisés pour l'étude de l'activité antipyrétique d'extrait méthanolique et aqueux de *Marrubium vulgare*. Les rats sont placés à jeun pendant 24 H avant l'expérience. L'hyperthermie est induite par l'injection sous-cutanée d'une suspension aqueuse de levure de bière à 20% à la dose de 10ml/kg poids corporel, Les températures rectales sont prélevées 18 H après l'injection de levure à l'aide d'un thermomètre. Les animaux

qui ont montré une augmentation de 0.3 à 0.5°C ont été sélectionnés pour l'activité antipyrétique (Bhowmick R et al., 2014).

Les rats sont répartis en 4 lots:

- **Lot 1 (Témoin: 5 rats)** : animaux recevant l'eau saliné seulement (10ml/Kg poids corporel) par gavage.
- **Lot 2 (paracétamol: 5 rats)** : animaux recevant par injection sous cutanée d'une suspension aqueuse de levure de bière à 20% à la dose de 10ml/kg poids corporel puis traités après 18 H par le paracétamol à la dose de 150 mg/kg/10ml dilué dans l'eau saliné par gavage.
- **Lot 3 (Extrait: 5 rats)** : animaux recevant par injection sous cutanée une suspension aqueuse de levure de bière à 20% à la dose de 10ml/kg poids corporel puis traités après 18 H par l'extrait méthanolique de *Marrubium vulgare* à la dose de (500 mg / kg/10ml) par gavage.
- **Lot 4 (Extrait: 5 rats)** : animaux recevant par injection sous cutanée une suspension aqueuse de levure de bière à 20% à la dose de 10ml/kg poids corporel puis traités après 18 H par l'extrait aqueux de *Marrubium vulgare* à la dose de (500 mg / kg/10ml) par gavage.

Les températures rectales sont prélevées 18 H après l'injection de levure de bière, est ensuite 1H, 2H et 3H après l'administration des substances.

### II.3. Etude statistique

Les analyses statistiques ont été réalisées par le logiciel statistique Minitab 2013 et XL . Les expériences *in vitro* ont été faites en triple et d'autres en double, Les résultats ont été présentés par la moyenne avec son écart type (n = 2 ou 3) pour chaque cas. Les résultats quantitatifs des différentes évaluations réalisées *in vivo* sont exprimés en moyenne ± écart type. Ces résultats sont traités statistiquement par le test d'ANOVA.

Le seuil de signification est supérieur à 95% ( $p < 0.05$ ), tel que :

- ( $p > 0.05$ ) désigne un effet non significatif

- ( $p \leq 0.05$ ) désigne un effet significatif
  
- ( $p \leq 0.01$ ) désigne un effet très significatif
  
- ( $p \leq 0.001$ ) désigne un effet hautement significatif



***Résultats  
et discussion***

## Chapitre III. Résultats et discussion

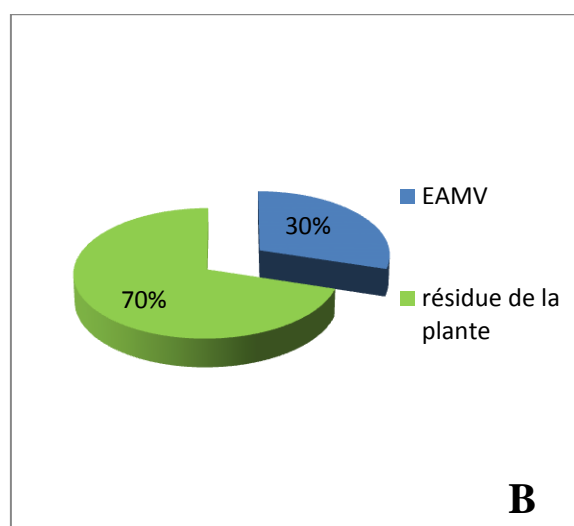
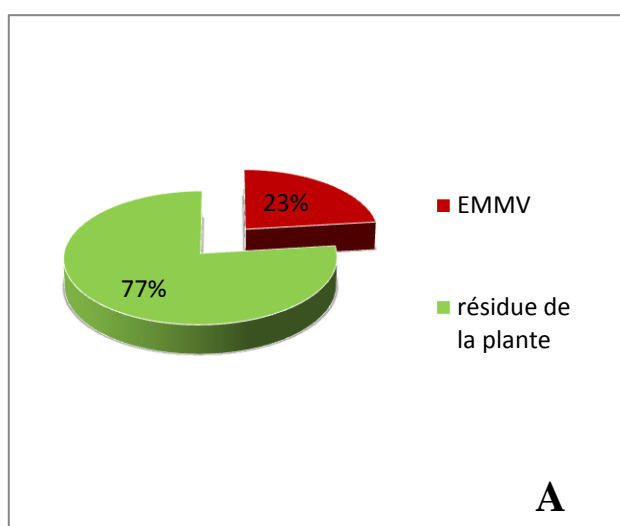
Le travail expérimental, ayant pour objet l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antipyrétique et antioxydante de l'extrait méthanolique et aqueux de la partie aérienne de la plante médicinale « *Marrubium vulgare* ».

### I. Le rendement des Extraits

Les extraits ont été préparés à partir de la poudre de la partie aérienne de *M.vulgare* Les résultats sont représentés dans le **Tableau 2** et la **Figure8**.

**Tableau2.** Le rendement d'extrait méthanolique (EMMV) et aqueux (ETAMV) de *Marrubium vulgare*

La plante	Le poids du matériel végétal en (g)	Les extraits	Le poids des extraits en (g)	Le rendement en (%)
<i>Marrubium vulgare</i>	306	EMMV	70.78	23.13
	80	ETAMV	23.79	29.73



**Figure8.** Le pourcentage de rendement des extraits de *M. vulgare*, (A) extrait méthanolique, (B) extrait aqueux

L'opération de l'extraction du matériel végétale de *M. Vulgare* à l'aide du méthanol et l'eau distillée a permis d'obtenir un résidu sec d'extrait brute méthanolique et aqueux de 70.78 g et 23.29 g respectivement. Le calcul des rendements en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante **Tableau2.** a montré que l'EMMV et l'EAMV représente un rendement de 23.13 % et 29.73% respectivement.

Car la macération est une méthode discontinue, le solvant devrait être remplacé jusqu'à ce que la matière végétale soit épuisée, il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie de manière générale. En effet, le rendement n'est pas relatif ; il dépend de la méthode et des conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée. (Yrjonen T, 2004).

## II. Tests de mise en évidence de certains métabolites phytochimiques

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés existantes dans la partie étudiée de la plante par des réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composés.

Les tests phytochimiques réalisés sur EMMV et EAMV révèlent la présence de plusieurs familles de composés dont les résultats sont présentés dans le **Tableau3.**

**Tableau3. Analyse phytochimique préliminaire d'extrait méthanolique et aqueux de *M.vulgare***

Les composées	EMMV	EAMV
Alcaloïdes	++	+
Flavonoïdes	+	+
Tri-terpènes et stérols	++	+
Composés Phénoliques	++	-
Saponines	+	++
Tanins	++	+
Anthraquinones	-	-
Coumarines	+	++
quinone	+	-
Composés réducteurs	+	-

Les résultats sont interprétés comme suit: (++) : présence forte, (+) : présence faible, (-) : absence,

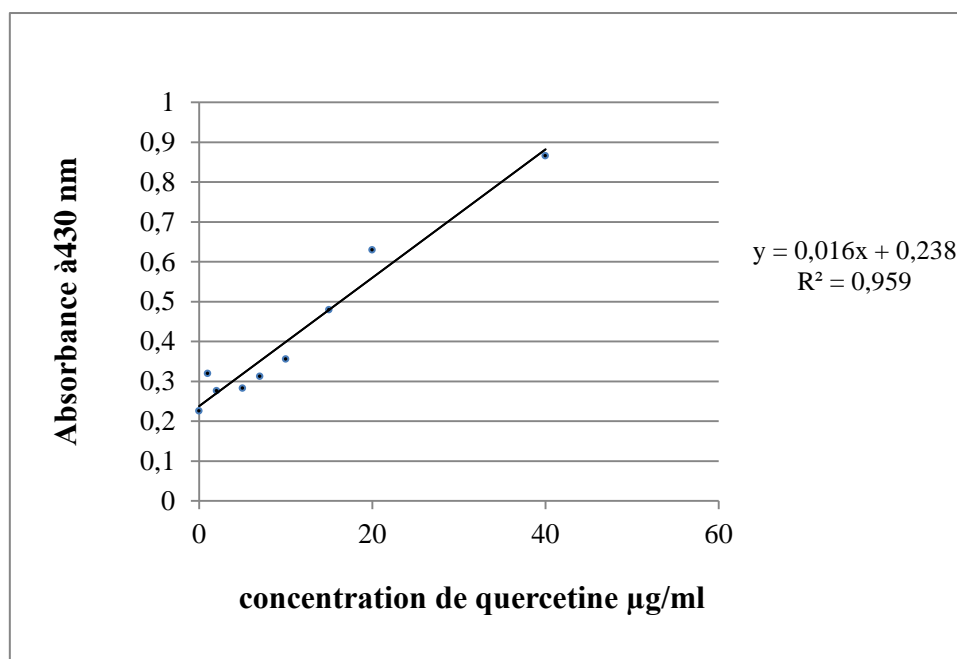
L'étude phytochimique d'EMMV et d'EAMV a montré que l'extait méthanolique contient des flavonoïdes, des saponosides, des tanins, des coumarines, des composés réducteurs, des composés phénoliques, des tri-terpènes des quinones et des alcaloïdes sels. Par revanche l'extrait aqueux est caractérisé par la présence significative des alcaloïdes, des flavonoïdes, des tri-terpènes, des saponines, des tanins et des coumarines.

Ce qui confirme les travaux de **(Bensalah F,2014)** qui a été révélé la présence des tanins, des Coumarines des Tri-terpènes et des alcaloïdes chez l'extrait aqueux de *M.vulgare*. et les travaux de **(BOUDJELAL A, 2013)** qui a été révélé la présence des flavonoides dans l'extrait méthanolique et aqueux de *M.vulgare*. La richesse de cette plante en composés chimiques actifs pourrait expliquer son utilisation traditionnelle comme: antispasmodique, diurétique, hypoglycémique, anti hypertensive, analgésique anti-inflammatoire, cardiotonique **(Kadri A, et al., 2011)** et prescrit dans le traitement des difficultés respiratoires, des bronchites, des bronchectasies, des bronchites asthmatiformes et des toux sèches.

**(Bensalah F.,2014).**

### III. Dosages des flavonoïdes

L'étude quantitative d'EMMV au moyen des dosages spectrophotométriques, selon la méthode de trichlorure d'aluminium avaient pour objectif la détermination de la teneur totale des flavonoïdes. La quercétine pris comme contrôle positif a permis de réaliser une courbe d'étalonnage **(Figure9.)** avec  $R^2$  égale à 0,959, d'où on a calculé la teneur en flavonoides pour l'extrait qui est exprimée en mg équivalent de quercétine par gramme extrait (mg eq quercetin /g extrait).



Chaque point de la courbe représente la moyenne (n = 3)

**Figure9. Courbes d'étalonnage de la quercétine.**

**Tableau4. Teneur en flavonoïdes de l'EMMV.**

Extrait	Dosage des flavonoides (mg eq quercetin /g extrait)
EMMV	08.56 ± 0.22

La teneur en flavonoïdes dans l'extrait brut méthanolique de *M.vulgare* a été de l'ordre de 08.56 ± 0,22 mg EQ/g d'extrait).

#### **IV. Essai d'identification des flavonoides par la chromatographie sur couche mince**

Pour un essai d'analyse qualitative du contenu des flavonoides dans l'extrait méthanolique on a eu recours à l'utilisation de la chromatographie sur couche mince (CCM) puisqu'elle est l'une des méthodes habituelles pour la séparation et la purification des différents constituants d'un extrait végétal et qui est plutôt simple à mettre en œuvre. L'identification des composés était basée sur la comparaison des Rf's et couleurs observés sous lampe UV des taches apparues sur CCM.

Dans notre étude, nous avons réalisé la séparation avec cinq systèmes:

- Système 1. Butanol/ Acide acétique/ Eau distillée (4 :1:5)
- Système 2. Acide acétique/ Eau distillée (15 : 85)
- Système 3. Acétone/ Eau distillée (1: 1 )
- Système 4. Acétate d'éthyle/ Ac formique/Ac acétique/ Eau distillée (100 :11 :11 :26)
- Système 5. Chloroforme / Acétone/ammoniaque 10% (80 :40 :18)

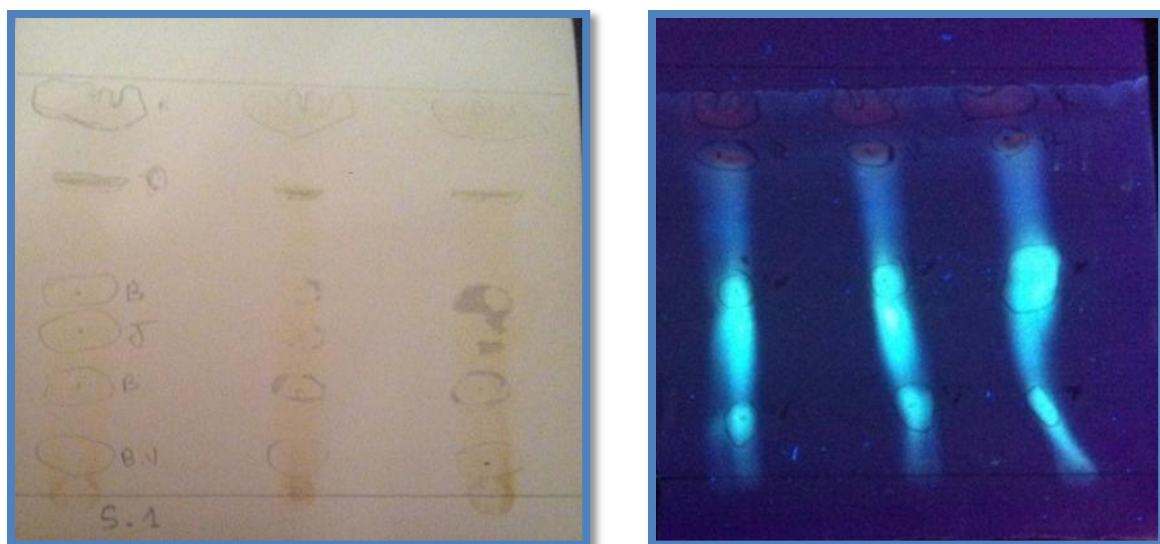
#### IV.1. Composés identifiés dans EMMV par le système solvant (Butanol/ Acide acétique/ Eau distillée) (4 :1:5)

6 spots ont été ségrégués des dépôts de EMMV par le système de solvant utilisé **Butanol/ Acide acétique/ Eau distillée (4 :1:5)** appartenant aux différentes classes flavoniques.

Les résultats sont présentés dans le **Tableau5** et la **Figure10**.

**Tableau5. Résultat de la CCM de EMMV : système solvant Butanol/ Acide acétique/ Eau distillée (4 :1:5): Adsorbant : gel de silice**

N ° de spots	Couleur sous UV 365 (nm)	Les Rfs (cm)	Les Types des flavonoïdes possibles selon ( Markham , 1982)
1	bleu verdâtre	0,072	Flavonols avec 3-OH libre -Flavonones ou aurones
2	bleu verdâtre	0,240	Flavonols avec 3-OH libre -Flavonones ou aurones
3	jaune	0,360	-Flavonols-Aurones et quelques 2-, 4-OH chalcones
4	bleu	0,481	des acides phénols
5	orange	0,722	Flavonols avec 3-OH libre (et dihydroflavonols)
6	rouge	0,915	Anthocyanidin 3-glycosides



**Photo2 : photo de chromatogramme résultant de l'analyse EMMV par Chromatographie sur gel de silice par le système solvant : Butanol/ Acide acétique/ Eau distillée (4 :1:5) révélation à l'UV,  $\lambda=365\text{nm}$ .**

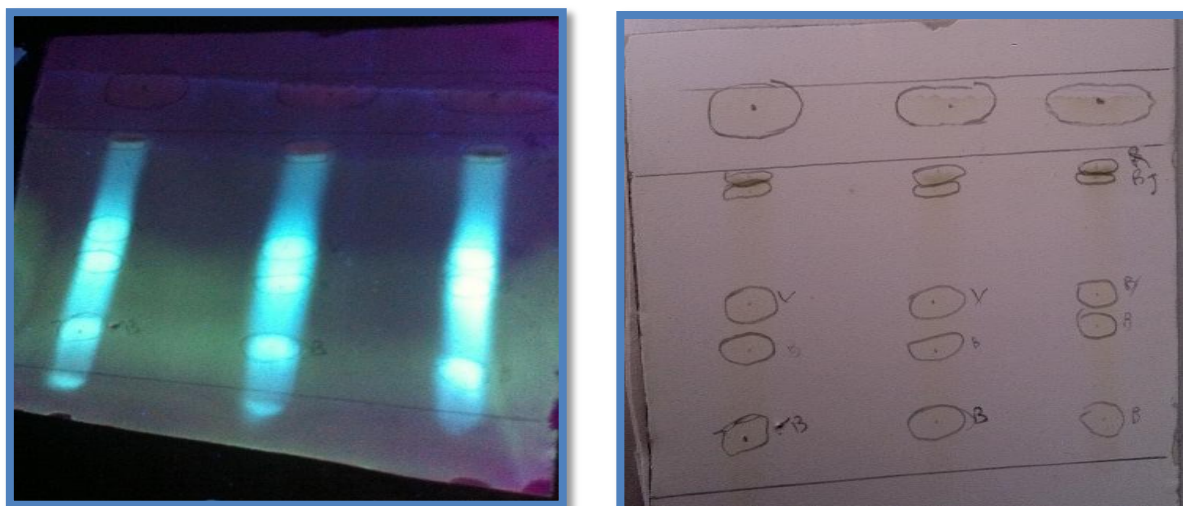
#### **IV.2. Composés identifiés dans EMMV par le système solvant Acide acétique/ Eau distillée (15:85)**

six spots ont été ségrégués des dépôts de EMMV par le système de solvant utilisé Acide acétique/Eau distillée (15:85) appartenant aux différentes classes flavoniques.

Les résultats sont présentés dans le **Tableau6** et la **Figure11**.

**Tableau6.Résultat de la CCM de EMMV : système solvant Acide acétique/ Eau distillée (15:85) Adsorbant : gel de silice**

N° de spots	Couleur sous UV 365 (nm)	Les Rfs (cm)	Les Types des flavonoïdes possibles Selon ( Markham , 1982)
1	Bleu	0,102	des acides phénols
2	Bleu	0,382	des acides phénols
3	Bleu verdâtre	0,426	Flavonols avec 3-OH libre -Flavonones ou aurones
4	Jaune	0,735	-Flavonols-Aurones et quelques 2-, 4-OH chalcones
5	Rouge	0,764	Anthocyanidin 3-glycosides
6	Rouge	0,911	Anthocyanidin 3-glycosides



**Photo3 :** photo de chromatogramme résultant de l'analyse EMMV par Chromatographie sur gel de silice par le système solvant Acide acétique/ Eau distillée (15:85): révélation à l'UV,  $\lambda=365\text{nm}$ .

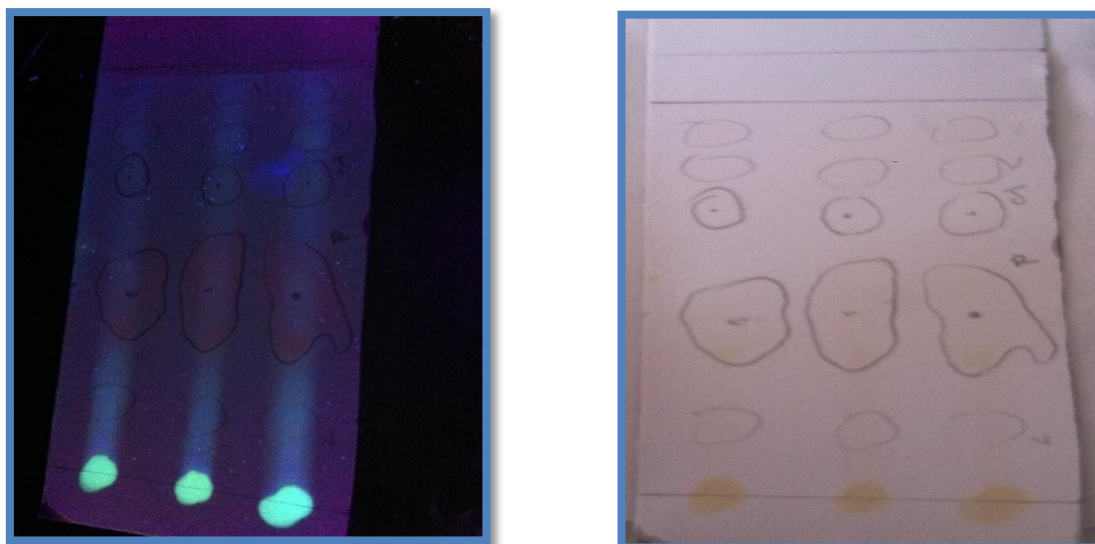
#### **IV.3. Composés identifiés dans EMMV par le système solvant Acétone/ Eau distillée (1 : 1) V/V**

Cinq spots ont été ségrégués des dépôts de EMMV par le système de solvant utilisé Acétone/ Eau distillée (1 :1) V/ V appartenant aux différentes classes flavoniques.

Les résultats sont présentés dans le **Tableau7** et la **Figure12**.

**Tableau7. Résultat de la CCM de EMMV : système solvant Acétone/ Eau distillée (1 : 1)V /V Adsorbant : gel de silice**

N ° de spots	Couleur sous UV 365 (nm)	Les Rfs (cm)	Les Types des flavonoïdes possibles Selon ( Markham , 1982)
1	Vert	0,153	Flavonols avec 3-OH libre -Flavonones ou auronnes
2	Rouge	0,438	Anthocyanidin 3-glycosides
3	Jaune	0,632	-Flavonols-Auronnes et quelques 2-, 4-OH chalcones
4	Vert	0,795	Flavonols avec 3-OH libre -Flavonones ou auronnes
5	Vert	0,826	Flavonols avec 3-OH libre -Flavonones ou auronnes



**Photo4 :** photo de chromatogramme résultant de l'analyse EMMV par Chromatographie sur gel de silice par le système solvant Acétone/ Eau distillée (1 : 1) v/révélation à l'UV,  $\lambda=365\text{nm}$ .

#### **IV.4. Composés identifiés dans l' EMMV par le système solvant Acétate d'éthyle/ Ac formique/Ac acétique/ Eau distillée(100 :11 :11 :26).**

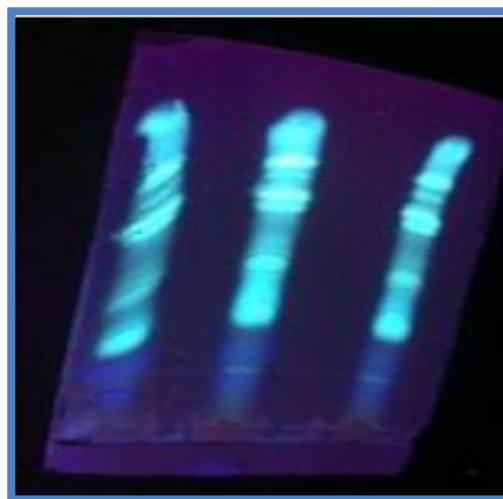
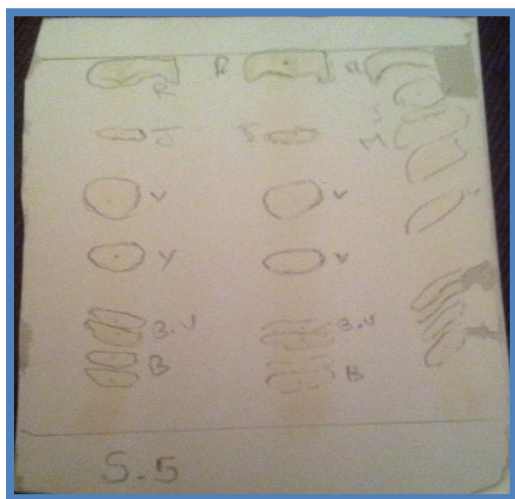
Huit spots ont été ségrégués des dépôts de EMMV par le système de solvant utilisé Acétate d'éthyle/ Ac formique/Ac acétique/ Eau distillée (100 :11 :11 :26) appartenant aux différentes classes flavoniques.

Les résultats sont présentés dans le **Tableau8** et la **Figure13**.

**Tableau8.Résultat de la CCM de l'EMMV : système solvant Acétate d'éthyle/ Ac formique/Ac acétique/ Eau distillée (100 :11 :11 :26) Adsorbant : gel de silice**

N ° de spots	Couleur sous UV 365 (nm)	Les Rfs (cm)	Les Types des flavonoïdes possibles Selon ( Markham , 1982)
1	bleu	0,102	des acides phénols
2	bleu	0,141	des acides phénols
3	Bleu verdâtre	0 ,205	Flavonols avec 3-OH libre -Flavonones ou aurones
4	Bleu verdâtre	0,230	Flavonols avec 3-OH libre -Flavonones ou aurones
5	vert	0,410	Flavonols avec 3-OH libre

			-Flavonones ou aurones
6	Vert	0,576	Flavonols avec 3-OH libre -Flavonones ou aurones
7	jaune	0,769	-Flavonols-Aurones et quelques 2-, 4-OH chalcones
8	rouge	0,974	Anthocyanidin 3-glycosides



**Photo5** :photo de chromatogramme résultant de l'analyse EMMV par Chromatographie sur gel de silice par le système solvant Acétate d'éthyle/ Ac formique/Ac acétique/ Eau distillée (100 :11 :11 :26) :révélation à l'UV,  $\lambda=365\text{nm}$ .

#### IV.5. Composés identifiés dans l'EMMV par le système solvant

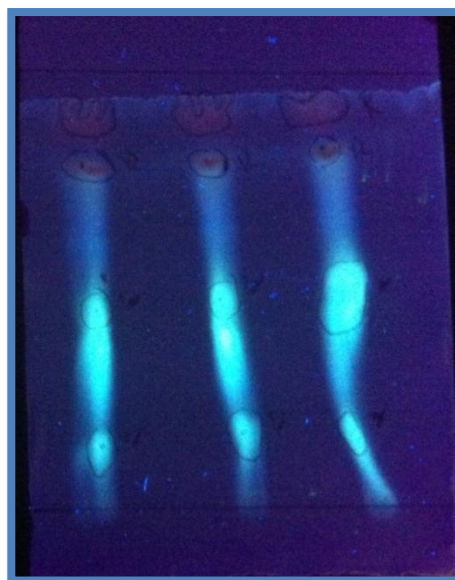
##### Chloroforme / Acétone/ammoniaque10% (80 :40 :18)

Quatre spots ont été ségrégués des dépôts de l'EMMV par le système de solvant utilisé Chloroforme / Acétone/ammoniaque10% (80 :40 :18) appartenant aux différentes classes flavoniques. Les résultats sont présentés dans le **Tableau 9** et la **Figure14**.

**Tableau9.**Résultat de la CCM de l'EMMV : système solvant Chloroforme / Acétone/ammoniaque10% (80 :40 :18)

N ° de spots	Couleur sous UV 365 (nm)	Les Rfs (cm)	Les Types des flavonoïdes possibles Selon( Markham , 1982)
1	vert	0,128	Flavonols avec 3-OH libre -Flavonones ou aurones

2	vert	0,423	Flavonols avec 3-OH libre -Flavonones ou auronnes
3	rouge	0,717	Anthocyanidin 3-glycosides
4	rouge	0,794	Anthocyanidin 3-glycosides



**Photo6 :photo de chromatogramme résultant de l'analyse EMMV par Chromatographie sur gel de silice par le système solvant Chloroforme /Acétone/ammoniaque10%.**

La CCM nous a permis d'avoir les empreintes flavoniques dans l'extrait de la plante *M.Vulgare*, l'identification des composés était basée sur la comparaison des Rfs et couleurs observés sous lampe UV des taches apparues sur CCM.

Nous constatons que le système de solvants **Acétate d'éthyle/ Ac formique/Ac acétique/ Eau distillée (100 :11 :11 :26)** sépare plus de composés dans EMMV que les autre systèmes.

Selon Markham, la plupart des flavonoïdes ne sont pas visibles sur le gel de chromatographie (cellulose) après leur migration, à l'exception des anthocyanines qui apparaissent en spots oranges et les chalcones,aurones et 6-hydroxyflavonols qui apparaissent en jaune. Pour cette raison, les chromatogrammes doivent être visionnés sous lumière UV, et les flavonoïdes deviennent visibles (fluorescents) sous cette lumière. (Markham, 1982 ; Hamlat, 2006).

**Tableau10. Interprétation des couleurs des spots en différentes classes de flavonoïdes.**

<b>Couleur des spots sous lumière UV</b>	<b>Type de flavonoïdes selon (Markham , 1982)</b>
<b>Violet et violet foncé</b>	Typique pour les flavones et flavonols glycosides (hétérosides)
<b>Fluorescence bleue</b>	Caractéristique des acides phénols
<b>Fluorescence blanche</b>	Isoflavones
<b>Jaune orangé</b>	Flavonols avec 3-OH libre (et dihydroflavonols)
<b>Fluorescence jaune</b>	-Flavonols -Aurones et quelques 2-, 4-OH Chalcones
<b>Jaune verdâtre, bleu verdâtre ou vert</b>	-Flavonols avec 3-OH libre -Flavonones ou aurones
<b>Orange, rouge ou mauve</b>	Anthocyanidin 3-glycosides
<b>Rose</b>	La plupart des 3-5 diglycosides

En se basant sur cette littérature et selon les couleurs des spots obtenues sur les chromatogrammes des six systèmes (**Tableau10**) On a pu suspecter la présence des Flavonones ou aurones, Anthocyanidin 3-glycosides, Flavonols avec 3-OH libre ,Flavonols-Aurones et quelques 2-, 4-OH chalcones, Flavonols avec 3-OH libre (et dihydroflavonols) et des acides phénols. (**BOUDJELAL A, 2013**), a été révélé la présence des flavonoides glycosides dans l'EMMV comme l'apigénine *O*-glucoside et luteoline *O*-glucoside.

## **V. Etude des activités biologiques de l'extrait méthanolique de *M.vulgare***

### **V.1. Détermination de l'activité anti-radicalaire des extraits *M.vulgare* par la méthode de DPPH° (effet scavenger)**

Puisque le principal mécanisme d'action antioxydant des polyphénols des plantes est le piégeage des radicaux libres, plusieurs méthodes ont été développées pour évaluer l'activité antioxydante des extraits des plantes par le piégeage de radicaux libres synthétiques en solution dans des solvants polaires comme le méthanol à température ambiante. Les radicaux

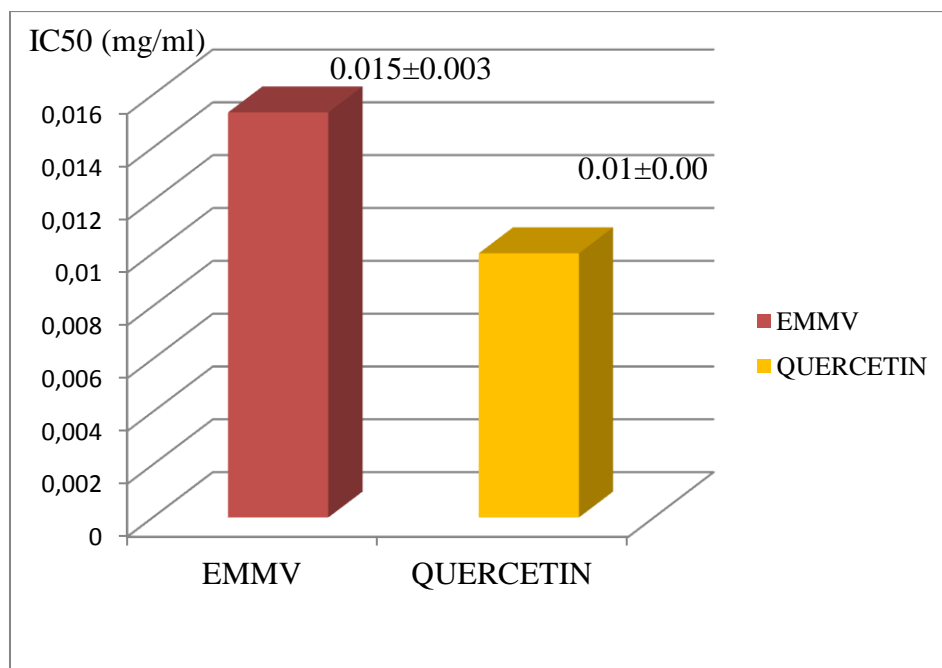
les plus fréquemment utilisés incluent le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) et l'acide 2,2-0-azino-bis (3- ethylbenzoline-6-sulphonique) (ABTS). Dans cette étude, la méthode par le DPPH a été choisie pour évaluer l'activité antioxydante de l'extrait de nos plantes parce qu'elle est l'une des méthodes les plus simple, les plus rapide et les plus efficace à cause de la grande stabilité du radical. L'activité antioxydante est déterminé par la diminution de l'absorbance d'une solution alcoolique de DPPH à 517 nm, Ce radical libre présente une coloration violet sombre, lorsqu'il est piéger par des substances antioxydants, la forme réduite conféré à la solution une coloration jaune pâle, le virage vers cette coloration et l'intensité de la décoloration de la couleur de la forme libre en solution dépend de la nature, la concentration et la puissance de la substance antiradicalaire. Pour des fins comparatives la quercetine est utilisé comme un antioxydant standard. Il a montré une activité antiradicalaire très puissante. (Maisuthisakul *et al.*, 2007 ).

**Tableau11. Les pourcentages de réduction du radical DPPH.°**

Les concentrations			
Concentrations initiales en (mg/ml)	Concentrions dans le mélange réactionnel en (mg/ml)	(%) de réduction de EMMV	(%) de réduction de Quercetin
40	0.4	94,42307692±0.58	-
20	0.2	93,81410256±0.055	-
10	0.1	93,78205128±0.14	-
5	0.05	92,69230769±0.34	95.89±0.19
3	0.03	92,40384615±0.40	95.75±0.05
2	0.02	62,33974359±2.98	95.94±0.19
1	0.01	53,68589744±0.11	95.94±0.05
0.5	0.005	29,80769231±0.95	95.96±0.22
0.250	0.00250	12,56410256±2.03	95.01±0.43
0.125	0.00012	4,679487179±0.92	46.43±2.43

L'histogramme représente la concentration de l'extrait méthanolique de la plante *M.vulgare* qui piègent 50 % du radical DPPH° (IC50) (**Figure 15**). C'est un paramètre utilisé

pour estimer l'activité antioxydant. Plus cette concentration est faible plus l'effet antioxydant est très élevé.



Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  SD (n = 3).

**Figure15. Les concentrations des extraits méthanolique de *M.vulgare* qui inhibent 50 % du radical DPPH°.**

EMMV représente une activité antioxydante avec une IC50 (0.015 $\pm$ 0.003 mg/ml), En comparaison avec l'antioxydant standard (quercetine), l'EMMV montré une importante activité antioxydant qui est proche de quercetine. Les résultats de cette activité sont en accord avec d'autres études. (Kadri A, et al., 2011) et (BOUDJELAL A, 2013).

## V.2. Résultats de l'activité antipyrétique

L'effet de l'extraits méthanolique et aqueux de la palante *M. vulgare* sur la fièvre est présenté dans les tableaux ci-dessous:

**Tableau12.** Effet de l'extrait méthanolique de *M. vulgare* sur la fièvre induite par la levure de bière chez des rats Wistar.

Traitement	Température initiale	Température pyrétique	Mesure de la température après 18 h		
			Température après <u>1heure</u>	Température après <u>2heure</u>	Température après <u>3heure</u>
<b>Contrôle (10 ml/kg)</b>	37.14±0.68	39.52±0.50	39.34±0.54	39.58±0.35	39.78±0.08
<b>Standard (150 mg/kg)</b>	37.58±0.91	39.48±0.43	39.2±0.76	38.88±0.81	37.9±0.76
<b>EMMV (500 mg/kg)</b>	37,14 ± 0.66	39.18±0.64	39.04±0.73	37.38±0.97	36.1±1.11

**Tableau13.** Effet de l'extrait aqueux de *M. vulgare* sur la fièvre induite par la levure de bière chez des rats Wistar.

Traitement	Température initiale	Température pyrétique	Mesure de la température après 18 h		
			Température après <u>1heure</u>	Température après <u>2heure</u>	Température après <u>3heure</u>
<b>Contrôle (10 ml/kg)</b>	37.14±0.68	39.52±0.50	39.34±0.54	39.58±0.35	39.78±0.08
<b>Standard (150 mg/kg)</b>	37.58±0.91	39.48±0.43	39.2±0.76	38.88±0.81	37.9±0.76
<b>EAMV (500 mg/kg)</b>	37.34±0.49	39.56±0.46	39.12±0.54	38.92±0.60	39.28±0.37

L'effet de l'extrait méthanolique et aqueux de *M.vulgare* sur la température rectale chez les rats Wistar est présentée dans les tableaux (12,13) ; l'injection sous cutané de suspension de levure de bière est nettement élevée la température rectale après 18h de l'administration.

Le paracétamol et les deux extraits méthanolique et aqueux de *M.vulgare* ont baissé la température se qui explique la présence d'une activité contre la fièvre induite par la levure de bière et ceci en comparaison avec le traitement témoin.

La présente étude a révélé que les extraits méthanolique et aqueux de la plante *Maribium Vulgare* ont provoqué une activité antipyrétique, dont l'effet de la levure a provoqué l'élévation de la température corporelle. Ici, les deux extraits méthanolique et aqueux ont causé des résultats presque similaires en diminuant la température du corps, par rapport à celle de médicament standard. Il peut être prévu que les deux extraits et leur action antipyrétique est expliquée par l'inhibition de la prostaglandine synthétase au sein de l'hypothalamus que comme les AINS. Bien, il n'y a aucune preuve directe que soit pour l'EMMV ou EAMV interfèrent avec la synthèse des prostaglandines en hypothalamus, mais il peut être soutenu par une étude connexe dans laquelle l'extrait *Dalbergia Odorifera* a été trouvé pour inhiber la biosynthèse des prostaglandines. Ainsi, la présente preuve pharmacologique fournit un soutien pour le folklore thérapeutique, une revendication des deux extraits méthanolique et aqueux laissent comme des antipyrétiques pour le traitement des fièvre et douleurs (Bhowmick R et al.,2014).



***Conclusion  
et perspectives***

### Conclusion et perspectives

Les métabolites secondaires des plantes médicinales occupent une place importante dans la découverte de nouveaux médicaments. A l'heure actuelle, l'Algérie est un pays riche en termes de biodiversité, et l'usage des pharmacopées traditionnelles par les plantes est encore une pratique bien vivante.

Le principal objectif de notre travail portait sur la valorisation pharmacologique par l'étude de l'effet antipyrétique et antioxydant de la plante médicinale *Marrubium vulgare* issues de cette biodiversité végétale. Le choix de cette plante était basé sur la fréquence de leurs utilisations par la population locale.

Sur le plan phytochimique, les résultats des testes de mise en évidence montrent une composition riche et variée en métabolites secondaires qui ont caractérisé dans les deux extraits bruts -méthanolique et aqueux- de la plante.

Ainsi la détermination de la teneur totale des flavonoides au moyen des dosages spectrophotométriques et l'analyse du contenu des flavonoides par la CCM dans l'extrait méthanolique nous a confirmé la présence des flavonoïdes.

Les potentialités antioxydants de l'EMMV *in vitro* sont évaluées par la méthode de piégeage directe du radical libre DPPH, Le résultat a révélé Un fort pouvoir antioxydant.

L'effet de l'EMMV et l'EAMV sur la fièvre induite par la levure de bière chez des rats Wistar a révélé que ces deux extraits ont causé des résultats presque similaires en diminuant la température du corps, par rapport à celle de médicament standard; Ont provoqué une activité antipyrétique.

En fin, les antipyrétiques et les antioxydants naturels de l'espèce végétale *Marrubium vulgare* peuvent être très utiles pour renforcer l'organisme contre la fièvre et de prévenir les différentes pathologies survenues suite à une attaque radicalaire. Par ailleurs, Il serait nécessaire:

## Conclusion et perspectives

---

- D'isoler et de caractériser les métabolites potentiellement antipyrétiques et antioxydantes en utilisant des méthodes plus précises telles que High Performance Liquid Chromatography (HPLC), Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) et tester leurs activités biologiques.
- De déterminer la toxicité et de préciser les doses LD50 sur des modèles animaux.



***Références  
bibliographiques***

### A

**Antwerpen P.V.** Contribution à l'étude du pouvoir antioxydant de divers agents d'intérêt thérapeutique : Ciblage du système myeloperoxydase /peroxyde d'hydrogène /chlorure. Thèse de Doctorat. Université libre de Bruxelles. 2006 ; 122.

**Ardestani A and Yazdanparast R.** Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. *Food Chem.* 2007 ; 104 : 21 -29.

**Atawodi S. E.** Antioxidant potential of African plants. *African J. of Biotec.* 2005 ; 2 :128-33.

**Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., Debbach, N., Atmani, D.,** Antioxydant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants, *Food Chemistry*, 112: 303- 309, 2009.

**Ayad R., 2008,** recherche et détermination structurale des métabolites secondaires .

### B

**Babar Ali, M., Hahn, E.J., Paek, K.Y. (2007)** Methyl Jasmonate and Salicylic Acid.

**Babior B.M, Lambeth J.D and Nauseef W.** The neutrophil NADPH Oxidase. *Arch Biochem Biophys* . 2002 ; 397 : 342-44.

**Bahorun, T. (1997)** Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. Food and agricultural resarch council, Réduit, Mauritius.83-94.

**Belfadel A ; 2013.** Etude phytochimique et évaluation in vitro de l'activité antibactérienne de la partie aérienne de la plante médicinale (*Ruta montana*). Mémoire de master en microbiologie, Université Abbès laghroue Khenchela, 1-4.

**Bellakhdar J., 1997.** Médecine Arabe Ancienne et Savoirs Populaires La pharmacopée marocaine traditionnelle. IBS Press. pp. 340-341.

**Belloum Z., 2007,** Etude phytochimique des plantes médicinales Algériennes, cas de l'espèce *Inula crithmoides* L, mémoire de magister, Université Mentouri, Constantine, 199p.

**Benmahdi A., 2001.** Identification des Principes actifs des extraits des plantes médicinales. *Phytochimie* 6 : 11-27).

## Références bibliographiques

---

**Bensalah F.,2014.** Contribution à l'étude phytochimiques et l'effet hémolitique de l'extrait brut hydroalcoolique de la partie aérienne de *Marrubium vulgare* L, Mémoire de Master en **Biochimie appliquée. Université Abou Bekr Belkaid –Tlemcen-**.

**Bloomer RJ and Fisher-Wellman K.H.** Blood Oxidative Stress Biomarkers: Influence of Sex, Training Status, and Dietary Intake. *Gender Medicine*. 2008 ; 5(3) : 218-28.

**Boharun T., Gressier B., Trotin F., Bruner C., Dine T., Vasseur J., Gazin JC., Pinkas M., Luyckx M., Gazin M, 1996.** Oxygen species scavenging activity of phenolic extract from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparation. *Arzneim Forsh / Drug Res.* 1-6).

**Bonnier G., 1909,** La Végétation de la France, Flore Complète. Tome 09. Ed : Suisse et Belgique. Paris. pp. 25-26.

**Bosserdet ET Rinolter, (1977).** Secret et vertus des plantes médicinales. Paris 463p. of the Missouri Botanical Garden, 479-535 p.

**Boudjelal A., 2013.** Extraction, identification et détermination des activités Biologiques de quelques extraits actifs de plantes spontanées (*Ajuga iva*, *Artemisia herba alba* et *Marrubium vulgare*) de la région de M'Sila, Algérie. Thèse de doctorat en Biochimie Appliquée. Université Badji Mokhtar Annaba.

**Boukef M.K., 1986.** Médecine Traditionnelle et Pharmacopée, Les plantes de la médecine traditionnelle tunisienne, Agence de Coopération Culturelle et Technique. Paris. France. pp.163-164.

**Boudjad R., 2009.** Etude de l'effet antidiabétique et antioxydant de l'extrait aqueux lyophilisé d'*artemisia herba alba* asso chez des rats sains et des rats rendus diabétiques par Streptozotocine. **de magistère en Biologie** moléculaire et cellulaire. Université des Frères Mjentouri Constantine,2.

**Boussaid M, 2013,** étude phytochimique et activités biologiques (antioxydante et antimicrobienne) de l'extrait de tannins de *Pituranthos chloranthus* (Ghezze), mémoire demaster, Université de Tlemcen-Abou-Bekr Belkaïd, 52p.

**Bouzghaia B, 2013,** Etude phytochimique de la plante *Bassia muricata*, mémoire de components of food. *Biochem Soc Trans* 24 : 790-5.

**Browne R.W, Bloom M.S, Schisterman E.F, Hovey K, Trevisan M, Wu C, Liu A and Wactawski-Wende J.** Analytical and biological variation of biomarkers of oxidative stress during the menstrual cycle. *Biomarkers*. 2008 ; 2 : 160-83.

**Bruneton J.** Les tanins. Ed. Editions médicales internationales, Paris, (1999), 369-404.

**Bruneton J., (1999).** Pharmacognosie, photochimie. Plantes médicinales. Technique et documentaires, 3Edition Lavoisier, Paris, p1120.

### C

**Chebaibil A, Filali FR, Amine A, Zerhouni M (2006)** Effet bactéricide (in vitro) des extraits aqueux des feuilles du grenadier marocain (*Punica granatum L.*) sur des bactéries multirésistantes aux antibiotiques. *Phytothérapie*.

**Çitoğlu G.S. and Aksit F. (2002).** Occurrence of marrubiin and ladanein in *Marrubium trachyticum* Boiss. from Turkey. *Biochem Syst Ecol*, **30** :885–886.

**Codoner-Franch P, Pons-Morales S, Boix-Garcia L and Valls-Bellés V.** Oxidant/antioxidant status in obese children compared to pediatric patients with type 1 diabetes. *Pediatric Diabete*. 2010 ; 11 (4) : 251-7.

**Corrado B, Marco T, Colucci R, et al. (2008)** Role of coxibs in the strategies for gastrointestinal protection in patients requiring chronic non-steroidal anti-inflammatory therapy. *Pharm Res* .59 :90-100).

### D

**Da Silva Pinto, M., Maria Lajolo, F., Inés Genovese, M.,** Bioactive compounds and quantification of total ellagic acid in strawberries (*Fragaria x ananassa Duch.*), *Food Chemistry*, *107*: 1629-1635, **2008**.

**Dacosta, Y. (2003)** Les phytonutriments bioactifs. *Ed Yves Dacosta. Paris*. 317 p.

**Daels-rakotoarison D. (1999)** Extraits polyphénoliques d'aubepine, de cola et d'eglantier. Thèse de doctorat. Université de Lille II. France. 172 (64).

**Delille. L. (2007)** *Les plantes médicinales d'Algérie*, Berti éditions, pp. 141-142.

**Dewan SMR et al.** In vivo analgesic, antipyretic, and anti-inflammatory potential in Swiss albino mice and in vitro thrombolytic activity of hydroalcoholic extract from *Litsea glutinosa* leaves. *Biological Research*. 2014 ; 47-56).

**Dinarello CA, Cannon JG,Wolff SM.** New concepts on the pathogenesis of fever.*Rev Infect Dis* 1988 ; 10 : 168-84.

## Références bibliographiques

---

**Djemoui D., 2012**, contribution à l'étude de l'activité anti-oxydante et antibactérienne de quelques coumarines synthétisées, mémoire master académique, Université Kasdi Merbah, Ouargla, 40 p.

### *E*

**Edeaga H.O, Okwu D. E, Mbaebie BO., 2005.** Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African journal of biotechnology*. 4 (7):685-688).

**ELQAJ M AHAMI A., et BELGHYTI, D., (2007).** La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journées scientifiques "ressources naturelles et antibiotiques". Maroc.

### *F*

**Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C. (2008)** Phenolic composition of *Cynaracardunculus* L. organs, and their biological activities. *C. R. Biologies*. 331 : 372-379.

**Fonso V, Champy R, Mitrovic D, Collin P and Lomri A.** Reactive oxygen species and superoxide dismutases: role in joint diseases, *Revue du Rhumatisme* . 2007 ; 74 :636-43.

**Frnsvortha N. R., Akerele O., Bingel A. S., Soejarto D. D. et Gouz, (1986).** Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. Bulletin de l'organisation mondiale de la santé. 64(2) : 159-164.

**Frnsvortha N. R., Akerele O., Bingel A. S., Soejarto D. D. et Gouz, (1986)** Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. Bulletin de l'organisation mondiale de la santé. 64(2) : 159-164.

**Finaud J, Lac G and Filaire E.** Oxidative Stress. Relationship with Exercise and Training. 2006 ; 36 (4) : 327-58.

**Flora S.J.S.** Structural, chemical and biological aspects of antioxidants for strategies against metal and metalloid exposure. *Oxi Med Cel Long*. 2009 ; 4 :191-206.

**Fonso V, Champy R, Mitrovic D, Collin P and Lomri A.** Reactive oxygen species and superoxide dismutases: role in joint diseases, *Revue du Rhumatisme* . 2007 ; 74 :636-43.

### G

**Ganong W.** *Physiologie médicale*. [s.l.] : De Boeck Université, 2005.868 p.  
Disponible sur : ISBN : 9782804148911.

**Gardès-Albert M, Dominique B.R, Zohreh Abedinzadeh Z et Daniel J.D.** Espèces réactives de l'oxygène : Comment l'oxygène peut-il devenir toxique L'actualité chimique. 2003 ; 91-96.

**Georgetti S.R, Casagrande R, Di Mambro V.M, Azzolini E.C.S and Fonseca Maria J.V.** Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the chemiluminescence method. *AAPS Pharm Sc.* 2003 ; 2 :5.

**Ghestem A., Segun E., Paris M., Orecchioni A-M.** (2001). Le préparateur en pharmacie : Botanique-Pharmacognosie Phytothérapie - Homéopathie. Lavoisier Tec et Doc, Paris ,273p.

**Gilles K, valérie M; 2002.**mécanisme de la fièvre.

**Gobbi R. et Khebbaz W., 2014,** Traçabilité de l'identification des métabolites secondaires végétaux, Projet de Fin d'Etudes En vue de l'obtention du diplôme de Licence, Université Kasdi Merbah, OUARGLA,34p.

**Gomez-Caravaca, A.M., Gomez-Romero, M., Arraez-Roman, D., Segura-Carretero, A.,Fernandez-Gutierrez, A. (2006)** Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *J Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* 41 : 1220-1234.

**Goto M, Ueda K, Hashimoto T, Fujiwara S, Matsuyama K, Kometani T and Kanazaw K.** A formation mechanism for 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine mediated by peroxidized 2'- deoxythymidine. *Free Radical Biology and Medicine.* 2008 ; 45 : 1318-25.

**Grimprel E., Qoinet B., Parez N.** *Pathologies hivernales épidémiques du l'espèce cornutum (zygophyllaceae)*, mémoire de magister, UniversitéMentouri, Constantine, 124p.: *zygophyllum*

**Guénard H.** *Physiologie humaine*. [s.l.] : Editions Pradel, 2001. 620 p.Disponible sur : ISBN : 9782913996045.

## Références bibliographiques

---

**Gueye P.M.** Phénotypes majeurs de l'haptoglobine humaine et stress oxydant induit par l'hémoglobine extra-erythrocytaire sur le globule rouge. Thèse de Doctorat. Université Louis Pasteur Strosbourg. 2007 ; 247.

**Guignard J.L., 2001.** Botanique systématique moléculaire. Ed : Masson. Paris. 290 p.

### *H*

**Hadi M.** La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques, Thèse pour obtenir le titre de docteur en Sciences de l'Université Louis Pasteur, Domaine : Pharmacochimie, Université Strasbourg. 2004 ; I :155.

**Halliwell B.** Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine, Ed 4. Oxford: Clarendon Press. 2006.

**Halliwell B.** The antioxidant paradox : less paradoxical now. Br J Clin Pharmacol. 2013 ; 75(3) :637-44.

**Hamimed S., 2009,** Caractérisation chimique des principes à effet antidermatophyte des racines d'*Anacyclus pyrethrum L*, mémoire de magister, Université de Mentouri, Constantine, 138p.

**Hamlat L.N.** Flavonoïdes et acides phenoliques de Pistacialentiscus; Thèse de Magister. Ecole normale supérieure Kouba, Alger, 2006, p 153.

**Heller W., Forkmann G., 1993.** Biosynthesis of flavonoids. Chapman and Hall, London: 499-535.

**Herrera A.A., Aguilar S.L., et al., 2004.** Clinical trial of *Cecropia obtusifolia* and *Marrubium vulgare* leaf extracts on blood glucose and serum lipids in type 2 diabetics. Phytomedicine. 11(8) : 561-6.

### *I*

**Ito N, Fukushima S and Tsuda H.** "Carcinogenicity and modification of the carcinogenic responses by BHA, BHT and other antioxidants". CRC Critical Reviews in Toxicology. 1985; 15: 109-50.

### *J*

**Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A., Steven P., 2002.** Botanique systématique : Une perspective phylogénétique. 1ere Ed : Paris et Bruxelles. pp. 369-384.

### *K*

**Kadri A, Zarai Z, Békir A et al., 2011. Chemical composition and antioxidant activity of *Marrubium vulgare* L. Essential oil from Tunisia. *African Journal of Biotechnology*. 10(19) : 3908-3914.**

**Kirschvink N, Moffarts B and Lekeux P.** The oxidant/antioxidant equilibrium in horses. *The Veterinary Journal*. 2008 ; 177 : 178-91.

**Kohen R and Nyska A.** Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification. *Toxicolo Pathol*. 2002; 30: 620-50.

**Kohen R., Nyska A. (2002)** Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification. *Toxicolo Pathol*. **30** : 620-650.

**Koleva II, Van Beek TA, Linszen JPH, de Groot A, Evstatieva LN.** Screening of plant Extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochemical Analysis*. 2002 ; 13 : 8-17).

### *L*

**Lehucher-Michel M. P., Lesgards J. F., Delubac O. et autre (2001)** Stress oxydant et pathologies humaines. *Press Med*. **30** : 1076-1081.

**Lehucher-Michel M.P, Lesgards J.F et Delubac O.** Stress oxydant et pathologies humaines. *Press Med*. 2001; 30: 1076-081.

**Lugasi ., Hovari J, Sagik, and Biro L.** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases J. *Acta. biologica. szegediensis* . 2003; 47(14):119-25.

### *M*

**M. Bouloux, 2000,** les alcaloïdes dosage de la quinine dans les écorces de quinquina, travaux pratiques de chimie végétale, 1-2.

**Mac Laren D.** *Advances in sports and exercise science series. Nutrition and Sport*. 8. Antioxidants and free radicals by Close GL and Mc Ardle F. Elsevier. 2007.

**Maisuthisakul,P., Suttajit, M., Pongsawatmmit, R.,** Assessment of phenolic content and free radicalscavenging capacity of some Thai indigenous plants, *Food Chemistmy*, 100: 1409- 1418, 2007.

## Références bibliographiques

---

**Marfak A.** Radiolyse gamma des flavonoides. Etude de leur reactivité avec les radicaux issus des alcools : formation des depsides. Thèse de doctorat Université de Limoges. 2011 ; 6-7-27-45.

**Markham K. R., 1982.** Techniques of flavonoids identification. *Academic press, London*. Chap. 1 and 2 : 1-113).

**Markham, K.R.,** Techniques of Flavonoid Identification. *Biological techniques series, 1982.*

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

**Moroh J.L.A., Bahi C., Dje K., Loukou Y.G., Guede-Guina F., 2008.** Etude de l'activité antibactérienne de l'extrait acétatique (EAC) de *Morinda morindoides* (Baker) milne-redheat (rubiaceae) sur la croissance in-vitro des souches d'*Escherichia coli*. *Bulletin de la société Royale des Sciences de Liège*, Vol. (77) : 44-61.

### N

**Nawwar M.A.M., El-Mousallamy A.M.D., Barakat H.H., Buddrus J. and Linscheid M. (1989).** Flavonoid lactates from leaves of *Marrubium vulgare*. *Phytochemistry*, 28 : 3201–3206.

**Newman D.J. et Cragg G.M., 2012,** natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010, 75, 311-335.

**Novaes A.P., Rossi C., et al., 2001.** Preliminary evaluation of the hypoglycemic effect of some Brazilian medicinal plants. *Thérapie*. 56(4) : 427-30.

### O

**Ozenda P., 2004.** Flore et végétation des saharas. 3<sup>ème</sup> Ed : CNRS édition. Paris. pp.399-402.

### P

**Pan, Y., Wang, K., Huang, S., Wang, H., Mu, X., He, C., Ji, X., Zhang, J., Huang, F.,** Antioxydant activity of microwave-assisted extract of longan (*Diinocarpus Longan* Lour.) peel, *Food Chemistry*, 106: 1264-1270, 2008.

## Références bibliographiques

---

**Papoutis Z., Kassi E., Mitakou S., Aligiannis N., Tsiapara A. and Chrousos G.P.** Induced Oxidative Stress and Accumulation of Phenolics in *Panax ginseng* Bioreactor Root Suspension Cultures. *Molecules*. 12 : 607-621.

**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.

**Powers S.K, Smuder A.J, Kavazis A.N and Hudson M.B.** Experimental guidelines for studies designed to investigate the impact of antioxidant supplementation on exercise performance. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*. 2010 ; 20 : 2-14.

### Q

**Queiroz-Monici K-S., Costa G-E-A., Da-Silva N., Reis S-M-P-M. et De-Oliveira A-C., (2005).** Bifidogenic effect of dietary fiber and resistant starch from leguminous on the intestinal microbiota of rats. *Nutrition*, 21 : 602-609.

**Quezel P., Santa, S., 1963.** La nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II, Ed : CNRS. Paris. 360-361 p.

### R

**Raynaud J., 2007.** Prescription et conseil en phytothérapie. Ed : Tec & Doc. Paris. 149 p.

**Rehman A, Nourooz J and Moller W.** Increased oxidative damage to all DNA bases in patients with type II diabetes mellitus. *FEBS Lett.* 1999; 448: 120-22.

**Rice-Evans CA, Miller NJ; 1996.** Antioxidant activities of flavonoids as bioactive Radical Research, 22 : 375-383.

**Rice-Evans C-A., Miller N-J., Bolwell P-G., Bramley P-M. et Pridham JB., (1996).** The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free*

**Rigano D., Apostolides A. N., Bruno M., Formisano C., Grassia A., Piacente S., Piozzi F., Senatore F., 2006.** Phenolic compounds of *Marrubium globosum ssp. libanoticum* from Lebanon. *Biochemical Systematics and Ecology*. 34: 256-260.

## Références bibliographiques

---

**Rizzo A.M, Berselli P and Zava S. 2011** Endogenous antioxidants and radical scavengers. *Adv Exp Med Biol.*, (698) : 52-67.

**Roberts R.A, Smith R.A and Safe S.** Toxicological and pathophysiological roles of reactive oxygen and nitrogen species. *Toxicology.* 2010 ; 276 : 285-94.

**Robin E ,2014.** Sémiologie générale – la fièvre, le syndrome inflammatoire.12p.

**Roman R.R., Alarcon-Aguilar F., et al., 1992.** Hypoglycemic effect of plants used in Mexico as antidiabetics. *Archives of Medical Research.* 23(1) : 59-64.

### S

**Saihi R., 2011,** étude phytochimique, extraction des produits actifs de la plante *Artemisia campestris* de la région de Djelfa. Mise en évidence de l'activité biologique, mémoire de magister, Université d'Oran, Oran, 76p.

**Sayre L.M, Moreira P.I, Smith M.A and Perry G.** Metal ions and oxidative protein modification in neurological disease. *Ann Ist Super Sanità.* 2008 ; 41(2) : 143-164.

**Sevanian A, Nordenbrand K, Kim E, Ernester L and Hochstein P.** Microsomal lipid peroxidation: The role of NADPH-cytochrome P450 reductase and cytochrome P450. *Free Radic Biol Med.* 1990 ; 8 :145-52.

**Sofowora A. 1993.** *Medicinal Plants and Traditional Medicine in Africa*, 2. Spectrum Books Limited, Ibadan, Nigeria, p. 289.

**Strange C. Larousse medical. Ed Larousse (2006).** Acteoside and martynoside exhibit estrogenic/antiestrogenic properties. *J. Steroid Biochem Mol Biol*, **98** : 63–71.

### T

**Tapiero H, Tew K.D, Nguyen B.G and Mathé G.** Polyphenol do they play a role in the prevention, of the human pathologies? *Biomed. pharmacother.* 2002 ; 56 : 200-07.

**Tawaha, K., Alali, F.Q., Gharaibech, M., Mohammad, M., El-Elimat, T.,** Antioxydant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species, *Food Chemistry*, 104: 1372- 1378, **2007.**

**Touafek O.** Etude phytochimique de plantes médicinales du nord et du sud algérien. Thèse de doctorat. Université de Constantine. 2010 ; 9-12-76.

### V

**Vanhaelen M, Vanhaelen-Fasté R.** High performance liquid gas and thin layer chromatography of naturally occurring flavonoids, phenolic and related compounds. *Journal of chromatography*. 1980 ; 187 : 255-260.).

**Vansant G. (2004)** Radicaux libres et antioxydants : principes de base. *Ed Institut Danone*.

**Verma D. K., Singh S. K., Tripathi V. (1997)** A rare antibacterial flavone glucoside from *Lantana camara*. *Indian Drugs*. **34** : 32–35.

### W

**Wichtl M., Anton R, 2009.** Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Édition LAVOISIR, Paris : 38, 41.

### Y

**Yrjonen T., 2004.** Extraction and planar chromatographic separation techniques in the pharmacy of the university Helsinki, 64. analysis of natural products. Conference room 513 at viikki info center.

# Etude de l'effet antipyrétique et antioxydant de la plante médicinale *Marrubium vulgare* de la région de Khenchela

## Résumé

Dans le cadre d'une valorisation des ressources thérapeutique naturelles, l'extrait méthanolique et aqueux de la plante médicinale de la région de Khenchela *Marrubium vulgare* (*miriwath*) ont été testé pour leur activité antipyrétique et antioxydante.

L'opération de l'extraction du matériel végétale de *M. Vulgare* à l'aide du méthanol et l'eau distillée a permis d'obtenir un résidu sec d'extrait brute méthanolique et aqueux de 70.78 g et 23.29 g respectivement.

L'analyse phytochimique préliminaire sur l'EMMV et l'EAMV de la plante a montré que cette plante contient des flavonoïdes, des saponosides, des tanins, des coumarines, des composés réducteurs, des composés phénoliques, des tri-terpènes des quinones et des alcaloïdes sels.

L'étude quantitative des flavonoïdes de l'EMMV au moyen des dosages spectrophotométriques, révèle que l'extrait contient  $08.56 \pm 0,22$  mg EQ/g d'extrait.

L'analyse qualitative des flavonoïdes de l'EMMV par chromatographie sur couche mince nous a révélé la présence des Flavonones ou auronones, Anthocyanidin 3-glycosides, Flavonols avec 3-OH libre, Flavonols-Auronones et quelques 2-, 4-OH chalcones, Flavonols avec 3-OH libre (et dihydroflavonols) et des acides phénols.

L'évaluation du pouvoir antioxydants de l'EMMV par le mécanisme de piégeage direct des radicaux libres par la méthode de DPPH a prouvé le puissant pouvoir réducteur de l'extrait avec une IC<sub>50</sub> de  $0.015 \pm 0.003$  mg/ml.

Les résultats de l'activité antipyrétique par la méthode de levure de bière *in vivo* sur des rats wistar, ont montré que *Marrubium vulgare* est capable de renforcer l'organisme contre la fièvre.

## Mots clés:

*Marrubium vulgare*, activité Antioxydant, activité antipyrétique, flavonoides.

# Study of the antipyretic and antioxidant effect Of a medicinal plant *Marrubium vulgare* from Khenchela area

## Abstract

Methanolic and aqueous extracts of a medicinal plant *Marrubium vulgare* (*miriwath*) from Khenchela area have been tested for their antipyretic and antioxidant activity.

The extraction by methanol and distilled water of the plant is giving a crude methanolic and aqueous extract with 70.78 g and 23.29 g respectively.

A preliminary phytochemical analysis of MEMV and AEMV revealed that the plant contain the flavonoids, Saponins, tannins, coumarins, reducing compounds, phenolic compounds, terpenoids, quinons and alkaloids.

A quantitative study of flavonoids in the MEMV by spectrophotométric method revealed that the extract contain  $08.56 \pm 0,22$  mg EQ/g extract

A Qualitative analysis of flavonoids in the MEMV by thin layer chromatography showed the presence of Flavonons ou aurons, Anthocyanidin 3-glycosids, Flavonols with 3-OH libre ,Flavonols-Aurons and some 2-, 4-OH chalcons, (and dihydroflavonols) and phénolic acids.

Evaluation of antioxidant power of MEMV by DPPH free radical scavenging method showed a powerful reducing power of the extract with IC50 of  $0.015 \pm 0.003$  mg/ml.

The result of antipyretic activity by Brewer's yeast *in vivo* in wistar rat's showed that *Marrubium vulgare* is capable of reinforce the organism against a Hyperpyrexia.

**Key words:** *Marrubium vulgare*, antipyretic activity, antioxidant activity, flavonoids

## دراسة النشاط المضاد للحمي والمضاد للبكتيريا للنبتة الطبية *Marrubium vulgare* المتواجدة في منطقة خنشلة

في إطار تقييم القدرات العلاجية الطبيعية للمستخلص الميثانولي و المستخلص المائي للنبتة الطبية *M. Vulgare* المربوثة المتواجدة في منطقة خنشلة تم اختبار هذا النبات كمضاد للأكسدة و خافض للحمي.

عملية الاستخلاص باستعمال الميثانول و الماء المقطر أعطي كمية قدرت ب 70.78 غ و 23.29 غ لكل من المستخلص الميثانولي و المستخلص المائي على التوالي.

بين التقصي الكيميائي لكل من المستخلص الميثانولي و المستخلص المائي احتواء النبتة علي

Flavonons ou aurons, Anthocyanidin 3-glycosids, Flavonols with 3-OH libre ,Flavonols-Aurons and some 2-, 4-OH chalcones, (and dihydroflavonols) and phénolic acids.

في حين كشفت الدراسة الكمية باستخدام طريقة المطياف الضوئي احتواء المستخلص علي كمية من الفلافونويدات قدرت ب  $0.22 \pm 08.56$  مغ ما يكافئ الكرسيتين/غ من المستخلص

كشفت التحليل النوعي لفلافونويدات المستخلص الميثانولي باستعمال كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة على وجود مختلف أنواع الفلافونويدات.

أثبت النشاط المضاد للأكسدة بطريقة إرجاع الجذور الحرة وهذا باستعمال جذر DPPH قوة اختزالية كبيرة للمستخلص إذ قدر التركيز المثبط ل 50 ب  $0.003 \pm 0.015$  % مغ/مل.

أظهرت نتائج النشاط الخافض للحمي و الذي تم اختباره على الفئران من نوع ويستار بواسطة خميرة الجعة أن نبتة *M. Vulgare* قادرة على تعزيز قدرات الجسم ضد الحمى.

Présenté par: AGABA HANA  
BAHRI MERYEM

Date de soutenance : 07/06/2016

**Thème: Etude de l'effet antipyrétique et antioxydant de la plante médicinale  
*Marrubium vulgare* de la région de Khenchela**

**Résumé**

Dans le cadre d'une valorisation des ressources thérapeutique naturelles, l'extrait méthanolique et aqueux de la plante médicinale de la région de Khenchela *Marrubium vulgare* (*miriwath*) ont été testé pour leur activité antipyrétique et antioxydante, l'opération de l'extraction du matériel végétale de *M. Vulgare* à l'aide du méthanol et l'eau distillée a permis d'obtenir un résidu sec d'extrait brute méthanolique et aqueux de 70.78 g et 23.29 g respectivement, l'analyse phytochimique préliminaire sur l'EMMV et l'EAMV de la plante a montré que cette plante contient des flavonoïdes, des saponosides, des tanins, des coumarines, des composés réducteurs, des composés phénoliques, des tri-terpènes des quinones et des alcaloïdes sels, l'étude quantitative des flavonoïdes de l'EMMV au moyen des dosages spectrophotométriques, révèle que l'extrait contient  $08.56 \pm 0,22$  mg EQ/g d'extrait, l'analyse qualitative des flavonoïdes de l'EMMV par chromatographie sur couche mince nous a révélé la présence des Flavonones ou auronnes, Anthocyanidin 3-glycosides, Flavonols avec 3-OH libre ,Flavonols-Auronnes et quelques 2-, 4-OH chalcones, Flavonols avec 3-OH libre (et dihydroflavonols) et des acides phénols, l'évaluation du pouvoir antioxydants de l'EMMV par le mécanisme de piégeage direct des radicaux libres par la méthode de DPPH a prouvé le puissant pouvoir réducteur de l'extrait avec une IC50 de  $0.015 \pm 0.003$  mg/ml, les résultats de l'activité antipyrétique par la méthode de levure de bière *in vivo* sur des rats wistar, ont montré que *Marrubium vulgare* est capable de renforcer l'organisme contre la fièvre.

**Mots clés:**

*Marrubium vulgare*, activité Antioxydant, activité antipyrétique, flavonoides.

**Laboratoire pédagogique, Université Abbès Laghrour khenchela**