

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun –Tiaret–
Faculté Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie

Mémoire de fin d'étude
En vue de l'obtention du diplôme de master académique
Domaine : Science de la nature et de la vie
Filière : Science biologique
Spécialité : biologie Moléculaire et Cellulaire

Présenté par :
Kaci Amina
Bouchentouf Sabrina
Benkrama Yamina

Thème

**Caractérisation phytochimique et évaluation de
l'activité biologique du marrube**

Soutenu publiquement le 06/07/2023

Jury :

Président : ACHIR M
Encadrant : SOUANA K.
Co-encadrant: TADJ A.
Examineur : TAIBI K.

Grade :

MCA
MCA
MCB
Professeur

Année universitaire 2023-2024.

Dédicace

Je tiens a remercies en premier lieu dieu le tout puissant qui m'a donné le courage et la patience et qui a éclairé mon chemin pour achever ce travail

À mes parents

Mon père que dieu le tout puissant lui accorde sa sainte miséricorde et L'accueil en son vaste paradis

Ma mère, la femme combattante que sans elle je n'est pas pu être ce que

Je suis, en reconnaissance de son amour et sont encouragement durant

Toutes mes années d'études

À mes frères : Mohamad ; Brahim ; Hicham ; Yousef et ma sœur Fatima

À mes neveux : Adem et Zakaria

À toute la famille Kaci et Kacem et surtout mon cousin Houssam

À mes amis et mes collègues surtout Fatima.

AMINA

Dédicace

Avec une profonde gratitude, je dédie ce travail à l'homme de ma vie, mon modèle éternel qui s'est toujours dévoué pour mon succès : mon cher père, Abdelaziz.

À celle qui a métamorphosé la nuit en jour pour m'assurer les meilleures conditions : ma chère mère, Meddah Khaldia.

Quelles que soient mes actions ou mes paroles, je ne saurais exprimer assez combien je suis reconnaissante envers mes frères (Khaled et Amine) et mes sœurs (Kaltoum, Nawel, Zahia et Djahida).

À tous les membres précieux de ma famille,

À tous mes estimés collègues et amis.

À toute personne qui m'a aidée de près ou de loin

SABRINA

Dédicace

Tout d'abord, je remercie Dieu, notre créateur de m'avoir donné la force, la volonté et le courage afin d'accomplir ce travail modeste.

Je dédie ce travail :

À ma grand-mère et mon grand-père. Que Dieu les abrite dans son vaste paradis.

À ma chère mère pour son soutien infatigable et sa patience admirable.

À mon cher père pour son affection continuelle, qui m'a beaucoup aidée dans ma vie et durant mes études.

À ma chère sœur, Rania. Je te dis merci et je te souhaite bonheur, réussite et prospérité.

Merci à vous, tous.

YAMINA

Remerciements

Tout d'abord, nous exprimons notre profonde gratitude à Allah, Le Clément et Le Miséricordieux, pour nous avoir accordé la force et la patience nécessaires pour mener à bien ce modeste travail. Nous reconnaissons également sa bienveillance en nous accordant la capacité de surmonter toutes les difficultés qui se sont présentées sur notre chemin.

Nous sommes autant redevables à notre encadrant Docteur SOUANA Kada (Abderrahmane) et notre co-encadrant, Docteur Tadj Abdelkader, ainsi qu'à toute l'équipe de formation de Biologie Moléculaire et Cellulaire : Pr. Taïbi, Dr. Achir, Pr. Boussaid et Pr. Aït Abderrahim. Qu'ils reçoivent, chacun à part, nos vifs remerciements pour tout ce que nous avons reçu de leur part en termes d'enseignement, formation, accompagnement et leurs précieux conseils le long de notre parcours de master.

Notre gratitude à Dr. Achir M. et Pr. Acem K. pour avoir accepté de nous honorer par l'évaluation de ce modeste travail de master.

Nous exprimons nos chaleureux remerciements à l'ensemble des enseignants qui nous ont donné des cours, des TD ou des TP pendant tout notre parcours universitaire.

Nos sincères salutations et nos remerciements sont adressés également à toute la promotion de Biologie Moléculaire et Cellulaire.

Enfin, nous nous adressons à toute personne qui nous a porté aide pendant toutes les années que nous avons passées à la Faculté SNV de Tiaret en leur disant, tous : Merci infiniment et que Dieu vous récompense !

Enfin et pour que personne ne soit oubliée, nous nous adressons avec nos vifs remerciements à tous ceux qui nous ont porté aide dans la réalisation de ce mémoire.

الملخص

يركز هذا العمل على التقييم المختبري للتركيب الكيميائي والأنشطة البيولوجية لمستخلصات نوعين من النباتات، *Marrubium deserti* و *Marrubium vulgare* التابعة لعائلة الـ لمرمرية. يتعلق الأمر بمستخلصات مائية وأخرى كحولية (الإيثانول) من أوراق و سيقان النوعين النباتيين المذكورين حيث تمت تحليلات مختبرية لتقييم محتويات هذه المستخلصات فيما يخص من المركبات الفينولية والفلافونويدات والدباغات، كما تم تحديد خصائصها فيما يخص المضادة للأكسدة و المضادة للميكروبات. تم اختيار اختبار DPPH لتقييم قدرة المستخلصات على توقيف الأكسدة. من جهة أخرى بغية تم اختبار هذه المستخلصات على القدرة على توقيف نمو البكتيريا تم اختيار سلالتين هما: *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus*.

تشير النتائج إلى أن النوعين النباتيين المذكورين غنيان بالمركبات الكيميائية النشطة حيويًا وأن لكليهما نشاط عال فيما يخص مضادة الأكسدة و مضادة البكتيريا. وقد لوحظ أعلى محتوى من المركبات الفينولية لدى المستخلصات الكحولية لأوراق *M. deserti* كما أظهرت المستخلصات الكحولية من أوراق لنفس النبات أعلى محتوى من الفلافونويدات. أما الدباغات فقد تم تحديد تواجدها بكميات أكثر على مستوى المستخلصات الكحولية من سيقان *M. vulgare*. وفيما يتعلق بالنشاط المضاد للأكسدة، كانت المستخلصات الكحولية من سيقان *M. deserti* هي الأكثر ارتفاعًا في نسبة التثبيط. أما بالنسبة للنشاط المضاد للبكتيريا، فيبدو أن *M. vulgare* له قوة أعلى قليلًا بالمقارنة مع *M. deserti*، لاسيما ضد *E. coli*. وفيما يخص المقارنة بين السلالات البكتيرية التي تم تجربتها فقد ظهرت *E. coli* أكثر مقاومة لمستخلصات النوعين النباتيين من *S. aureus*.

الكلمات المفتاحية : النشاط البيولوجي، التركيب الكيميائي النباتي، *Marrubium deserti*، *Marrubium vulgare*، عائلة الشفويات، المواد الأيضية الثانوية.

Résumé

Le présent travail porte sur l'évaluation in-vitro de la composition phytochimique et les activités biologiques des extraits de deux espèces de marrube, *Marrubium déserti* et *Marrubium vulgare*, appartenant à la famille des Lamiaceae. Les extraits aqueux et éthanoliques des feuilles et des tiges des deux espèces, ont subi des analyses colorimétriques in-vitro pour évaluer leurs teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tannins et déterminer leurs propriétés antioxydante et antimicrobienne. Le test de DPPH a été choisi pour évaluer le potentiel antiradicalaire des extraits. Deux souches bactériennes, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, ont été choisies pour tester les capacités des extraits à inhiber leur prolifération.

Les résultats obtenus indiquent une richesse chez les deux plantes en composants bioactifs avec des activités biologiques, antioxydante et antibactérienne élevées. La teneur la plus haute en polyphénols a été observée chez les extraits éthanoliques des feuilles de *M. déserti*. Les extraits éthanoliques des feuilles *M. déserti* ont montré la teneur la plus élevée en flavonoïdes. Cependant, les extraits éthanoliques des tiges de *M. vulgare* contiennent la teneur la plus riche en tannins. A propos de l'activité antioxydante, ce sont les extraits éthanoliques des tiges de *M. déserti* qui ont montré le niveau le plus élevé en pourcentage d'inhibition. Quant l'activité antibactérienne, *M. vulgare* semble avoir un pouvoir légèrement élevé relativement à *M. déserti*, notamment contre *E. coli*. Pour ce qui est des souches bactériennes testées, *E. coli* a paru plus résistante aux extraits des deux espèces végétales que *S. aureus*.

Mots-clés : Activité biologique, Composition phytochimique, *Marrubium déserti*, *Marrubium vulgare*, Lamiaceae, Métabolites secondaires,

Abstract

This work focuses on the in-vitro evaluation of the phytochemical composition and biological activities of extracts from two species of *Marrubium deserti* and *Marrubium vulgare*, belonging to the Lamiaceae family. The aqueous and ethanolic extracts of the leaves and stems of the two species underwent in-vitro colorimetric analyses to evaluate their contents of total polyphenols, flavonoids, and tannins, and to determine their antioxidant and antimicrobial properties. The DPPH assay was chosen to evaluate the radical scavenging potential of the extracts. Two bacterial strains, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, were selected to test the extracts' ability to inhibit their proliferation.

The results indicate a wealth of bioactive components with high antioxidant and antibacterial activities in both plants. The highest polyphenol content was observed in the ethanolic leaf extracts of *M. deserti*. The ethanolic leaf extracts of *M. deserti* showed the highest flavonoid content. However, the ethanolic stem extracts of *M. vulgare* contained the richest tannin content. Regarding antioxidant activity, the ethanolic stem extracts of *M. deserti* showed the highest inhibition percentage. As for antibacterial activity, *M. vulgare* appears to have a slightly higher potency compared to *M. deserti*, particularly against *E. coli*. Among the bacterial strains tested, *E. coli* appeared more resistant to the extracts of both plant species than *S. aureus*.

Keywords: Biological activity, Phytochemical composition, *Marrubium deserti*, *Marrubium vulgare*, Lamiaceae, Secondary metabolites

Liste des abréviations

AlCl₃ : Chlorure d'Aluminium

DPPH : diphényl-picrylhydrazyle

E. Coli : *Escherichia coli*

HCl : Acide chlorhydrique

M.déserti : *Marrubium deserti*

M.vulgare : *Marrubium vulgare*

M.H : Milieu de culture microbienne de Muller-Hinton

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

µl : Microlitre

µg : Microgramme

C : Catéchine

Liste des figures

Figure 1: Marrubium vulgare et deserti dans son site de collecte à Takhemert, Algérie.....	10
Figure 2: Sechage.....	10
Figure 3: Séparation et broyage des parties végétales à tester.	11
Figure 4: Les étapes de macération.	12
Figure 5: La filtration de l'extrait de marrube (deserti et vulgare).....	12
Figure 6: Les étapes d'évaporation.....	13
Figure 7: Solution mère.....	14
Figure 8: Préparation du mélange réactionnel.	15
Figure 9: Les étapes d'évaluation de l'activité antioxydante.	17
Figure 10: Préparation du milieu culture.	18
Figure 11: Préparation des extraits.....	19
Figure 12: Ensemencement.	19
Figure 13: Application des extraits.	20
Figure 14: Mesure des diamètres des zones d'inhibition.....	20
Figure 15: Rendement des extraits aqueux et éthanolique des feuilles et tiges de M.deserti et M.vulgare.	22
Figure 16: Teneurs en polyphénols des extraits de M.deserti de Noé et M.vulgare L.....	23
Figure 17: Teneurs en flavonoïdes des extraits de M.deserti et M.vulgare.	24
Figure 18: Teneurs en tannins des extraits de M.deserti et M.vulgare.	25
Figure 19: Pourcentage d'inhibition des radicaux libres par les extraits de M.deserti et M.vulgare.	27
Figure 20: Zones d'inhibition d'E.coli par les extraits de M.deserti et M.vulgare.	28
Figure 21: Zones d'inhibition de S.aureus par les extraits de M.deserti et M.vulgare.	30

Sommaire

<i>Introduction</i>	Erreur ! Signet non défini.
<i>Chapitre I : Synthèse Bibliographique</i>	3
I. Généralités sur les Lamiaceae.....	4
1.1. Marrubium vulgare	4
1.2. Marrubium deserti	4
II. Métabolites secondaires	4
2.1. Importance des métabolites secondaires.....	5
2.2. Classification des métabolites secondaires.....	5
2.3. Biosynthèse des métabolites secondaires	6
III. Activités biologiques.....	6
3.1. Définition.....	6
3.2. Types d'activités biologiques	6
<i>Chapitre II : Matériels et méthodes</i>	9
I. Matériel végétal	10
II. Méthodologie	10
2.1. Préparation des extraits.....	10
2.2. Caractérisation photochimique	13
2.2.1. Dosages des polyphénols totaux	13
2.2.2. Dosage des flavonoïdes	15
2.2.3. Dosage des tanins	15
2.3. Evaluation des activités biologiques.....	16
2.3.1. Activité antioxydante	16
2.3.2. Activité antibactérienne :	18
Résultat.....	22
I. Rendement d'extraction	22
II. Dosages phytochimiques	23

2.1. Polyphénols	23
2.2. Flavonoïdes.....	24
2.3. Tannins	25
III. Activités biologiques.....	26
3.1. Activité antioxydante.....	26
3.2. Activité antibactérienne	28
Discussion	32
Conclusion générale et perspectives	36
Références bibliographiques	37

Introduction

Les plantes médicinales constituent une source inépuisable de composés bioactifs qui jouent un rôle crucial dans la prévention et le traitement de nombreuses maladies. Parmi ces plantes, les espèces appartenant à la famille des Lamiaceae, entre autres *Marrubiumvulgare* L. et *Marrubiumdeserti* de Noé, qui sont couramment utilisées dans diverses pratiques thérapeutiques traditionnelles pour leurs effets bénéfiques sur la santé, notamment pour traiter les inflammations, les infections et les troubles digestifs (Taibi et al., 2021 ; Mahi et al., 2022). *Marrubiumvulgare* L., également connu sous le nom de marrube blanc, a fait l'objet de nombreuses études en raison de ses applications médicinales traditionnelles et sa vaste répartition géographique à travers les régions tempérées d'Europe, d'Asie et d'Afrique du Nord. En revanche, *Marrubiumdeserti* de Noé, une espèce moins connue, est principalement distribuée dans les zones désertiques d'Afrique du Nord, y compris l'Algérie, et a été étudiée de manière plus restreinte, surtout pour son adaptation aux conditions arides et ses éventuelles propriétés thérapeutiques spécifiques (Gavarić et al. 2022).

L'Algérie, avec sa biodiversité riche et variée, offre un terrain propice pour l'étude des plantes médicinales. Les zones semi-arides de l'ouest algérien, caractérisées par des conditions climatiques particulières, abritent une flore unique dont les propriétés thérapeutiques restent sous-explorées (Taibi et al., 2021 ; Taibi et al., 2024). Cependant, ces richesses botaniques sont exposées à diverses menaces, entre autres les changements climatiques et les mauvaises actions anthropiques. Ce qui alourdit la responsabilité des scientifiques et avec eux les pouvoirs publiques et leur impose de s'impliquer profondément dans le sujet pour faire face aux menaces pesantes par la recherche, l'innovation et la mise en places des solutions adéquates.

C'est dans ce contexte que des plants de *M. deserti* de Noé. et *M. vulgare* L. ont été collectés du même site appartenant à la région du Ouest algérien et, par conséquent, vivant dans les mêmes conditions environnementales, afin de mener une étude comparative sur leur caractérisation phytochimique et l'évaluation de certaines de leurs activités biologiques.

La caractérisation phytochimique des plantes médicinales est une étape essentielle pour identifier les composés responsables de leurs effets thérapeutiques. Dans cette étude, nous avons choisi de nous concentrer sur les polyphénols, les flavonoïdes et les tannins, trois classes de composés bioactifs largement reconnus pour leurs propriétés antioxydantes et

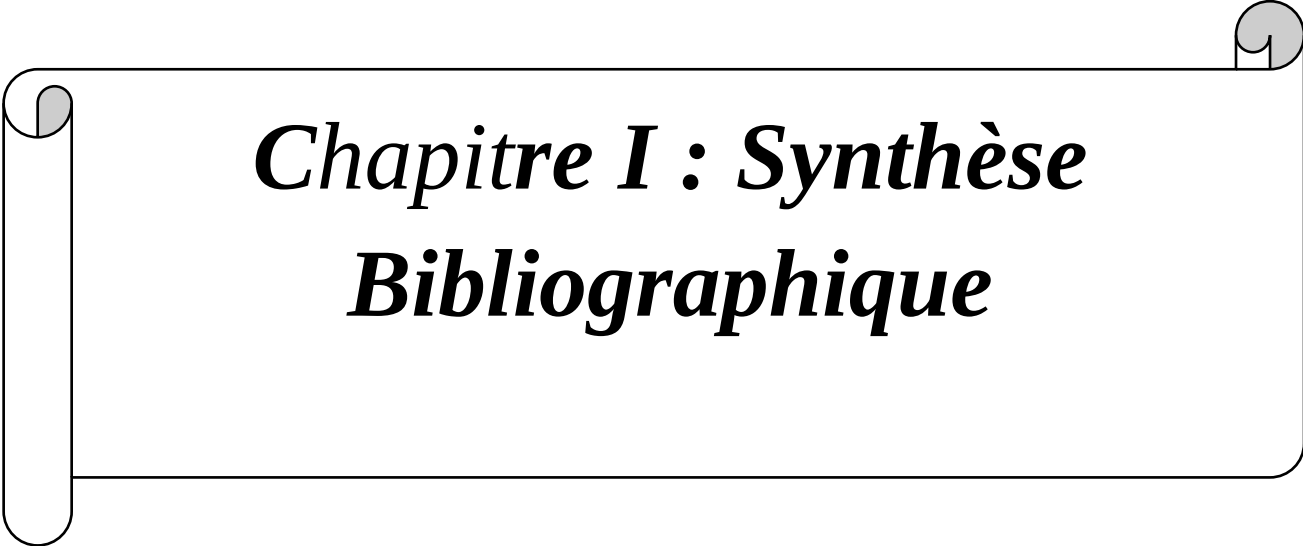
antimicrobiennes. Les polyphénols, par exemple, sont connus pour leur capacité à neutraliser les radicaux libres, tandis que les flavonoïdes et les tannins possèdent des propriétés anti-inflammatoires et antimicrobiennes significatives.

Les plantes collectées ont été soigneusement séparées en feuilles et tiges, lesquelles ont été séchées et soumises à des processus d'extraction distincts utilisant l'eau et l'éthanol. Ces méthodes d'extraction visent à maximiser la récupération des composés bioactifs, chaque solvant ayant des affinités différentes pour les divers constituants phytochimiques des plantes.

Pour évaluer les activités biologiques des extraits obtenus, deux tests ont été retenus: le test d'inhibition des radicaux libres DPPH pour l'activité antioxydante et un test d'activité antibactérienne sur deux souches bactériennes couramment étudiées, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. L'activité antioxydante des extraits permet de mesurer leur capacité à neutraliser les radicaux libres, réduisant ainsi les dommages oxydatifs au niveau cellulaire. L'activité antibactérienne, quant à elle, évalue l'efficacité des extraits à inhiber la croissance de bactéries pathogènes, mettant en évidence leur potentiel en tant qu'agents antimicrobiens naturels.

En combinant la caractérisation phytochimique et l'évaluation des activités biologiques, cette étude vise à fournir une compréhension approfondie des propriétés thérapeutiques de *M. deserti* de Noé. et *M. vulgare* L. Les résultats obtenus pourraient non seulement enrichir les connaissances scientifiques sur ces espèces, mais aussi ouvrir la voie à leur utilisation dans le développement de nouveaux traitements à base de plantes, adaptés aux besoins contemporains de la santé publique.

Ainsi, cette recherche s'inscrit dans une démarche de valorisation des ressources naturelles algériennes et de promotion de la biodiversité locale, tout en contribuant au domaine de la phytothérapie moderne par l'exploration et l'exploitation de plantes aux potentiels médicinaux significatifs.

A decorative scroll frame with a black outline and grey scroll ends. The title is centered within the scroll.

Chapitre I : Synthèse Bibliographique

I. Généralités sur les Lamiaceae

Les Lamiacées, une vaste famille botanique comptant plus de 6 000 espèces réparties sur 210 genres y compris *Marrubium*. Cette famille comprend des plantes aromatiques et médicinales comme le basilic, le thym et marrube, connues pour leurs métabolites primaires et secondaires tels que les composés phénoliques, les acides gras et les huiles essentielles (Avasiloaiei et al., 2023). L'analyse génomique des espèces de Lamiacées révèle l'évolution de voies métaboliques spécialisées, telles que les groupes de gènes de biosynthèse des diterpénoïdes, mettant en évidence la nature dynamique de la constitution génétique de ces plantes et leurs fonctions adaptatives dans les interactions environnementales (Abigail et al., 2023). Le genre *Marrubium* regroupe environ 75 espèces réparties dans diverses régions du monde, parmi celles-ci, 50 espèces sont recensées dans la région méditerranéenne (Zaabat et al., 2010).

1.1. *Marrubium vulgare*

Marrubium vulgare, communément appelé marrube blanc, est une plante herbacée vivace connue depuis l'Antiquité pour son goût âcre et amer, qui est riche en métabolites secondaires et aux propriétés médicinales diverses. On la trouve fréquemment en bordure de chemins et dans les zones incultes de nombreuses régions, en particulier en Europe (surtout dans les zones méditerranéennes), en Afrique du Nord et en Asie. Ses propriétés et caractéristiques ont été documentées par plusieurs auteurs au fil des siècles (Bézenger et al., 1998 ; Guittonneau, 2011 ; Bhar et Balouk, 2011).

1.2. *Marrubium deserti*

Marrubium deserti, également connu sous le nom de Marrube du désert, est une plante fascinante et rare qui prospère dans les environnements les plus extrêmes de la planète. Cette espèce vivace de la famille des Lamiaceae est originaire des régions désertiques d'Afrique du Nord et du Moyen-Orient, où elle doit faire face à des conditions de vie difficiles caractérisées par de très faibles précipitations, de fortes températures et des sols pauvres (Bouزيد et al., 2021).

II. Métabolites secondaires

Les plantes possèdent des métabolites appelés « secondaires ». Contrairement aux métabolites primaires, qui sont présents dans toutes les voies de production comme les protéines, les

glucides et les lipides, les métabolites secondaires englobent des voies de synthèse pour des composés qui ne participent pas directement à la croissance des plantes (Royer, 2013).

2.1. Importance des métabolites secondaires

- En agronomie :

Ces composés jouent un rôle essentiel dans la protection des cultures contre les maladies fongiques, les infections bactériennes et certains insectes (Raven et al., 2000).

- En pharmacologie :

Les métabolites secondaires représentent la fraction la plus active des composés chimiques présents dans les plantes. Actuellement, on estime qu'environ un tiers des médicaments disponibles sur le marché contiennent au moins un de ces composés végétaux (Newman et Cragg, 2012).

- En alimentation :

Les épices et les herbes aromatiques riches en divers métabolites sont utilisées comme condiments et aromates.

En cosmétique :

Ils se retrouvent dans les produits cosmétiques, les parfums, les articles de toilette et les produits d'hygiène (Ghasemzadeh et Ghasemzadeh, 2011).

2.2. Classification des métabolites secondaires

La classification des métabolites secondaires se base sur des critères tels que la structure chimique, la composition, la solubilité dans différents solvants et la voie de synthèse. Les métabolites secondaires sont principalement regroupés en trois grandes classes :

- Les alcaloïdes.
- Les terpènes.
- Les composés phénoliques.

Chaque classe comprend plusieurs sous-classes caractérisées par une complexité variable de leur structure (Justin et al., 2014).

2.3. Biosynthèse des métabolites secondaires

Les métabolites primaires sont issus des principales voies métaboliques comme la glycolyse, le cycle de Krebs et la photosynthèse. Ils fournissent les précurseurs nécessaires à la biosynthèse des métabolites secondaires via différentes voies spécialisées. Par exemple, l'acétyl-CoA issu du catabolisme des glucides et des lipides est un précurseur clé pour la synthèse de nombreux métabolites secondaires tels que les terpènes, les stéroïdes et les composés phénoliques. De même, les acides aminés aromatiques servent de précurseurs aux alcaloïdes et aux composés phénoliques. Ainsi, les métabolites primaires jouent un rôle essentiel en fournissant les blocs de construction nécessaires à la production d'une grande diversité de métabolites secondaires aux fonctions écologiques et physiologiques importantes pour les organismes (Asma, 2019).

III. Activités biologiques

3.1. Définition

Les activités biologiques résultent de certains effets liés à l'exposition à une molécule ; ceux-ci affectent une réponse métabolique ou physiologique. L'activité biologique est définie comme étant appliquée aux systèmes réactionnels et moléculaires les plus simples et les plus complexes. Il existe de nombreux types d'activités biologiques et ces activités peuvent être étudiées in vivo et in vitro. L'activité biologique dépend toujours de la dose administrée à l'organisme vivant, il est donc logique de montrer des effets bénéfiques ou indésirables allant de faibles à élevés. L'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion sont les principales actions utilisées pour mesurer l'activité biologique. (Mariod & Tahir, 2022)

3.2. Types d'activités biologiques

- **Activité antimicrobienne**

L'activité antimicrobienne fait référence à leur capacité à inhiber la croissance ou à tuer les micro-organismes tels que les bactéries, les champignons et les virus. (Eckhoff et al., 2017).

- **Types d'Activité antimicrobienne**

- **Activité antibactérienne**

L'activité antibactérienne fait référence à la capacité de certaines plantes ou de leurs extraits à inhiber la croissance ou à tuer des bactéries. Cette propriété est principalement attribuée aux composés bioactifs présents dans les plantes, tels que les huiles essentielles, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins et les terpènes. Ces composés peuvent interagir avec les structures bactériennes ou perturber les processus métaboliques, entraînant ainsi l'inhibition de la croissance bactérienne ou la destruction des bactéries (Hemaiswarya et al., 2008).

- **Activité antivirale**

L'activité antivirale se réfère à la capacité de certaines plantes ou de leurs extraits à inhiber la réplication ou la propagation des virus. Cette activité peut être due à divers composés bioactifs présents dans les plantes, tels que des alcaloïdes, des flavonoïdes, des tannins, des saponines, et des polysaccharides, entre autres. Ces composés peuvent agir de différentes manières pour prévenir ou limiter les infections virales notamment en :

- ❖ Inhibant l'entrée du virus dans les cellules hôtes.
- ❖ Interférant avec la réplication virale.
- ❖ Modulant la réponse immunitaire (Pinto et al., 2018).

- **Activité antifongique**

L'activité antifongique fait référence à la capacité des extraits, huiles essentielles ou composés bioactifs issus des plantes à inhiber la croissance des champignons pathogènes. Ces composés peuvent agir par divers mécanismes, tels que l'altération de la membrane cellulaire des champignons, l'inhibition de la synthèse des parois cellulaires, ou la perturbation des processus métaboliques fongiques (Bajpai et al. 2012).

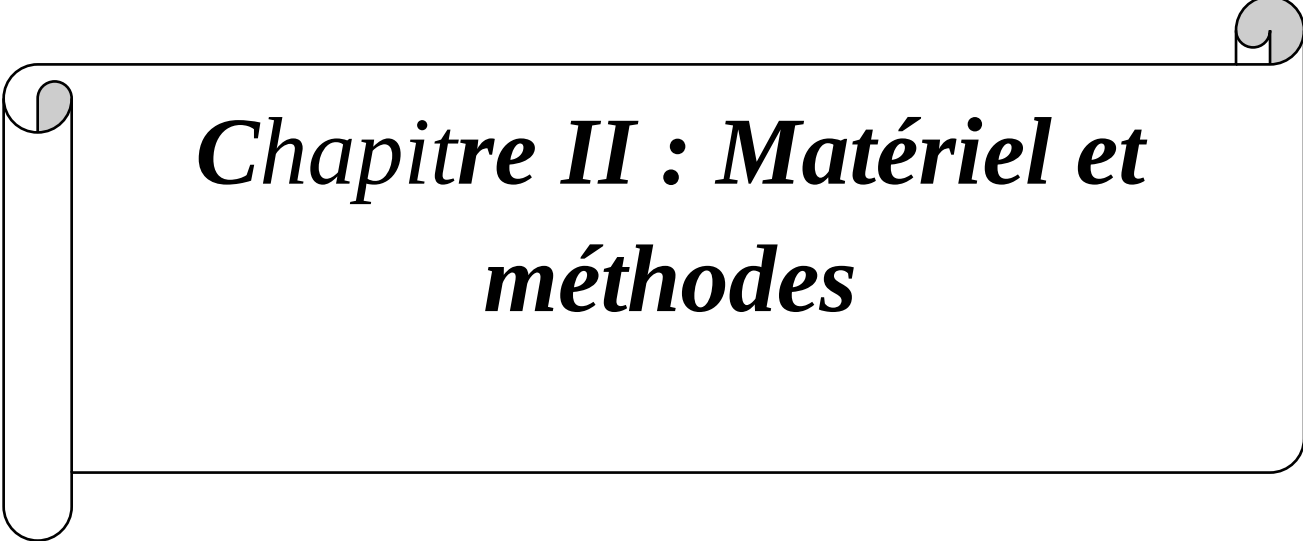
• **Activité antioxydant**

L'activité antioxydant fait référence à la capacité d'une substance à neutraliser ou réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme ou à capacité une substance à neutraliser.

Les radicaux libres sont des molécules hautement réactives qui peuvent provoquer des dommages aux cellules, à l'ADN et aux membranes cellulaires, cela conduit à un vieillissement prématuré et à diverses maladies. (Fontaine, 2007)

- **Activité anti-inflammatoire**

L'activité anti-inflammatoire fait référence à leur capacité à réduire l'inflammation dans le corps. Les plantes produisent souvent des composés bioactifs qui ont des effets anti-inflammatoires, tels que les flavonoïdes, les polyphénols et les terpénoïdes. Cette propriété est largement étudiée en phytothérapie et en médecine traditionnelle. (Gupta et al., 2013)

A decorative scroll frame with a vertical bar on the left and a horizontal bar on the right, both with rounded ends. The text is centered within the horizontal bar.

Chapitre II : Matériel et méthodes

I. Matériel végétal

Le matériel végétal testé est sous forme de deux espèces de plantes médicinales, à savoir *Marrubium deserti* et *Marrubium vulgare*, collectées d'une zone située à l'ouest algérien.



Figure 1: *Marrubium vulgare* et *deserti* dans son site de collecte à Takhemert, Algérie.

II. Méthodologie

2.1. Préparation des extraits

- Séchage

Afin de déshydrater les végétaux collectés pour faciliter leur conservation et les protéger contre toute altération, ces derniers ont été mis à sécher à l'ombre et à température ambiante.



Figure 2: Séchage.

- **Broyage :**

Après séchage des plantes et séparation des tiges et des feuilles à tester, ces dernières ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique pour obtenir des poudres fines conservables.



Feuilles



Tiges



Poudre

Figure 3: Séparation et broyage des parties végétales à tester.

- **Macération :**

La macération qui est un procédé d'extraction (solide- liquide) implique contact entre la poudre de matière première végétale et le solvant d'extraction, permettant une extraction à température ambiante.

L'extrait méthanolique et aqueux du *M.vulgare*/ *M.deserti* a été préparé selon une méthode précise, avec un rapport de 1g de poudre pour 10 ml de solvant ; Une masse de (50g) d'une partie de la plante est mise à macérer dans un volume (500ml) de solvant (méthanol) ou (l'eau distillé) On couvre le ballon avec du papier aluminium et on le met sur l'agitateur, L'agitateur est utilisé pour mélanger les échantillons végétaux et la solution d'extraction. L'agitation permet d'accélérer la diffusion des composés bioactifs dans le solvant. Une fois les échantillons agités, l'ombre et à température ambiante, pendant 24 heure.



Figure 4: Les étapes de macération.

- **Filtration :**

Après la macération, la filtration pour séparer le mélange qui contient une phase liquide et une phase solide ; après filtré dans un erlenmeyer à l'aide d'un entonnoir à travers le papier filtre Wattman.



Figure 5: La filtration de l'extrait de marrube (*deserti* et *vulgare*)

- **Evaporation**

Après filtrations, la solution d'extraction est Evaporer en utilisant l'évaporateur rotatif (Rotavapor) à 45°C, puis Mettre à l'étuve à 37 °C pour s'assurer de l'évaporation complète du solvant. Les extraits obtenus ont été conservés à 4° C.



Figure 6: Les étapes d'évaporation.

2.2. Caractérisation phytochimique

2.2.1. Dosage des polyphénols totaux

- **Principe**

Le dosage des polyphénols totaux est effectué avec le réactif de Folin-Ciocalteu, conformément à la méthode de Singleton et al. (1999). Ce réactif, constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$),

est réduit lors de l'oxydation des phénols, produisant un complexe stable d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). L'intensité de la coloration bleue générée est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux.

- **Mode opératoire**

Suivant la méthode de Singleton et Rossi (1965), reproduite dans différents travaux de recherche (Ali-Rachedi et al., 2018 ; Bouchenak et al., 2020 ; etc.).

La méthode utilisée implique la préparation de différentes solutions d'extraits en dissolvant 1 mg de chaque extrait dans 1 ml d'eau distillée ou d'éthanol concentré à 20%. Le Folin Ciocalteu brut est dilué à 10%, et le Na_2CO_3 est préparé à 7,5% en dissolvant 7,5 g dans 100 ml d'eau distillée. Ensuite, 200 μ l de chaque solution mère d'extrait sont mélangés avec 1 ml de la solution Folin Ciocalteu diluée. Après une réaction de 5 minutes et l'ajout de Na_2CO_3 , les absorbances sont lues à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible préalablement calibré.



Figure 7: Solution mère.

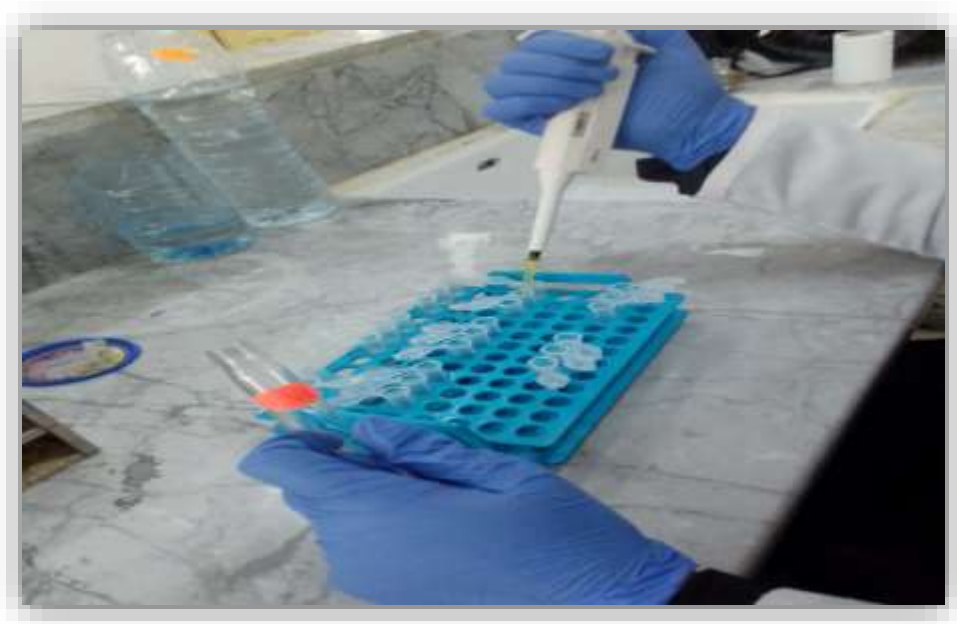


Figure 8: Préparation du mélange réactionnel.

2.2.2. Dosage des flavonoïdes

- **Principe**

Le dosage des flavonoïdes est effectué selon la méthode de Zhishen et al. (1999). Cette méthode repose sur la formation d'un complexe stable de couleur jaunâtre entre les chlorures d'aluminium et les atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes. En ajoutant de la soude, un complexe de couleur rose se forme, dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes.

- **Mode opératoire**

La méthode colorimétrique décrite par Zhishen et al. (1999) pour évaluer l'activité antioxydante des extraits végétaux implique la préparation de solutions mères des extraits suivie de la préparation d'une solution d' AlCl_3 à 2% dans du méthanol. Pour le mélange réactionnel, chaque extrait est mélangé avec cette solution d' AlCl_3 , incubé pendant 15 minutes à température ambiante et à l'abri de la lumière, puis les absorbances sont mesurées à 430 nm comme indicateur de l'activité antioxydante.

2.2.3. Dosage des tannins

- **Principe**

La méthode de dosage des tanins condensés utilise la réaction vanilline-HCl (Makkar et al., 1993). Cette technique repose sur la réaction de la vanilline avec le groupement flavonoïde terminal des tanins condensés, produisant des complexes rouges. La coloration rouge observée est due à la transformation des tanins en anthocyanidols.

- **Mode opératoire**

La méthode de la vanilline en milieu acide, selon Julkunen-Titto (1985), pour évaluer la teneur en composés phénoliques des extraits végétaux implique la préparation de solutions mères des extraits suivie de la préparation d'une solution de vanilline à 4% dans du méthanol, conservée à 4°C et protégée de la lumière. Pour le mélange réactionnel, chaque extrait est mélangé avec cette solution de vanilline, agité et incubé avec HCl pur pendant 20 minutes à température ambiante. Les absorbances sont ensuite mesurées à 550 nm pour évaluer la teneur en composés phénoliques.

2.3. Evaluation des activités biologiques

2.3.1. Activité antioxydante

Le DPPH est un radical libre stable de couleur violette et d'absorbance spécifique comprise entre 512 et 517 nm. Cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picrylhydrazine par un composé anti radicalaire, provoquant des changements de couleur, L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans la plante (FADILI et al., 2017).

Le DPPH, initialement violet se transforme en DPPH-H jaune pâle.

- **Mode opératoire**

2mg de DPPH en poudre sont dissouts dans 100 ml d'éthanol pur. 1mg de chaque extrait aqueux est mis dans un tube et lui ajouté 1ml d'eau distillée. Les mêmes manipulations ont été répétées avec les extraits éthanoliques. La solution mère obtenue a été diluée en trois (03) solutions filles de concentrations différentes. Ce qui a permis d'avoir quatre (04) solutions progressives, à savoir 1mg/ml, 0.5mg/ml, 0.25mg/ml, 0.125mg/ml, avec trois (03) répétitions pour chacune. 200 µl de chaque solution des différents extraits sont prélevés et mis dans un tube Eppendorf pour leur ajouter 1ml de DPPH et les laisser s'incuber pendant 30 min à l'abri de la lumière et à température ambiante. La lecture au spectrophotomètre UV a été faite à une longueur d'onde de 517.

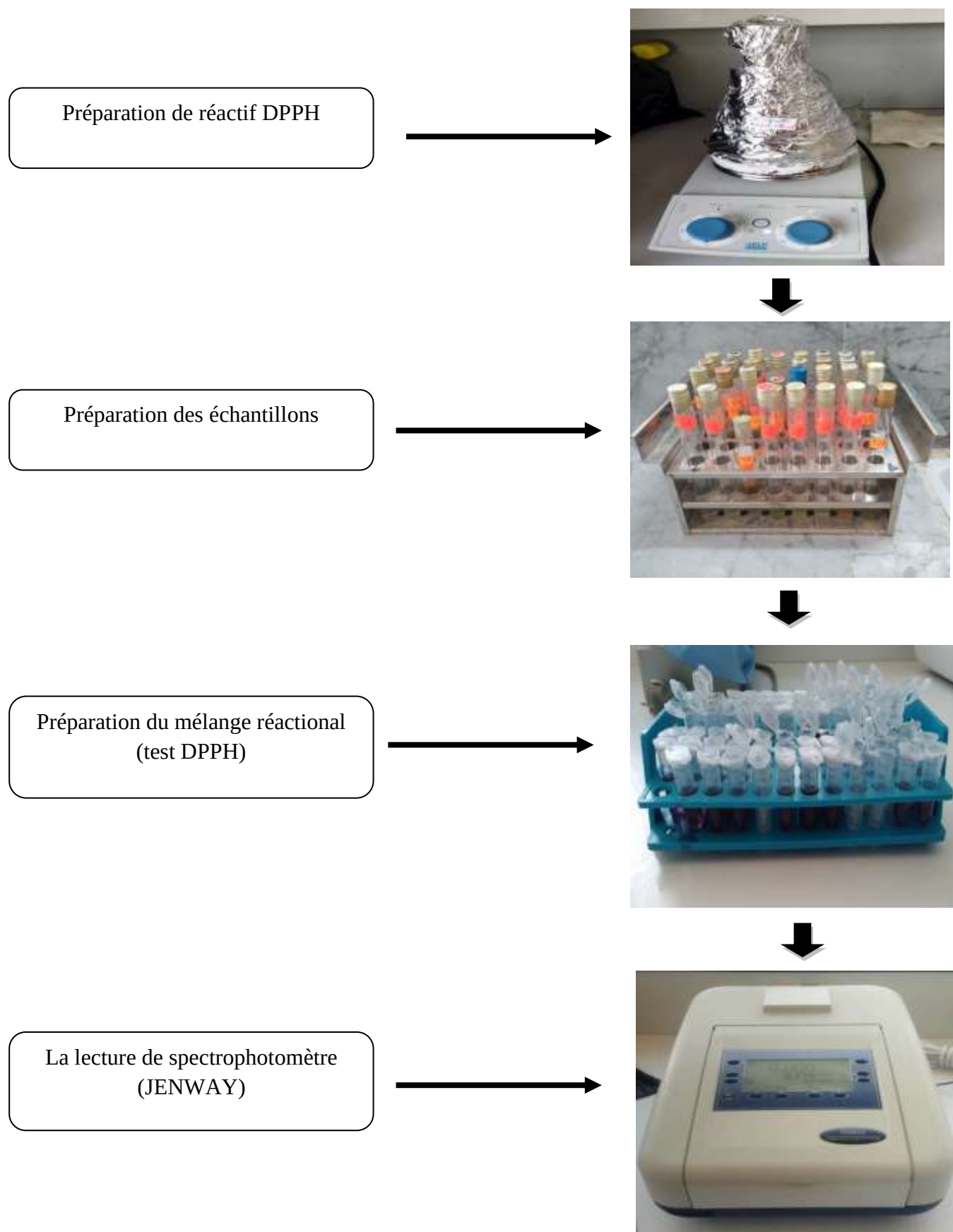


Figure 9: Les étapes d'évaluation de l'activité antioxydante.

2.3.2. Activité antibactérienne :

Le principe de l'activité antibactérienne de l'extrait de plante marrube consiste à réaliser une culture de micro-organismes sur milieu gélose MullerHinton (M.H), en présence de disques imbibés d'extrait de plante. Si ces derniers ont une activité antibactérienne, on observera une zone d'inhibition autour du disque du fait de la diffusion des échantillons dans le milieu (Rotaet al., 2008).

- **Mode opératoire :**

Souches testées : Deux souches bactériennes ont été choisies Ce sont des espèces Gram négatif et Gram positif, il s'agit de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

Préparation d'un milieu culture : On prépare un milieu culture, en dissolvant 38g de gélose M.H dans 1L d'eau distillée et on les laisse sous agitation Jusqu'à ébullition Ensuite, on le met dans l'autoclave pendant 15 min.



Figure 10: Préparation du milieu culture.

Repiquage des souches bactériennes : Les souches bactériennes à tester ont été repiquées par la méthode des stries dans des boîtes de pétri contenant de la gélose nutritive, puis incubées pendant 24 h à 37°C afin d'obtenir des colonies isolées.

Préparation de la suspension bactérienne : Après incubation, on a choisi 2 colonies bien isolées qu'on a transférées à l'aide d'une anse de platine dans un tube de solution d'eau Physiologique.

Préparation des extraits : Concentration de (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100mg/ml) des extraits éthanolique et aqueux des feuilles, et concentration de (10, 20, 30, 40, 50mg/ml) des extraits éthanolique et aqueux des tiges de *Marrubium vulgare et deserti* on été préparé par DMSO.



Figure 11: Préparation des extraits.

Ensemencement : Dans des boîtes de Pétri, le milieu de culture gélosé M.H en surfusion est coulé aseptiquement à raison de 20mL par boîte. Après la solidification, un écouvillon stérile est imbibé dans la suspension bactérienne et étaler à la surface de la gélose à trois reprises, en tournant la boîte à environ 60° après chaque application dans le but distribution égale de l'inoculum.



Figure 12: Ensemencement.

Application et incubation : on ajoute 40 μ l dans chaque concentration d'extrait à raison de 3 répétitions. Ensuite, les boîtes de Pétri sont à incuber à 37°C° pendant 24h.

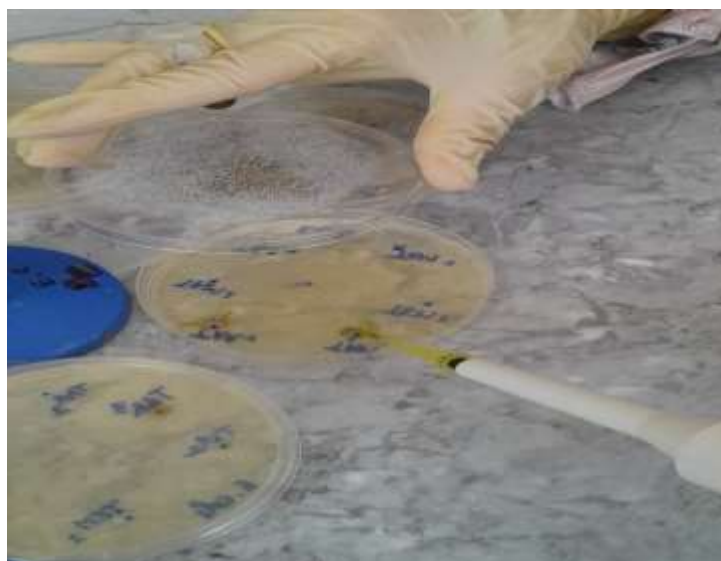


Figure 13: Application des extraits.

La zone d'inhibition ou la croissance réduite des micro-organismes à mesurer à l'aide d'un pied à coulisse ou une règle à graduation millimétrée.



Figure 14: Mesure des diamètres des zones d'inhibition.

Chapitre III : Résultats et discussion

Résultats

I. Rendement d'extraction

Les extraits des feuilles et des tiges des deux espèces *M.deserti* et *M.Vulgare* a été faite par macération. Ainsi, 50 g de poudre de chaque partie végétale ont été mis à macérer à l'eau pendant 24 heures à l'ombre et à température ambiante. Une quantité pareille a été macérée à l'éthanol dilué à 70 %.

L'analyse des résultats obtenus montre que le rendement d'extraction varie selon l'espèce testée et notamment selon la méthode d'extraction appliquée, une nette supériorité est remarquable chez tous les échantillons éthanoliques (Figure 15).

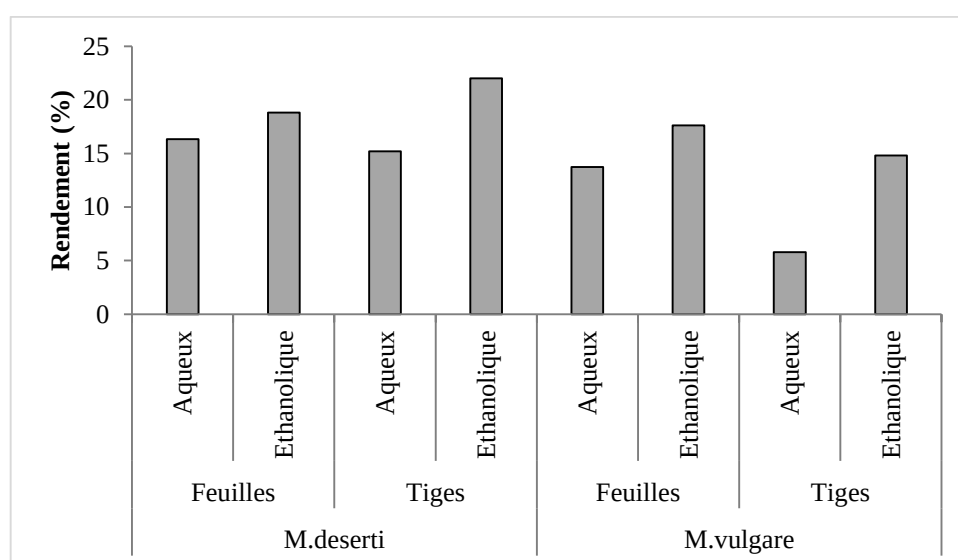


Figure 15: Rendement des extraits aqueux et éthanolique des feuilles et tiges de *M.deserti* et *M.vulgare*.

Le meilleur rendement d'extraction a été enregistré chez les échantillons éthanoliques des tiges de *M.deserti*, suivi respectivement de ceux correspondant au macéras éthanolique des feuilles de *M.deserti* et au macéras éthanolique des feuilles de *M.vulgare*. L'extrait aqueux des tiges de *M.vulgare* a enregistré le rendement le plus faible.

Dans l'ensemble, l'utilisation de l'éthanol comme solvant a permis d'obtenir des rendements élevés en comparaison à ceux obtenus par l'eau. D'autre part, l'espèce *M.deserti* a montré une supériorité en termes de rendement par rapport à *M.vulgare*.

II. Dosage phytochimiques

2.1. Polyphénols

Les résultats obtenus que les teneurs des extraits en polyphénols sont influencées par la variation des trois facteurs, espèce, organe et solvant utilisé (Figure 16). La teneur en polyphénols la plus élevée a été obtenue chez l'extrait éthanolique des feuilles de *M. deserti*, tandis que la moyenne la plus basse a été observée au niveau de l'extrait aqueux des tiges de *M. vulgare*.

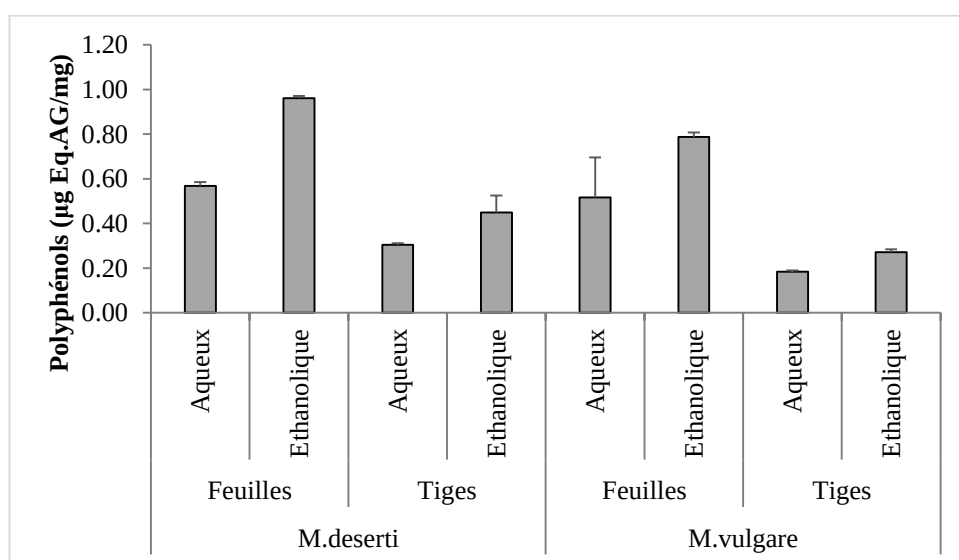


Figure 16: Teneurs en polyphénols des extraits de *M. deserti* de Noé et *M. vulgare* L.

La comparaison des organes testés permet de conclure que pour les deux espèces, les feuilles ont des teneurs en polyphénols plus élevées que les tiges et ce pour les deux types d'extraits. Chez *M. deserti*, les teneurs des extraits aqueux sont enregistrés au niveau des feuilles en comparaison aux tiges. Pour *M. vulgare*, les moyennes des extraits aqueux sont de 63.51 µg Eq.AG/mg pour les feuilles contre 48.18 pour les tiges, et de 77.78 pour les extraits éthanoliques des feuilles contre 14.27 µg Eq.AG/mg pour les tiges. Cela indique que les feuilles contiennent une concentration plus élevée de composés phytochimiques comparées aux tiges pour les deux espèces de Marrube.

En comparant les deux espèces, il est remarquable que *M. deserti* présente des moyennes plus élevées que *M. vulgare* pour tous les extraits et tous les organes testés. Pour les feuilles, les teneurs moyennes des extraits aqueux et éthanoliques de *M. deserti* sont respectivement de

l'ordre de 51.63 $\mu\text{g Eq.AG/mg}$ et 88.05 $\mu\text{g Eq.AG/mg}$, contre 56.82 $\mu\text{g Eq.AG/mg}$ et 78.77 $\mu\text{g Eq.AG/mg}$ pour *M.vulgare*. Au niveau des tiges, les moyennes des extraits aqueux et éthanoliques de *M.deserti* sont de 33.51 $\mu\text{g Eq.AG/mg}$ et 54.89 $\mu\text{g Eq.AG/mg}$ respectivement, contre 31.48 $\mu\text{g Eq.AG/mg}$ et 28.14 $\mu\text{g Eq.AG/mg}$ pour *M.vulgare*. Cela suggère que *M. deserti* pourrait avoir une concentration plus élevée de composés phytochimiques extractibles par l'eau et l'éthanol comparé à *M. vulgare*.

En conclusion, l'éthanol s'avère être un solvant plus efficace que l'eau pour l'extraction des polyphénols totaux des deux espèces de Marrube. Les feuilles contiennent généralement une concentration plus élevée de ces composés par rapport aux tiges. De plus, *M. deserti* montre des moyennes plus élevées que *M. vulgare* pour tous les extraits et organes testés, indiquant une supériorité potentielle en termes de concentration de composés phytochimiques.

2.2. Flavonoïdes

L'analyse des résultats révèle que la teneur en flavonoïdes est significativement influencée par la variation de l'espèce et de la partie végétale testées ainsi que par le type de solvant utilisé dans l'extraction (Figure 17).

En termes de valeurs extrêmes, la concentration la plus élevée, 21.40 $\mu\text{gEq.Q/mg}$, a été enregistrée chez l'extrait éthanolique des feuilles de *M.deserti*, tandis que la plus basse, 1.94 $\mu\text{gEq.Q/mg}$, elle a été trouvée dans l'extrait éthanolique des tiges de *M.vulgare*.

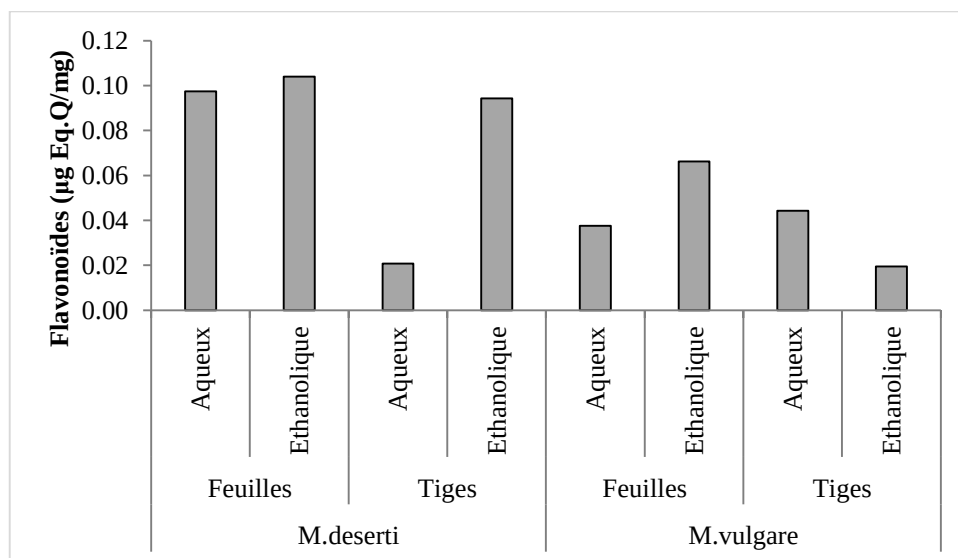


Figure 17: Teneurs en flavonoïdes des extraits de *M.deserti* et *M.vulgare*.

En comparant les deux méthodes d'extraction, les résultats issus de l'utilisation de l'éthanol paraissent plus élevés que ceux obtenus par l'eau. La constatation est la même chez les deux espèces et quel que soit l'organe testé.

Pour ce qui est des organes testés, la supériorité des feuilles est nette chez les deux espèces et pour les deux types d'extraction.

Au plan des espèces étudiées, mis à part l'extrait aqueux des tiges, *M. deserti* présente des concentrations plus élevées que *M. vulgare*.

Il se conclut qu'en termes d'extraction des flavonoïdes, l'utilisation de l'éthanol donne des résultats meilleurs que ceux obtenus par l'eau. En outre, les feuilles se sont montrées très riches en flavonoïdes chez *M. deserti* et *M. vulgare*. D'autre part, l'espèce *M. deserti* montre des teneurs plus élevées en flavonoïdes que *M. vulgare*, à l'exception des aqueux des tiges.

2.3.Tannins

L'examen des résultats met en évidence que la concentration en tannins est sensiblement affectée par la diversité de l'espèce et de la partie de la plante testées, ainsi que par le choix du solvant employé lors de l'extraction (Figure 18).

En ce qui concerne les valeurs extrêmes, la concentration la plus élevée, 18,43 $\mu\text{g Eq. Ca/mg}$, a été observé dans l'extrait éthanolique des tiges de *M. vulgare*, tandis que la plus faible, à savoir 06,04 $\mu\text{g Eq. Ca/mg}$, elle a été relevée dans l'extrait éthanolique des tiges de *M. deserti*.

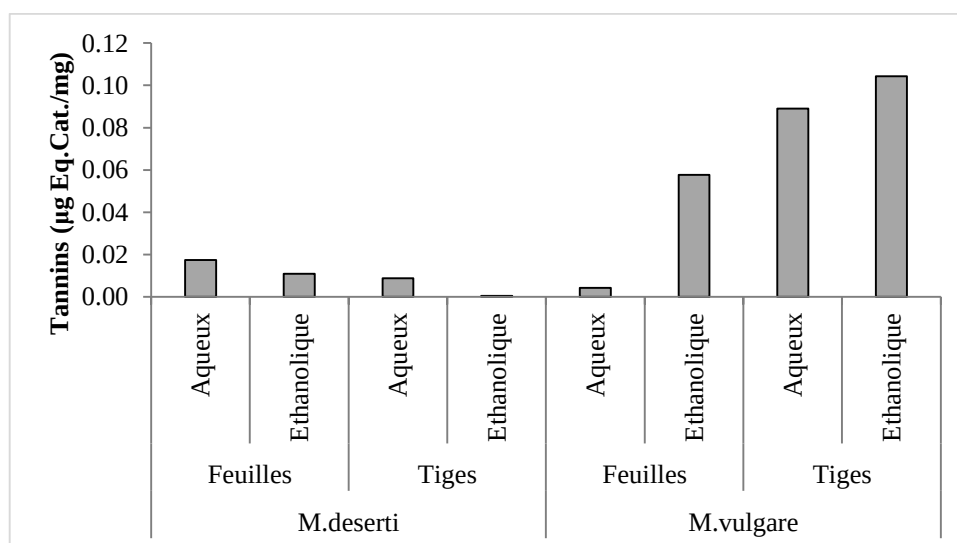


Figure 18: Teneurs en tannins des extraits de *M. deserti* et *M. vulgare*.

Si l'on distingue les deux techniques d'extraction, il semble que les rendements obtenus en utilisant de l'éthanol soient nettement supérieurs à ceux obtenus avec de l'eau pour l'espèce *M.vulgare*. En revanche, les extraits aqueux de *M.deserti* présentent des concentrations légèrement plus élevées que les extraits éthanoliques. Cette constatation est pareille au niveau des feuilles et des tiges.

En ce qui concerne les organes testés, une nette supériorité des teneurs en tannins a été enregistrée chez les tiges de *M.vulgare*. De l'autre côté, chez *M.deserti*, ce sont les feuilles qui montrent des concentrations en tannins plus élevées que les tiges.

Quant aux espèces étudiées, il s'aperçoit que *M. vulgare* manifeste des concentrations plus élevées que *M.deserti*, à l'exception des extraits aqueux des feuilles où *M.deserti* présente une teneur supérieure (3,74 contre 2,41 $\mu\text{gEq.Cat./mg}$).

En résumé, il est à noter que l'éthanol est plus efficace que l'eau pour l'extraction des tannins lorsqu'il s'agit de l'espèce *M.vulgare*, tandis que pour *M.deserti*, c'est l'eau qui s'avère plus performant. Les tiges de *M.vulgare* se distinguent par leur forte teneur en tannins, par rapport à celles de *M.deserti*. En ce qui concerne la comparaison entre les espèces, c'est *M.Vulgare* qui présente des concentrations plus élevées en tannins que *M.deserti*, à l'exception de l'extrait aqueux des feuilles.

III. Activités biologiques

3.1.Activité antioxydante

Les résultats des tests d'activités antioxydantes extraits du marrube, exprimés en pourcentages d'inhibition des radicaux libres (DPPH) par ces extraits, révèlent qu'ils sont influencés par plusieurs facteurs, notamment la concentration de l'extrait, le type d'extrait (aqueux ou éthanolique), l'organe de la plante (feuilles ou tiges), et l'espèce de Marrube (*M.deserti* ou *M.vulgare*). Néanmoins, la concentration de l'extrait semble être un facteur majeur, car l'inhibition des radicaux libres augmente généralement avec elle. Le type d'extrait et l'organe de la plante jouent également un rôle important, tout comme l'espèce (Figure 19).

Le pourcentage d'inhibition le plus élevé (88.44 %) est observée chez l'extrait éthanolique des tiges de *M.deserti* à une concentration de 1 mg/mL. Le plus bas (5.34 %) est observée dans l'extrait aqueux des feuilles de *M.vulgare* à une concentration de 0.125 mg/mL.

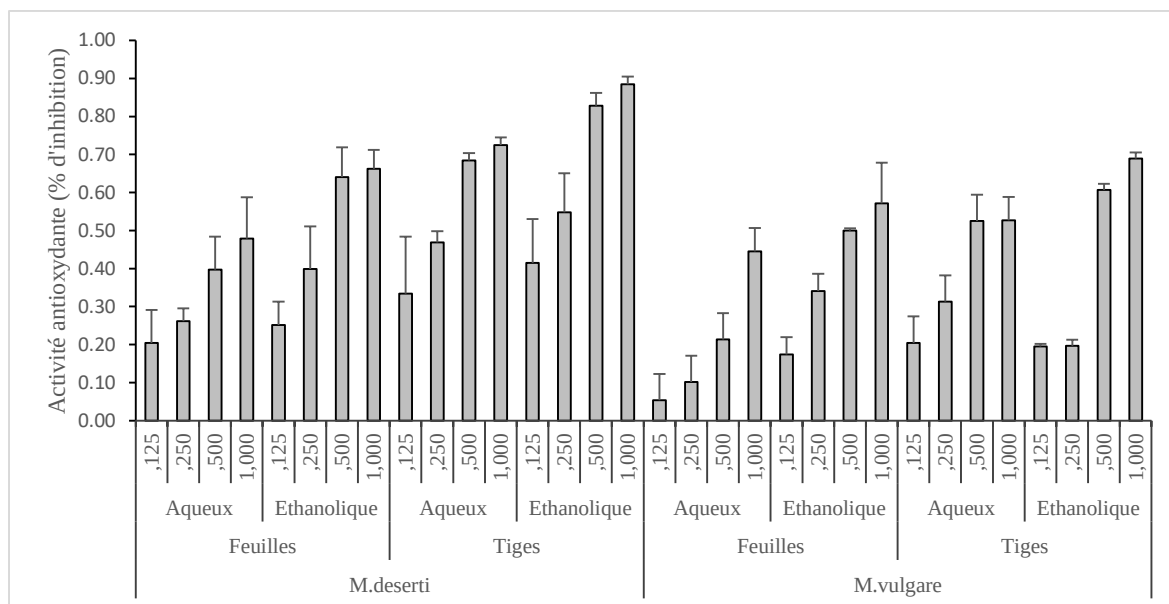


Figure 19: Pourcentage d'inhibition des radicaux libres par les extraits de *M. deserti* et *M. vulgare*.

Les résultats montrent que l'inhibition des radicaux libres augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait pour tous les types d'extraits et organes testés. Cela suggère une relation dose-réponse positive, où des concentrations plus élevées de l'extrait entraînent une plus grande inhibition des radicaux libres.

A propos de l'effet de la technique d'extraction utilisée, les extraits éthanoliques montrent généralement des pourcentages d'inhibition plus élevés que les extraits aqueux, quelle que soit la concentration ou l'organe.

Les tiges manifestent des pourcentages d'inhibition plus élevés que les feuilles pour les deux espèces et pour les deux types d'extraits.

La comparaison des deux espèces renseigne sur la supériorité de *M. deserti* en termes de pourcentage d'inhibition du DPPH.

En résumé, les pourcentages d'inhibition des radicaux libres sont influencés par la concentration de l'extrait, le type d'extrait, l'organe de la plante et l'espèce de Marrube. Les tendances montrent une augmentation de l'inhibition avec l'augmentation de la concentration de l'extrait, les extraits éthanoliques étant généralement plus efficaces que les extraits aqueux.

Les tiges présentent des pourcentages d'inhibition plus élevés que les feuilles, et l'espèce *M.deserti* semble avoir une capacité antioxydante supérieure à *M. vulgare*.

3.2.Activité antibactérienne

• *Escherichia coli* :

Les valeurs d'activité antibactérienne des extraits de feuilles, testés sur la bactérie *E.coli*, semblent être influencées par différents facteurs, notamment le type d'extrait, la concentration et l'espèce de la plante. Les extraits aqueux paraissent plus efficaces dans cette étude, probablement en raison d'une meilleure solubilité des composés antibactériens dans l'eau par rapport à l'éthanol. La concentration de l'extrait joue également un rôle crucial, comme le montrent les différentes zones d'inhibition (Figure 20).

La plus grande zone d'inhibition est observée chez l'extrait aqueux de *M. vulgare*L. à 86 mg/mL (28,33 mm), indiquant un effet antibactérien fort. Les valeurs les plus basses, incluant plusieurs zéros, sont observées à toutes les concentrations pour les extraits éthanoliques des deux espèces, montrant une absence d'effet antibactérien.

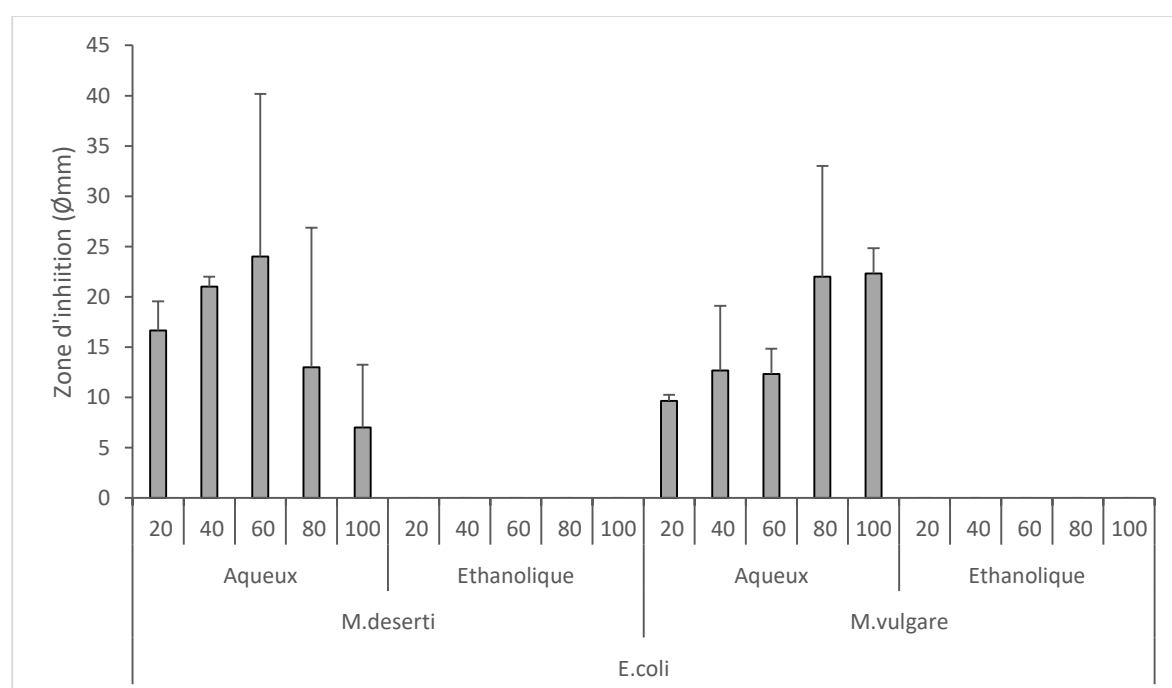


Figure 20: Zones d'inhibition d'*E.coli* par les extraits de *M.deserti* et *M.vulgare*.

L'effet des concentrations est plus prononcé dans les extraits aqueux de *M.vulgare*L. Leur augmentation tend à produire des zones d'inhibition plus grandes, indiquant une activité

antibactérienne plus importante. Ces augmentations de la zone d'inhibition se stabilisent aux environs de 12 mm lorsque la concentration varie de 56 à 60 mg/mL et autour de 19 mm au-delà de 78 mg/mL. Chez *M.deserti* de Noé, la zone d'inhibition montre une tendance croissante avec lorsque la concentration augmente, mais elle commencer à diminuer au-delà de 67 mg/mL.

Les extraits aqueux montrent une activité antibactérienne significative par rapport aux extraits éthanoliques, qui ne montrent aucune activité. Cela suggère que les composés antibactériens actifs dans les deux espèces du genre *Marrubium* sont plus solubles ou plus efficacement extraits dans l'eau que dans l'éthanol.

E. coli montre une sensibilité variable aux extraits. Selon les standards scientifiques (Andrews, 2001 ; CLSI, 2021), une zone d'inhibition supérieure à 30 mm est généralement indicative d'une forte activité antibactérienne. Les deux espèces sous forme d'extraits aqueux atteignent cette norme à des concentrations plus élevées, suggérant des propriétés antibactériennes significatives.

- ***Staphylococcus aureus* :**

Plusieurs facteurs peuvent influencer l'activité antibactérienne en cas d'application des extraits de marrube sur *S.aureus*, notamment le type d'extrait, la concentration et l'espèce de la plante (Figure 21). Les extraits aqueux et éthanoliques montrent des activités différentes, probablement en raison de la solubilité des composés antibactériens dans les solvants utilisés. La concentration de l'extrait joue également un rôle crucial, comme le montrent les différentes zones d'inhibition.

Les concentrations plus élevées d'extraits aqueux tendent à produire des zones d'inhibition plus grandes, indiquant une activité antibactérienne plus importante. Toutefois, pour *M.deserti*L., l'activité diminue à des concentrations plus élevées dépassant les 40 mg/mL. Les extraits éthaniques montrent également une augmentation de l'activité avec la concentration, bien que les valeurs soient inférieures à celles des extraits aqueux

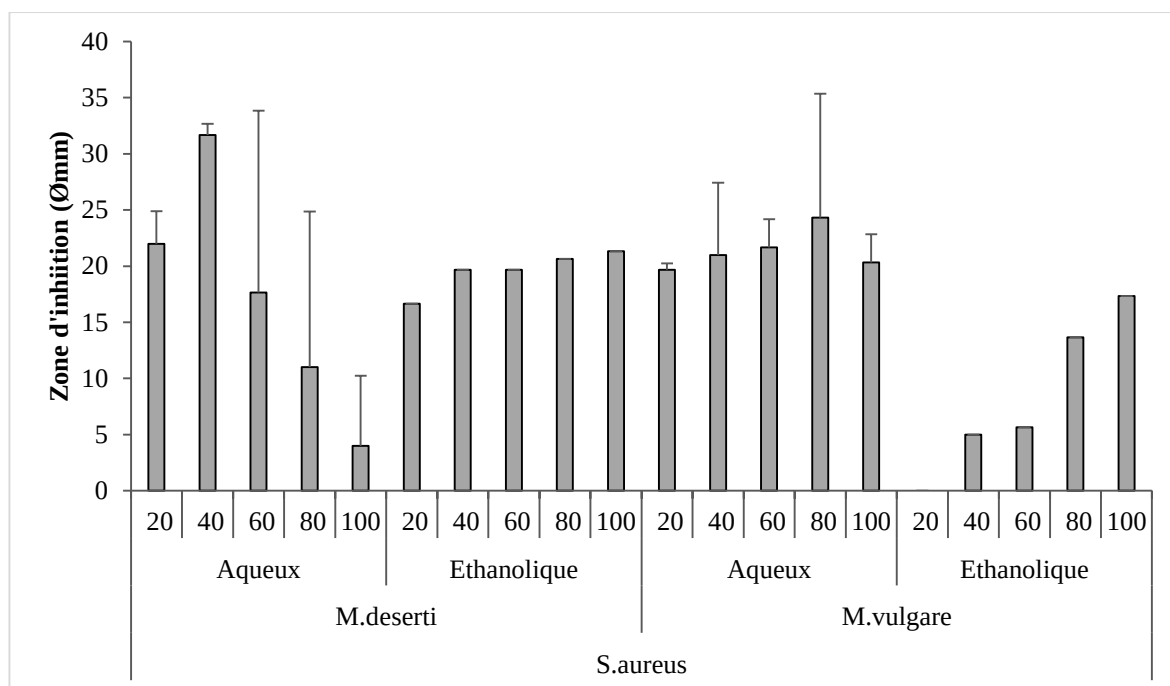


Figure 21: Zones d'inhibition de *S.aureus* par les extraits de *M.deserti* et *M.vulgare*.

La plus grande zone d'inhibition (38,67 mm) est enregistrée avec l'extrait aqueux de *M.deserti* de Noé, concentré à 50 mg/mL ce qui indiquera la plus forte activité antibactérienne. La valeur la plus basse (0,09 mm) est observée correspond à l'extrait éthanolique de *M.vulgare* L. concentré à 26 mg/mL.

Les extraits aqueux montrent une activité antibactérienne significative, en particulier chez *M.deserti* de Noé lorsque la concentration est de 43 mg/mL. Les extraits éthanoliques montrent également une activité antibactérienne croissante avec la concentration, qui est considérable chez *M.deserti* de Noé et moins efficace chez *M.vulgare*L.

M.deserti de Noé présente l'activité antibactérienne maximale, correspondant à la zone d'inhibition de 38,67 mm, sous l'effet de son extrait aqueux concentré à 60 mg/mL, puis elle diminue à des concentrations plus élevées. Quant à *M.vulgare* L., elle montre une augmentation régulière de l'activité avec un pic de 29,33 mm à 60 mg/mL de l'extrait aqueux.

S. aureus montre une sensibilité variable aux extraits. Selon les standards scientifiques, une est généralement indicative d'une forte activité antibactérienne. Certaines concentrations des extraits aqueux chez les deux espèces provoquent des zones d'inhibition supérieure à 20 mm. Ce qui suggère des propriétés antibactériennes significatives.

En résumé, les extraits aqueux des deux espèces de *Marrubium* sont généralement plus efficaces que les extraits éthanoliques, avec une efficacité qui varie en fonction de la concentration et de l'espèce végétale. Les extraits de *M.deserti* montrent une activité antibactérienne plus élevée contre *S. aureus*, tandis que les extraits de *M.vulgare* sont plus efficaces contre *E. coli*. Ces résultats soulignent l'importance de la solubilité des composés actifs et de la spécificité des interactions entre les extraits et les souches bactériennes.

Discussion

L'objectif principal de cette étude était de réaliser une caractérisation phytochimique des extraits des feuilles et des tiges de *M.deserti* de Noé et de *M.vulgare* L., ainsi que d'évaluer leurs activités biologiques, notamment antioxydante et antibactérienne. L'étude visait à déterminer les concentrations de polyphénols, flavonoïdes et tannins dans les extraits et à évaluer leur potentiel en tant qu'agents antioxydants et antibactériens. Les extraits ont été obtenus en utilisant deux solvants différents, l'eau et l'éthanol. Pour évaluer l'activité antimicrobienne, deux souches bactériennes, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* ont été choisies pour le test.

L'importance de cette étude réside dans le choix judicieux des deux espèces végétales et des composés bioactifs ciblés. *M.deserti* de Noé et de *M.vulgare* L. ont été collectées dans la même zone géographique semi-aride de l'ouest algérien, ce qui permet de comparer directement leurs propriétés bioactives dans des conditions environnementales similaires. Les polyphénols, flavonoïdes et tannins ont été choisis pour leur renommée dans le domaine des sciences biomédicales en raison de leurs puissantes propriétés antioxydantes et antimicrobiennes. L'évaluation des activités antioxydante et antibactérienne est cruciale pour valoriser ces plantes dans le développement de nouveaux traitements naturels, particulièrement face aux défis croissants liés à la résistance bactérienne et au stress oxydatif.

Les résultats obtenus ont révélé des différences significatives dans les teneurs en composés bioactifs et des activités biologiques des extraits en fonction de la plante, de la partie végétale testée, du type d'extrait et de la concentration utilisée.

L'analyse des résultats obtenus montre que le rendement d'extraction varie considérablement en fonction de l'espèce testée et de la méthode d'extraction utilisée. Les extraits éthanoliques présentent une nette supériorité en termes de rendement par rapport aux extraits aqueux pour tous les échantillons. Cette observation peut être attribuée à la capacité de l'éthanol à solubiliser une gamme plus large de composés bioactifs présents dans les plantes.

Chez *M.deserti* de Noé, les rendements d'extraction éthanoliques sont significativement plus élevés que ceux des extraits aqueux. Les feuilles de cette espèce montrent un rendement légèrement supérieur par rapport aux tiges pour les deux types

d'extraits. Similairement à *M.deserti* de Noé, les extraits éthanoliques de *M.vulgare* L. montrent des rendements supérieurs aux extraits aqueux. Ses feuilles présentent également un rendement plus élevé que les tiges dans les deux types d'extraits. Les résultats obtenus concordent avec des études antérieures qui ont également rapporté des rendements d'extraction plus élevés avec l'éthanol par rapport à l'eau pour divers composés bioactifs (Saâd et al., 2016).Cependant, certains auteurs rapportent que dans leurs études sur d'autres espèces végétales, les rendements d'extraction aqueuse étaient (Juodeikaitė et al., 2022).

Les résultats de l'étude montrent que les teneurs en polyphénols sont influencées par plusieurs facteurs, à savoir l'espèce végétale, l'organe de la plante et le solvant utilisé pour l'extraction. *M.deserti* de Noé présente des moyennes plus élevées en polyphénols que *M.vulgare*L. Pour tous les extraits et organes testés. Les feuilles des deux espèces contiennent généralement des concentrations plus élevées de polyphénols par rapport aux tiges. Des résultats similaires ont été obtenus dans différents travaux menés sur d'autres plantes, *Phyllanthus niruri*, *Embllica officinalis* et *Psoraleacorylifolia* (Repajić, 2021; Kumar et al., 2022), ainsi que *Moringaoleifera* (Lokesh, 2022). À l'inverse, dans les feuilles d'agrumes infectées par *Elsinoeausustralis*, les concentrations totales de polyphénols ont considérablement diminué après l'inoculation, ce qui indique une diminution de la richesse en polyphénols due à une infection pathogène (Satpute, 2015).

Plusieurs facteurs peuvent influencer les rendements d'extraction observés dans cette étude. Les conditions environnementales telles que le climat semi-aride de la zone de collecte peuvent influencer la composition phytochimique des plantes, affectant ainsi les rendements d'extraction. Les plantes exposées à des stress environnementaux, comme le manque d'eau, peuvent accumuler des concentrations plus élevées de certains composés bioactifs. Le stade de développement des plantes au moment de la collecte peut également affecter les rendements d'extraction (Bouzdoudi et al., 2017).

La teneur en flavonoïdes est influencée par l'espèce, l'organe de la plante testé et le type de solvant utilisé pour l'extraction. *M. deserti* de Noé présente généralement des teneurs plus élevées en flavonoïdes par rapport à *M. vulgare*, L. sauf pour les extraits aqueux des tiges où *M. vulgare*L. affiche des valeurs comparables voire supérieures. Cette observation pourrait indiquer une variation dans la distribution des flavonoïdes entre les différents organes des deux espèces.

Les feuilles des deux espèces se montrent très riches en flavonoïdes, surpassant systématiquement les teneurs trouvées dans les tiges (Bouzdoudi et al., 2017). Cette richesse en flavonoïdes dans les feuilles peut être attribuée à leur rôle crucial dans la photosynthèse et la protection contre les dommages oxydatifs et les pathogènes. Cependant, il existe des études où les extraits aqueux ont montré des concentrations significatives de flavonoïdes, particulièrement lorsqu'une extraction optimisée est utilisée. Ces divergences peuvent être dues aux différences dans les conditions d'extraction et les types de flavonoïdes présents dans les plantes (Bouzdoudi et al., 2017).

Les conditions climatiques et environnementales peuvent affecter la biosynthèse des flavonoïdes dans les plantes. Les plantes exposées à un stress environnemental, tel que le climat semi-aride de la zone de collecte, peuvent augmenter leur production de flavonoïdes en tant que mécanisme de défense.

L'analyse des résultats montre que la concentration en tannins est influencée par la diversité de l'espèce, de l'organe de la plante testé, et du solvant utilisé pour l'extraction. En général, *M. vulgare* L (Bouzdoudi et al., 2017). Présente des concentrations plus élevées en tannins que *M. deserti*, de Noé sauf pour l'extrait aqueux des feuilles où *M. deserti* affiche une teneur supérieure. *M. vulgare* se distinguent par leur forte teneur en tannins comparativement à celles de *M. deserti*. Cette différence peut être attribuée à la structure et à la composition chimique intrinsèque des tiges de *M. vulgare*.

L'éthanol est plus efficace que l'eau pour l'extraction des tannins de *M. vulgare* L. En revanche, pour *M. deserti* de Noé ; l'eau s'avère être un solvant plus performant pour l'extraction des tannins. Cette divergence peut être due à la nature des tannins présents dans chaque espèce et leur solubilité respective dans différents solvants.

L'activité antibactérienne des extraits de *Marrubium* révèle plusieurs tendances influencées par la concentration de l'extrait, le type d'extrait, l'espèce végétale et la souche bactérienne testée. *M. deserti* de Noé montre une activité antibactérienne plus élevée contre *S. aureus*, indiquant une meilleure efficacité de ses composés actifs contre cette souche. En revanche, *M. vulgare* est plus efficace contre *E. coli*, suggérant une spécificité des composés actifs en fonction de la souche bactérienne. Les extraits aqueux des deux espèces de *Marrubium* sont généralement plus efficaces que les extraits éthanoliques. Cela peut être

attribué à une meilleure solubilité des composés antibactériens dans l'eau, ce qui permet une plus grande disponibilité des composés actifs pour interagir avec les bactéries. L'efficacité des extraits varie en fonction de la concentration, avec une activité antibactérienne généralement plus élevée à des concentrations plus élevées. Cela souligne l'importance de la dose dans l'efficacité des extraits à inhiber la croissance bactérienne. Les résultats de cette étude convergent avec plusieurs recherches antérieures qui montrent que les extraits aqueux de nombreuses plantes médicinales présentent une activité antibactérienne plus forte par rapport aux extraits éthanoliques. Par exemple, (Kumar et al., 2022) ont trouvé que les extraits aqueux de certaines plantes de la famille des Lamiaceae inhibent efficacement la croissance de *S. aureus* et *E. coli*. En revanche, il existe des études où les extraits éthanoliques ont montré une activité antibactérienne comparable, voire supérieure. Ces divergences peuvent être dues aux différences dans les protocoles d'extraction, les types de composés présents et les spécificités des interactions entre les extraits et les souches bactériennes (Satpute et al., 2015 ; Lokesh et al., 2022).

Conclusion générale et perspectives

Cette étude a permis de caractériser les extraits phytochimiques et d'évaluer les activités biologiques de *M.deserti* de Noé et *M.vulgare* L. en fonction de l'espèce, de l'organe de la plante et du solvant d'extraction.

Les résultats montrent que les teneurs en polyphénols, flavonoïdes et tannins varient significativement en fonction de ces facteurs. L'éthanol s'avère plus efficace que l'eau pour l'extraction des polyphénols et des flavonoïdes des deux espèces, avec des concentrations plus élevées dans les feuilles que dans les tiges. *M.deserti* de Noé présente généralement des moyennes plus élevées en polyphénols et en flavonoïdes par rapport à *M.vulgare* L. Concernant les tannins, l'éthanol est plus performant pour l'extraction de *M.vulgare* L., tandis que l'eau est plus efficace pour *M.deserti* de Noé. Les tiges de *M.vulgare* L. se distinguent par une teneur plus élevée en tannins, et cette espèce montre des concentrations globalement supérieures en tannins par rapport à *M.deserti* de Noé, sauf pour les extraits aqueux des feuilles.

Les activités antioxydantes, mesurées par le test de DPPH, révèlent que l'inhibition des radicaux libres augmente généralement avec la concentration des extraits, les extraits éthanoliques étant plus efficaces que les aqueux. Les tiges présentent des pourcentages d'inhibition plus élevés que les feuilles, et *M.deserti* de Noé affiche une capacité antioxydante supérieure à celle de *M.vulgare* L. L'évaluation de l'activité antibactérienne montre que les extraits aqueux sont généralement plus efficaces que les éthanoliques. *M.deserti* de Noé présente une activité antibactérienne plus élevée contre *S. aureus*, tandis que *M.vulgare* L. est plus efficace contre *E. coli*. Ces résultats soulignent l'importance de la solubilité des composés actifs et la spécificité des interactions entre les extraits et les souches bactériennes.

De prochaines études pourraient se concentrer sur l'optimisation des méthodes d'extraction pour maximiser la récupération des composés bioactifs et sur l'évaluation des impacts des conditions environnementales et du stade de développement des plantes sur leur composition phytochimique. Ces recherches pourraient contribuer à la valorisation des ressources végétales locales et à l'innovation dans les domaines de la santé et des cosmétiques.

Références bibliographiques

- Abigail, E., Bryson., E., Randall, Lanier., Kin, H., Lau., John, P., Hamilton., Brieanne, Vaillancourt., Davis, T., Mathieu., Alan, E., Yocca., Garret, P., Miller., Patrick, P., Edger., C., Robin, Buell., Björn, Hamberger. (2023). Uncovering a miltiradiene biosynthetic gene cluster in the Lamiaceae reveals a dynamic evolutionary trajectory. *Nature Communications*, doi: 10.1038/s41467-023-35845-1
- Asma, F. (2019). *Étude photochimique et évaluation de l'activité biologique (antioxydante et antibactérienne) des extraits de la plante Teucrium polium L., sous-espèce Thymoides de la région Béni Souik, Biskra*. Thèse de doctorat, Université de Biskra.
- Avasiloaiei D., I., Ma., Socorro, P., Calara., Petre, Brezeanu., Otilia, Cristina, Murariu., C., Brezeanu. (2023). *The Future Perspectives of On Some Medicinal Plants within Lamiaceae Botanic Family Regarding Their Comprehensive Properties and Resistance against Biotic and Abiotic Stresses*. *Genes*, doi: 10.3390/genes14050955.
- Bajpai, V. K., Baek, K. H., & Kang, S. C. (2012). Control of Salmonella in foods by using essential oils: A review. *Food Research International*, 45(2), 722-734.
- Bezenger I; Beuquesne E; pinkas M; & Touck M. (1986). *Les plantes dans la thérapeutique moderne*. Ed-Maloine, p469.
- Bhar H., Balouk A. (2011). *Les plantes aromatiques et médicinales. Dossier de l'espace Marocain* (68), 21-46/ 2ème trimestre, Maroc.
- Bouzdoudi, B., Najlae., Ammouri., El, Joly, N., et Martin Patrick., Rabah., S., Nejjar Z., (2017). Total Polyphenols and Gallic Acid Contents in Domesticated Carob (*Ceratonia siliqua* L.) Pods and Leaves. *International Journal of Pure & Applied Bioscience*, doi: 10.18782/2320-7051
- Bouzid, W., Abderrahim, L.A., Souguir, M., & Hannachi, A.S. (2021). Phytochemical profile, antioxidant and antibacterial activities of *Marrubium deserti* extract. *Industrial Crops and Products*, 165, 113426.
- Eckhoff, P. A., Wenger, E. D., Godfray, H. C. J., & Burt, A. (2017). Impact of mosquito gene drive on malaria elimination in a computational model with explicit spatial and temporal dynamics. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 114(2), 255-264. doi: 10.1073/pnas.1611064114

- Fadili, K., Hannouzerkani, Smailamalich & Touriyazair. (2017). Phytochemical Study And Evaluation Of Antioxidant Activity Of Leaves And Fruits Of Capparis spinosa L. *American Journal Of Innovative research And Applied Sciences*.110-116.
- Fontaine, E. (2017). *Radicaux libre ; in 'Traite de Nutrition Artificielle de l'adulte*. Springer-Verlag. France.
- Gavarić, A., Vladić, J., Vujetić, J., Dragan, R., Volarić, A., Jelena, Ž., Katarina, Š., Senka, V. (2022). The Application of Ultrasonic Waves and Microwaves to Improve Antihyperglycaemic and Antimicrobial Activities of Marrubium vulgare Extracts. *Antibiotics*, doi: 10.3390/antibiotics11111475
- Ghasemzadeh, A. & Ghasemzadeh, N. (2011). Flavonoids and Phenolic acids: Role and Biochemical activity in plants and human. *Journal of Medicinal Plants Research* , 5 (31): 6697-6703.
- Guittonneau G.G. (2011). *Flore et végétation de la Tunisie méridionale. Documents sur Les Activités de la Société botanique de France*, 281-359, France.
- Gupta, S. C., Prasad, S., Kim, J. H., Patchva, S., Webb, L. J., Priyadarsini, I. K., & Aggarwal, B. B. (2011). Multitargeting by curcumin as revealed by molecular interaction studies. *Nat Prod Rep*, 28(12), 1937-1955.
- Hemaiswarya, S., Kruthiventi, A. K., & Doble, M. (2008). Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases. *Phytomedicine*, 15(8), 639-652. DOI: 10.1016/j.phymed.2008.06.008
- Juodeikaitė, D., Zilius, M., & Briedis, V. (2022). Preparation of Aqueous Propolis Extracts Applying Microwave-Assisted Extraction. *Processes*, doi: 10.3390/pr100713
- Justin, N. K., Edmond, S., Ally, R. M. and Xin, H. (2014). Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function and Pharmacological Properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2: 377-392.
- Kumar, S., Chozhan, K. et Muruges A. (2022). Determination of Bioactive compounds in the leaf extract of Phyllanthus niruri, Emblica officinalis and Psoralea corylifolia. *Journal of Ayurvedic and herbal medicine*, doi:10.31254/jahm.2022.8104
- Lokesh, P., Chaudhari, A., Kossar, U., Patil, K. et Ahirwar, V. (2022). Pharmacognostical, phytochemical and antioxidant potential of hydroalcoholic extract of lam leaves. *Indian Journal of Pharmacy and Pharmacology*, doi: 10.18231/j.ijpp.2022.043

- Mahdi, I., Ben Bakrim W., Thierry, G., Bitchagno, M. Annaz, H., Mona, F. M. et Sobeh, M. (2022). Unraveling the Phytochemistry, Traditional Uses, and Biological and Pharmacological Activities of *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, doi: 10.1155/2022/6487430
- Makkar, H. P., Blümmel, M., Borowy, N. K., Becker, K. (1993). Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods. *Journal of the science of food and agriculture*, 61(2), 161-165.
- Mariod, A. A., & Tahir, H. E. (2022). Multiple Biological Activities of Unconventional Seed Oil. *Science direct Journal*, 17-28.
- Newman, D.J. & Cragg, G.M. (2012). Naturel products as sources of new drugs over the 30 Years from 1981 of 2010. *J.Nat. Prod*, 75: 311-335.
- Pinto, E., Vaz, A. F., & Freitas, D. A. (2018). Antiviral Properties of Plant Extracts and Phytochemicals: Mechanisms of Action and Perspectives for Drug Development. *Phytochemistry Reviews*, 17(5), 1061-1076.
- Raven, H., Evert, R.F., & Eichhorn S.E. (2000). *Biologie végétale* (6^é èd). (B. Jules., Et M. Charles, Trad.). Paris.
- Repajić, M., Cegledi, E., Zorić, Z., Pedisić, S., Elez, I. et al. (2021). Bioactive Compounds in Wild Nettle (*Urtica dioica* L.) Leaves and Stalks: Polyphenols and Pigments upon Seasonal and Habitat Variations. *Foods*, doi: 10.3390/FOODS10010190
- Rota, M., Herrera, A., Martinez, R., Sotomayor, J., Jordán, M. (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. *Food control*, 19:681-687.
- Royer M. (2013). *Étude des relations entre croissance, concentrations en Métabolites Primaires et secondaires et disponibilité en ressources chez la Tomate avec ou sans Bioagresseurs*. Agronomie. Université de Lorraine.
- Saad, S., Ouafi, S\$. et Chabane D. (2016). Anti-inflammatory and acute toxicity evaluation of aqueous infusion extract obtained from aerial parts of *Marrubium deserti* de Noé growing in Algeria. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, doi: 10.21010/AJTCAM.V13I1.10
- Satpute, A., Nasir, S., Malik, A., Jose, Perez, L., et John, V. (2015). Changes in Polyphenols in 'Rio Red' Grapefruit Leaves in Response to *Elsinoë australis* Infection. *Phytoparasitica*, doi: 10.1007/S12600-015-0483-0

- Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteureagent. *Methods In enzymology*, 299, 152-178.
- Taïbi, K., Abderrahim, L. A., Boussaid, M., Taïbi, F., Achir, M., Souana, K., ... & Said, K. N. (2021). Unraveling the ethnopharmacological potential of medicinal plants used in Algerian traditional medicine for urinary diseases. *European Journal of Integrative Medicine*, 44, 101339.
- Taïbi, K., Abderrahim, L. A., Boussaid, M., Taïbi, F., Achir, M., Souana, K., & Tadj, A. (2024). Phylogeny, Phytochemistry, Traditional Uses and Pharmaceutical Properties of *Thapsia* spp. Roots. In *Medicinal Roots and Tubers for Pharmaceutical and Commercial Applications* (pp. 64-73). CRC Press. eBook ISBN: 9781003295037
- Zaabat N., Darbour N., Bayet C., Michalet S., Doléans-Jordhein A., Chekir-Ghedira L., Akkal S., & Dijoux-Franca M.G. (2010). *Etude préliminaire de Marrubium deserti de Noé, Une lamiaceae endémique algérienne : Pharmacognosie*. France.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents In mulberry and their scavenging effects on super oxideradicals. *Food chemistry*, 64(4), 555-559.