



*République Algérienne Démocratique et Populaire*

*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche  
Scientifique*



**UNIVERSITE ABBES LAGHROUR - KHENCHELA**

**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE**

**DEPARTEMENT : DE BIOLOGIE MOLÉCULAIRE ET CELLULAIRE**

## **Mémoire**

*Présenté en vue de l'obtention du diplôme de*

## **MASTER ACADEMIQUE**

**FILIERE : Biologie**

**OPTION : Biochimie appliquée**

## **Thème**

**Investigation phytochimique et étude de l'activité  
anti-inflammatoire de deux plantes médicinales  
*Artemisia campestris* et *Marrubium vulgare***

**Présenté par :**

**OUNISSI Fadia**

**BOUZIDI Halima**

**Jury de soutenance :**

**Président : M<sup>lle</sup> BENREDJEM Lamia (M.A.A) Univ. Abbès Laghrou-Khenchela**

**Encadreur : M<sup>me</sup> Douaouya Lilia (M.A.A) Univ. Abbès Laghrou-Khenchela**

**Examineur : M<sup>me</sup> Djemil Randa (M.A.A) Univ. Abbès Laghrou-Khenchela**

**Encadré par :**

**DOUAOUYA Lilia**

***Promotion : 2016***

Le travail a été réalisé au laboratoire de Biochimie à l'Université Abbès Laghrou  
- Khenchela -

# *Dédicace :*

*-À l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu Réaliser ce travail que je dédie :*

*\*mes très chers parents « Fatima Zohra, Noureddine » pour sacrifice, en encouragement.*

*\*A mes frères : Oussama ,abd Rahim*

*\* mes sœurs : Sadjida, Khadija habibi*

*\*A toute ma grande familles « Bouzidi »*

*\*\*\*Mon binôme ; fadia pour sont en couragement ace travail*

*\*Mes chère sœur qui m'ont redonné le sourire et fait retrouver la joie de vivre (Zaima ; Nawal)*

*\*\*\*\*A mes COLLEQUES ; samah , soumia , abla , imane ,lila , mokhtar , mariem , jouja, olfa , wissam , Marwa , zinou , yacine , noucaïba , zienb , israa, saïda , khawla zoulïka ...*

*\*\*nous tenons à remercier vivement notre encadreur et enseignante M<sup>em</sup> douaouialilia pour ses précieux conseils, son aide et son suivi tout le long de ce travail.*

# *Halima*

# *Dédicaces*

*Je pris Dieu tout puissant de m'accorder patience et courage  
pour finir ce mémoire*

*Je tiens à dédier ce modeste travail à ceux qui m'ont  
toujours venu en aide et s'sacrifié leur réussite dans ma vie*

*\*\*\* A ceux qui ont s'sacrifié leur vie pour que je sois, ce  
que je suis aujourd'hui, qui sont les plus chères au monde :  
mes parents...*

*\*\*\* A mes frères et mes sœurs : Karima, Nabil, Madiha,  
Houssam, Bilal, Chaïma.*

*\*\*\* A ma copine HALIMA*

*\*\*\* A toutes mes amies, lesquelles ont partagée des bons  
moments de bonheur et moment les plus difficiles pendant  
toute la période passée aux études surtout : Raïd, Wafa,  
Zineb, oussama, Abla, Samah, Raouf, Hana, Mokhtar,  
Meriem, Khawla, Saïda, Sami, Lila, Wissem, Oulfa, Jihan,  
Assia, Rima, Dalila, Hanan, Widad, Fatima, Salima,  
Khalida.*

*\*\*\* A toute ma famille*

*\*\*\* A tous mes enseignants(es) et plus spécialement  
Mme. DOUAOUYA, mon maître de mémoire qui n'a pas  
ménagé d'efforts pour l'aboutissement de ce travail.*

*FADIA* 

# *Remerciements*

*Nous adressons au Dieux tout puissant qui nous a incités acquérir le savoir et qui nous a donné la santé, la force et patience pour arriver au bout de ce modeste travail.*

*D'accepté nous reconnaissance et nous tenons à sa graisse et sa bénédiction on premier lieu.*

*J'adresse tout d'abord mes sincères remerciements à mon encadreur **M<sup>me</sup> DOUAOUYA LILIA** ... Merci d'avoir accepté de diriger ce travail, Merci pour votre encadrement sans faille tout au long du période de réalisation de ce travail, C'est un très grand honneur et un très grand plaisir d'avoir pu faire votre connaissance avant tout ...*

*Je remercie **Melle BENREDJEM LAMIA** D'avoir accepté de juger mon travail en tant que président*

*Je remercie **M<sup>me</sup> DJEMIL RANDA** maître assistante. avoir accepté d'examiner ce modeste travail.*

*On adresse un grand Merci pour le doyen **Mr HAMADA YUCEF***

*Pour les moyens mis à notre disposition. Ainsi qui ingénieurs du laboratoire et spécialement : Bahia et Abdenour.*

*Notre reconnaissance s'adresse également a toute personne qui a bien voulue nous apporter soutien et à puis, Merci à tous, que diène vous bénisse.*

---

## Liste des abréviations

**ACTH** : hormone corticotrope hypophysaire ou adrénocorticotrophine

**AINS** : anti-inflammatoires non stéroïdiens

**AIS** : anti-inflammatoires stéroïdiens

**AlCl<sub>3</sub>** : trichlorure d'aluminium

**AMM** : L'autorisation de mise sur le marché

**BSA** : sérum bovine albumine

**CCM** : chromatographie sur couche mince

**COX** : cyclo-oxygénases

**HHDP** : l'acide hexahydroxydiphénique

**IL-1** : L'interleukine 1

**LOX** : lipoxygénases

**MeOH** : extraits méthanoliques

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** : carbonate de sodium

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

**PGI<sub>2</sub>** : prostaglandin I<sub>2</sub>

**PMNs** : Polymorphonuclear leukocytes

**Rf** : Rapport frontal

**TNF** : Tumor necrosis factors

**UV** : Ultraviolet

## LISTE DES FIGURES

N° de figure	Titre	N° de page
01	Les principales familles de principes actifs utilisées en phytothérapie : certains principes actifs sont des métabolites primaires, d'autres sont des métabolites secondaires	05
02	Squelette de base des flavonoïdes	08
03	Mécanisme d'action des AINS	25
04	Carte géographique représente la localisation d'obtention des plantes <i>Marrubium vulgare</i> et <i>Artemisia campestris</i> (Baghai Khenchela)	28
05	Photo du Rotavapeur utilisé pour sécher nos extraits méthanoliques	30
06	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (moyenne $\pm$ SD de trois mesures)	38
07	Histogramme représente la concentration du polyphénol de la plante <i>Marrubium vulgare</i> et <i>Artemisia campestris</i>	39
08	Courbe d'étalonnage de la quercétine (moyenne $\pm$ SD de trois mesures)	40
09	Histogramme représente la concentration de flavonoïde de la plante <i>Marrubium vulgare</i> et <i>Artemisia campestris</i>	40
10	Corrélation entre la teneur en flavonoïdes et celle en polyphénols de la plante <i>Marrubium vulgare</i>	41
11	Corrélation entre de la teneur en flavonoïdes et celle en polyphénols de la plante <i>Artemisia campestris</i>	42
12	Photos de chromatogramme résultant de l'analyse d'extrait méthanolique du <i>Marrubium vulgare</i> par chromatographie sur gel silice (révélation à UV), 365 nm par les systèmes solvants : (A) : BAW : Butanol, Acide acétique, H <sub>2</sub> O (4 : 1 : 5), (B) : Chloroforme, Méthanol, H <sub>2</sub> O (85 : 10 : 5) et (C) : Acétone, H <sub>2</sub> O (1 : 1)	45

<b>13</b>	Photos de chromatogramme résultant de l'analyse d'extrait méthanolique d' <i>Artemisia campestris</i> par chromatographie sur gel silice (révélation à UV), 365 nm par les systèmes solvants : (A): BAW : Butanol, Acide acétique, H <sub>2</sub> O (4 :1 :5), (B): Chloroforme, Méthanol, H <sub>2</sub> O (85 : 10 : 5) et (C): Acétone, H <sub>2</sub> O (1 :1)	<b>48</b>
<b>14</b>	Histogramme représente le pourcentage d'inhibition de dénaturation de la BSA de la plante <i>Marrubium vulgare</i>	<b>50</b>
<b>15</b>	Histogramme représente le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de la BSA de la plante <i>Artemisia campestris</i>	<b>50</b>
<b>16</b>	Histogramme représente le pourcentage d'inhibition de la <i>Diclofenac sodium</i>	<b>51</b>
<b>17</b>	Corrélation entre la teneur en polyphénols le pourcentage d'inhibition de la plante de la plante <i>Marrubium vulgare</i>	<b>51</b>
<b>18</b>	Corrélation entre la teneur en polyphénols et le pourcentage d'inhibition de la plante <i>Artemisia campestris</i>	<b>52</b>

## LISTE DES TABLEAUX

N° de Tableau	Titre	N° de page
<b>01</b>	Structure des squelettes des polyphénols	<b>06</b>
<b>02</b>	Le rendement d'extrait méthanolique de <i>Marrubium Vulgare</i> et d' <i>Artemisia Campestris</i>	<b>36</b>
<b>03</b>	Screening phytochimique des composés constituant de l'extrait méthanoliques de <i>Marrubium Vulgare</i>	<b>37</b>
<b>04</b>	Screening phytochimique des composés constituant de l'extrait méthanoliques d' <i>Artemisia Campestris</i>	<b>37</b>
<b>05</b>	CCM de la fraction méthanolique de <i>Marrubium vulgare</i> Système solvant : BAW : Butanol, Acide acétique, H <sub>2</sub> O (4 : 1 : 5) Adsorbant : Gel de silice	<b>43</b>
<b>06</b>	CCM de la fraction méthanolique de <i>Marrubium vulgare</i> Système solvant : Chloroforme, Méthanol, H <sub>2</sub> O (85 : 10 : 5) Adsorbant : Gel de silice	<b>44</b>
<b>07</b>	CCM de la fraction méthanolique de <i>Marrubium vulgare</i> Système solvant : Acétone, H <sub>2</sub> O (1 : 1) Adsorbant : Gel de silice	<b>44</b>
<b>08</b>	CCM de la fraction méthanolique <i>Artemisia campestris</i> Système solvant : BAW : Butanol, Acide acétique, H <sub>2</sub> O (4 : 1 : 5) Adsorbant : Gel de silice	<b>46</b>
<b>09</b>	CCM de la fraction méthanolique <i>Artemisia campestris</i> Système solvant : Chloroforme, Méthanol, H <sub>2</sub> O (85 : 10 : 5) Adsorbant : Gel de silice	<b>47</b>
<b>10</b>	CCM de la fraction méthanolique <i>Artemisia campestris</i> Système solvant : Acétone, H <sub>2</sub> O (1 : 1) Adsorbant : Gel de silice	<b>47</b>

# Table des matières

<b>Résumés</b>	
<b>Liste d`abréviations</b>	<b>I</b>
<b>Liste de figures</b>	<b>II</b>
<b>Liste de tableaux</b>	<b>III</b>
<b>Introduction .....</b>	<b>01</b>
<b>Partie1 : Synthèse bibliographique</b>	
<b>Chapitre1 : La phytothérapie</b>	<b>03</b>
I. La phytothérapie.....	03
II. Définition des plantes médicinales.....	03
II.1. Définition médicales .....	03
II.2. Définition chimique .....	03
II.3. Définition biologique.....	03
III. Les substances naturelles des plantes et leurs activités biologiques .....	04
III.1.Les métabolites primaires.....	04
III.2.Les métabolites secondaires.....	04
III.2.1. Polyphénols.....	04
III.2.2.les terpène et stéroïdes.....	08
III.2.3. Alcaloïdes.....	09
<b>Chapitre II : Les plantes médicinales étudiées</b>	<b>13</b>
I. <i>Artemisia campestris</i> .....	13
I.1. Généralité	13
I.2.Description botanique.....	13
I.3.Systématique de la plante.....	13
I.4. Origine et distribution.....	14
I.5. Composition chimique.....	15
I.6. Utilisation traditionnelle d' <i>Artemisia campestris</i> .....	15

II . <i>Marrubium vulgare</i> .....	16
II.1. Généralités.....	16
II.2.Description botanique.....	16
II.3.la systématique.....	17
II.4. Localisation et répartition.....	18
II.5.Composition chimique.....	18
II.6.Utilisation traditionnelle.....	19
II.7. Toxicité.....	19
<b>CHAPITRE III : l'inflammation et anti-inflammatoires</b>	<b>20</b>
I. Généralités.....	20
II. Les causes majeures de l'inflammation.....	20
III. Réactions inflammatoires.....	21
III.1. Phases de l'inflammation.....	21
IV. Type d'inflammation.....	21
IV.1.1.Phase vasculaire.....	22
IV.1.2.Phase cellulaire (recrutement des leucocytes).....	22
IV.1.3.Phase de résolution.....	22
IV.2. L'inflammation chronique	23
V. Les anti-inflammatoires intervenants lors des mécanismes inflammatoires.....	23
V.1. Les anti-inflammatoires stéroïdiens.....	23
V.2 Les anti-inflammatoires non stéroïdiens.....	24
V.3. Les anti-leucotriènes.....	25
V.4. Les inhibiteurs des cytokines pro-inflammatoires.....	26
VI. Les maladies inflammatoires .....	26
VI.1. L'Athérosclérose.....	26

VI.2. Allergies.....	26
VI.3. Myopathies.....	27
VI.4. Cancer .....	27
<b>Partie2 : Partie expérimentale</b>	
<b>Chapitre IV : Matériel et Méthodes.....</b>	<b>28</b>
I. Matériel .....	28
I.1. Matériel biologique.....	28
I.1.1. Matériel végétal.....	28
I.1.2. Réactifs chimiques et instrumentations	29
II. Méthodes.....	29
II.1. Préparation de l'extrait méthanolique	29
II.2. Screening chimique.....	30
II.2.1. Recherche des tanins.....	31
II.2.2. Recherche des saponosides.....	31
II.2.3. Recherche des flavonoïdes.....	31
II.2.4. Recherche des coumarines.....	31
II.2.5. Recherche des composés réducteurs.....	31
II.2. 6. Recherche des alcaloïdes.....	31
II.3. Identification des flavonoïdes par chromatographie sur couche mince (CCM)...	32
II.4. Etude qualitative.....	33
II.4.1. Dosage des polyphénols.....	33
II.4.2. Dosage des flavonoïdes .....	33
II.4.2.1. Principe .....	33
III. Etude de l'activité Anti-inflammatoire .....	33

IV. Etude statistique.....	33
<b>Chapitre V : Résultats et Discussion.....</b>	<b>36</b>
I. Détermination du rendement d'extraction.....	36
II .Résultats de l'étude phytochimique .....	36
II.1. Résultats du screening chimique	36
II.2. Résultats de l'analyse quantitative.....	38
II.2.1. Dosage des polyphénols totaux	39
II.2.2. Dosage des flavonoïdes.....	42
II.3. Résultats de l'étude qualitative chromatographie sur couche mince des extraits méthanoliques des plantes <i>Marrubium vulgare</i> et <i>Artemisia campestris</i> .....	43
II.3.1. Composés identifiés chez <i>Marrubium vulgare</i> .....	46
II.3.3. Composés identifiés chez <i>Artemisia campestris</i> .....	49
III. Résultats d'Activité anti-inflammatoire d' <i>Artemisia campestris</i> et <i>Marrubium vulgare</i> .....	49
<b>Conclusion et perspective.....</b>	<b>53</b>
<b>Annexe</b>	
<b>Références bibliographiques</b>	

---

## Résumé

L'objectif de cette étude est l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique (E. Met) de la partie aérienne de deux espèces *Artemisia campestris* et *Marrubium vulgare*, se sont des plantes médicinales de pharmacopée traditionnelle de l'Algérie. Dans le premier temps, la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes de l'extrait méthanolique montre une corrélation ( $R^2= 0.99$ ) et une richesse avec des valeurs de ( $405.606\pm 31.179 \mu\text{g} /\text{mg}$  d'extrait), ( $3.972\pm 0.927\mu\text{g} /\text{mg}$  d'extrait) respectivement chez l'espèce *Artemisia campestris* et ( $208.102\pm 20.299 \mu\text{g} /\text{mg}$  d'extrait), ( $3.046\pm 0.457 \mu\text{g} /\text{mg}$  d'extrait) respectivement chez *Marrubium vulgare*. L'analyse qualitative des deux extraits révéla la présence des tanins, les saponosides, les flavonoïdes, les alcaloïdes sels, les coumarines et en fin les composés réducteurs chez *Artemisia campestris* alors que les coumarines sont absentes chez *Marrubium vulgare*.

L'étude qualitative par CCM de l'extrait de deux plantes a montré une diversité remarquable des composés flavoniques susceptibles d'exprimer l'activité recherchée.

Les résultats de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* par l'évaluation de pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines permet de conclure que les extraits étudiés des deux plantes inhibent la dénaturation de Bovin Sérum Albumine avec un pourcentage d'inhibition égale  $86.45\pm 9.08$  et  $91.24\pm 2.79$  pour l'extrait méthanolique du *Marrubium vulgare* et *Artemisia campestris* respectivement. Les résultats obtenus sont comparables à ceux obtenus pour le diclofenac de sodium, un médicament anti-inflammatoire utilisé comme standard qui exerce un pourcentage d'inhibition de  $91.25\pm 1.16$ .

Le pouvoir anti-inflammatoire obtenu dans ce travail est remarquable, dose-dépendant et corrélé avec la teneur en polyphénols et celle en flavonoïdes.

**Mots clés :** Activité anti-inflammatoire, *Artemisia campestris*, flavonoïdes, polyphénols, *Marrubium vulgare*.

---

## Abstract

The objective of this study is to evaluate the anti-inflammatory activity of the methanol extract (E. Met) of the aerial part of two species *Artemisia campestris* and *Marrubium vulgare*, which are medicinal plants of traditional pharmacopoeia of Algeria. In the first, the content of total polyphenols and flavonoids of the methanol extract showed a correlation ( $R^2 = 0.99$ ) and with a wealth of values ( $\pm 31\ 179\ 405\ 606$  mcg / mg extract) ( $3.972 \pm 0.927\mu\text{g}$  / mg extract) respectively in the species of *Artemisia campestris* ( $208,102 \pm 20,299$  g / mg extract) ( $3.046 \pm 0.457$  mg / mg extract) respectively in *Marrubium vulgare*. Qualitative analysis of the two extracts indicated the presence of tannins, saponins, flavonoids, alkaloids salts, coumarins and ultimately reducing compounds in *Artemisia campestris* whereas coumarins are absent in *Marrubium vulgare*.

The qualitative study by TLC of the both extracts showed a remarkable diversity of flavonoid compounds that express the desired activity.

The results of the anti-inflammatory in vitro by evaluating inhibition percentage of protein denaturation activity supports the conclusion that the extracts of the two plants studied inhibit the denaturation of bovine serum albumin with  $86.45 \pm 9.08$  and  $91.24 \pm 2.79$  for methanolic extract of *Marrubium vulgare* and *Artemisia campestris* respectively. The results obtained are comparable to those obtained for diclofenac sodium, an anti-inflammatory drug used as a standard that has a inhibition percentage of  $91.25 \pm 1.16$

The anti-inflammatory results obtained in this work is remarkable, dose-dependent and correlated with the content of polyphenols and with that of flavonoids .

**Keywords:** anti-inflammatory activity, *Artemisia campestris*, flavonoids, polyphenols, *Marrubium vulgare*.

---

## ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم النشاط الحيوي المضاد للالتهابات وذلك باستخراج مستخلص الميثانولي للجزء الخارجي لنوعين من النباتات الشيح والفلوغار , هما نوعين من النباتات الطبية تستعمل في الطب البديل الجزائري.

أولاً، اظهر المحتوى للبوليفينول الإجمالي والفلافونويد للمستخلص الميثانولي علاقة ارتباط 0.99 وقيمة كبيرة جداً تقدر ب (31.179-±405.60 ميكروغرام/مليغرام) , (0.928± 3.97 ميكروغرام/مليغرام) على التوالي من نبتة الشيح و (20.299± 208.102 ميكروغرام/مليغرام) , (0.457±3.046 ميكروغرام/مليغرام) على التوالي من النبتة الفلوغار .

التحليل النوعي للمستخلصين اظهر وجود العفص , الصابونين, الفلافونويد , القلويدات , الكوماغين اضافة الى المركبات المرجعة لنبتة الشيح اما بالنسبة للفلوغار ف لوحظ غياب الكوماغين.

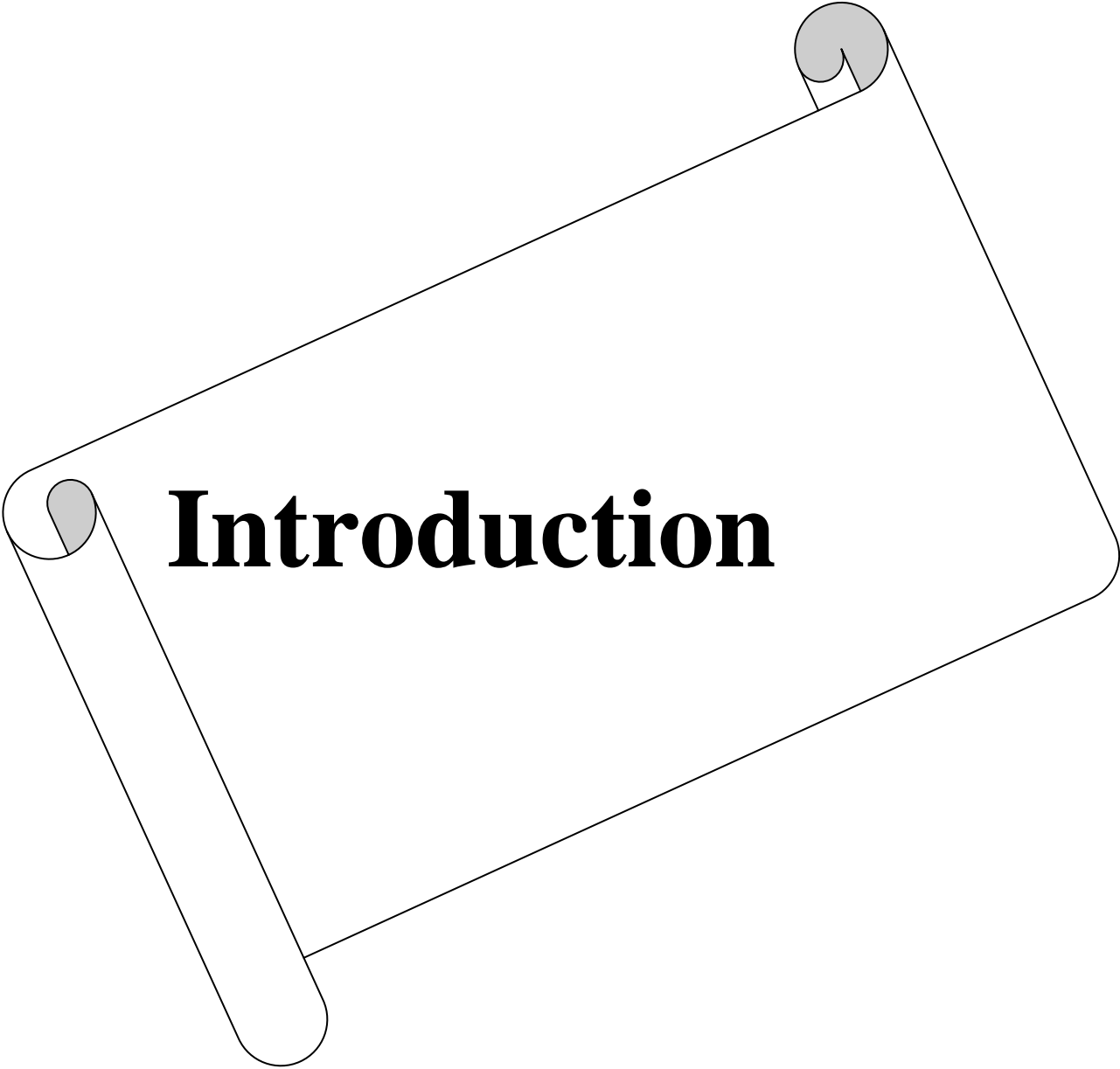
اظهرت الدراسة النوعية بواسطة لمستخلص الميثانولي للنبتتين تنوع ملحوظ لمركبات الفلافونويد التي تعبر عن النشاط المدروس.

نتائج النشاط الحيوي المضاد للالتهابات مخبرياً عن طريق تقييم نسبة تثبيط افساد او تمسخ البروتين تظهر أن المستخلصين المدروسين للنبتتين تثبط تمسخ مصل ألبومين البقري مع 9.08± 86.45 و 2.79± 91.24 بالنسبة للمستخلص الميثانولي للفلوغار والشيح على التوالي. النتائج المحصل عليها مماثلة لتلك التي تحصل عليها ديكلوفيناك الصوديوم , دواء مضاد للالتهاب يستعمل كمياري لديه نسبة تثبيط تقدر ب 1.16± 91.25 .

القدرة المضادة للالتهاب المتحصل عليها في هذا العمل لافئة للأنظار والجرعة مرتبطة مع محتوى البوليفينول والفلافونويد .

### الكلمات المفتاحية :

النشاط الحيوي المضاد للالتهابات, الشيح , الفلوغار , الفلافونويد, البوليفينول.



# Introduction

# Introduction

---

## Introduction :

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité, pour soulager et guérir les maladies humaines. En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voire des milliers de composés naturels bioactifs appelés : les métabolites secondaires. Depuis toujours, les plantes ont constitué la source majeure de médicaments grâce à la richesse des métabolismes Secondaires (1). Ces derniers sont par la suite accumulés dans différents organes et parfois dans des cellules spécialisées de la plante.

A l'heure actuelle, la recherche de nouveaux médicaments d'origine naturelle passe par l'inventaire des plantes et l'examen systématique de leur activité biologique. Un des guides du chimiste dans la problématique d'une recherche photochimique est la recherche à l'empirisme et plus particulièrement aux usages traditionnels liés aux activités humaines.

L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée. Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve les genres *Marrubium* et *Artemisia*. De nombreuses espèces de ce deux genres sont utilisées en médecine traditionnelle parce qu'elles renferment plusieurs molécules douées d'activités thérapeutiques, parmi les espèces les plus connues se trouve *Marrubium vulgare* et *Artemisia campestris* qui sont largement utilisées pour traiter les troubles digestives, les ulcères, les brûlures, la diarrhée,...etc. et qui ont constitué le sujet de plusieurs études qui font déterminé leurs compositions chimiques (2, 3), ainsi que les propriétés biologiques (4, 5, 6).

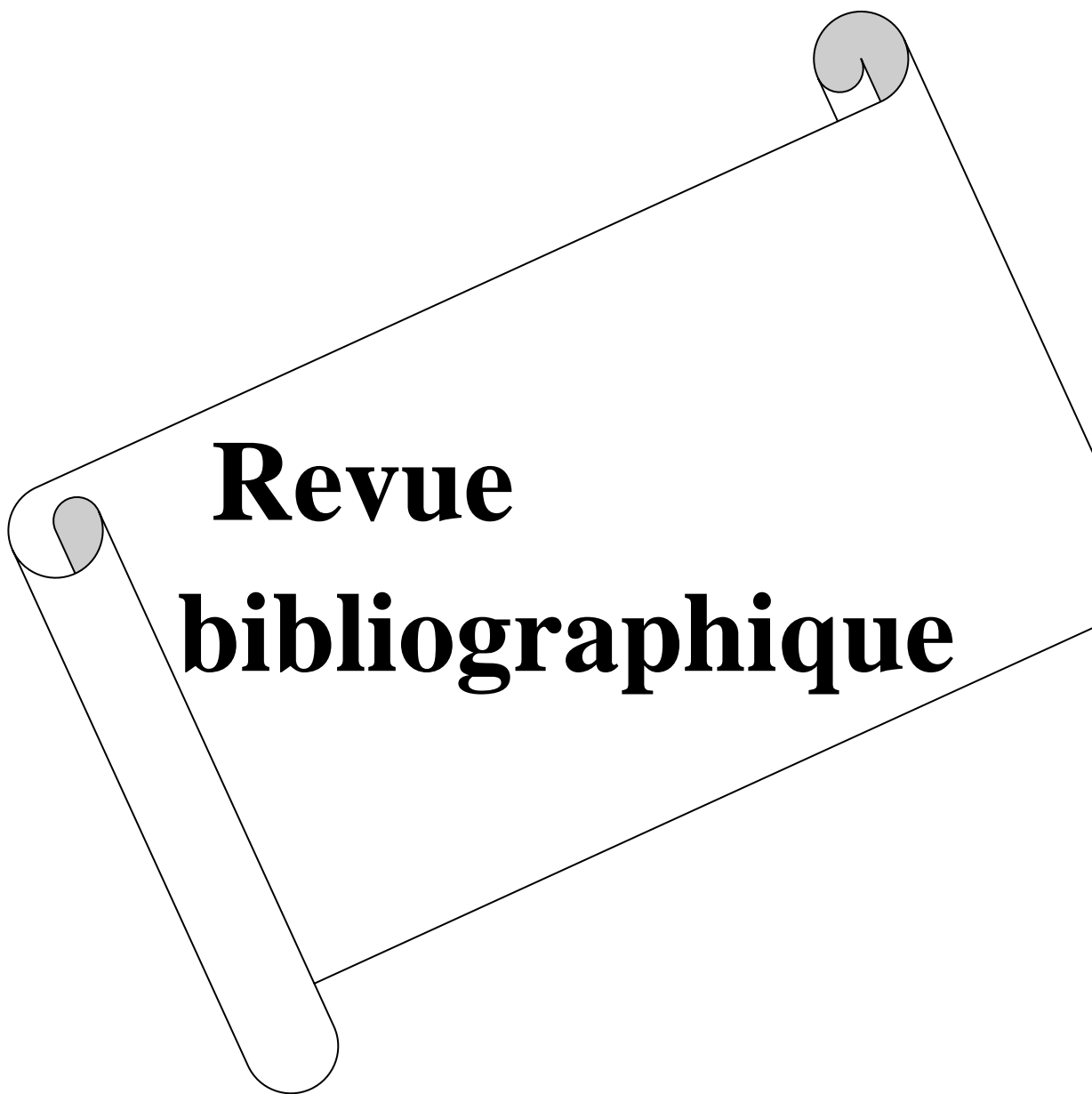
L'inflammation est un processus habituellement bénéfique : son but est d'éliminer l'agent pathogène et de réparer les lésions tissulaires. Parfois l'inflammation peut être néfaste du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, du siège de l'inflammation, par anomalies des régulations du processus inflammatoire, ou par anomalie quantitative ou qualitative des cellules intervenant dans l'inflammation. D'un autre côté, la surproduction des espèces réactives d'oxygènes au-delà des capacités antioxydantes des systèmes biologiques donne lieu au stress oxydant qui est impliqué dans l'apparition de plusieurs maladies allant de l'artériosclérose au cancer tout en passant par les maladies inflammatoires, les ischémies et le processus du vieillissement. Cependant, l'utilisation de substances chimiques de synthèse anti-inflammatoires est accompagnée toujours d'effets secondaires indésirables, alors que l'utilisation de composés phytochimiques s'avère utile et sans effets secondaires.

## *Introduction*

---

Pour atteindre ces objectifs, nous avons jugé utile de structurer le manuscrit comme suite : outre l'introduction et la conclusion générale, il est structuré en deux parties. La première partie est une synthèse bibliographique dans laquelle sont abordés trois chapitres : la phytothérapie, les plantes choisies et l'inflammation et les anti-inflammatoires.

La deuxième partie est expérimentale dans laquelle sont abordés deux chapitres ; le premier présente le matériel et les méthodes analytiques utilisées pour l'extraction des flavonoïdes, leur identification par CCM, étude de leurs teneurs en polyphénols ainsi qu'en flavonoïdes et l'évaluation *in vitro* du pouvoir anti-inflammatoire des extraits hydroalcooliques des plantes *Marrubium vulgare* et *Artemisia campestris* et le deuxième chapitre expose les résultats obtenus suivis de la discussion.



**Revue  
bibliographique**



# **Chapitre I**

# **La phytothérapie**

## **I. La phytothérapie**

La phytothérapie, du grec phyton qui veut dire plante therapeia qui signifie traitement, étudier l'utilisation des plantes médicinales en médecine (7).

La phytothérapie, selon Golden(8), est le traitement par les plantes ; c'est-à-dire par la consommation ou l'utilisation de produits préparés à partir de plantes sans passer par une étape de sélection de molécules, on ne consomme donc pas que le principe actif mais tout ce que contient la plante. Par ailleurs la phytothérapie requiert une connaissance parfaite de substances chimiques contenues dans un organe végétal et une bonne connaissance de mode d'emploi.

Aussi une pratique basée sur les avancées scientifiques qui recherche des extraits actifs des plantes. Les extraits actifs identifiés sont standardisés. Cette pratique conduit aux phytomédicaments et selon la réglementation en vigueur dans le pays, la circulation des phytomédicaments est soumise à l'autorisation de mise sur le marché (AMM). On parle alors de Pharmacognosie ou de biologie pharmaceutique. (9).

## **II. Définition des plantes médicinales**

### **II.1. Définition médicales**

Ce sont des plantes inscrites à la pharmacopée, et qui sont considérées comme des médicaments, leur vente est exclusivement réservée aux pharmaciens, et aux herboristes ; à l'exception de 34 d'entre elles qui sont en vente libre par dérogation qui correspondent souvent aux plantes aromatiques utilisées dans la préparation culinaires ex : antiseptique, antigrippale ... etc. (10).

### **II.2. Définition chimique**

Les plantes médicinales sont des plantes possédant des molécules à l'intérieur de leur organe (feuille, fleurs...etc.) et pouvant selon des techniques chimiques (extraction, distillation...) permettre à l'isolation des principes actifs (huiles, alcool...) pour des buts thérapeutiques (11).

### **II.3. Définition biologique :**

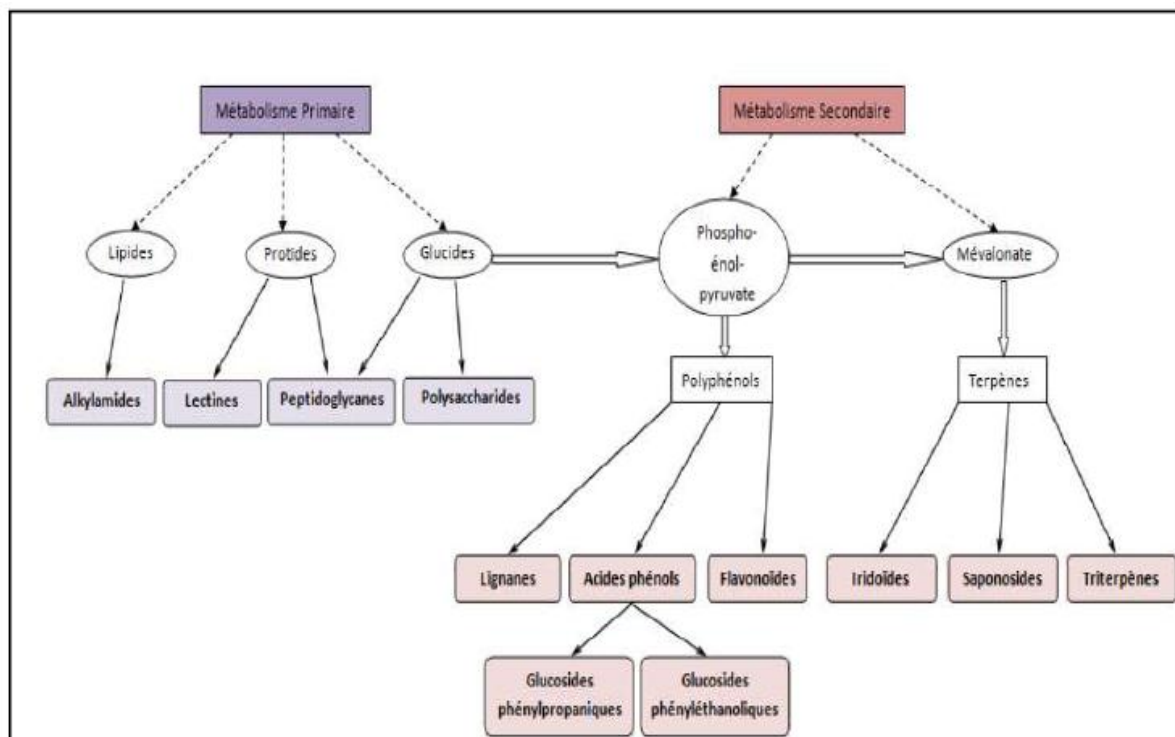
Les plantes médicinales ce sont des végétaux connus pour leurs pouvoirs bienfaiteurs ; dont l'un de ces organes comme l'écorce, fruits ... etc. possédants des vertus curatives (12).

## **III. Les substances naturelles des plantes et leurs activités biologiques**

Les produits naturels des plantes peuvent être classés en deux catégories, les métabolites Primaires et les métabolites secondaires :

### **III.1. Les métabolites primaires**

Les plantes utilisent l'énergie du rayonnement solaire, le dioxyde de carbone présent dans l'atmosphère, l'eau et les éléments inorganiques du sol qu'elles absorbent par les racines (eau, éléments inorganiques) et par les feuilles (Dioxyde de carbone). Le processus de base est la photosynthèse qui fixe le carbone contenu dans le dioxyde de carbone atmosphérique, en le combinant aux atomes d'hydrogène contenus dans les molécules d'eau. Les premiers produits formés par la photosynthèse sont des Hydrates de carbone, de faible masse moléculaire (oses). C'est à partir de ces oses (ou sucres) que sont ensuite formés tous les métabolites primaires nécessaires à la survie de la plante : glucides complexes (polymères comme la cellulose, l'amidon ou les pectines), acides aminés (constitutifs des protéines), acides gras (constitutifs des lipides), etc.



**Figure 1 : Les principales familles de principes actifs utilisées en phytothérapie : certains principes actifs sont des métabolites primaires, d'autres sont des métabolites secondaires(8)**

### III.2. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes, ils sont divisés principalement en trois grandes familles : Les polyphénols, les terpènes, les alcaloïdes (13, 14).

#### III.2.1. Polyphénols

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester, hétéroside... etc.(8,15).

En effet les composés phénoliques, constituent le groupe le plus nombreux et le plus largement distribué dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques connus (15). Les principales classes de composants phénoliques sont : les acides

phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique, acide chlorogénique), les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins, et les coumarines (16). Les polyphénols sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racine, tiges, feuilles, fleurs, fruits (17).

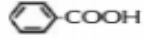
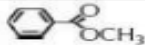



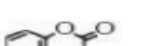


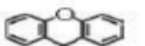
### III.2.1.1. Biosynthèse

L'origine biosynthétique des composés phénoliques des végétaux est proche, tous dérivant de l'acide shikimique (Figure 1). Cette voie shikimate conduit à la formation des oses aux acides aminés aromatiques (phénylalanine et tyrosine) puis par désamination de ces derniers, aux acides cinnamiques et à leurs très nombreux dérivés : acide benzoïques, acétophénones, lignanes et lignines, coumarines (18).

### III.2.1.2. Classe des polyphénols

Les polyphénols forment un très vaste ensemble de substances chimiques, ils peuvent être classifiés selon le nombre et l'arrangement de leurs atomes de carbones (Tableau 1). Ces molécules sont généralement trouvés conjuguées aux sucres et les acides organiques.

Tableau 1 : Structure des squelettes des polyphénols(19).

Nombre de Carbones	Squelette	Classification	Exemple	Structure de Base
7	C6-C1	Acides phénols	Acide gallique	
8	C6-C2	Acétophénones	Gallacetophénone	
8	C6-C2	Acide phénylacétique	Acide p-hydroxyphényl acétique	
9	C6-C3	Acides hydroxycinnamiques	Acide Coumarique	
9	C6-C3	Coumarines	Esculetine	
10	C6-C4	Naphthoquinones	Juglone	
13	C6-C1-C6	Xanthones	Mangiférine	
14	C6-C2-C6	Stilbènes	Resveratrol	
15	C6-C3-C6	Flavonoïdes	Naringénine	

### **III.2.1.3. Effets biologiques des polyphénols**

Les polyphénols sont associés à de nombreux processus physiologiques interviennent dans la qualité alimentaire, impliqués lorsque la plante est soumise à des blessures mécaniques. La capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des microorganismes est souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques (20).

Ces composés montrent des activités anti-carcinogènes, anti-inflammatoires, antiathérogènes, anti-thrombotiques, analgésiques, antibactériens, antiviraux, anticancéreux (21), anti-allergènes, vasodilatateurs (22) et antioxydants (23). Les composés polyphénoliques sont d'ailleurs de plus en plus utilisés en thérapeutique. Ils sont regroupés dans la catégorie des veinotoniques et des vasculoprotecteurs. Parmi les veinotoniques, nous citerons le Relvenet ou le Cirkant renfermant du ruténoside, le Daflont ou le Diosmilt renfermant de la diosmine. Un certain nombre de molécules polyphénoliques sont également en étude clinique comme des antiagrégants plaquettaire, ou hypotenseur sans résultats probants (24).

### **III.2.1.4. Flavonoïdes**

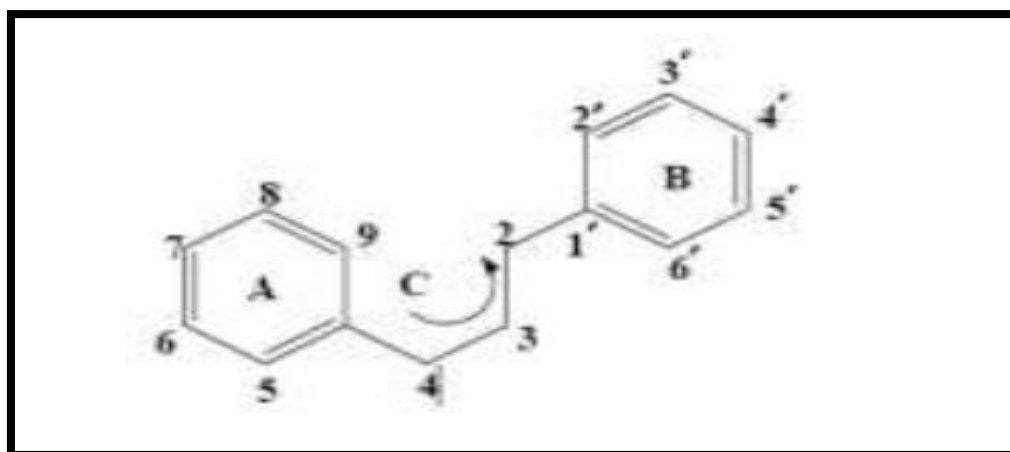
Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (25), ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. À l'état naturel les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides (8,26).

Du point de vue structurale, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, en effet plus de 6400 structures ont été identifiées (27).

#### **III.2.1.4.1. Structure et classification**

Les flavonoïdes sont des dérivés benzo- $\gamma$ -pyranne (28). Leur structure de base est celle d'un diphenyl propane à 15 atomes de carbone (C6-C3-C6), constitué de deux noyaux aromatiques qui désignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné, qui désigne la lettre C (29).

Fig  
ure  
2 :  
Squ  
elet  
te  
de  
bas  
e



des flavonoïdes(30).

De façon générale les flavonoïdes se trouvent soit à l'état libre, dans ce cas ils sont dits aglycones, soit sous forme de C- ou O-glycosides, et dans ce cas ils sont liés à des sucres tels que le glucose, le rhamnose, l'arabinose, ils peuvent en outre être des monomères ou des oligomères (29). Les flavonoïdes peuvent être subdivisés en plusieurs classes dont les plus importantes sont : flavones, isoflavandiols, flavanols, flavandiols, aurones, chalcones, anthocyanins (31).

#### III.2.1.4.2. Localisation et distribution

Les flavonoïdes possèdent une large répartition dans le monde végétal, ils sont distribués dans les feuilles, les graines, l'écorce et les fleurs des plantes (32). Les formes hétérosidiques des flavonoïdes, s'accumulent dans les vacuoles et selon les espèces, elles se concentrent dans l'épiderme des feuilles ou se répartissent entre l'épiderme et le mésophylle. Dans le cas des fleurs, elles sont concentrées dans les cellules épidermiques (8).

#### III.2.1.4.3. Intérêts et effets biologiques des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines, bois... (8, 33). Certains flavonoïdes sont plus spécifiques de certains tissus. Les anthocyanes sont plutôt localisés dans les parties externes des fruits, fleurs et feuilles (34). Les chalcones se retrouvent plus fréquemment dans les pétales des fleurs. Ce sont des pigments naturels au même titre que les

chlorophylles (couleur verte) et les caroténoïdes (nuances jaunes et orangées). Leur fonction principale est la pigmentation des plantes (aspect esthétique). Quand ils ne sont pas directement visibles, ils contribuent à la coloration par leur rôle de Co-pigments (certaines flavones et flavonols) (8, 34). Les flavonoïdes, en particulier les anthocyanes, sont les seules molécules du règne végétal capables de produire une vaste gamme de couleurs, susceptibles de donner des teintes allant du jaune-orangé au bleu, en passant par le pourpre et le rouge (34,35). Les flavones, aurones et chalcones donnent plutôt des couleurs jaune, beiges voire blanche, ou participent aux nuances produites par les anthocyanes et les caroténoïdes (8, 33). Un des rôles de la couleur chez les plantes est d'attirer les insectes et les oiseaux, qui Jouent un rôle majeur dans la pollinisation et la dispersion assurant ainsi la reproduction de l'espèce (33, 36). Les flavonoïdes, dissous dans les vacuoles à l'état d'hétérosides, s'accumulent dans les cellules épidermiques, assurant la protection des tissus contre les rayonnements solaires nocifs. (33, 37, 38). On prête à certains flavonoïdes (phytoalexines), un rôle de défense contre les prédateurs et les pathogènes (38).

#### **III.2.1.5. Les tanins**

Les tanins sont des substances polyphénoliques de structure variée, de saveur astringente ayant en commun la propriété de tanner la peau, cette aptitude est lié à leur propriété de se combiner aux protéines. Leur poids moléculaire est compris entre 500 et 3000 Da (39).

##### **III.2.1.5.1. Localisation et distribution**

Les tanins sont très répandu dans le règne végétal, mais ils sont particulièrement abondants dans certaines familles comme les conifères, les Fagacée, les rosacée (40). Ils peuvent exister dans divers organes : l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines et les graines (41).

##### **III.2.1.5.2. Structure chimique et classification**

A la base de leur caractéristique structurale, il est possible de diviser les tanins en 2 groupes :

### III.2.1.5.2.1 Tanins hydrolysables.

Ce sont des oligo ou des polyesters d'un sucre (ou d'un polyol apparenté) et d'un nombre variable d'acide phénolique. Le sucre est très généralement le glucose. L'acide phénolique est soit l'acide gallique dans le cas des tanins galliques, soit l'acidehexahydroxydiphénique (HHDP) et ses dérivés dans le cas des tanins éllagiques(8).

- Tanins galliques (Gallo tanins) : Ils donnent par l'hydrolyse des oses et de l'acide gallique.
- Tanins ellagiques (Ellagitanins) : Ils sont scindés par les enzymes en oses et en acide ellagique(39).

### III.2.1.5.2.2. Tanins condensés

Les tanins condensés sont des polymères flavanolique constitués d'unités flavan-3-ols, le plus souvent épicatechine et catéchine (41). Les tanins condensés sont des molécules hydrolysables, leur structure voisine de celle des flavonoïdes est caractérisée par l'absence de sucre (39).

#### III.2.1.5.2.2.1. Tanins condensés (proanthocyanidines)

Ce sont des polymères ou oligomères flavanique, constitués d'unités flavan-3-ols, le plus souvent épicatechine et catéchine, avec un degré de polymérisation entre deux et plus de 50 unités (41). Ces unités liées entre elles par une seule liaison carbone-carbone C4-C8 ou C4-C dans le type B des pro-anthocyanidines ;ou par une liaison interflavanique double (C4-C68 ou C4-C6) et (C2-O-C) dans le type A (8, 42,43)

### III.2.1.6. Les Coumarines

Elles sont issues du métabolisme de la phénylalanine via un acide cinnamique, l'acide P-coumarique. Les coumarines libres sont solubles dans les alcools et les solvants organiques tels que l'éther ou les solvants chlorés dans lesquels ils sont extractibles. Les formes hétérosidiques sont plus ou moins solubles dans l'eau. Elles ont un spectre UV caractéristique, fortement influencé par la nature et la position des substituants. En lumière ultra-violette, les CCM présentent des tâches dont la coloration varie du bleu au pourpre en

passant par le jaune. Les coumarines sont cytotoxiques, antivirales, immunostimulantes, tranquillisantes, vasodilatatrices, anticoagulantes (au niveau du cœur), hypotensives ; elles sont également bénéfiques en cas d'affections cutanées. L'odeur de foin fraîchement coupé de la coumarine est très utilisée en parfumerie. Elle est aussi utilisée dans les produits cosmétiques. (44).

### III.2.2. Les terpènes et stéroïdes

Les terpénoïdes sont une vaste famille de composés naturels près de 15000 de molécules différentes et de caractère généralement lipophile, leurs grandes diversités due au nombre de base qui constituent la chaîne principale de formule  $(C_5H_8)_n$  selon la variation de nombre  $n$ , dont les composés monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes, triterpènes, ... (45). Ces molécules présentent en forme des huiles essentielles ; parfums et goût des plants, pigments (carotène), hormones (acide abscissique), des stérols (cholestérol) (46).

Les stéroïdes sont des triterpènes tétracycliques, possèdent moins de 30 atomes de carbone, synthétisés à partir d'un triterpène acyclique (46).

Chez toutes les plantes on trouve ces composés liés avec un groupement alcool qu'ils nommés les stérols ; prenant une forme plane, glycosylée, analogues du cholestérol qui ne diffèrent de celui-ci que par leur chaîne latérale comme : B-Sitostérol, Stigmastérol (46)


### III.2.3. Alcaloïdes

Les alcaloïdes figurent parmi les principes actifs les plus importants en pharmacologie et en médecine (47). Ce sont des substances organiques azotées, à propriétés basiques ou amers et ayant des propriétés thérapeutiques ou toxiques (48). Ils ont des structures très diverses et dérivent de différents acides aminés ou de l'acide mévalonique en passant par différentes voies biosynthétiques (49). De nombreux poisons dangereux comme l'atropine par exemple, sont extraite de la belladone mortellement toxique (*Atropa belladonna*) et qui peut cependant être utilisée à faible dose dans une optique thérapeutique. Les alcaloïdes sont utilisés comme anti cancer, sédatifs et pour leur effet sur les troubles nerveux (maladie de Parkinson) (50).

### **III.2.3.1. Nature et présence des alcaloïdes**

La source principale des alcaloïdes était auparavant les plantes florales mais plusieurs composés de cette famille ont été récemment extraits des règnes animaux à savoir les insectes et les poissons. Malgré cet avancement, les alcaloïdes floraux restent les plus importantes par rapport aux autres (18,51). En général les alcaloïdes ne se concentrent pas dans une seule partie de la plante. Ils se présentent avec des concentrations différentes dans les tiges, les fleurs, les racines et les feuilles. Cette même concentration se diffère selon la période de récolte. (18,51).

Signalons que la présence des alcaloïdes dans une partie de la plante ne prouve en aucun cas sa naissance dans ce milieu. La présence des alcaloïdes est généralement associée à un acide organique ou à une autre entité avec un pourcentage variant entre 1 et 3 % du poids sec de la plante. Dans des cas très particuliers, notamment dans les quinquinas, ils dépassent les 10 %. Le rôle des alcaloïdes dans la plante reste encore moins clair. Probablement ils sont considérés comme une réserve d'azote en cas de son manque dans le sol (8,52).



**Chapitre II**  
**Les plantes**  
**médicinales**  
**étudiées**

## Les plantes médicinales étudiées

Les plantes étudiées ont été choisies en fonction de leurs emplois très fréquents en Algérie.

### I. *Artemisia campestris*

#### I.1. Généralités

Le genre *Artemisia* appartient à la famille des Astéracées : c'est l'un des genres le plus répandu et le plus étudié de cette famille ; il contient un nombre variable d'espèces allant jusqu'à 400 espèces (53). Il a été rapporté que le genre *Artemisia* est riche en métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les acides caféoylquiniques, les coumarines, les huiles essentielles, les stérols et les acétylènes (54).

Les espèces qui appartiennent au genre *Artemisia* possèdent des propriétés thérapeutiques, elles sont non seulement utilisées dans la médecine traditionnelle, mais aussi dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique (55).

#### I.2. Description botanique

*Artemisia campestris* est un arbuste aromatique à tiges robustes, d'une hauteur de 30 à 80 cm. Cette plante possède des capitules très petits, étroits (1 à 1,5 mm) ovoïdes ou coniques, à involucre scarieux, ne contient que 3 à 8 fleurs de couleur jaunâtre bordées de rouge, et à pédoncule muni de poils blanchâtres à brunâtre. Les feuilles d'*Artemisia campestris* sont glabres de couleur verte foncée, les inférieures bipinnatiséquées, les supérieures pinnatiséquées, les basales pétiolées et auriculées, les tiges sont ligneuses à la base striée (56, 57, 58).



**Photo : Vue générale de la plante d'*Artemisia campestris* prise à partir du site d'étude (Ounissi 2015)**

### **I.3. Systématique de la plante(59)**

**Règne :** *Plantae*.

**Sous règne :** *Tracheobionta*.

**Embranchement :** *Spermatophyta*.

**Sous embranchement :** *Magnoliophyta*.

**Classe :** *Magnoliopsida*.

**Sous classe :** *Asteridae*.

**Ordre :** *Asterales*.

**Famille :** *Asteraceae*.

**Sous famille :** *Asteroideae*.

**Tribu :** *Anthemideae*.

**Sous Tribu :** *Artemisiinae*

**Genre :** *Artemisia*.

**espèce :** *Artemisia campestris L.*

#### I.4. Origine et distribution

Les espèces qui appartiennent au genre *Artemisia* sont des arbustes aromatiques, qui poussent de façon spontanée dans plusieurs régions de l'hémisphère nord de la terre, surtout dans les zones semi arides et le bassin méditerranéen, et s'étendent jusqu'à l'Himalaya dans l'hémisphère sud elles sont trouvées en Afrique du sud, l'Australie et l'Amérique du sud, *Artemisia campestris* est originaire de l'Asie. (60)

#### I.5. Composition chimique

De nombreuses études chimiques ont révélé que la partie aérienne d'*Artemisia campestris* est riche en métabolites secondaires tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, les huiles essentielles (60, 62).

La composition chimique de l'huile essentielle varie selon le chimiotype considéré (8), elle varie également selon les conditions géographiques et climatiques (température, altitude, précipitation, hauteur, direction du vent, heures de soleil, etc.), et selon la phase de développement de la plante (63).

Plusieurs études (3, 62) ont rapporté la composition des huiles essentielles d'*Artemisia campestris*, l'huile essentielle est analysée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-MS), (62) ont identifié dans une espèce de Camargue (Marseille, France) 51 composés et caractérisés, les plus abondants sont :  $\gamma$ -terpinène, capillène, 1-phenyl-2,4-pentadiyne, spathulenol, méthyleugenol, p-cymène et  $\beta$ -pinène. D'après (3) les constituants les plus abondants d'une espèce de Tunisie sont :  $\beta$ -pinène (24,2-27,9 %), p-cymène (17,4-22,3%) et  $\alpha$ -pinène (4,1-11,0%), ces constituants représentent plus de 45 % de l'huile totale.

Le contenu phénolique total, les flavonoïdes, les dérivés hydroxycinnamiques, les dérivés hydrox benzoïques de l'extrait éthanolique (80%) de la partie aérienne d'*Artemisia campestris* ont été déterminés par des méthodes spectrophotométriques.

Les flavonoïdes identifiés chez *Artemisia campestris* sont: flavone (apégénine), flavonol (kaempférol 7-méthyle), flavanone (naringénine), dihydroflavonols (taxifoline-7-méthyle) (64).

Les feuilles d'*Artemisia campestris* contiennent aussi des alcaloïdes, des saponines (65).

### **I.6. L'utilisation traditionnelle d'*Artemisia campestris***

*Artemisia campestris* est une plante utilisée depuis longtemps dans la médecine traditionnelle pour traiter plusieurs maladies.

En usage local *Artemisia campestris* est utilisée pour traiter les troubles digestives, les ulcères et les douleurs menstruelles (66). Elle est également utilisée dans le traitement de diabète (67).

La partie aérienne est utilisée dans le traitement de brûlures, de la diarrhée, les morsures de serpents, les piqûres de scorpions, l'eczéma, la gastroentérite, la dysenterie, le rhumatisme, elle est utilisée également pour traiter les infections urinaires, la fièvre et la toux (68).

La consommation journalière d'une décoction préparée à partir des tiges et feuilles d'*A. Campestris* permet de réduire les symptômes digestifs (69).

## **II. *Marrubium vulgare***

### **II.1. Généralités**

Le genre *Marrubium* appartient à la famille des lamiacées, comprenant plus de 30 espèces différentes largement distribués dans les régions d'Europe, d'Afrique du Nord et d'Asie (70).

Le genre *Marrubium* comporte quelque 40 espèces, répandues principalement le long de la méditerranée, les zones tempérées du continent eurasiatique et quelques pays d'Amérique Latine (71, 72).

### **II.2. Description botanique**

Le *Marrube vulgare* [synonyme : *Marrubium album* (Cariot et Saintlorge)] est une plante, d'aspect blanchâtre à odeur forte et désagréable, de 30 à 80cm de hauteur. Ses fleurs blanches, relativement petites, apparaissent du mois de Mai jusqu'au mois de Septembre, et parfois encore en hiver. Les feuilles ont toutes un pétiole (73).

Les feuilles sont ovales, arrondies, souvent un peu cordées à la base, feutrées à la face intérieure (57).

Toute la plante dégage une odeur forte, sa saveur est âcre (qui irrite les organes du goût et de l'odorat) et amère (74).



**Photo: Vue générale de la plante de *Marrubium vulgare* prise à partir du site d'étude (Bouzidi 2015)**

### **II.3. La systématique(49)**

**Règne :***Plantes*

**Sous règne :***Tracheobiontes*

**Embranchement :***Spermatophytes*

**Division :***Magnoliophytes*

**Classe :***Magnolipsides*

**Sous classe :***Asteridae*

**Ordre :***Lamiales*

**Famille :***Lamiaceae*

**Genre :***Marrubium*

**espèce :***Marrubium vulgare*

**Nom binomial :** *Marrubium vulgare*

**Nom vernaculaire algérien :** Meriwet

**Nom vernaculaire Français:** *Marrube blanc*

Les noms donnés à la plante sont les suivants : en Algérie est connue par le nom Marriouth (57), Merrîwt au Maroc (75), Marroubia en Tunisie (76). En Anglais : Harehound, en Italien : Marrubio. Selon (73), le *Marrube* est composé de deux mots hébreux : mar, rob, suc amer.

#### II.4. Localisation et répartition

Elle pousse dans toute l'Afrique du Nord, 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 (73). Cette plante est commune dans toute l'Algérie et presque dans toute l'Europe en dehors de l'extrême Nord, Australie et New Zélande (77).

Elle se trouve aussi au Maroc et en Tunisie, surtout en région méditerranéenne (73). Répandues principalement le long de la méditerranée, les zones tempérées du continent eurasiatique et quelques pays d'Amérique Latine (71,72).

#### II.5. Composition chimique

La partie aérienne du marrube blanc contient plusieurs métabolites secondaires tels que les di-terpènes dont la marrubine responsable de la majorité des propriétés biologiques du *Marrubium vulgare* (78) les flavonoïdes (apigénine et lutéoline) (79), ainsi que plusieurs phénylpropanoïdes esters tels que les verbascosides (80).

On y trouve des diterpènes amers de la série des furanolabdanes et surtout des composés de lactones : marrubiine principalement et son précurseur pré uranique, la prémarrubiine, mais aussi du pérégrinol, du vulgareol, du marrubénol et du marrubiol. Il y a également des Hétérosides flavoniques du quercétol, de la lurtéoline ou de l'apigénine, mais aussi des Lactoylflavones, et quelques dérivés de l'acide ursolique. En outre il y a des tanins spécifiques des Lamiacées et dérivés de l'acide hydroxycinnamique (juste à 7%) (Acide chlorogénique, caféique, caféylquinique, mais absence d'acide rosmarinique). Toutefois la présence d'une faible quantité d'huiles essentielles comportant différents composés monoterpéniques (moins de 1% :  $\alpha$ -pinène, camphène, lomonène) (81).

**II.6. Utilisation traditionnelle**

*Marrubium vulgare* est largement utilisée en médecine traditionnelle dans le traitement des troubles digestifs, la perte de l'appétit et la dyspepsie (82). Elle est également employée comme antinocicepti (83), antihypertenseur (84), antispasmodique (85), antioedematogénique (86), analgésique (72), insecticide (87), antiinflammatoire (88), antimicrobien (71, 89), antioxydant (90), antifongique (91),(92) et dans de nombreuses autres activités biologiques.

Le *Marrube blanc* est une prescrit dans le traitement des difficultés respiratoires, des bronchites, des bronchectasies, des bronchites asthmatiformes des toux sèches et de l'asthme. Il fluidifie les mucosités. La décoction est employée comme antidiabétique (75).

*Marrubium vulgare* est indiqué pour les dermatoses, eczéma chronique, hystérie (93).

**II.7. Toxicité :**

C'est une plante amère à caractère salin et ne peut donc pas être toléré s'il ya une gastroentérite ou des situations de nausées ou de vomissements ou encore en cas de dyspepsie (74).



# **Chapitre III**

**L'inflammation et les  
anti-inflammatoires**

## L'inflammation et les anti-inflammatoires

### I. Généralités

L'inflammation est une réaction des tissus vivants à une lésion ou une stimulation cellulaire excessive ou normale due à une agression d'origine mécanique, chimique ou immunologique. L'inflammation est impliquée dans de nombreuses maladies incluant non seulement des pathologies articulaires mais aussi les maladies cardio-vasculaires ou les cancers. L'inflammation est caractérisée par des niveaux élevés de métabolites de l'acide arachidonique qui sont produits à travers deux voies enzymatiques différentes, celles des cyclo-oxygénases (COX) et des lipoxygénases. A partir de l'acide arachidonique, les COX (COX2) vont permettre la production des prostaglandines et de thromboxanes, tandis que les lipoxygénases (LOX) vont synthétiser les leucotriènes, les lipoxines et les acides eicosatétraénoïques. Les leucotriènes sont de puissants médiateurs inflammatoires liés à l'allergie qui ont un rôle important dans les réactions allergiques mais, également, dans l'ischémie, les accidents cérébro-vasculaires ou la maladie d'Alzheimer (94).

### II. Les causes majeures de l'inflammation

Le phénomène de l'inflammation peut être dû aux plusieurs causes qui sont multiples et représentent les agents pathogènes, Ces causes déterminent des lésions cellulaires et tissulaires qui vont déclencher l'inflammation :

- infection contamination par des micro-organismes (bactérie, virus, parasites, champignons).
- **agents physiques** : traumatisme, chaleur, froid, radiations
- **agents chimiques** : caustiques, toxines, venins
- **corps étrangers** : exogènes ou endogènes
- **défaut de vascularisation** : réaction inflammatoire secondaire à une nécrose par ischémie.
- **agression dysimmunitaire** (anomalie de la réponse immunitaire, allergies, auto-immunité...) (95).

### III. Réactions inflammatoires

La réaction inflammatoire est une réponse normale de l'organisme à des agressions d'origine immunitaire ou non. C'est aussi une réaction du tissu conjonctif et des vaisseaux (96). Le déclenchement et le déroulement de l'inflammation sont gouvernés par des réflexes nerveux et surtout par des médiateurs chimiques endogènes (histamine, sérotonine). Des études récentes ont mis en lumière une interaction entre les enzymes pro inflammatoires lipoxycgénases (LOX), et des maladies comme des cancers, des maladies de cœur ou l'asthme. Les enzymes cyclooxygénases sont également lourdement impliquées dans un certain nombre de maladies.

Les différentes réactions inflammatoires Il existe deux types d'inflammations : L'inflammation primaire, de cause immédiate et localisée, et la secondaire est celle qui se développe à distance sous l'influence d'un agent pathogène (96).

#### III.1. Phases de l'inflammation

La réaction inflammatoire comporte une suite coordonnée d'événements :

- la phase précoce ou phase vasculaire, caractérisée par une vasodilatation artériolaire qui conduit à un érythème, une chaleur locale, une hyperesthésie, et un œdème.
- la phase secondaire ou phase cellulaire, caractérisée par la migration extra vasculaire (diapédèse) et la libération de cytokine qui sont à l'origine de l'activation cellulaire. Il se forme alors des tissus de granulation (granulome).
- la phase terminale ou phase de régénérescence qui correspond à la sclérose du tissu par élimination des débris cellulaires et tissulaires par un mécanisme de phagocytose et de pinocytose (97).

### IV. Type d'inflammations

#### IV.1. L'inflammation aigue

Il s'agit de la réponse immédiate à un agent agresseur, de courte durée (quelques jours à quelques semaines), d'installation souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculo-exsudatifs intenses. Les inflammations aiguës guérissent spontanément ou avec un

traitement, mais peuvent laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante (98). L'inflammation aigue se constitue en trois phases :

#### **IV.1.1.Phase vasculaire**

Il s'agit d'une vasoconstriction artériolaire, très brève de quelques secondes. Elle est due à l'action du système sympathique, et est très rapidement ressentie puisque douloureuse, expliquée par la libération d'histamine, de sérotonine et de kinine, l'excitabilité des terminaisons nerveuses en est la conséquence et va conforter le processus douloureux. Cette constriction n'est pas innocente sur les plaquettes présentes dans la circulation, laquelle est perturbée. (98).

#### **IV.1.2.Phase cellulaire (recrutement des leucocytes)**

Les phénomènes vasculo-exsudatifs initiaux permettent l'arrivée dans le foyer inflammatoire des leucocytes. Les premiers sur place (environ 6 heures) sont les polynucléaires. Le plus souvent, les polynucléaires sont progressivement remplacés sur le site inflammatoire par les cellules monocytes. Parmi celles-ci, les macrophages ont pour fonction d'assurer la détersion grâce à leur capacité de phagocytose. Il s'y associe des lymphocytes et des plasmocytes qui participent à la réponse immune spécifique de l'antigène (99).

#### **IV.1.3.Phase de résolution**

La phase de résolution, dite de réparation, dépend du degré des lésions tissulaires. En effet, dans les conditions les plus favorables, les agents agresseurs sont éliminés par les PMNs, et les produits de dégradation ainsi que les débris cellulaires sont phagocytés par les macrophages. Les macrophages vont alors sécréter des cytokines et des médiateurs qui vont induire la phase de cicatrisation et de régénération tissulaire. Le retour à un état physiologique consiste dans un premier temps en la réparation de l'endothélium par les cellules endothéliales elles-mêmes, ces cellules pouvant produire et remodeler les éléments de leur stroma (collagène de type I et III) ou de leur lame basale (collagène de type IV et V, laminine). Si l'atteinte est plus sérieuse et entraîne une destruction du tissu atteint, d'autres cellules vont intervenir pour réparer le nouveau tissu. Les macrophages vont participer à l'angiogenèse, mais ce sont surtout les fibrocytes puis les fibroblastes qui vont produire les protéines matricielles des tissus intercellulaires, comme le collagène, la fibronectine et la

laminine pour permettre la reconstruction des tissus. Le système de l'angiogenèse est ainsi remis au repos et la réaction inflammatoire peut s'éteindre (100).

#### **IV.2. L'inflammation chronique**

Morphologiquement, l'inflammation chronique est définie par la présence de lymphocytes, macrophages, et plasmocytes dans les tissus. Dans de nombreux cas, la réponse inflammatoire chronique peut persister pendant de longues périodes (plusieurs mois ou années). Elle est considérée comme être causé par l'engagement persistant des réponses de l'immunité innée et acquise, comme dans la polyarthrite rhumatoïde, rejet de l'allogreffe chronique, dans la béryllose, et dans l'inflammation granulomateuse. Il est prouvé que les macrophages dans ces lésions produisent une série de médiateurs pro-inflammatoires qui activent les fibroblastes pour fixer le collagène et activer les autres macrophages et lymphocytes pour libérer des médiateurs responsables des réponses inflammatoires (98).

### **V. Les anti-inflammatoires intervenants lors des mécanismes inflammatoires**

#### **V.1. Les anti-inflammatoires stéroïdiens**

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) constituent une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol, principal glucocorticoïde surrénalien. Les glucocorticoïdes sont des substances dérivées du cholestérol, dont la production est stimulée par l'ACTH libérée selon un cycle nyctéméral par le lobe antérieur de l'hypophyse. Dans les tissus cibles, les glucocorticoïdes se fixent à leurs récepteurs des glucocorticoïdes (GR) du cytoplasme de la cellule. Après quoi, le complexe récepteur-ligand formé pénètre dans le noyau cellulaire où il se fixe à de nombreux éléments de réponse aux glucocorticoïdes dans la région du promoteur des gènes-cibles. Le récepteur, ainsi fixé à la molécule d'ADN interagit avec les facteurs de transcription basiques, provoquant une augmentation de l'expression génique de gènes-cibles spécifiques. Ce processus est appelé transactivation et conditionne la plupart des effets secondaires métaboliques et cardiovasculaires des glucocorticoïdes.

Le mécanisme opposé est appelé transrépression. Le récepteur hormonal activé interagit avec des facteurs de transcription spécifiques et prévient la transcription des gènes-cibles. Les glucocorticoïdes sont capables d'empêcher la transcription de tous les gènes immuns, incluant celui codant IL-2 (101).

Les glucocorticoïdes ordinaires ne font pas de différence entre la transactivation et la transrépression, et influencent à la fois les gènes immuns "voulus" et ceux "non voulus" régulant les fonctions métaboliques et cardiovasculaires. Actuellement, les efforts de recherche visent à découvrir des glucocorticoïdes agissant sélectivement qui seraient capables de ne réprimer que le système immunitaire.

### V.2. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont une des classes thérapeutiques les plus utilisées dans le monde en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires, antipyrétique et antalgiques. Actuellement, il y a plus de 50 différents AINS sur le marché mondial.

Le mécanisme d'action des AINS a été précisé par les travaux de Vane en 1971, il repose en grande partie sur l'inhibition compétitive, réversible ou non, de la cyclooxygénase, enzyme qui permet la production de prostaglandine à partir de l'acide arachidonique. Cette caractéristique commune à tous les AINS conduit à une diminution de la production des prostaglandines (notamment la PGE2 et la PGI2), importants médiateurs de l'inflammation (**Figure 5**). Même si d'autres modes d'action existent, cette activité explique largement les propriétés pharmacologiques et thérapeutiques des AINS, mais aussi une partie de leurs effets secondaires en raison du rôle ubiquitaire et des fonctions physiologiques des prostaglandines (**102**). Ainsi, la production exagérée de prostaglandines en situation pathologique participe à l'inflammation (vasodilatation, augmentation de la perméabilité capillaire) et à la douleur (sensibilisation des nocicepteurs) alors que sa production basale permet l'homéostasie tissulaire (production de mucus, de bicarbonates et maintien du flux sanguin sous muqueux gastrique, maintien de l'hémodynamique rénale en cas d'hypoperfusion en particulier). L'inhibition de la synthèse des prostaglandines par les AINS semblait donc, jusqu'à récemment, devoir obligatoirement s'accompagner d'effets favorables et délétères (**103**).

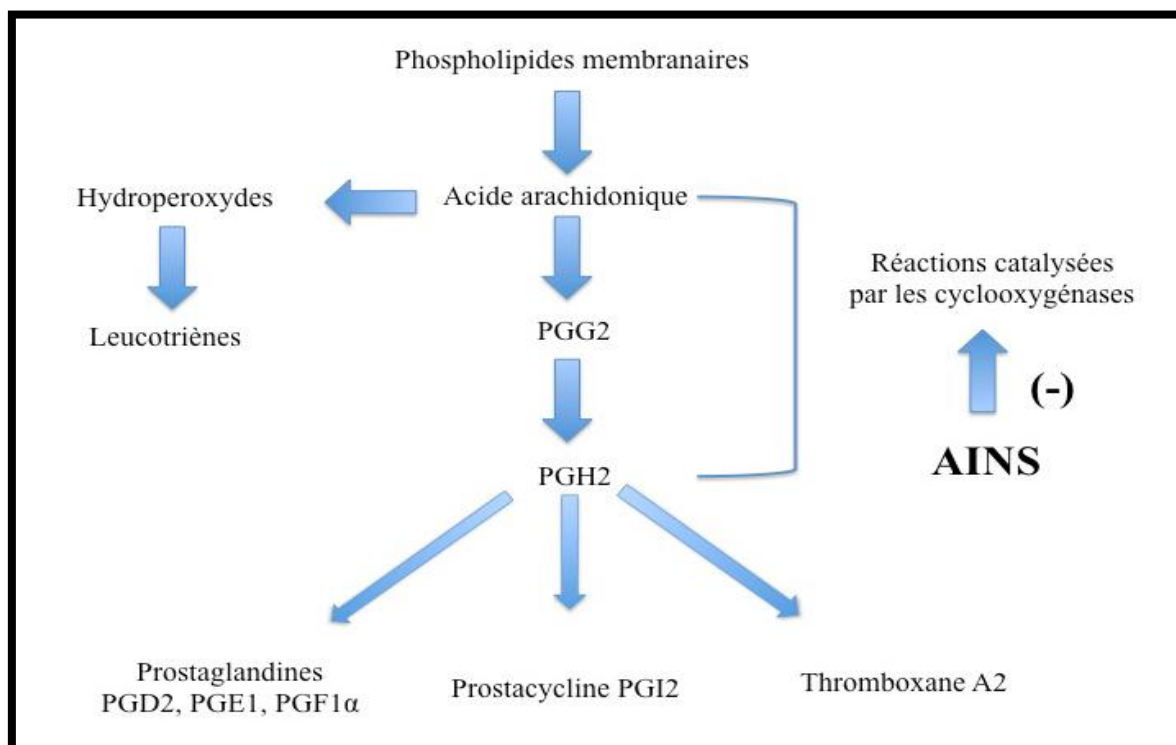


Figure 5 : Mécanisme d'action des AINS (102).

### V.3. Les anti-leucotriènes.

Leur développement est directement lié à la mise en évidence du rôle de ces médiateurs dans l'inflammation. En effet, ils ont un rôle important sur le recrutement des cellules de l'inflammation (LT B4 surtout) et sur la vasodilatation et l'extravasation plasmatique au site de l'inflammation (LTC4, D4 et E4). Au niveau des bronches, ils ont aussi un effet de stimulation des sécrétions et ce sont de puissants bronchodilatateurs. Les anti-leucotriènes actuellement utilisés en clinique agissent en bloquant les récepteurs cellulaires des cysteinyl leucotriènes (LTC4, D4 et E4). Ils sont indiqués dans le traitement de fond de l'asthme où ils ont une action complémentaire des corticoïdes inhalés. D'autres voies de blocage par, inhibition de la synthèse, sont à l'essai ainsi que le développement d'inhibiteurs spécifiques du LTB4 qui pourraient être utiles dans d'autres pathologies où les polynucléaires neutrophiles sont appliqués. (104).

**V.4. Les inhibiteurs des cytokines pro-inflammatoires**

Ils sont directement issus des progrès des connaissances quant au rôle de différentes cytokines dites pro-inflammatoires, en particulier du TNF et de l'IL-1. Les molécules utiles au blocage de ces cytokines sont essentiellement représentées par des anticorps monoclonaux ou des protéines recombinantes (105).

**VI. Les maladies inflammatoires**

Les anomalies inflammatoires sont un groupe de troubles qui sous-tendent une grande variété de maladies humaines. Le système immunitaire est souvent impliqué dans les troubles inflammatoires, ont manifesté dans les deux réactions allergiques et certaines myopathies, avec de nombreux troubles du système immunitaire résultant de l'inflammation anormale. Les maladies non-immunes avec origines étiologiques dans les processus inflammatoires incluent le cancer, l'athérosclérose et la maladie cardiaque ischémique(105).

**VI.1. L'athérosclérose**

Autrefois considérée comme une maladie de stockage de lipide fade, implique en fait une réponse inflammatoire en cours. Les progrès récents de la science fondamentale ont établi un rôle fondamental pour l'inflammation dans la médiation de toutes les étapes de cette maladie de l'initiation par la progression et, finalement, les complications thrombotiques de l'athérosclérose. Ces nouveaux résultats fournissent des liens importants entre les facteurs de risque et les mécanismes de l'athérogènes. Des études cliniques ont montré que cette biologie émergeant de l'inflammation dans l'athérosclérose applique directement à des patients humains. Altitude dans les marqueurs de l'inflammation prédit les résultats des patients atteints de syndromes coronariens aigus, indépendamment des lésions myocardiques. (105).

**VI.2. Allergies**

Une réaction allergique, officiellement connu comme hypersensibilité de type 1, est le résultat d'une réponse immunitaire inappropriée déclenchant l'inflammation. Un exemple courant est la fièvre des foins, qui est causée par une réaction d'hypersensibilité par les mastocytes de la peau à des allergènes. Mastocytes sensibilisés pré répondent par dégranulation, libérant des produits chimiques vasoactives telles que l'histamine. Ces

produits chimiques se propagent une réponse inflammatoire excessive caractérisée par une dilatation

Des vaisseaux sanguins, la production de molécules pro-inflammatoires, la libération de cytokines, et le recrutement de leucocytes(106), réponse inflammatoire sévère peut mûrir dans une réponse systémique connue comme l'anaphylaxie.

### **VI.3. Myopathies**

Myopathies inflammatoires sont causés par le système immunitaire inappropriée attaquer les composants de muscle, ce qui conduit à des signes d'inflammation musculaire. Ils peuvent se produire en association avec d'autres troubles immunitaires, comme la sclérose systémique, et inclure la dermatomyosite, la polymyosite, la myosite et de corps d'inclusion (106).

### **VI.4. Cancer**

Inflammation orchestre le microenvironnement autour des tumeurs, contribué à la prolifération, la survie et la migration (107).Les cellules cancéreuses utilisent sélectines, des chimiokines et de leurs récepteurs pour l'invasion, la migration et les métastases(108).D'autre part, de nombreuses cellules du système immunitaire contribuent à l'immunologie du cancer, en supprimant le cancer(109)intersection moléculaire entre les récepteurs d'hormones stéroïdes, qui ont des effets importants sur le développement cellulaire, et les facteurs de transcription qui jouent des rôles clés dans l'inflammation, tels que NF-kB, peut médier certains des effets les plus critiques de stimuli inflammatoires sur les cellules cancéreuses (110)Cette capacité d'un médiateur de l'inflammation pour influencer les effets des hormones Steroïdes dans les cellules, est très susceptible d'affecter la carcinogénèse d'un côté. D'autre part, en raison de la nature modulaire de plusieurs récepteurs d'hormones stéroïdes, cette interaction peut offrir des moyens pour interférer avec la progression du cancer, en ciblant un domaine de protéine spécifique dans un type cellulaire spécifique.(110).





# **Chapitre IV**

## **Matériel et Méthodes**

## Matériel et Méthodes

Notre travail expérimental ayant pour objet l'investigation pytochimique et l'étude de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique brut de deux plantes médicinales *Marrubium vulgare* et *Artemisia campestris*. L'étude expérimentale a été effectuée au sein du laboratoire de Biochimie, Université Abbés Laghrour - Khenchela.

### I. Matériel

#### I.1. Matériel biologique

##### I.1.1. Matériel végétal

Il est constitué des feuilles et tige de *Marrubium vulgare* et *Artemisia campestris*, récoltées au cours du mois de novembre 2016 de la région de KHENCHELA (BAGHAI).

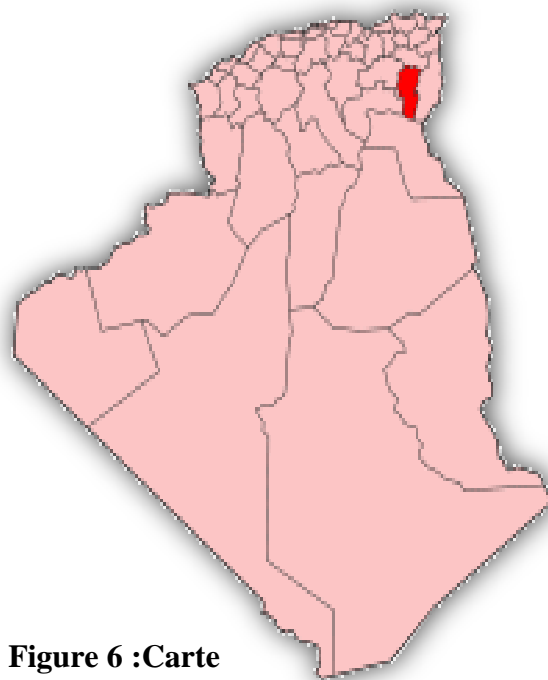


Figure 6 : Carte géographique

représente la localisation d'obtention des plantes *Marrubium vulgare* et *Artemisia campestris* (Baghai -Khenchela-) (111).

### I.1.2. Réactifs chimiques et instrumentations

Plusieurs réactifs chimiques et solvants ont été utilisés dans nos expériences, parmi ces produits: Folin-Ciocalteu, 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>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, méthanol, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, Acide gallique, NaCl, AlCl<sub>3</sub>, méthanol, n-butanol, chloroforme, acétone, plaque CCM, BSA. Parmi l'appareillage utilisé : Rotavapeur (Hahapeur : KIT / LAB) HS- 2005-N), Spectrophotomètre (UV/Vis 6305 JENWAY) UV-Vis à double faisceau, Chambre d'observation UV (CN-6), Bain Marie (Memmert C), Etuve, Autoclave, agitateur magnétique (SCILOGEX MS7-H550-Pro), pH mètre (pH 211 microprocessor), Balance (SOLOCEXMS 7 -H 550-Pro)

## II. Méthodes

### II.1. Préparation de l'extrait méthanolique

Les feuilles et les tiges de deux plantes fraîchement récoltées sont conservées à l'ombre dans un endroit sec et aéré, ensuite elles ont été broyées dans un broyeur électrique pour l'obtention d'une poudre très fine, la poudre obtenue a été placée dans un flacon en verre bien hermétique. 86.002g et 150 g de la poudre de la partie aérienne des deux plantes médicinales *Marrubium vulgare* et *Artemisia campestris* respectivement sont mises à macérer dans un mélange méthanol/eau (7:3 V/V) pendant 24 heures à température ambiante. Cette opération est répétée trois fois avec renouvellement du solvant. L'extrait hydroalcoolique est récupéré dans un premier temps après filtration du mélange, le méthanol est éliminé du filtrat par évaporation sous pression réduite en utilisant un rotavapeur à la température 50°C permettant ainsi d'obtenir l'extrait méthanolique qui est conservé à +5°C.



Figure 7 : Photo du Rotavapeur utilisé pour sécher nos extraits méthanoliques

### Détermination du rendement d'extraction

Le rendement des extraits méthanoliques est le rapport entre le poids de l'extrait sec et le poids de la plante en poudre utilisée. Il est exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = P_s / P_p \times 100$$

Où :  $P_s$  : Poids de l'extrait sec en gramme (g)

$P_p$  : Poids de la poudre en gramme (g).

## II.2. Screening chimique

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 de *Marrubium vulgare* et *Artemisia campestris* et les résultats obtenus ont été évalués comme suit :

+ : Positif ; - : Négatif ; ND : Non déterminé.

### II.2.1. Recherche des tanins

2 à 3 gouttes de la solution de  $FeCl_3$  à 2%, sont ajoutées à 2 ml de l'extrait brut méthanolique. 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. **(112)**

### II.2.2. Recherche des saponosides

- Test 1 : 5 ml de l'extrait brut méthanolique 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. **(112)**
- 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 triterpènes hétérosidiques. **(113)**

### II.2.3. Recherche des flavonoïdes

5 ml de l'extrait méthanolique sont traités avec quelques gouttes d' $\text{AlCl}_3$  (1%). La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une couleur jaune. (114)

#### II.2.4. Recherche des coumarines

Les résidus secs sont dissous dans l'eau distillée par chauffage. Après refroidissement, la solution obtenue est répartie dans 2 tubes à essai. Le premier sert de témoin et on ajoute 05 ml de  $\text{NH}_4\text{OH}$  10% dans le 2eme tube. L'apparition d'une fluorescence bleue ou verte à la lampe UV 365 nm indique la présence des coumarines (115, 116)

#### II.2.5. 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). (113)

#### II.2. 6. 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 chauffés 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.(114)

### II.3. Etude quantitative

#### II.3.1. Dosage des polyphénols :

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique Folin Ciocalteu selon la méthode de Wong(119).

##### II.3.1.1. Principe

La teneur phénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec le spectrophotomètre UV-Vis en utilisant l'essai de Folin-Denis ou généralement Folin-Ciocalteu. Ces essais sont basés principalement sur la réduction du réactif acide phosphotungstique phosphomolybdique (réactif Folin) dans une solution alcaline(120).

Brièvement 200 µl de chaque extrait (dissous dans le méthanol) ont été ajoutés à 1ml de réactif de Folin-Ciocalteu 10 fois dilué. Les solutions ont été mélangées et incubées pendant 4 minutes.

Après l'incubation 800 µl de la solution de carbonate de sodium  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (7,5g/l) a été ajoutée. Le mélange final a été secoué et puis incubé pendant 2 heures dans l'obscurité à température ambiante. L'absorbance des extraits a été mesurée par un spectrophotomètre à 765 nm.

### II.3.1.2. Expression des résultats :

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec le standard étalon l'acide gallique (5-200 µg/ml) et exprimée en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG /mg).

### II.3.2. Dosage des flavonoïdes :

La méthode de trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) cité par Djeridane (121) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits.

#### II.3.2.1. Principe :

1ml de chaque extrait et du standard (dissous dans le méthanol) avec les dilutions convenables a été ajouté à un volume égal d'une solution d' $\text{AlCl}_3$  (2% dans le méthanol). Le mélange a été vigoureusement agité et l'absorbance à 430 nm a été lue après 10 minutes d'incubation.

#### II.3.2.2. Expression des résultats:

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ( $y=ax+b$ ) réalisé par un standard étalon "la quercétine" à différentes concentrations (1.75-40 µg/ml) dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait (µgEQ/mg).

## II.4. Etude qualitative

### II.4.1. Identification des flavonoïdes par chromatographie sur couche mince (CCM):

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 recherché, et leur affinité, -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.

### Protocole de CCM sur gel de silice

Les analyses par CCM ont été effectuées avec des plaques de silica gel, sur support rigide en aluminium 20/20 Cm.

- L'extrait est déposé à l'aide d'une micropipette (2 µl) à des points repères à 1.5 cm du bord inférieur de la plaque.
- les plaques sont placées dans les cuves de développement, à environ 0,5 cm de hauteur. dans les quelles se trouve 3 systèmes de migration appelés phase mobile constitué de :

BAW : Butanol, Acide acétique, H<sub>2</sub>O (4 : 1 : 5).

Chloroforme, Méthanol, H<sub>2</sub>O (85 : 10 : 5).

Acétone, H<sub>2</sub>O (1 :1).

Après développement, les plaques sont séchées, puis visualisées séparément par une révélation physique sous lampe 365 nm.

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. Les rapports frontaux des spots sont comparés à ceux des témoins permettant ainsi l'identification des constituants de différents extraits (117,118).

### III. Etude de l'activité Anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire in vitro des extraits méthanoliques de *Marrubium vulgare* et *Artemisia campestris* a été effectuée selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines.

L'activité a été effectuée avec 3 types de concentrations pour chaque extrait (0.5mg/ml, 1mg/ml et 2 mg/ml). La méthode consiste à préparer quatre solutions. (122)

- **La solution d'essai** (0,5 ml) composé de 0,45 ml de la solution aqueuse de sérum bovine albumine (BSA) 5 % et 0,05 ml d'extrait méthanolique.

- **La solution control test** (0,5 ml) composé de 0,45 ml de la solution aqueuse de BSA 5 % et 0,05 ml d'eau distillé.
- **La solution contrôle produit** (0,5 ml) composé de 0,45 ml d'eau distillé et 0,05 ml d'extrait méthanolique.
- **La solution standard test** (0,5 ml) compose de 0,45 ml de la solution aqueuse de BSA 5 % et 0,05 ml de la solution de standard diclofénac sodium avec une concentration de 250 µg/ml.

Les échantillons ont été incubées à 37 ° C pendant 20 min, ensuite la température était augmenté pour garder les échantillons à 57°c pendant 3 min, après refroidissement des tubes, 2,5 ml de la solution phosphate tampon saline (pH 6,3) a été ajouté aux solutions ci-dessus, l'absorbance a été lue par le spectrophotomètre UV –visible à 416 nm, et le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines a été calculée comme suit **:(123)**

ABS de la solution Test-ABS de la solution contrôle produit

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = 100 - \frac{\text{ABS de La solution control test}}{\text{ABS de la solution Test-ABS de la solution contrôle produit}} * 100$$

Le contrôle représente 100% des protéines dénaturées ; et les résultats sont comparés avec le Diclofenac sodium (25 mg/ml).

#### IV. Etude statistique

Chaque expérience est répétée trois fois et les valeurs sont représentées par les moyennes ± écart type.





# **Chapitre V**

## **Résultats et Discussion**

## Résultats et Discussion

### I. Détermination du rendement d'extraction

L'extrait a été préparé à partir de la poudre de la partie aérienne de *Marrubium Vulgare* et d'*Artemisia Campestris* en utilisant la méthode de macération, Les résultats sont représentés dans le **Tableau2**.

**Tableau2. Le rendement des extraits méthanoliques du *Marrubium vulgare* et *Artemisia campestris***

La plante	Le poids du matériel végétal en (g)	Le poids des extraits en (g)	Le rendement en (%)
<i>Marrubium vulgare</i>	86 ,002	15 ,11	17,57 %
<i>Artemisia campestris</i>	150	21,98	14,65 %

D'après les résultats obtenus, nous avons enregistré les rendements d'extraction des parties aériennes de *Marrubium vulgare* et d'*Artemisia campestris* avec 17,57 % et 14,65 % respectivement dans le solvant polaire (hydroalcoolique) méthanol-eau (7/3).

Les extraits méthanoliques (MeOH) issus des plantes (*Marrubium vulgare* et d'*Artemisia campestris*), présentent une couleur verte très foncée et un aspect collant. Dans notre étude, l'extraction est réalisée à froid par simple macération (123) qui est une méthode discontinue dont le solvant devrait être remplacé jusqu'à ce que la matière végétale soit épuisée (118) ; donc il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie de manière générale. En effet, le rendement n'est pas relatif ; il varie en fonction de la localisation géographique de l'espèce végétale, le degré de maturité, la génétique, le climat, la période de récolte l'organe utilisé dans l'extraction, les conditions de séchage, le contenu de chaque espèce en métabolites (de son métabolisme) et de la nature du solvant utilisé dans l'extraction ou fractionnement et de sa polarité (124).

### II. Résultats de l'étude phytochimique

#### II.1. Résultats du screening chimique

Le screening phytochimique nous a permis de déterminer les différentes familles de composés qui se trouvent dans la partie aérienne des deux extraits méthanoliques, intervient

aux deux plantes différentes *Marrubium vulgare* et *Artemisia campestris* dont les résultats sont montrés dans les tableaux (3 et 4)

**Tableau 3 : Screening phytochimique des composés constituant l'extrait méthanolique de *Marrubium vulgare***

Extrait méthanolique du <i>Marrubium vulgare</i>		
Les composés	Test	Remarques
Les saponosides	(+)	Formation d'une mousse persistante après 15 min
Les flavonoïdes	(+)	Apparition d'une coloration jaune
Les tanins	(+)	Apparition d'une coloration bleu noir et un précipité après 3 min
Les composés réducteurs	(+)	Apparition de deux phases séparées (colorée rouge et l'autre en bleu vert)
Les alcaloïdes	(+)	Apparition d'une turbidité et d'un précipité avec le réactif de Wagner
Les coumarines	(-)	Absence d'une fluorescence bleue ou vert à la lampe UV

**Tableau 4 : Screening phytochimique des composés constituant l'extrait méthanolique d'*Artemisia Campestris***

Extrait méthanolique d' <i>Artemisia campestris</i>		
Les composés	Test	Remarques
Les saponosides	(+)	Formation d'une mousse persistante après 15 min
Les flavonoïdes	(+)	Apparition d'une coloration jaune
Les tanins	(+)	Apparition d'une coloration bleu noir et un précipité après 3 min
Les composés réducteurs	(+)	Apparition de deux phases séparées (colorée rouge et l'autre en bleu vert)
Les alcaloïdes	(+)	Apparition d'une turbidité et d'un précipité avec le réactif de Wagner
Les coumarines	(+)	Présence d'une fluorescence bleue ou vert à la lampe UV

Les résultats sont exprimés selon :

- Réaction franchement positive (+)
- Réaction négative (-)

Dans l'extrait méthanolique d'*Artemisia Campestris*, les composés les plus caractéristiques ont été les tanins, les saponosides, les flavonoïdes, les alcaloïdes sels, les

coumarines et en fin les composés réducteurs ce qui confirme les travaux de (6) qui a été révélé la présence de polyphénols, flavonoïdes chez *Artemisia Campestris*. La richesse de cet extrait en composés chimiques peut expliquer son utilisation traditionnelle pour traiter les troubles digestives, la diarrhée, le rhumatisme,...etc.

Par revanche, l'extrait méthanolique du *Marrubium vulgare* est caractérisé par la présence significative des tanins, les saponosides, les flavonoïdes, les alcaloïdes sels, composés réducteur alors que les coumarines sont absentes.

## II.2. Résultats de l'analyse quantitative

### II.2.1. Dosage des polyphénols totaux

La quantification des composés phénoliques a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ( $y = ax + b$ ) réalisé par une solution étalon (l'acide gallique) à différentes concentrations.

La teneur en polyphénols totaux est exprimée en microgramme d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait ( $\mu\text{g EAG}/\text{mg}$  d'extrait). (**Figure 8**)

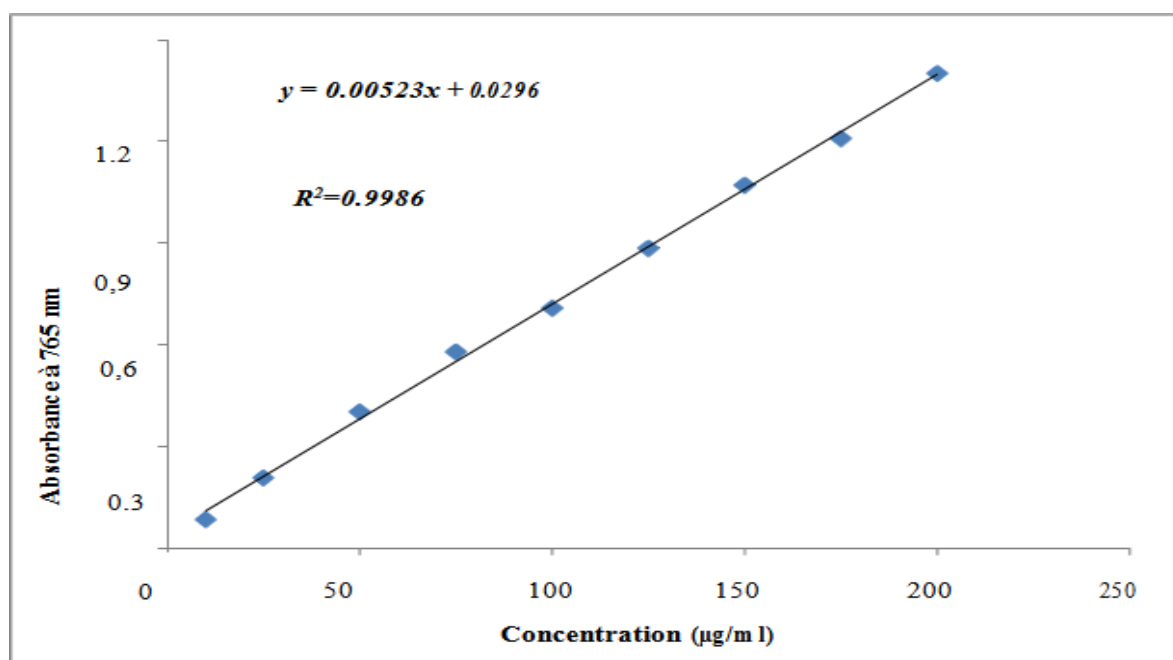
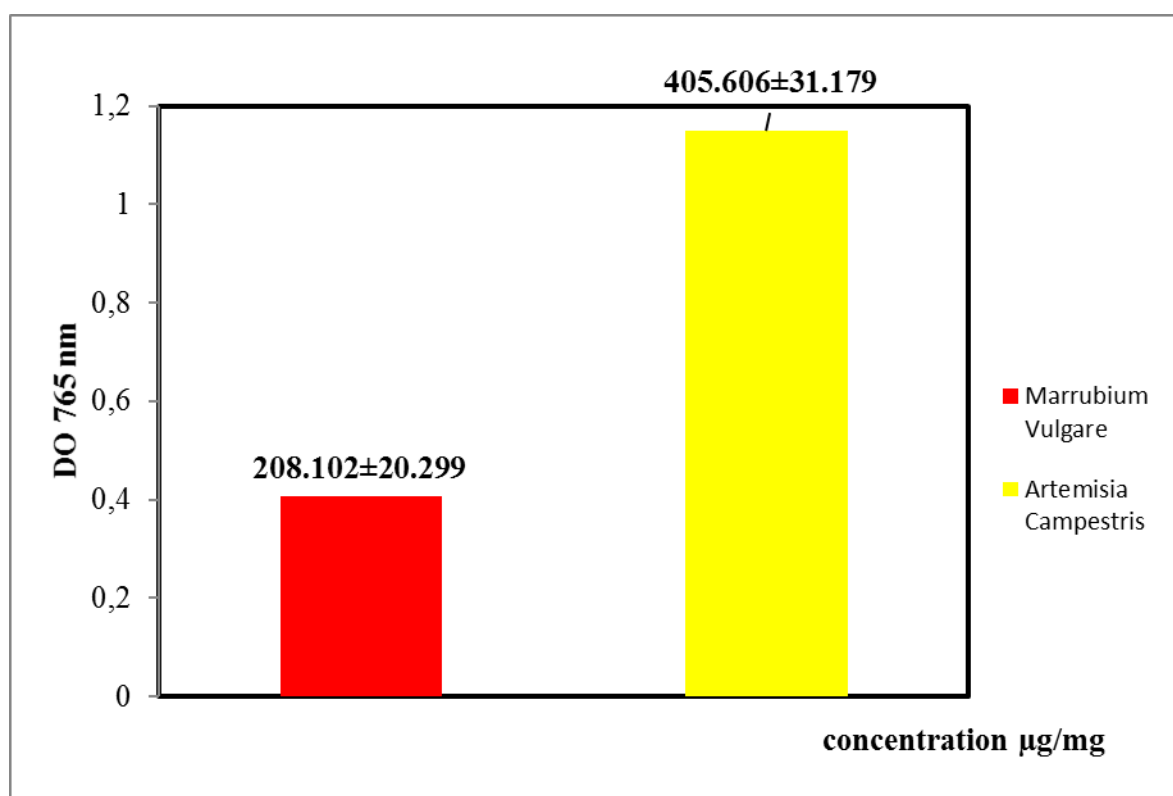


Figure 8 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (moyenne  $\pm$  SD de trois mesures).



**Figure 9 :** Histogramme représente la teneur en polyphénols totaux des plantes *Marrubium vulgare* et *Artemisia campestris*.

Suivant la figure ci-dessus (**Figure 9**), La teneur en polyphénols totaux estimée par la méthode de Folin- Ciocalteu pour chaque extrait a été rapportée en µg équivalent d'acide gallique/mg du matériel végétal sec. Les résultats montrent que l'extrait méthanolique de la plante *Artemisia campestris* a une forte teneur en phénols totaux (405.606±31.179 µg /mg) par rapport à celle de l'extrait méthanolique de la plante *Marrubium vulgare* (208.102±20.299 µg /mg).

### II.2.2. Dosage des flavonoïdes

La quantification des composés phénoliques a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ( $y = ax + b$ ) réalisé par une solution étalon (la quercétine) à différentes concentrations.

La teneur en flavonoïdes est exprimée en microgramme d'équivalents quercétine par milligramme d'extrait (µg EAG/mg d'extrait). (**Figure 10**)

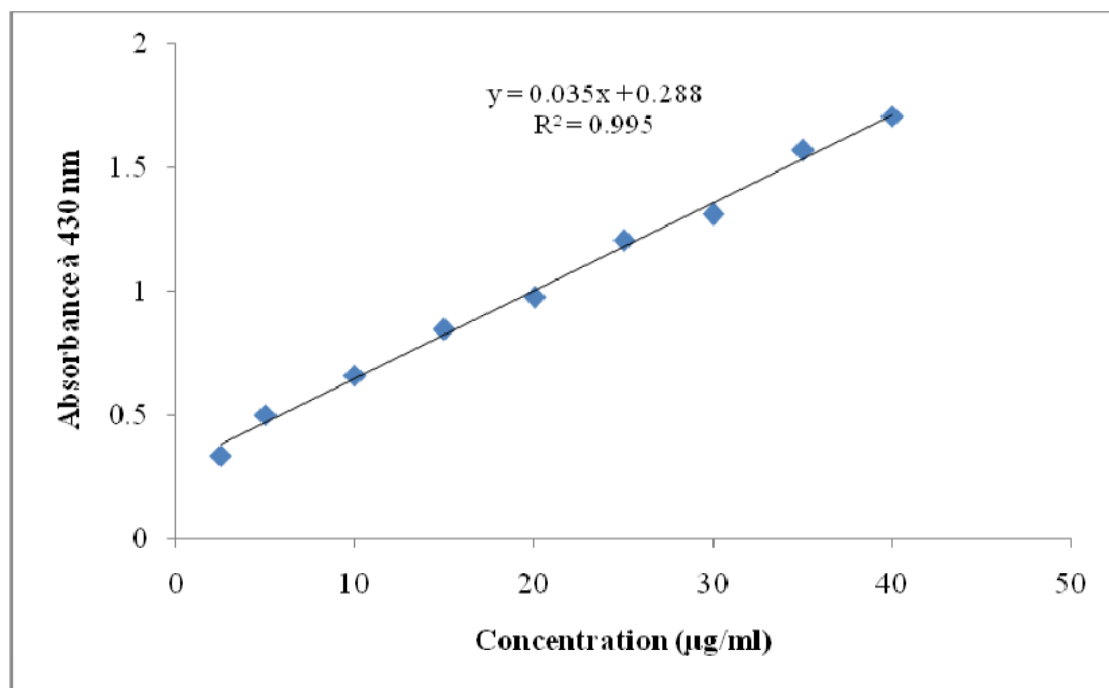


Figure 10 : Courbe d'étalonnage de la quercétine (moyenne  $\pm$  SD de trois mesures).

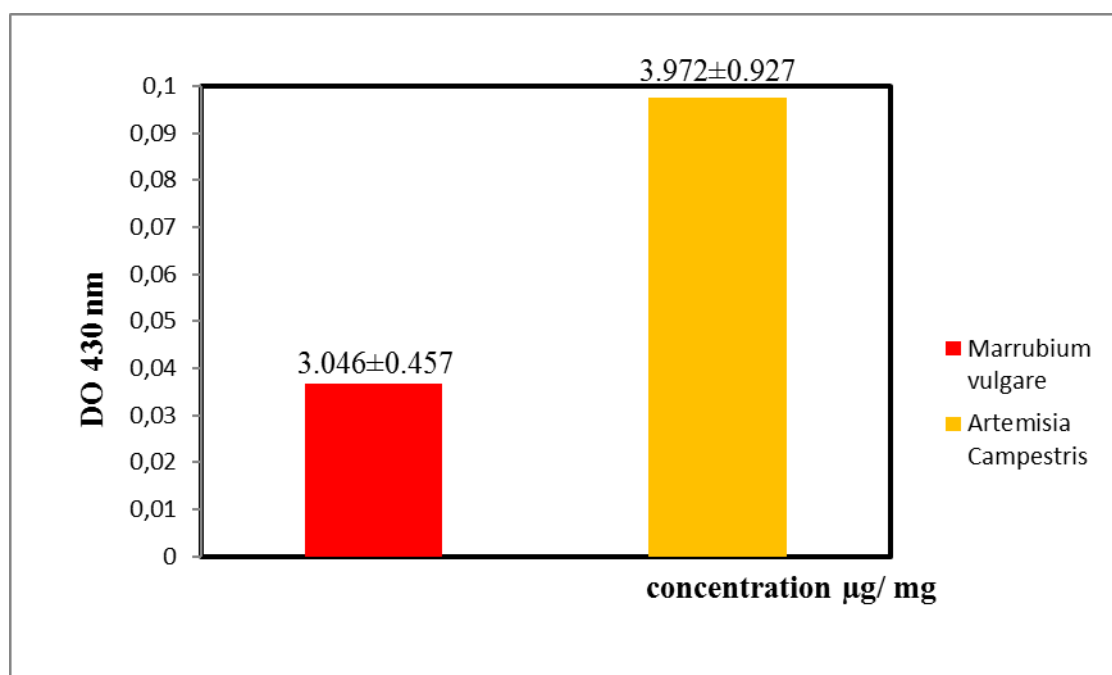
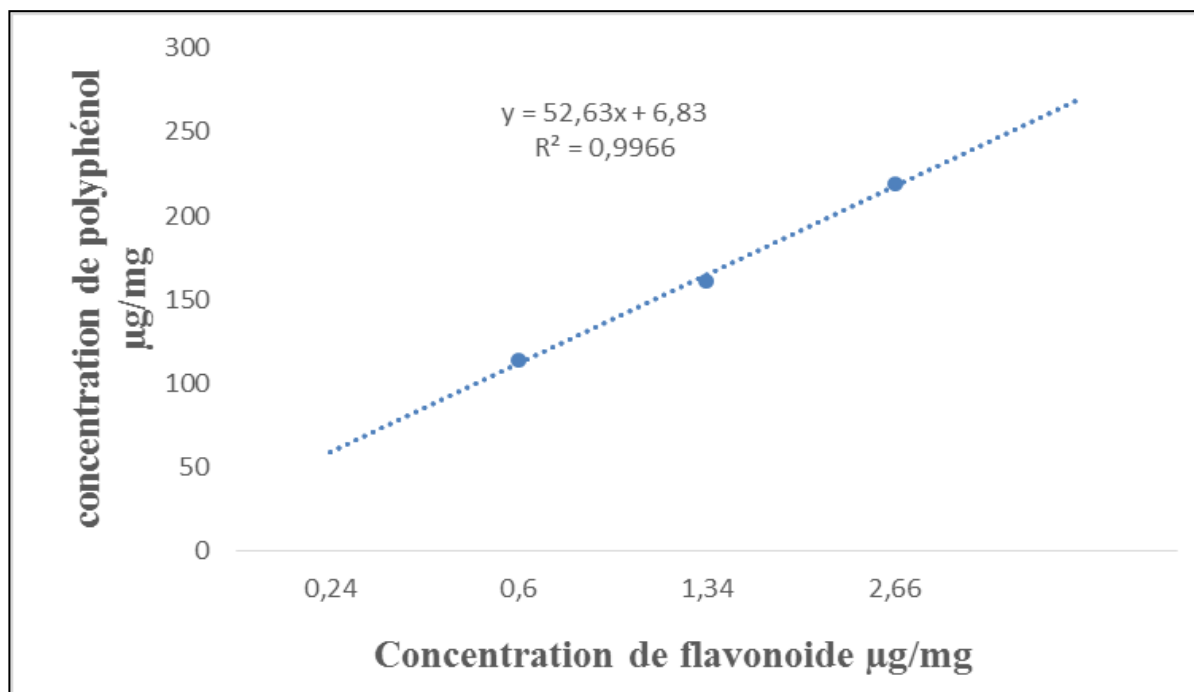
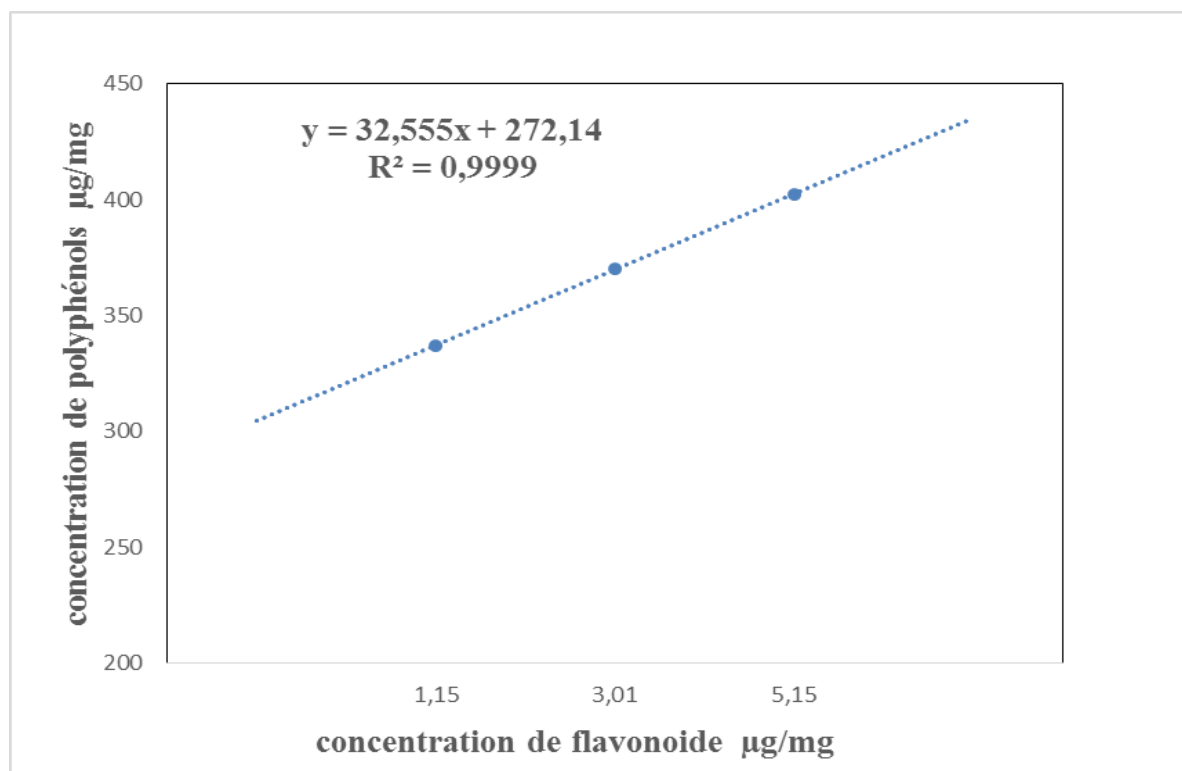


Figure 11 : Histogramme représente la teneur en flavonoïdes des plantes *Marrubium vulgare* et *Artemisia campestris*

Suivant la figure ci-dessus (**Figure 11**), Les teneurs en flavonoïdes déterminée par la méthode au trichlorure d'aluminium pour chaque extrait a été rapportée en  $\mu\text{g}$  équivalent de quercétine /mg extrait. Les résultats montrent que l'extrait méthanolique de la plante *Artemisia campestris* a une forte teneur en flavonoïdes ( $3.972 \pm 0.927 \mu\text{g} / \text{mg}$ ) par rapport à celle de l'extrait méthanolique de la plante *Marrubium vulgare* ( $3.046 \pm 0.457 \mu\text{g} / \text{mg}$ ).



**Figure12 : Corrélation entre la teneur en flavonoïdes et celle en polyphénols de la plante *Marrubium vulgare***



**Figure13 : Corrélation entre de la teneur en flavonoïdes et celle en polyphénols de la plante *Artemisia campestris***

Suivant les figures ci-dessus (**Figure 12, 13**), Nous pouvons suggérer d'après ces résultats, qu'il y a une parfaite corrélation entre les flavonoïdes et polyphénols des deux plantes étudié.

### **II.3. Résultats de l'étude qualitative chromatographie sur couche mince des extraits méthanoliques des plantes *Marrubium vulgare* et *Artemisia campestris***

Le développement de la méthode pour la chromatographie sur couche mince commence non seulement par le choix de la phase mobile de séparation mais aussi le choix de la phase stationnaire, la technique de développement choisie, dimension de la chambre de développement et de l'espace vapeur ont un effet prononcé sur la séparation (**118**).

La CCM nous a permis d'avoir les empreintes flavoniques des extraits méthanolique des parties aériennes des plantes *Marrubium vulgare* et *Artemisia campestris*, l'identification des composés était basée sur la comparaison des Rf's et couleurs observés

sous lampe UV des taches apparues sur la plaque en utilisant plusieurs systèmes d'éluion de polarité différente.

Suivant la révélation des plaques, les spots ont été visualisés sous une lampe UV à la longueur d'onde 365 nm, dont elle révèle les taches fluorescentes et visible et les tableaux 1-2-3-4-5-6 résumant les résultats du CCM.

### II.3.1. Composés identifiés chez *Marrubium vulgare*

**Tableau 5 : CCM de la fraction méthanolique de *Marrubium vulgare***

**Système solvant : BAW : Butanol, Acide acétique, H<sub>2</sub>O (4 :1 :5)**

**Adsorbant : Gel de silice**

<b>Couleur sous UV 365 (nm)</b>	<b>Rapport frontal (cm)</b>	<b>Type de flavonoïde possible</b>
<b>Spot1</b> : pourpre sombre	0.43	Flavonols, flavonones, isoflavone, flavanones, chalcones
<b>Spot2</b> : mauve	0.49	Anthocyanidine 3-glycosides
<b>Spot3</b> : bleu blanc fluorescent	0.56	Flavonols, flavonones, isoflavone, flavanones, acide phénol
<b>Spot4</b> : rouge	0.86	Anthocyanidine 3-glycosides
<b>Spot1</b> : rouge	0.92	Anthocyanidine 3-glycosides

Cinq spots ont été ségrégués des dépôts de l'extrait méthanolique par le système de solvant utilisé (BAW : Butanol, Acide acétique, H<sub>2</sub>O (4 :1 :5)) appartenant aux différentes classes flavoniques, mais une grande partie appartiennent probablement surtout aux classes des Anthocyanidine 3-glycosides.

Tableau 6 : CCM de la fraction méthanolique de *Marrubium vulgare*Système solvant : Chloroforme, Méthanol, H<sub>2</sub>O (85 : 10 : 5)

Adsorbant : Gel de silice

Couleur sous UV 365 (nm)	Rapport frontal (cm)	Type de flavonoïde possible
Spot1 : Violet	0.22	Anthocyanidine 3-glycosides

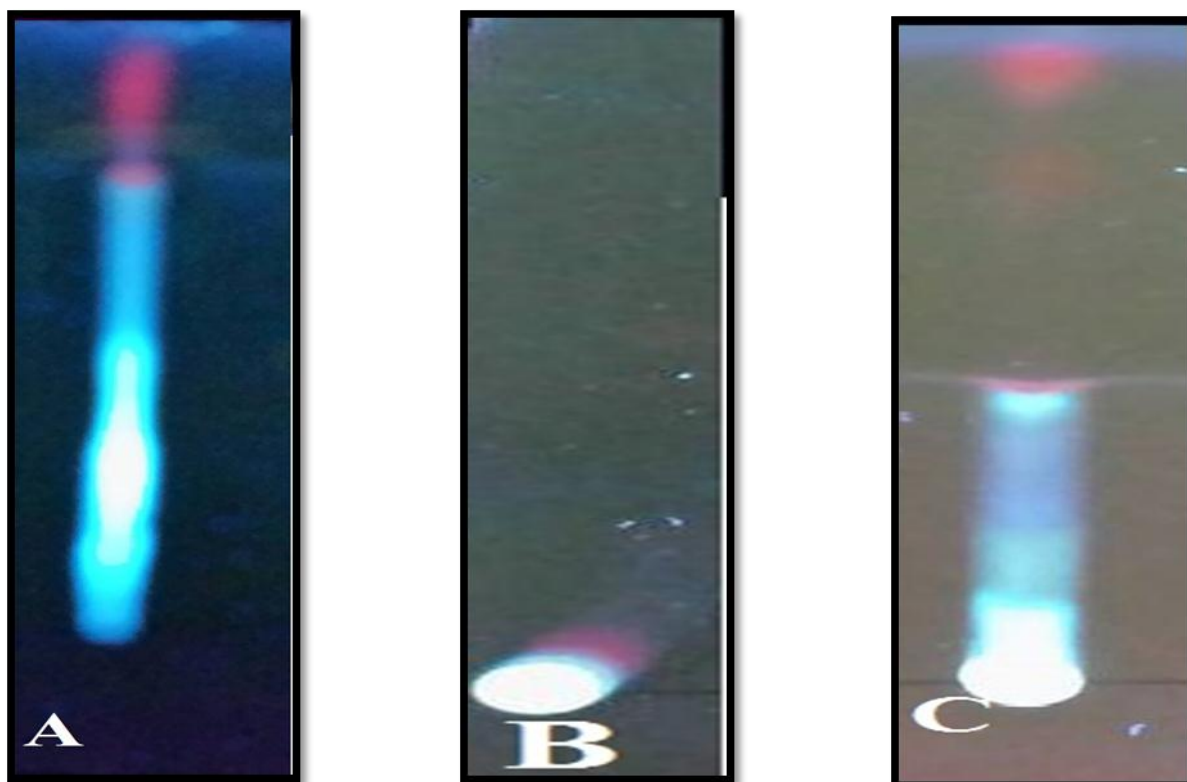
Un seul spot a été ségrégué des dépôts de l'extrait méthanolique par le système de solvant utilisé (Chloroforme, Méthanol, H<sub>2</sub>O (85 : 10 : 5) appartenant à la classe des anthocyanidine 3-glycosides.

Tableau 7 : CCM de la fraction méthanolique de *Marrubium vulgare*Système solvant : Acétone, H<sub>2</sub>O (1 :1)

Adsorbant : Gel de silice

Couleur sous UV 365 (nm)	Rapport frontal (cm)	Type de flavonoïde possible
Spot1 : bleu	0.36	Acide phénol
Spot2 : rouge vif	0.44	Anthocyanidine 3-glycosides
Spot3 : rouge vif	0.54	Anthocyanidine 3-glycosides
Spot4 : mauve	0.90	Anthocyanidine 3-glycosides
Spot5 : rose pale	0.94	Anthocyanidine 3,5-diglycosides

Cinq spots ont été ségrégués des dépôts de l'extrait méthanolique par le système de solvant utilisé (Acétone, H<sub>2</sub>O (1 :1) appartenant aux différentes classes des anthocyanidine 3-glycosides et d'acide phénol.



**Figure14 : Photos de chromatogramme résultant de l'analyse d'extrait méthanolique *Marrubium vulgare* par chromatographie sur gel silice (révélation à UV), 365 nm par les systèmes solvants : (A) : BAW : Butanol, Acide acétique, H<sub>2</sub>O (4 :1 :5), (B) : Chloroforme, Méthanol, H<sub>2</sub>O (85 : 10 : 5) et (C) : Acétone, H<sub>2</sub>O (1 :1)**

Après une simple comparaison entre les trois systèmes, il apparaît clair et évident que la tache mauve (violet), qui correspond aux anthocyanidine 3-glycosides est commune. D'après les résultats de ces tableaux (1-2-3), le système qui a donné la meilleure séparation est celui de (BAW : Butanol, Acide acétique, H<sub>2</sub>O (4 :1 :5) par ce qu'il a permis la séparation de 05 taches ce qui explique la solubilité différentielle des composés flavonoïque dans ce système.

II.3.2. Composés identifiés chez *Artemisia campestris*Tableau 8 : CCM de la fraction méthanolique *Artemisia campestris*Système solvant : BAW : Butanol, Acide acétique, H<sub>2</sub>O (4 :1 :5)

Adsorbant : Gel de silice

Couleur sous UV 365 (nm)	Rapport frontal (cm)	Type de flavonoïde possible
<b>Spot1</b> : bleu blanc fluorescent	0.56	Flavonols, flavonones, isoflavone, flavanones
<b>Spot2</b> : bleu blanc fluorescent	0.65	Flavonols, flavonones, isoflavone, flavanones
<b>Spot3</b> : pourpre sombre	0.69	Flavonols, flavonones, isoflavone, flavanones, chalcones
<b>Spot4</b> : bleu blanc fluorescent	0.77	Flavonols, flavonones, isoflavone, flavanones
<b>Spot5</b> : mauve	0.82	Anthocyanidine 3-glycosides
<b>Spot6</b> : rouge	0.86	Anthocyanidine 3-glycosides
<b>Spot7</b> : rouge	0.92	Anthocyanidine 3-glycosides

Sept spots ont été ségrégués des dépôts de l'extrait méthanolique par le système de solvant utilisé (BAW : Butanol, Acide acétique, H<sub>2</sub>O (4 :1 :5) appartenant aux différentes classes flavoniques, mais une grande partie appartiennent probablement surtout aux classes des flavonols, flavonones, isoflavone et flavanones.

Tableau 9 : CCM de la fraction méthanolique *Artemisia campestris*Système solvant : Chloroforme, Méthanol, H<sub>2</sub>O (85 : 10 : 5)

Adsorbant : Gel de silice

Couleur sous UV 365 (nm)	Rapport frontal (cm)	Type de flavonoïde possible
Spot1 : bleu	0.05	Acide phénol
Spot2 : mauve	0.11	Anthocyanidine 3-glycosides
Spot3 : bleu	0.14	Flavonols, Acide phénol
Spot4 : mauve	0.17	Anthocyanidine 3-glycosides
Spot5 : violet	0.55	Flavones
Spot6 : bleu	0.65	Acide phénol
Spot7 : mauve	0.77	Anthocyanidine 3-glycosides

Sept spots ont été ségrégués des dépôts de l'extrait méthanolique par le système de solvant utilisé (Chloroforme, Méthanol, H<sub>2</sub>O (85 : 10 : 5) appartenant aux classes flavoniques, mais une grande partie appartiennent probablement surtout aux classes des acides phénols, et anthocyanidine 3-glycosides.

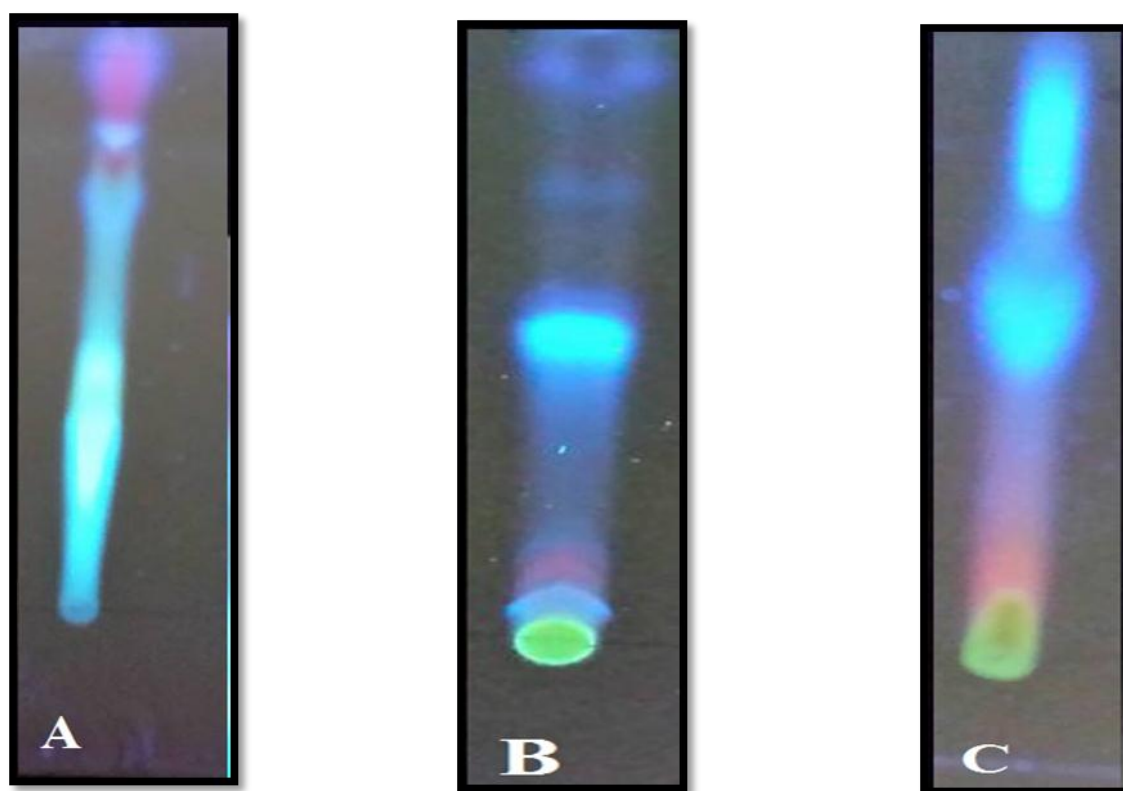
Tableau 10 : CCM de la fraction méthanolique *Artemisia campestris*Système solvant : Acétone, H<sub>2</sub>O (1 :1)

Adsorbant : Gel de silice

Couleur sous UV 365 (nm)	Rapport frontal (cm)	Type de flavonoïde possible
Spot1 : bleu	0.36	Acide phénol

Spot2 : rose	0.53	Anthocyanidine 3-glycosides
Spot3 : bleu	0.77	
Spot4 : jaune	0.84	Flavonols
Spot5 : bleu	0.98	Acide phénol

Cinq spots ont été ségrégués des dépôts de l'extrait méthanolique par le système de solvant utilisé (Acétone, H<sub>2</sub>O (1 :1)) appartenant aux différentes classes des anthocyanidine 3-glycosides et de acide phénol et des flavonols



**Figure 15 : Photos de chromatogramme résultant de l'analyse d'extrait méthanolique *Artemisia campestris* par chromatographie sur gel silice (révélation à UV), 365 nm par les systèmes solvants : (A) : BAW : Butanol, Acide acétique, H<sub>2</sub>O (4 :1 :5), (B) : Chloroforme, Méthanol, H<sub>2</sub>O (85 : 10 : 5) et (C): Acétone, H<sub>2</sub>O (1 :1)**

D'après les résultats des tableaux (4-5-6), le système qui a donné la meilleure séparation est celui de BAW : Butanol, Acide acétique, H<sub>2</sub>O (4 : 1 : 5) par ce qu'il a permis la séparation de 07 taches de différentes classes mieux que le deuxième système chloroforme, méthanol, H<sub>2</sub>O (85 : 10 : 5) celui qui sépare à son tour 07 taches moins intéressantes que le premier, ce qui explique la solubilité différentielle des composés flavonoïques dans ce système.

Après l'analyse des résultats obtenus, la CCM confirme la présence et la richesse des plantes en flavonoïdes déjà mis en évidence préalablement par des tests phytochimiques. La bonne séparation apparaît dans les systèmes polaires prouve que les flavonoïdes existants sont de nature beaucoup plus polaire.

### III. Résultats d'Activité anti-inflammatoire d'*Artemisia campestris* et *Marrubium vulgare*

Le test de l'activité anti-inflammatoire par la méthode d'inhibition de la dénaturation de la protéine bovine surum albumine (BSA) à différentes concentrations a été réalisé en triple, dont les absorbances sont mesurées à 416 nm.

D'après les résultats, illustrés dans les figures 16 et 17, obtenus pour les fractions méthanoliques des plantes *Artemisia campestris* et *Marrubium vulgare*, les pourcentages d'inhibition de la dénaturation sont de 98.33±15.2, 84.75±10.11 et 76.27± 8.88 respectivement des concentrations 500, 250 et 100 µg/ml pour *Marrubium vulgare* et de 94.92± 9.3, 90.68± 6.22 et 88.14± 4.32 respectivement avec les mêmes concentrations pour *Artemisia campestris*.

D'après les résultats, illustrés dans les figures 16 et 17, obtenus pour les fractions méthanoliques des plantes *Artemisia campestris* et *Marrubium vulgare*, les pourcentages d'inhibition de la dénaturation sont de 98.33±15.2, 84.75±10.11 et 76.27± 8.88 respectivement des concentrations 500, 250 et 100 µg/ml pour *Marrubium vulgare* et de 94.92± 9.3, 90.68± 6.22 et 88.14± 4.32 respectivement avec les mêmes concentrations pour *Artemisia campestris*.

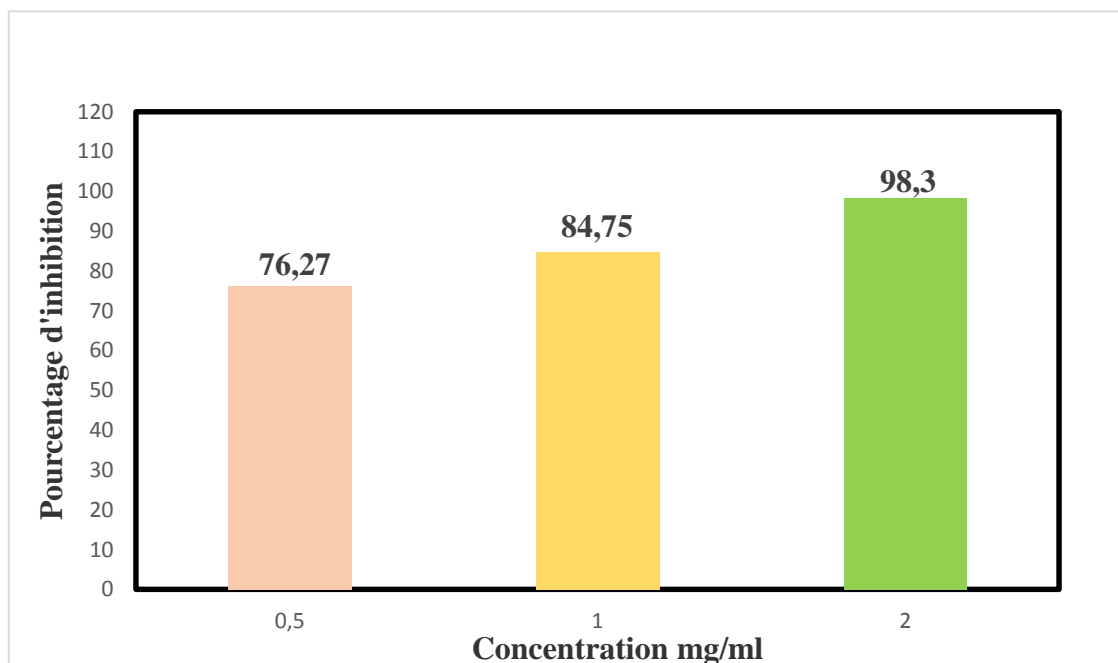


Figure 16 : Histogramme représente le pourcentage d'inhibition de dénaturation de la BSA de la plante *Marrubium vulgare*

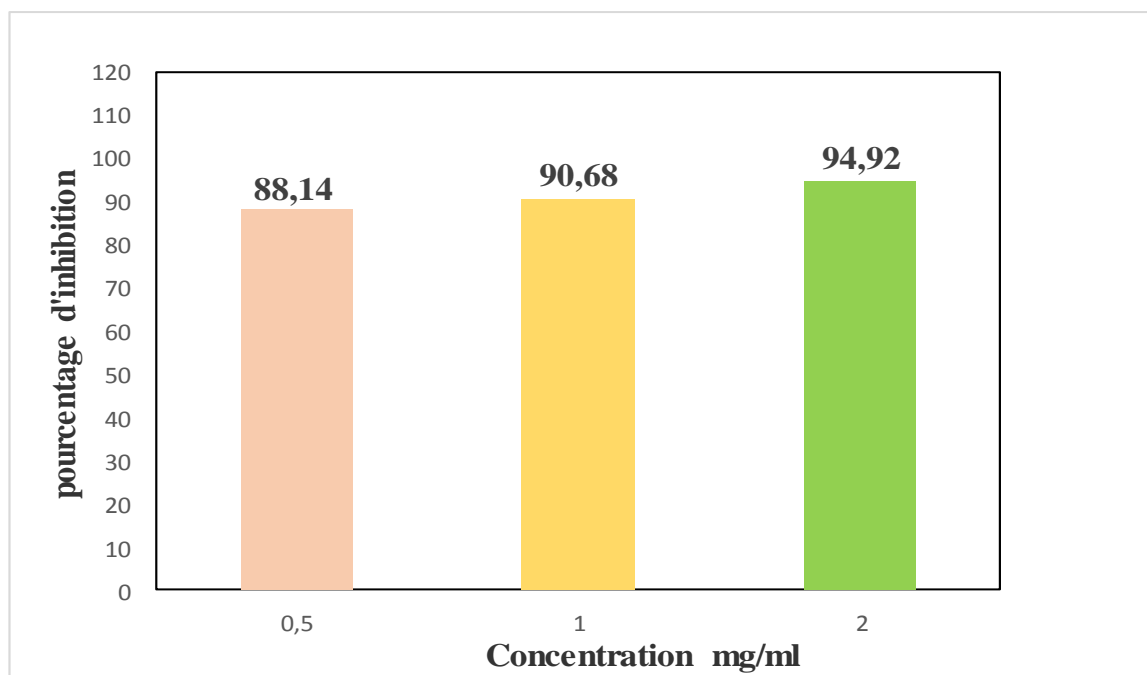


Figure 17 : Histogramme représente le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de la BSA de la plante *Artemisia campestris*

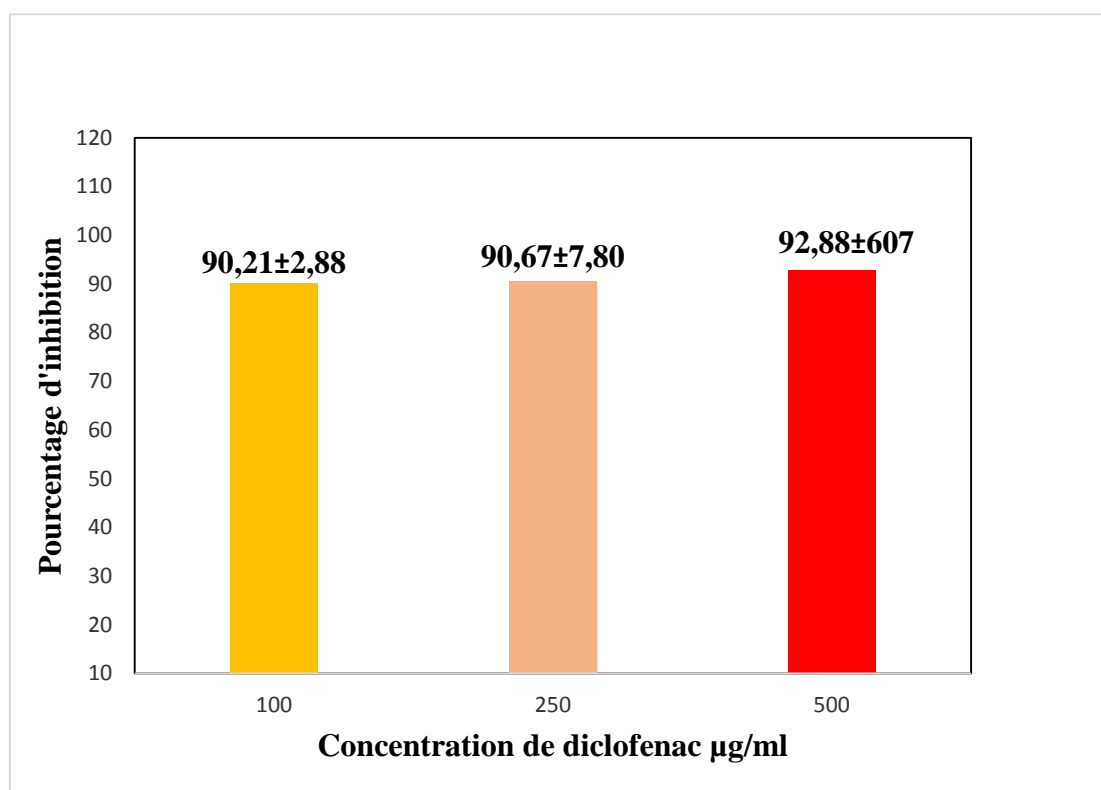


Figure 18 : Histogramme représente le pourcentage d'inhibition de la *Diclofenac sodium*

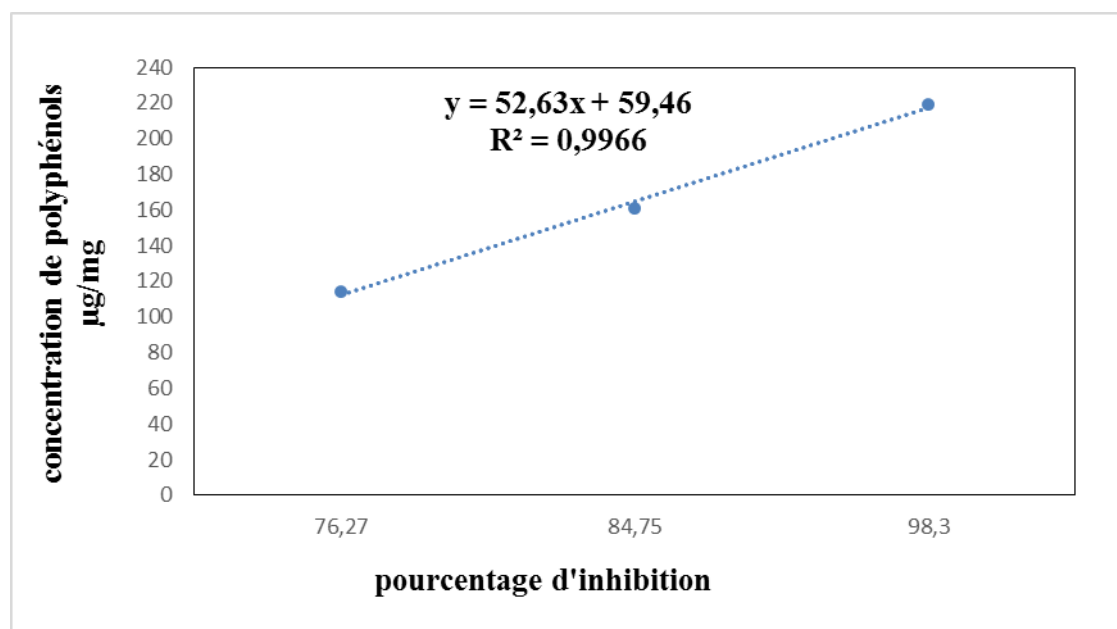
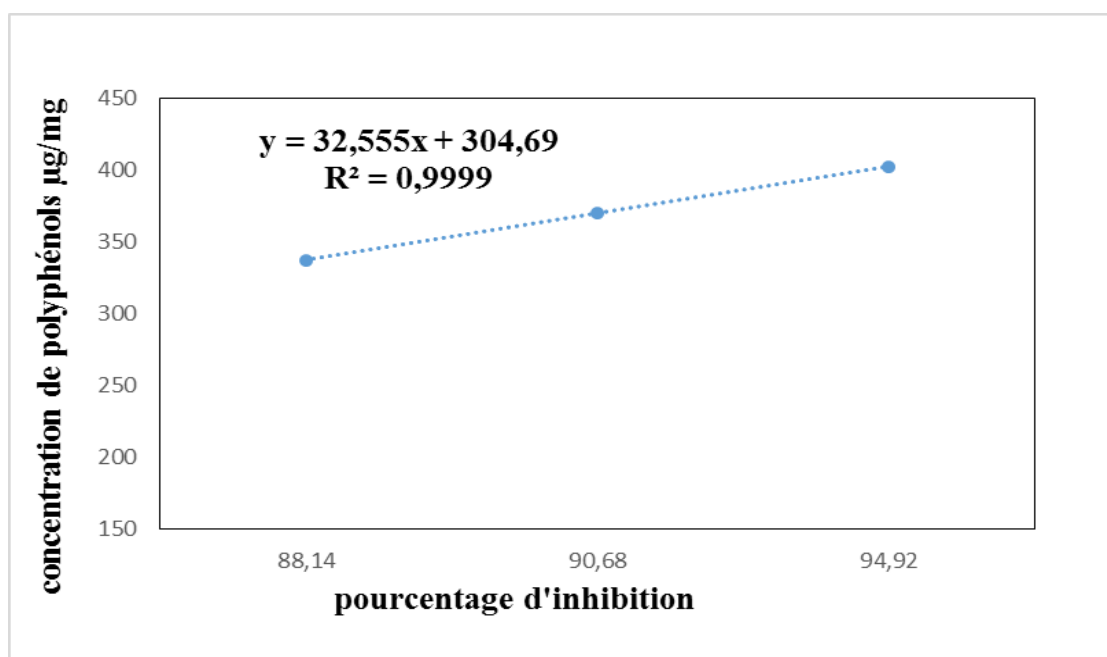


Figure19 : Corrélation entre la teneur en polyphénols le pourcentage d'inhibition de la plante de la plante *Marrubium vulgare*



**Figure 20 : Corrélation entre la teneur en polyphénols et le pourcentage d'inhibition de la plante *Artemisia campestris***

On constate que la fraction méthanolique d'*Artemisia campestris* était la plus efficace par rapport à l'extrait méthanolique du *Marrubium vulgare* et que l'effet inhibiteur de la dénaturation thermique de la BSA est dose-dépendant.

Les résultats obtenus pour ces extraits sont comparables à ceux obtenus pour le diclofenac sodium, un médicament anti-inflammatoire utilisé comme standard qui exerce des pourcentages d'inhibition de  $92.88 \pm 6.07$ ,  $90.67 \pm 7.80$  et  $90.21 \pm 2.88$  respectivement avec les concentrations  $500 \mu\text{g}/\text{ml}$ ,  $250 \mu\text{g}/\text{ml}$  et  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$  (**figure18**). La dénaturation des protéines est parmi les causes de l'inflammation (**125, 126**). La production d'auto-antigènes dans les maladies inflammatoire peut être due à la dénaturation des protéines in vivo. Le mécanisme possible de la dénaturation consiste à l'altération des liaisons électrostatique, hydrogène, hydrophobe et disulfure qui maintien la structure tridimensionnelle des protéines (**125, 127**). En effet, la présence de polyphénols flavoniques dans les plantes *Artemisia campestris* et *Marrubium vulgare* est en partie responsable de cet effet anti-inflammatoire (**128**). Ceci explique les résultats obtenus dans le présent travail qui indiquent l'existence d'une corrélation linéaire remarquable et significative entre le pouvoir anti-inflammatoire des extraits méthanolique d'*Artimisia campestris* et de *Marrubium vulgare* et leur teneur en composés phénoliques ( $r^2 = 0.9966$ ) et en flavonoïdes ( $r^2 = 0.9999$ ) (**figure19, 20**).





**CONCLUSION**

**ET**

**PERSPECTIVE**

### **Conclusion et perspective**

L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale ; une telle thérapie prévient l'apparition des effets secondaires observés lors de l'utilisation des médicaments de synthèse chimique.

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques, ce qui nous amène à la conservation de la biodiversité végétale locale. Dans le présent travail, on s'est intéressé aux effets anti-inflammatoires des extraits bruts de la partie aérienne du *Marrubium vulgare* et *Artemisia campestris*

Le screening phytochimique réalisé, a révélé la richesse de nos plantes en métabolites secondaires, ou nous avons constaté la présence des flavonoïdes, des saponines, des tanins, des alcaloïdes des composés réducteurs et les coumarines pour *A. campestris*.

L'analyse quantitative de l'extrait hydrométhanolique, est représentée par le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes révélant une concentration de 3.972 µg/mg et 3,046 µg/mg en flavonoïdes pour l'*Artemisia campestris* et *Marrubium vulgare* respectivement, et une concentration de 405.606 µg /mg et 208,102 µg/mg pour les polyphénols totaux.

L'effet anti-inflammatoire des extraits de *Marrubium vulgare* et *Artemisia campestris* ont été évalués *in vitro* ; les résultats obtenus montrent que les extraits ont une activité anti-inflammatoire remarquable dose-dépendante. Cependant, cette activité est différente et dépendante aussi de la teneur en polyphénols et celle en flavonoïdes.

Ce pouvoir anti-inflammatoire confère une motivation pour les chercheurs d'avancer plus loin dans leurs recherches sur même intérêt et améliorer alors les impressions positives dans le traitement des inflammations avec moins d'effets secondaires.

Notre résultat préliminaire montre que les deux plantes témoignent d'activités anti-inflammatoires *in vitro*. D'autres études approfondies sont nécessaires et se résument dans les points suivants :

- Partant du fait qu'une substance pouvant être très active *in vitro*, peut perdre cette activité une fois pénétrée dans le corps.
- Obtenir une vue globale sur l'activité anti-inflammatoire des extraits testés.

## *Conclusion et perspective*

---

- Isoler, purifier et identifier les principes actifs des extraits étudiés en utilisant des méthodes plus précises telles que High Performance Liquid Chromatography (HPLC), Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) et tester leurs activités biologiques.
- Évaluation d'autres effets biologiques in vitro comme in vivo des extraits bruts et de leurs composés actifs en utilisant différentes techniques.

**Références bibliographiques**

- [1] **BOUHADJERAK**, Thèse contribution à l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales sahariennes *Oudneya africana* R.Br. Et *Aristida pungens* L. UN- Abou Bekr Belkaid. **2005**.
- [2] **JOA O, VASCONCELOS, ARTURM and JOSEA**. Chromones and flavones from *Artemisia campestris* Subsp. *Maritima*. *Phytochemistry*. **1998**;49 (5) : 1421-1424.
- [3] **AKROUT A, CHEMLI R, CHRIEF and HAMMAMI M**. Analysis of the essential oil of *Artemisia campestris* L. *J. FlavourFragr.* **2001**;16: 337–339.
- [4] **Memmi A, Sansa G, Rjeibi I, El ayeb M, Srairi-Abid N, Bellasfer Z and Fekhih A**. Use of medicinal plants against *scorpionic* and *ophidian* venoms. *Arch. Inst. Pasteur. Tunis.* **2007** ;84 (1-4): 49-55.
- [5] **SEFI M, FETOUI H, MAKNIM and NAJIBA ZEGHAL N**. Mitigating effects of antioxidant properties of *Artemisia campestris* leaf extract on hyperlipidemia, advanced glycation end products and oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. *J. Food. Chem. Toxicol.* **2010**;48: 1986–1993.
- [6] **Akrouit A, Gonzalez L, El Jani Hand Madrid P**. Antioxidant and antitumor activities of *Artemisia campestris* and *Thymelaeahirsuta* from southern of Tunisia. *J. Food. Chem. Tox.* **2011**;49: 342–347.
- [7] **FREDERICH M, JANVIER**. *Espace Duesberg*. **2014**.
- [8] **BRUNETON J**. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. En 3<sup>ème</sup> Ed. Lavoisier, éditeur : Techniques et Documentation, Paris. **1999** ; 199–388.
- [9] **KANSOLE M**. Etude Ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkinafaso: cas de *leucas Martinicensis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundia Opposita*. **2009**.
- [10] **CHEVALTIER L, CROUZET-SEGANAC**. Les médicaments à base des plantes, 2<sup>ème</sup> édition. **2004** ;25-30.
- [11] **BENKIKI N**. Etudes phytochimique des plantes médicinales Algériennes, *ruta montana*, *matricaria pubescens* et *hypericum perforatum*. **2006** ; 7-8.
- [12] **TRIKI A**. Effets biologique de polyphénols extraits des plantes médicinales (*Ranunculus repens* L et *Thymus* responsable de certaines pathologie, thèse agister, université Mentouri Constantine. **2002** ; 33-53.

- [13] **LUTGE U, KLUGE M, BAUER G.** Botanique 3ème Ed : Technique et documentation. Lavoisier .Paris. **2002** ; 211.
- [14] **ABDERRAZAK M, JOËL R.** La botanique de A à Z. Ed. Dunod. Paris. **2007** ; 177.
- [15] **LUGASI A, HOVARI J, SAGIK and BIRO L.** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases.J.Acta.biologica. Szegediensis. (Cited in Mohammedi Z, 2005.**2003**; 47 (14):119-125.
- [16] **TAPIERO H, TEW K, NGUYEN B and MATHÉ G.** Polyphenol do they play a role in the prevention, of the human pathologies ? Biomed.pharmacother (cited in DjemaiZoueglache S, 2008).**2002**;56: 200-207.
- [17] **BOIZOT N, CHARPENTIER J.** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. Le cahier des techniques de l'Inra. (Cited in DjemaiZoueglache S, 2008).**2006**; 79-82.
- [18] **BRUNETON.** Pharmacognosie, phytochimie Plantes médicinales, technique et Documentation, 2ème édition. Lavoisier. Paris. **1993** ; 266- 275.
- [19] **CROZIER A, CLIFFORD M, ASHIHARA H.** Plant SecondaryMétabolites : Occurrence, Structure and Role in the HumanDiet. EdtBlackwellPublishing Ltd. Thèse Présentée Par Mme Belyagoubi Née Benhammou Nabila. **2006**.
- [20] **BAHORUN T.** Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source D'approvisionnement potentiel. Food and agricultural resarch council, Réduit, Mauritius. **1997** ; 83-94.
- [21] **BABAR ALI M, HAHN E,PAEK K.** Methyl Jasmonate and Salicylic Acid Induced Oxidative Stress and Accumulation of Phenolics in Panax ginseng Bioreactor Root Suspension Cultures. Molécules.**2007**; 607-621.
- [22] **FALLEH H, KSOURI R, CHAIEB K, KARRAY-BOURAOUI N,TRABELSI N, BOULAABA M and ABDELLY C.** Phenolic composition of CynaracardunculusL. Organs and their biological activities .C. R. Biologies. **2008** ; **331:372-379**.
- [23] **GOMEZ A, GOMEZ M, ARRAEZ D, SEGURA A and FERNANDEZ A.** Advances in the analysis of phenolic compounds in Products derived from bees. J Pharmaceutical and Bio medical Analysis. **2006** ; 41: 1220-1234.

- [24] **MARTIN S, ANDRIANTSITOHAINA R.** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*. **2002** ; 51: 304-315.
- [25] **SEYOUM A, ASRES K, EL-FIKY F.** Structure– radical scavenging. **2006**.
- [26] **GHESTEM A, SEGUIN E, PARIS Mand ORECCHIONI A.** Le préparateur en pharmacie dossier 2<sup>ème</sup> Ed TEC&DOC. Paris. (Cited in Djemai Zoueglache S, 2008). **2001**; 275.
- [27] **Harborne J, Williams C.** Advances in flavonoid research since 1992. **2000**.
- [28] **SKERGET M, KOTNIK P, HADOLIN M, HRAS A, SIMONIC M and KNEZ Z.** Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food chem.* **2005**; 89: 191-198.
- [29] **DACOSTA Y.** Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris. **2003** ; 317.
- [30] **CHEBROUK F.** Caractérisations analytiques de quelques composés polyphénoliques et terpéniques issus de la plante *Marrubium deserti* de la région de Ghardaïa. Magister. Université Kasdi Merbah Ouargla. **2009**.
- [31] **EFFENDI L, YAJUN Y.** Functional expression of a P450 flavonoid hydroxylase for the biosynthesis of plant-specific hydroxylated flavonols in *Escherichia coli*. *Metab. Eng.* **2008** ; 8: 172-181.
- [32] **MEDIC–SARIC M, JASPRICA I, SMOLCIC BUBALOA and MOMAR A.** Optimization of chromatographic conditions in Thin Layer Chromatography of Flavonoids and Phenolic Acids. *Croatica Chemica Acta* (cited in Mohammedi Z, 2005). **2003**; 77(1-2):361-366.
- [33] **GROTEWOLD E.** The genetics and biochemistry of floral pigments. *Annu Rev Plant Biol. Review. PubMed PMID:166697*. **2006**; 57:761-80.
- [34] **GRACE K, PEREIRA, PAULO M and DONATE and SERGIO E and GALEMBECK.** Electronic structure of hydroxylated derivatives of the flavylum cation, *Journal of Molecular Structure (Theochem)*. **1996**.
- [35] **LUIGIA LONGO, GIUSEPPE VASAPOLLO.** Extraction and identification of anthocyanins from *Smilax aspera* L. berries, *Food Chemistry*. **2006**; 226–231.
- [36] **JAIME A, YANEZ, Preston K.** Andrews, Neal M. Davies, Methods of analysis and separation of chiral flavonoids, *Journal of Chromatography B*. **2007** ; 848:159–181.

- [37] **CROZIER, EINAR JENSEN, MICHAEL E and LEAN J and MORAG S and MCDONALD.** Quantitative analysis of flavonoids by reversed-phase highperformance liquid chromatography, *Journal of Chromatography A*. **1997**; 761: 315-321.
- [38] **STOBIECKI M, SKIRYCZA, KERHOAS L and KACHLICKI P and MUTH D and EINHORN J and MUELLER B.**Roeber, Profiling of phenolic glycosidic conjugates in leaves of *Arabidopsis thaliana* using LC/MS, *Metabolomics*.**2006**; 197-219.
- [39] **PARIS M, HURABIELLE.** Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. Ed Masson. Paris. **1981** ; 102-103-104-107.
- [40] **GHESTEM A, SEGUIN E, PARIS M and ORECCHIONI A.**Le préparateur en pharmacie dossier 2ème Ed TEC&DOC. Paris. (Cited in Djemai Zoueglache S, 2008).**2001**; 275.
- [41] **KHANBABA K, REETR.** Tannins : Classification and Defenition. *Journal of Royal Society of Chemistry*. **2001**; 18:641-649.
- [42] **XIE D, DIXON R.**Proanthocyanidins biosynthesis-still more question than answers .*Photochemistry*. **2005** ;66:2127-2144.
- [43] **VIVAS N, Nonier M, Pianet I and Vivas de Gaulejac N and Fouquet E.** Proanthocyanidins from *Quercus petr*. **2006**.
- [44] **KANSOLE M.** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso : cas de *Leucosmartinicansis*(Jacquin). **2009**.
- [45] **WICHTL M, ANTON R.** Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Édition LAVOISIR, Paris. **2009** ; 38- 41.
- [46] **HOPKINS W.** Physiologie végétale. 2ème édition américaine, de Boeck et Lancier S A, Paris.**2003** ; 514.
- [47] **GUIGNARD J.** Abrégé botanique, 9ème édition. Édition Masson, Paris.**1994** ; 204.
- [48] **DELILLE L.** Les plantes médicinales d'Algérie. Édition BERTI. Alger, (Djemai Zoueglache S, 2008).**2007** ; 122.
- [49] **JUDD S, CAMPBELL CHRISTOPHER S, KELLOGG A and STEVENS P.** Botanique Systématique, une perspective phylogénétique. Edition De Boeck Université.**2002**; 84 -87, 396-399.
- [50] **ISERIN P.** Encyclopédie des plantes médicinales, Larousse VUEF, 2 ème Ed., Paris.**2001** ; 14-275.
- [51] **KIRRMAN J, CANTACUZENE P, DUHAMEL.** Chimie organique fonctions complexes, tome 3, éd. Librairie Colin. Paris.**1975** ; 197- 199.

- [52] VALLET. Contribution à l'étude de la biosynthèse des alcaloïdes tropaniques chez le *Datura innoxia* Mill, transformation par agrobacteriumtumefaciens, Agrobacteriumrhizogenes et culture de chevelus lacunaires, mémoire D.E.A. Université de Picardie Jules Vienne. **1996** ;1 – 32.
- [53] Mucciarelli M, Maffei M. *Artemisia*: Introduction to the Genus Vol. 18 Ed Colin W.W. in Taylor & Francis. Ed. London and New York. **2002**; 10-16.
- [54] KUNDAN S, ANUPAM S. The Genus *Artemisia*: A Comprehensive Review. J. Pharm. Biol. **2010**; 1-9.
- [55] Mirjalili M, Tabatabaei S, Hadian J and Nejad Sand Sonboli A. Phenological Variation of the essential oil of *Artemisia scoparia* from Iran. *J. Essent. Oil Res.* **2007**; **19**: 326–329.
- [56] DAVID A, HERVE M. Flore de la Suisse. Ed Du Griffon Neuchâtel Suisse. **1994** ;428.
- [57] QUEZEL, SANTA. Nouvelle flore de l'Algérie Ed : éditions du centre nationale de la recherche scientifique Paris. **1962** ; 990.
- [58] Ozenda P. Flore du Sahara Ed : éditions du centre nationale de la recherche scientifique Paris. **1983** ; 441.
- [59] CARATINI R. Bordas encyclopedie. Ed Bodas Belgique. **1971**; 23: 137-195.
- [60] VERNIN G, MERAD O, VERNIN G and ZAMKOTSIAN Rand PARKANYI C. GC-MS analysis of *Artemisia herba-alba* Asso essential oils from Algeria. Dev. Food Sci. **1995**; 37: 147- 205.
- [61] JOA O, VASCONCELOS, ARTUR M and JOSE A. Chromones and flavones from *Artemisia campestris* Subsp Maritima. Phytochemistry. **1998**; 49 (5): 1421-1424.
- [62] JUTEAU F, MASOTTI V, BESSIERE J and VIANO J. Compositional characteristics of the essential oil of *Artemisia campestris* var. glutinosa. Bioch. Syst. Ecol. **2002** ;( 30): 1065-1070.
- [63] JERKOVIC J, MASTELIC M, MILOS and JUTEAU F and MASOTTI V and VIANO J. Chemical variability of *Artemisia vulgaris* L. essential oils originated from the Mediterranean area of France and Croatia Flavour. *Fragr. J.* **2003**; **(18)**: 436–440.
- [64] VALANT-VETSCHERA K, FISCHER R, WOLLENWEBER E. Exudate flavonoids in species of *Artemisia* (Asteraceae-Anthemideae): new results and chemosystematic interpretation. *Biochem. Syst. Ecol.* **2003**; **31**: 487-498.

- [65] **NAILI M, ALGHAZEER O, SALEH N and AL-NAJJAR A.** Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (Astraceae) and *Ziziphus lotus* (Rhamnaceae). *Arab. J. Chem.* **2003.2010;3**: 79–84.
- [66] **DOB T, DAHMANE D, BERRAMDANET and CHELGHOUM C.** Chemical Composition of the Essential Oil of *Artemisia campestris* L. from Algeria. *J. Pharm. Bio.* **2005v;43(6)**: 512–514.
- [67] **SEFI M, FETOUI H, MAKNIM and NAJIBA N.** Mitigating effects of antioxidant properties of *Artemisia campestris* leaf extract on hyperlipidemia, advanced glycation end products and oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. *J. Food.Chem.Toxicol.* **2010**; 48: 1986–1993.
- [68] **BEN A, HARZALLAH-SKHIRI F, AOUNI M.** Investigation of some medicinal plants from Tunisia for antimicrobial activities. *J. Pharmaco. Bio.* **2007;45 (5)**:421–428.
- [69] **Saoudi M, Allagui M, Abdelmouleh A and Jamoussi K and El Feki A.** Protective effects of aqueous extract of *Artemisia campestris* against pufferfish *Lagocephalus lagocephalus* extract-induced oxidative damage in rats. *Exp.Tox.Pathol.* **2010 ;62**:601–605.
- [70] **BOUDJELAL A, HENCHIRI C, SIRACUSA L and SARI M and RUBERTO G.** Compositional analysis and in vivo antidiabetic Activity of Wild Algerian *Marrubium vulgare* L. infusion. *Fitoterapia.* **2012; 83**: 286–292.
- [71] **RIGANO D, FORMISANO C, BASILE A, LAVITOLA A, SENATORE F, ROSSELLI S and BRUNO M.** Antibacterial activity of flavonoids and phenylpropanoids from *Marrubium globosum ssp. Libanoticum*, *J. Phytother. Res*, Vol. **2006 ; 21** :395-397.
- [72] **MEYRE-SILVA C, YUNES R, SCHLEMPER V, CAMPOS-BUZZI F and CECHINEL V.** Analgesic potential of marrubiin derivatives, a bioactive diterpene present in *Marrubium vulgare* (Lamiaceae), *IL Farmaco*, Vol. **2005 ;60 (4)**:321-326.
- [73] **BONNIER G.** La grande Flore française Ed. Bllin ; Complète La Végétation de la France, Suisse et Belgique. **1990**; 09 : 25-26.
- [74] **AOUADHI S.** Mémoire Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle étude de 57 plantes recommandées par les herboristes. **2010**.

- [75] **BELLAKHDAR J.** Médecine Arabe Ancienne et Savoirs Populaires, La pharmacopée marocaine traditionnelle. Ed. Le FennecetIbioPress, impression : Dunes France. **1997** ; 341.
- [76] **BOUKEF M.** Médecine Traditionnelle et Pharmacopée Les plantes de la médecine traditionnelle tunisienne, Agence de Coopération Culturelle et Technique, Paris, France. **1989** ; **163-164**.
- [77] **BABA AISSA F.** Encyclopédie des plantes utiles, Flore d'Algérie, Ed. Librairie moderne- Ruiba. **1999** ;46-47-194-195-231.
- [78] **ÇITOĞLU G, AKSIT F.** Occurrence of marrubiin and ladanein in *Marrubiumtrachyticum* Boiss. From Turkey. *BiochemSystEcol.* **2002**; 30:885–886.
- [79] **NAWWAR M, EL-MOUSALLAMY A, BARAKAT H and BUDDRUS J and LINSCHIEDM.** Flavonoid lactates from leaves of *Marrubium vulgare*. *Phytochemistry.* **1989**; 28: 3201–3206.
- [80] **PAPOUTIS Z, KASSI E, MITAKOU S and ALIGIANNIS N and TSIAPARA and CHROUSOS G.** Acteoside and martynoside exhibit estrogenic/antiestrogenic properties. *J. Steroid BiochemMolBiol.* **2006** ; **98**: 63–71.
- [81] **WICHTL M, ANTON R.** Plantes thérapeutiques : Traditions, Pratique officinale, Sciences et Thérapeutique. 2e Ed : TEC & DOC. Paris. **2003** ; 1 -364.
- [82] **RAYNAUD J.** Prescription et conseil en phytothérapie. Ed. Tec & Doc. **2007** ;215.
- [83] **DEJESUS R, CECHINEL-FILHO V, OLIVEIRA A and SCHLEMPER V.** Analysis of the antinociceptive properties of marrubiin isolated from *Marrubium vulgare*, *Phytomedicine.*, Vol. **2000**; **7**: 111-115.
- [84] **EL BARDAI S, LYOUSSI B, WIBO M and MOREL N.** Comparative Study of the antihypertensive activity of *Marrubiumvulgare* and of the dihydropyridinecalcium antagonist amlodipine in spontaneously hypertensive rat, *Clin. Exp. Hypertens.*, Vol. **2004**; **26** (6): 465-474.
- [85] **Rigano D, Aviello G, Bruno M and Formisano C and Rosselli S and Capasso R and Senatore F and Izzo A and Borrelli F.** Antispasmodic Effects and Structure–Activity Relationships of Labdane Diterpenoids from *Marrubium globosum* ssp. *Libanoticum*, *J. Nat. Prod.*, Vol. **2009** ; **72** :1477-1481.

- [86] **Stulzer H, Tagliari M, Zampirolo J and Cechinel-filho V and Schlemper V.** 2006. Antioedematogenic effect of marrubiin obtained from *Marrubium vulgare*, *J. Ethnopharmacol.*, Vol. **2009** ; 108 (3) : 379-384.
- [87] **PAVELA R.** Insecticidal activity of certain medicinal plants, *Fitoterapia.*, Vol. 75 : 745-749. *Phytochemistry*. 55: 481-504.
- [88] **SAHPAZ S, GARBACKI N, TITS M and BAILLEUL F.** Isolation and pharmacological activity of phenylpropanoid esters from *Marrubium vulgare*, *J. Ethnopharmacol.*, Vol. **2002** ; 79 (3): 389-392.
- [89] **Quave C, Plano L, Pantuso T and Bennett B .** Effects of extracts from Italian medicinal plants on planktonic growth, biofilm formation and adherence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, *J. Ethnopharmacol.*, Vol. **2008** ; 118(3) : 418-428.
- [90] **WEEL K, VENS KUTONIS P, PUKALSKAS A, GRUZDIENE D and LINSSEN J.** Antioxidant activity of horehound (*Marrubium vulgare*) grown in Lithuania, *J. Fett/Lipid.*, Vol. **1999** ; 101 (10): 395-400.
- [91] **EDZIRI H, AMMAR S, GROH P and MAHJOUR M and MASTOURI M and GUTMANN L and ZINE M and AOUNI M.** Antimicrobial and cytotoxic activity of *Marrubium alysson* and *Retama retama* in Tunisia, *Pak. J. Biol. Sci.*, Vol. **2007**; 10: 1759-1762.
- [92] **ALKHATIB R, JOHA S, CHEOK M, ROUMY V, IDZIOREK T, PREUDHOMME C, QUESNEL B, SAHPAZ S, BAILLEUL F and HENNEBELLE T .** Activity of Ladanein on Leukemia Cell Lines and Its Occurrence in *Marrubium vulgare*, *Planta Medica.*, Vol. **2010**; 76 (1): 86-87.
- [93] **Valnet J.** *Phytothérapie, traitement des maladies par les plantes*, Ed. Maloine S. A. Paris. **1983**.
- [94] **LOPEZ S, BATISDA J, VILADOMAT F and CODINA C.** Acetylcholine inhibitory activity of some Amaranthaceae alkaloids and anarcissus extracts. *Life Sciences*. **2002**; 71: 251-2529.
- [95] **ROUSSELET M, VIGNAUD J, HOFMAN P et CHATELET F.** Inflammation et pathologie inflammatoire . Mai . **2005**.
- [96] **Touitou Y.** *Pharmacologie Diplôme d'état d'infirmier, Professionnels*. 8<sup>ème</sup> édition, Masson M, Paris. **1997** ; 388.

## *Références bibliographiques*

---

- [97] **EDITORIAL** Le blocage simultané des cyclo-oxygénases et de la 5-lipoxygénase une nouvelle voie pour traiter l'inflammation ? *Revue du Rhumatisme* .**2005** ; 72 : 379–382.
- [98] **CHARLES N, SERHAN, PETER A and WARD G.** *Fundamentals of Inflammation*. Cambridge University Press.**2010**;2-3.
- [99] **NATHAN C.** Points of control in inflammation. *Nature*.**2002**; 420:846-852.
- [100] **WEILL B, BATTEUX F, DHAINAUT J** .Immun pathologie et réactions inflammatoires. Eds, De Boeck Université (Paris). **2003** ; 12-23.
- [101] **BARNES J.** Anti-inflammatory actions of glucocorticoids : molecular mechanisms. *Clinical Science*.**1998** ; 94 : 557-572.
- [102] **NICOLAS J, FLORENCE C, JEAN T.** Immunologie clinique et allergologie. Aspirine et AINS : intolérance et allergie. John LibbeyEurotext .**2001** ;55-58.
- [103] **BLAIN, JOUZEAU N, JEANDEL** .Les anti-inflammatoires non stéroïdiens inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase 2. Intérêt et perspectives. *Rev Méd Interne* .**2010**; 21 : 978-88.
- [104] **FRANÇOIS N, FALLERGOLOGIE A, AINS** Intolérance et allergie. John. libbeyEurotext. **2001** ; 55-58.
- [105] **RATHER L.** «Disturbance of function (functiolaesa : the legendary fifth cardinal sing of inflammation, added by Galen to the four cardinal sing of Celsus ». *Bull N Y Acad Med* « Inflammation in atherosclerosis. » (Dec 19-26, 2002). Libby, P *Nature* 420 (6917) .**1971**; 47 (3):50(27).
- [106] **COTRAN, KUMAR, COLLINS.** *Robbins Pathologic Basis of Disease Philadelphia* : W.B Saunders Company.**1998**.
- [107] **GUTTERIDGE J.** Free radical in disease processes : a complication of and Consequence. *Free Radic. Res. Commun*. **1993**; 19: 141-158.
- [108] **WERB L.** « Inflammation and cancer ». *Nature* 420 (6917). **2002**.
- [109] **GUNN L, DING C, LIU M and MA Y and QI C and CAI Y and HU X and AGGARWAL D and ZHANG H and YAN J.** « Opposing roles for complement C5a in

tumor progression and the tumor microenvironment. ».Journal of immunology (Baltimore, Md.1950) .2012; (6): 189.

[110] **COPLAND J, SHEFFIELD M, ZIVANOVIE K, GENTRY S, LAMPROU G, STATHOPOULOU T, ZOUMPOURLIS V,URBAN R and VLAHOPOULOS S.** « Sexstroid receptors in skeletal differentiation and epithelial neoplasi : is tissue-specific intervention possible ? ». BioEssays: news and reviews in molecular, cellular and developmental biology.2009; 31 (6): 629-41.

[111] **BOUBELLI S.** Identification et mise en évidence des formations hydrogéologiques de la wilaya de Khenchela (Nord-Est algérien). Analyse et synthèse de données. Mémoire de Magister, Université Badji Mokhtar-Annaba, Tadeg H, Mohammed A, Asres K and Gebre-Mariam T. 2009 ; 103-105.

[112] **Karumi Y, Onyeyili P, Ogugbuaja V.** Identification of active principles of M.balsamina (Balsam Apple) leaf extract. JMed Sci. 2004;4(3):179-182.

[113] **EDEAGA H, OKWU D, MBAEBIE B.** Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. African journal of biotechnology. 2005;4(7):685-688.

[114] **BEMAHDHI A.** Identification des Principes actifs des extraits des plantes médicinales.Phytochimie. 2001 ; 6 :11-27.

[115] **Wagner H, Bladt S.** Plant druganalysis : athin layer chromatography. Atlas, Second edit.Springer.1996 ; 384.

[116] **Ciulei I.** Praticalmanuals on the industrialutilization of chemical and aromatic plants. Methodology for analysis of vegetabledrugs Ed. Ministry of chemicalindustry, Bucharest. 1982 ; 67.

[117]**Mohammedi Z.** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de magister. Tlemcen. (2006).

[119] **WONG C, LIHB, CHENGK and CHEN F.** Systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay.2006;12:120-130.

[120] **VuorelaS, KreanderK, KaronenM,NieminenR , HamalainenM, Galkin A, Laitinen L, SalminenJ, MoilanenE, PihlajaK ,Vuorela H,VuorelaP andHeinonen M.**

## *Références bibliographiques*

---

Preclinical evaluation of rapeseed, raspberry and pine bark phenolics for health related effects. *J. Agric. Food Chem.* **2005** ; 53: 5922-5931.

[121] **Djeridane A, Yous M, Nadjemi B and Boutassouna D and Stocker P and Vidal N.** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem.* **2006** ; 97 : 654-660.

[122] **CHINNA M, ESWARAI AH A.** Dutta I Anurag Pharmacy College, Kodad, Telengana State, India 2 Assam Down Town University, Guwahti, India. *Am-Euras. J. Agric. & Environ. Sci.* **2015**; 15 (1): 115-121.

[123] **Su Y, Ho C, Wang E.** Analysis of leaf essential oils from the indigenous five conifers of Taiwan, *Flavour Fragr. J.* **2006** ; 21 : (3) 447-452.

[119] **Yrjonen T.** Extraction and Planar Chromatographic Separation Technique in the Analysis of Natural Product, Conference Room 513 at Viikki Infocentre (Viikinkaari 11), Faculty of Pharmacy of the University of Helsinki. **2004** ; 64.

[124] **Mohammedi Z.** Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie. Thèse de Doctorat. Univ. Tlemcen. **2013** ; 22-25.

[125] **Bagad Y, Umakar A, Tatia A and Surana S.** Investigation of anti inflammatory and analgesic activity of *Bridelia airishawii* (Euphorbiaceae). *J pharm Res.* **2011** ; 4(5) : 1326-1332.

[126] **Mizushima Y, Kobayashi M.** Interaction of anti inflammatory drugs with serum proteins, especially with same biologically active proteins. *Journal of Pharmacy and Pharmacology.* **1968** ; 20 (1) : 169-173.

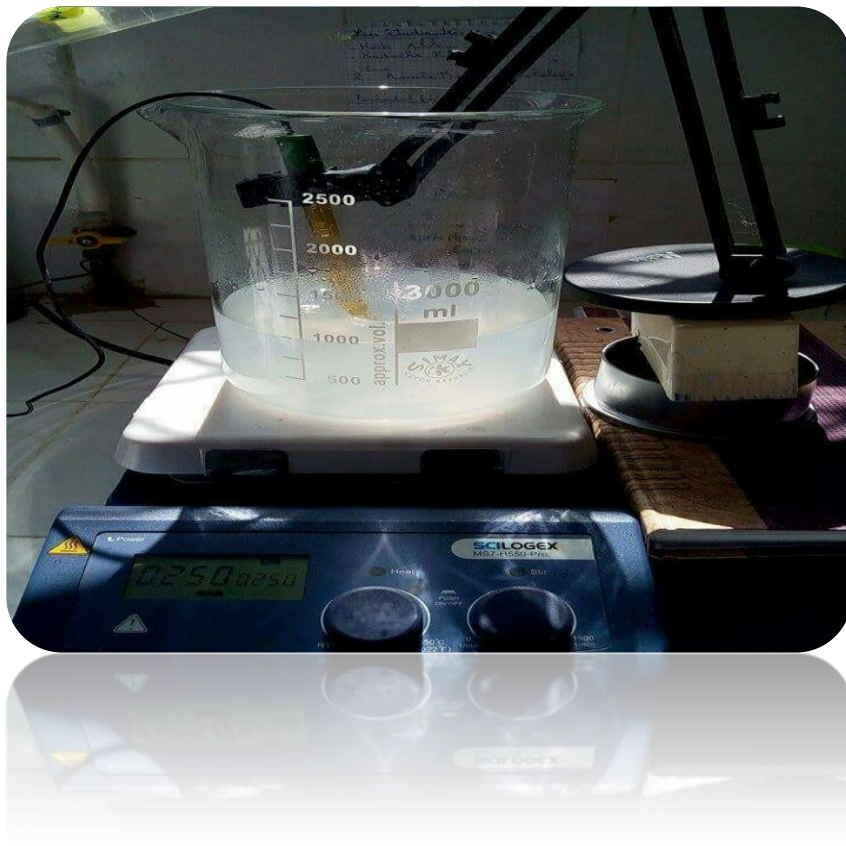
[127] **Sangeetha M, Kousalya K, Lavanya R and Cherukuru S and Chamundeeswari D and Uma Maheswara R.** In-vitro Anti-inflammatory and Anti-arthritic Activity of Leaves of *Cleodendron Inerme*. *RJPBCS Volume.* **2011** ; 2 (1) : 822-827.

[128] **Luigia L, Scardino A, Vasapollo G.** Identification and quantification of anthocyanins in the berries of *Pistacia lentiscus* L., *Phillyrealatifolia* L. and *Rubiaperegrina* L. *Innovative Food Science And Emerging Technologies.* **2007** ; 8(3) : 360- 364.

# Annexe

## Préparations tampon phosphate :

- On ajoute 9.46 g de sodium hydrogenophosphate ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ) dans 1L d'eau distillée.
- Prépare 9.06g de potassium phosphate mono potassique ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) dans 1L d'eau distillée.
- dans un grand Becher (1 L) y verser environ 1L de la solution de potassium phosphate,
- on Mettre le Becher sur un agitateur magnétique et Utiliser un Ph mètre précis. (Le Ph doit être proche de 4.5),
- -Ajouter ne goutte à goutte la solution de sodium hydrogenophosphate jusqu'à l'obtention du Ph désiré (6.3).





<p>Noms et prénoms : BOUZIDI HALIMA</p> <p>OUNISSI FADIA</p>	<p>Date de soutenance :</p> <p>24/05/2016</p>
<p><b>Master Académique en : Biochimie Appliquée</b></p>	
<p><b>Titre</b></p> <p><b><i>Etude de l'activité anti-inflammatoire de deux plantes médicinales Artemisia campestris et Marrubium vulgare</i></b></p>	
<p><b>Résumé</b></p> <p>L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique (E. Met) de la partie aérienne de deux espèces de deux espèces <i>Artemisia campestris</i> et <i>Marrubium vulgare</i>, se sont des plantes médicinales de pharmacopée traditionnelle de l'Algérie. Dans le premier temps, la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes de l'extrait méthanolique montre une corrélation (<math>R^2=0.99</math>) et une richesse avec des valeurs de <math>(405.606\pm 31.179 \mu\text{g} /\text{mg d'extract})</math>, <math>(3.972\pm 0.927 \mu\text{g} /\text{mg d'extract})</math> respectivement chez l'espèce <i>Artemisia campestris</i> et <math>(208.102\pm 20.299 \mu\text{g} /\text{mg d'extract})</math>, <math>(3.046\pm 0.457 \mu\text{g} /\text{mg d'extract})</math> respectivement chez <i>Marrubium vulgare</i>. L'analyse qualitative des deux extraits révéla la présence des tanins, les saponosides, les flavonoïdes, les alcaloïdes sels, les coumarines et en fin les composés réducteurs chez <i>Artemisia campestris</i> alors que les coumarines sont absentes chez <i>Marrubium vulgare</i>.</p> <p>L'étude qualitative par CCM de l'extrait de deux plantes a montré une diversité remarquable des composés flavoniques susceptibles d'exprimer l'activité recherchée.</p> <p>Les résultats de l'activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i> par l'évaluation de pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines permet de conclure que les extraits étudiés des deux plantes inhibent la dénaturation de Bovin Sérum Albumine avec <math>86.45\pm 9.08</math> et <math>91.24\pm 2.79</math> pour l'extrait méthanolique du <i>Marrubium vulgare</i> et <i>Artemisia campestris</i> respectivement. Les résultats obtenus sont comparables à ceux obtenus pour le diclofenac de sodium, un médicament anti-inflammatoire utilisé comme standard qui exerce un pourcentage d'inhibition de <math>91.25\pm 1.16</math>.</p> <p>Le pouvoir anti-inflammatoire obtenu dans ce travail est remarquable, dose-dépendant et corrélé avec la teneur en polyphénols et celle en flavonoïdes.</p>	
<p><b>Mots-clés:</b> Activité anti-inflammatoire, <i>Artemisia campestris</i>, flavonoïdes, polyphénols, <i>Marrubium vulgare</i>.</p>	