

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministre De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique

Université Abderrahmane Mira-BEJAIA



Faculté de Technologie  
Département de Génie des Procédés



Mémoire de Fin de Cycle

En vue de l'Obtention du Diplôme de

**MASTER**

En Génie des Procédés

Spécialisé : Génie Pharmaceutique

**Thème**

**Extraction et Etude de l'effet thérapeutique du Marrubium vulgare L.officinale**

Réalisé par :

BRIKH Lahna.

ACHOUR Amina.

Membres de jury :

Encadrant : M<sup>me</sup> BELHADJ Nadra.

**Présidente** : M<sup>me</sup> Bouariche Zakia.

**Examinatrice** : M<sup>me</sup> BELKACEMI Hayet.

**Année universitaire**

2022/2023

# *Remerciements*

*Tout d'abord, on aimerait remercier Dieu le tout-puissant, de nous avoir donné la force et la patience de pouvoir mener ce travail à terme.*

*Il nous est agréable d'exprimer notre profonde gratitude à notre promotrice M<sup>me</sup> BELHADJ Nadra pour avoir accepté de nous encadrer, pour ses conseils, ses orientations, pour toute l'attention qu'elle a apporté aux détails tout au long de ce travail, on la remercie.*

*Nous exprimons notre gratitude envers tous les membres du jury qui ont accordé leur précieux temps pour examiner notre travail, partageant ainsi leur savoir et leurs critiques qui contribueront à améliorer notre expertise.*

*Nos remerciements s'adressent également à tous les membres de notre laboratoire et tous les collègues de la promotion, nous leur exprimons nos respects et nos profondes sympathies.*

*Enfin, nous adressons nos remerciements à toutes les personnes qui ont contribué à ce travail en créant une atmosphère propice, nous permettant de dépasser la fatigue et de renouveler notre motivation à chaque instant.*

# *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail à la mémoire de mon père qui nous a  
quitté il y a quatre ans et qui a souhaité voir ce jour pour  
partager avec nous ce moment de bonheur.*

*J'espère que, du monde qui est sien maintenant il apprécie cet  
humble geste comme preuve de reconnaissance, de la part de sa  
fille qui a toujours travaillé très dur pour réussir.*

*Paix a son âme, que dieu le tout puissant l'accueille dans son  
vaste Paradis...*

*A mon cher frère Tahar.*

*A toute ma famille et mes amis.*

*BRIKH Lahna*

# *Dédicaces*

*Avec toute mon affection, je dédie ce modeste travail à :*

*Mon très cher père Mohamed et ma très chère mère  
Hafida pour leurs sacrifices, leur confiance, leur soutien  
et leur affection.*

*Je leur serai éternellement reconnaissante.*

*Ma sœur bien aimée Hanane pour son soutien et ses  
encouragements*

*Mes très chers frères Raouf et Malek.*

*Ma chère binôme Lahna.*

*Mes amies Lidia et Nissa pour leurs encouragements*

*Toute ma famille et mes amis.*

*Enfin à tous ceux que j'aime et tous ceux qui ont une  
place particulière dans mon cœur.*

*ACHOUR Amina*



## Liste des Figures

---

<b>Figure I.1</b> : Marrubium vulgare.....	6
<b>Figure I.2</b> : La répartition géographique du M.vulgare.....	7
<b>Figure I.3</b> : La racine du M.vulgare.....	8
<b>Figure I.4</b> : La tige du M.vulgare.....	8
<b>Figure I.5</b> : Les feuilles du M.vulgare.....	8
<b>Figure I.6</b> : La corolle et le calice de la fleurs de M.vulgare.....	8
<b>Figure I.7</b> : Structure chimique du M.vulgare.....	11
<b>Figure I.8</b> : Structure de quelques flavonoïdes isolés de M. vulgare.....	11
<b>Figure I.9</b> : Principales structures moléculaires présentes chez M. vulgare.....	12
<b>Figure I.10</b> : Les différentes sous-classes des flavonoïdes.....	15
<b>Figure I.11</b> : Structure des tanins hydrolysables.....	16
<b>Figure I.12</b> : Structure des proanthocyanidines polymères.....	17
<b>Figure I.13</b> : Schoenenberger Sirop de marrube blanc, 200 ml.....	20
<b>Figure I.14</b> : Flacon de d'huile végétale de marrubium vulgare.....	21
<b>Figure I.15</b> : Flacon de teinture-mère de marrubium vulgare.....	23
<b>Figure I.16</b> : Flacon d'hydrolat de Marrubium vulgare.....	24
<b>Figure I.17</b> : Boite de comprimés Flash'Rub.....	25
<b>Figure I.18</b> : Boite de gélules de marrubium vulgare 200mg.....	27
<b>Figure I.19</b> : Boite de gélules de marrubium vulgare 300 gélules à 200mg.....	28
<b>Figure I.20</b> : Tube de granules de marrubium vulgare 4 grammes.....	29
<b>Figure I.21</b> : Lierac Supra Radiance Gel-Creme Renovatrice Anti-Ox.....	30
<b>Figure I.22</b> : Lierac Supra Radiance Eye Radiance Serum.....	31
<b>Figure II.1</b> : photographie de plante.....	33
<b>Figure II.2</b> : Localisation de la commue SEMAOUNE.....	33
<b>Figure II.3</b> : séchage des feuilles et des fleurs.....	34
<b>Figure II.4</b> : Poudre de feuilles et de fleurs .....	34
<b>Figure II.5</b> : Broyeur ( <b>Retsch ZM 200</b> ).....	34
<b>Figure II.6</b> : Les feuilles et les fleurs du Marrubium vulgare avant et après séchage.....	35
<b>Figure II.7</b> : Les étapes d'extraction de feuilles.....	36
<b>Figure II.8</b> : Les étapes d'extraction des fleurs.....	37
<b>Figure II.9</b> : Evaporateur rotatif IKA.....	37
<b>Figure II.10</b> : Protocole d'analyse par chromatographie sur couche mince.....	40

## Liste des Figures

---

<b>Figure II.11</b> : Lampe UV-Visible.....	41
<b>Figure II.12</b> : Appareil de l'UV-Vis Spectrophotomètre (UV-1205).....	42
<b>Figure II.13</b> : Un système chromatographie HPLC .....	43
<b>Figure II.14</b> : Un appareil ULTIMATE HPLC 3000.....	43
<b>Figure II.15</b> : Neutralisation du radical DPPH• en présence d'un antioxydant.....	47
<b>Figure II.16</b> : photographie du pied d'une jeune fille de 36 ans, atteint par une infection fongique causée par <b>Candida albicans</b> .....	49
<b>Figure II.17</b> : champignon le Candida albicans.....	50
<b>Figure III.1</b> : Le rendement d'extraction.....	51
<b>Figure III.2</b> : Teneurs en polyphénols des feuilles et fleurs (mg EAG/g d'extrait sec).....	59
<b>Figure III.3</b> : Teneurs en Flavonoïdes des feuilles et fleurs (mg EQR/g d'extrait sec).....	60
<b>Figure III.4</b> : Teneurs en Tanins gallique des feuilles et fleurs (mg EAG/g d'extrait sec).....	60
<b>Figure III.5</b> : Teneurs en Tanins condensés des feuilles et fleurs (mg ECaté/ g d'extrait sec).....	61
<b>Figure III.6</b> : Etude comparative de l'activité anti oxydante des extraits aqueux des parties aériennes de <i>M.vulgare</i> et acide ascorbique.....	62
<b>Figure III.7</b> : Photographies des résultats de l'application quotidienne pendant 30 jours de l'extrait aqueux de feuilles de marrube blanc sur le pied infecté par <b>Candida albicans</b> .....	63
<b>Figure III.8</b> : Lotion aqueuse à base de l'extrait de feuilles du <b>M.vulgare</b> .....	65
<b>Figure III.9</b> : pommade à base de l'extarite de feuilles du <i>M.vulgre</i> .....	65

## Liste des Tableaux

---

<b>Tableau I.1</b> : Distribution de l'espèce Marrube en Algérie.....	7
<b>Tableau I.2</b> : Classification botanique du M.vulgare.....	9
<b>Tableau I.3</b> : Les différents constituants actifs de M.vulgare.....	13
<b>Tableau I.4</b> : Principales classes des phénols.....	13
<b>Tableau II.1</b> : Les différentes réactions utilise pour la caractérisation par coloration.....	39
<b>Tableau III.1</b> : Taux d'humidité des feuilles et des fleurs du Marrubium vulgare.....	51
<b>Tableau III.2</b> : Résultats des tests de caractérisation par coloration réalisées sur l'extrait aqueux des feuilles de Marrubium vulgare.....	53
<b>Tableau III.3</b> : Résultats des tests de caractérisation par coloration réalisées sur l'extrait aqueux des fleurs de Marrubium vulgare.....	54
<b>Tableau III.4</b> : Resultats d'analyse CCM pour l'extarit de feuilles et fleurs de M.vulgare...	56
<b>Tableau III.5</b> : Les temps de rétention des extraits et des standards.....	57
<b>Tableau III.6</b> : Teneurs des métabolites secondaire dans l'extrait aqueux des feuilles et fleurs du M.vulgare.....	58
<b>Tableau III.7</b> : Les différents symptômes.....	64



# Sommaire

## Sommaire

---

Introduction .....	1
--------------------	---

### **Chapitre I : Aspet théorique de l'étude**

I.1 La phytothérapie.....	3
I.1.1 Définition de la phytothérapie.....	3
I.1.2 Les Différentes types de la phytothérapie.....	3
I.1.3 Principe de la phytothérapie.....	4
I.1.4 Avantages et inconvénients de la phytothérapie.....	4
I.2 Etude botanique de la plante (Marrubium vulgare).....	5
I.2.1 Historique.....	6
I.2.2 L'origine et la répartition géographique de la plante .....	6
I.2.3 Le genre de Marrubium vulgare.....	7
I.2.4 La description botanique de la plante.....	8
I.2.5 La classification botanique du M.vulgare .....	9
I.2.6 l'Utilisation traditionnel de la plante .....	9
I.2.8 Formes d'utilisation et posologie.....	10
I.2.8 Contre-indication et effets indésirables.....	10
I.2.9 Composition chimique de la plante.....	10
I.2.10 Composition biochimique de la plante.....	11
I.3 Les molécules bioactives dans Marrubuim vulgare.....	13
I.3.1 Les polyphénols.....	13
I.3.2 Les flavonoïdes .....	14
I.3.3 Les tanins.....	15
I.3.4 Diterpènes labdanes.....	17
I.3.5 Les huiles essentielles.....	18
I.4. Formes galéniques pour les médicaments à base de marrube blanc.....	19
I.4.1 La forme galénique liquide.....	19
I.4.2 La formes galénique solide.....	25
I.4.3 Les formes galéniques semi-solides.....	30

### **Chapitre II : Matériels et Méthodes**

II.1 Matériel végétale.....	33
-----------------------------	----

## Sommaire

---

II.1.1 Préparation de la matière végétale pour l'extraction .....	33
II.2 Détermination de taux d'humidité .....	35
II.3 Extraction des métabolites secondaires du <i>Marrubium vulgare</i> .....	36
II.4 Détermination de rendement d'extraction.....	37
II.5 Méthodes de caractérisations qualitatives et quantitatives des métabolites secondaires dans les extraits de feuilles et de leurs du <i>Marrubium vulgare</i> .....	38
II.5.1 Méthode de caractérisation qualitatives.....	38
II.5.1.1 Le skreening phytochimque.....	38
II.5.1.2 Caractérisation par chromatographie.....	39
II.5.1.2.1 Chromatographie sur couche mince CCM .....	39
II.5.1.2.2 Caractérisation par UV-Visible.....	41
II.5.1.2.3 Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC).....	42
II.5.2 Etude quantitative des métabolites secondaires dans les extrais de marrube blanc.....	43
II.5.2.1 Dosage des polyphénols totaux .....	43
II.5.2.2 Dosage des flavonoïdes.....	44
II.5.2.3 Dosage des tanins condensés.....	45
II.5.2.4 Dosage des tanins gallique.....	46
II.6 Evaluation de l'effet antioxydant Evaluation de l'effet antioxydant des extraits de feuilles et de fleurs de marrube blanc .....	46
II.7 Evaluation de l'activité antifongique des extraits de feuilles de marrube blanc.....	49
II.8 Préparation de la Lotion à base de d extrait aqueux de feuilles de marrube blanc.....	50
II.9 Préparation d'une pommade.....	50

## Chapitre III : Résultats et discussions

III. Interprétation des résultats.....	51
III.1 Détermination du taux d'humidité dans les parties aérienne du <i>Marrubium vulgare</i> .....	51
III.2 Détermination de rendement d'extraction.....	51

## Sommaire

---

III.3 Caractérisations qualitative des métabolites contenus dans les feuilles et les fleurs de Marrubium vulgare.....	52
III.3.1 Résultats du screening phytochimique.....	52
III.3.2 Caractérisations par Chromatographie sur couche mince (C.C.M).....	56
III.3.3 Caractérisation par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC).....	57
III.4 Caractérisations quantitative des métabolites contenus dans les feuilles et les fleurs de M.vulgare.....	58
III.4.1 Dosages des polyphénols, des flavonoïdes et les tanins.....	58
III.5 Evaluation de l'effet antioxydant.....	61
III.6 Evaluation in vivo de l'activité antifongique d'extrait de feuilles de Marrubium vulgare.....	62
III.7 Préparation d'une Lotion à base de l'extrait de feuilles du M.vulgare.....	64
III.7.1 Préparation d'une pommade à base de l'extrait de feuilles du M.vulgare.....	65
Conclusion .....	66

# **Introduction**

## Introduction générale

---

L'utilisation de la phytothérapie, une forme de médecine traditionnelle basée sur l'utilisation des plantes médicinales, est répandue depuis des milliers d'années. Cela revêt une importance croissante sur le plan sanitaire et économique, en particulier dans les pays en développement où elle est accessible et abordable pour les patients les plus démunis, en raison du coût élevé et de l'indisponibilité de certains médicaments sur le marché [1]. Les plantes offrent une source inépuisable de molécules pouvant avoir un intérêt thérapeutique. Ainsi, de nombreuses recherches actuelles se concentrent sur l'étude des métabolites secondaires présents dans les plantes médicinales, qui sont souvent les principes actifs responsables de leurs effets thérapeutiques. L'industrie pharmaceutique s'appuie largement sur ces métabolites pour le développement de nouveaux médicaments [2].

Notre étude est axée sur le Marrubium vulgare, également connu sous le nom de Marrube blanc (Merrouyeth), une plante médicinale traditionnellement utilisée en Algérie, notamment en Kabylie. Cette plante a une longue histoire d'utilisation pour soulager les affections respiratoires telles que la toux, l'asthme et la bronchite, ainsi que pour traiter les troubles digestifs légers. Le Marrube blanc est également réputé pour ses propriétés antispasmodiques, aidant à soulager les spasmes musculaires et les douleurs associées. De plus, cette plante possède des propriétés hypotensives, antioxydantes, insecticides et vermifuges [3]. Dans le cadre de notre étude, nous nous concentrons sur l'identification des métabolites secondaires présents dans le Marrubium vulgare, tels que les polyphénols totaux, les flavonoïdes et les tanins condensés et galliques. Nous évaluons également l'effet antioxydant de cette plante, ainsi que son potentiel antifongique contre une inflammation causée par le champignon *Candida albicans*. Nous espérons que nos résultats contribueront à la valorisation de cette plante médicinale et pourront ouvrir la voie à de nouvelles perspectives thérapeutiques pour traiter différentes affections.

Parallèlement à ces études, nous développons également deux formes galéniques à base de l'extrait de marrube blanc. Ces formulations sont conçues pour faciliter l'administration et l'utilisation de l'extrait de manière pratique et efficace.

Notre travail est organisé en trois chapitres :

- Le premier chapitre aborde la phytothérapie en général et présente une étude détaillée sur le Marrube blanc, y compris son utilisation traditionnelle, ses composants chimiques, ainsi que les différentes formes galéniques à base de Marrube blanc.
- Le deuxième chapitre présente la méthodologie de laboratoire que nous avons utilisée, y compris une étude phytochimique détaillée de la plante, en mettant l'accent sur l'isolement des

## Introduction générale

---

composés poly phénoliques majeurs présents dans les feuilles et les fleurs. Nous présentons également une étude de l'activité antioxydante de ces extraits, ainsi qu'un test antifongique in vivo de l'extrait de Marrube blanc.

- Le troisième chapitre regroupe les résultats obtenus à partir de nos recherches et offre des interprétations éclairées en analysant les données recueillies, permettant de tirer des conclusions significatives sur l'effet antioxydant et les éventuelles applications thérapeutiques du Marrube blanc comme antifongique.

Enfin, on termine notre étude par une conclusion et des perspectives.





# Chapitre I

## **I.1 La phytothérapie**

### **I.1.1 Définition de la phytothérapie**

Depuis 1987 la phytothérapie est reconnue à part entière par l'Académie de médecine ; et classée la quatrième branche de la connaissance des plantes médicinales ou elle décrit les possibilités et les limites de l'application des produits phytothérapeutiques aux indications la médecine humaine [4].

Le mot « phytothérapie » se compose étymologiquement de deux racines grecques (phyto et thérapie) qui signifient respectivement plante et traitement. La phytothérapie est définie comme étant une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou états pathologiques au moyen de plantes, parties de plantes ou de préparations à base de plantes, qu'elles soient consommées ou utilisées en voie externe [5].

Il est important de ne pas confondre cette discipline avec la phytopharmacie qui désigne l'ensemble des substances utilisées pour traiter les plantes, à savoir les pesticides, fongicides, herbicides ou encore insecticides [6].

### **I.1.2 Les Différentes types de la phytothérapie**

#### **A. La phytothérapie traditionnelle**

C'est une thérapie de substitution qui a pour but de traiter les symptômes d'une affection, ses origines peuvent parfois être très anciennes et elle se base sur l'utilisation de plantes selon les vertus découvertes empiriquement. Les indications qui s'y rapportent sont de première intention, propres au conseil pharmaceutique. Elles concernent notamment les pathologies saisonnières depuis les troubles psychosomatiques légers jusqu'aux symptômes hépatobiliaires, en passant par les atteintes digestives ou dermatologiques. On peut citer par exemple les graines de Chardon marie (*Silybum marianum* L.) qui sont utilisées pour traiter les troubles fonctionnels digestifs attribués à une origine hépatique. En effet cette drogue se distingue par ses propriétés hépato protectrice et régénératrice de la cellule hépatique associées à une action cholérétique. Pline l'Ancien (23-79) lui-même recommandait de prendre le jus de la plante mélangé à du miel pour éliminer les excès de bile" [7].

**B. La phytothérapie clinique**

C'est une médecine de terrain dans laquelle le malade passe avant la maladie. Une approche globale du patient et de son environnement est nécessaire pour déterminer le traitement, ainsi qu'un examen clinique complet. Son mode d'action est basé sur un traitement à long terme agissant sur le système neuro-végétatif. Cette fois-ci les indications sont liées à une thérapeutique de complémentarité. Elles viennent compléter ou renforcer l'efficacité d'un traitement 23 allopathique classique pour des pathologies aiguës d'importance modérée (infection grippale, pathologies O.R.L...). On va principalement agir sur les effets secondaires. On peut citer par exemple l'utilisation chez un vagotonique de la Lavande (*Lavandula angustifolia* Mill.) en usage interne pour ses effets anti-stress, calmant, et pour ses actions contre les crampes musculaires, ainsi que contre les troubles du sommeil [8].

**I.1.3 Principe de la phytothérapie**

La phytothérapie repose sur l'utilisation de plantes médicinales à des fins thérapeutiques, la logique de traitement est également différente entre la médecine classique et la phytothérapie. En médecine classique, les fabricants pharmaceutiques extraient le principe actif des plantes pour en faire des médicaments et pour la médecine moderne est substitutive c'est-à-dire que les médicaments classiques régularisent les fonctions de l'organisme et le soulagent du besoin de s'auto guérir [9,10].

**I.1.4 Avantages et inconvénients de la phytothérapie****▪ Avantages**

- Les plantes médicinales d'usage courant ne provoquent que très peu, voire aucun effet indésirable.
- La phytothérapie est rentable et moins coûteuse que les médicaments achetés dans une pharmacie allopathique.
- Ils sont disponibles dans n'importe quel magasin de la santé ou on peut les acheter sans ordonnance.
- La phytothérapie et les remèdes sont plus efficaces que la médecine allopathique pour certains maux.
- La médecine chimique prescrite par un pharmacien pourrait avoir certains effets secondaires négatifs. Cependant, la plupart des herbes médicinales et les remèdes n'ont pas d'effets secondaires négatifs. Le cas échéant, ils sont plus doux que la médecine allopathique.

- La phytothérapie peut être utilisée efficacement pour le processus de détoxification du corps naturel.

- La phytothérapie, qui inclut des herbes telles que le gingembre, le poivron, l'ail et agripaume aider à contrôler les maladies liées à la circulation du sang telles que l'hypertension artérielle, les ulcères variqueux et ainsi de suite. Beaucoup de plantes médicinales sont utilisées pour traiter les maladies coronariennes et de réduire le niveau de cholestérol dans le sang.

- L'obésité est la cause de nombreux problèmes de santé. La phytothérapie peut aider à réduire l'excès de poids et de réguler l'appétit [11].

### ▪ Inconvénients

- La phytothérapie contient divers ingrédients et il faut être sûr que le corps n'est pas allergique.

- La phytothérapie peut avoir des effets secondaires négatifs et ces effets secondaires ne peuvent être révélés immédiatement.

- Elle n'est pas réglementée contrairement à l'industrie pharmaceutique [12].

## I.2 Etude botanique de la plante (*Marrubium vulgare*)

Le nom botanique latin de la plante "*Marrubium*" proviendrait de "*Maria urbs*" une ancienne ville d'Italie. D'autres étymologistes avancent que son origine viendrait de l'hébreu "*Marrob*" désignant un jus amer [13].

Les botanistes la nomment "*Marrubium vulgare*", connue, tels que : marrube blanc, marrube commun, herbe à la Vierge, herbe aux crocs, marrube vulgaire, marrube des champs, bonhomme, bouenriblé, mariblé.....etc [14]. En arabe il est connu par le nom *Marrioua* [15], en **afrique du nord** il est connu sous le nom de *Marriouth* [16] ou, *Marroubia* [17,18] et dans la région **kabyle** il est communément appelé *Beruit*, *mariouet*, *Farasiyun*, *sennar*, *umdatat-tabib* [19].

Le Marrube blanc ou Marrube Commun (*Marrubium vulgare*) est une plante herbacée du genre *Marrubium* de la famille des Lamiacées, cette dernière est une famille exceptionnellement homogène ; elle comporte 260 genres et entre 6500 à 7000 espèces présentées sous formes d'herbes ou arbustes considère comme étant des aromatiques, poilues et glanduleuses (**Figure I.1**).



**Figure I.1 : Marrubium vulgare [20].**

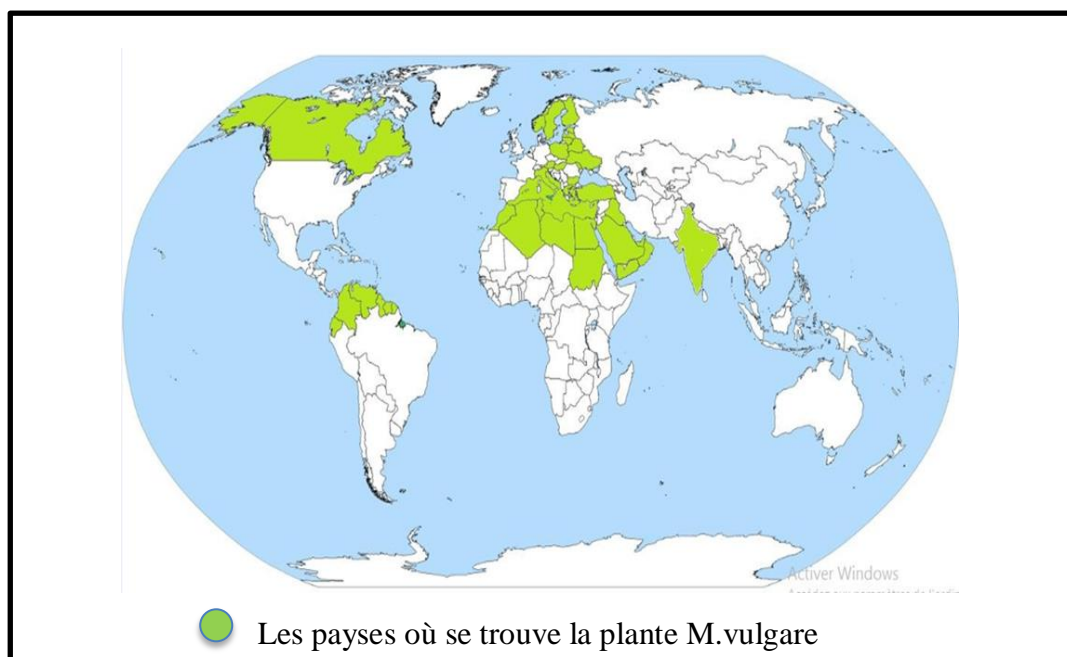
### **I.2.1 Historique**

Connu depuis l'antiquité, les égyptiens l'utilisèrent, comme principal ingrédient, dans un antidote des poisons végétaux. Elle était déjà considérée comme le spécifique des affections de l'appareil respiratoire dans l'Égypte et la Grèce anciennes. Au Moyen Âge, ils l'employaient couramment dans le traitement des mêmes maux, a été reconnu tonique et diurétique. Elle est considérée par J.-E. Gilibert (1798) comme l'une des meilleures plantes d'Europe [21].

### **I.2.2 L'origine et la répartition géographique de la plante**

L'espèce est originaire d'Europe méridionale ; on la trouve à l'état spontané dans les sites abandonnés, surtout en station chaude et ensoleillée. C'est une espèce nitrophile, qui est habituellement rencontrée au voisinage des habitations, au pied des murs, en bordure des chemins et dans les terrains vagues [22].

Le Marrube blanc est une plante qui se trouve presque dans toute l'Europe, en Asie, et surtout très répandue dans toute l'aire méditerranéenne notamment au Maroc, Tunisie, Libye, Egypte et en Algérie et ainsi depuis longtemps elle est répandue un peu partout dans l'hémisphère Nord, notamment aux États-Unis et au Canada où il est développé (**Figure I.2**) [19].



**Figure I.2 :** La répartition géographique du *M.vulgare* [19].

### I.2.3 Le genre de *Marrubium vulgare*

Le genre de *Marrubium* comporte 97 espèces qui répondent principalement le long de la méditerranée, les zones tempérées du continent eurasiatique et quelques pays d'Amérique Latine [23]. En Algérie, on retrouve 6 espèces différentes au sein de ce même genre : *Marrubium vulgare*, *Marrubium supinum*, *Marrubium peregrinum*, *Marrubium alysson*, *Marrubium alyssoides* Pomel et *Marrubium deserti* de Noé (voir le tableau ci-dessous) [16].

**Tableau I.1 :** Distribution de l'espèce *Marrube* en Algérie [16].

Espèces	Abondance	Distribution en Algérie	Répartition
<b>M.vulgare</b>	Très commun	Dans toute l'Algérie	Cosmopolite
<b>M.Supinum</b>	Rare	Atlas Sahara en oranais et Algérois baute plateaux Algérois et oranais	Ibéro-mauritanien
<b>M.peregrinum</b>	Très rare	Atlas Tellien	Euro-méditerranéen
<b>M.alysson</b>	Très commun	Partout sauf sur le littoral Algéro-constantinois	Ibéro-Mauritanien
<b>M.alyssoides pomel</b>	Rare	Plaines littoral et Atlas tellien	Endémique
<b>M.deserti de noé</b>	Commun	Sahara septentrionale et centrale	Sahara

**I.2.4 La description botanique de la plante**

Le Marrubium c'est une plante herbacée vivace pérenne une couleur grisonnante qui peut atteindre une hauteur jusqu'au 80 cm et qui présente une légère ressemblance avec la menthe ; elle dégage une odeur forte, sa saveur est acre et amère. C'est une plante a reproduction entomophile.

Le Marrubium vulgare fleurit à partir du mois d'avril au mois d'octobre [24,25] généralement tôt au printemps. Les feuilles duveteuses sont opposées, pétiolées, ovales-arrondies, bordées de dents inégales, ridées et vert blanchâtre (**Figure I.4**) [26] ; les tiges carrées sont simples ou ramifiées, droites ou légèrement couchées à la base, blanches et cotonneuses (**Figure I.4**) [27]. Les fleurs sont petites et blanches (1.2-1.5 cm de long) réunies en glomérules compactes espacées sur la tige. La corolle à deux lèvres inférieure trilobée, la supérieure a deux lobes (**Figure I.5**). La calice de dix dents courtes et crochues, quatre étamines sont cachées dans le tube de la corolle (**Figure I.6**), pour les fruits sont des quatre petits akènes cachés a la base du calice persistant. Ils sont lisses et glabres et mûrissent en automne, et pour les racines M.vulgare possède de gros rhizomes (**Figure I.3**) [21,28].



**Figure I.3** : La racine du M.vulgare [29].



**Figure I.4** : La tige du M.vulgare[29].



**Figure I.5** : Les feuilles du M.vulgare[30]



**Figure I.6** : La corolle et le calice la fleur du M.vulgare[31].

### I.2.5 La classification botanique du *M.vulgare*

Une classification botanique du *Marrubium vulgare* est résumée dans le **Tableau I.2**

**Tableau I.2** : Classification botanique du *M.vulgare* [26].

<b>Règne</b>	<b>Végétale</b>
<b>Sous règne</b>	<b>Plantes vasculaire</b>
<b>Embranchement</b>	<b>Spermatophytes</b>
<b>Division</b>	<b>Magnoliophytes</b>
<b>Classe</b>	<b>Magnolipsides</b>
<b>Sous classe</b>	<b>Astérides</b>
<b>Ordre</b>	<b>Lamiales</b>
<b>Famille</b>	<b>Lamiacées</b>
<b>Genre</b>	<b><i>Marrubium</i></b>
<b>Espèce</b>	<b>Vulgare</b>
<b>Nom binominal</b>	<b><i>Marrubium vulgare</i></b>

### I.2.6 l'Utilisation traditionnel de la plante

*M.vulgare* est une plante médicinale utilisée dans plusieurs pays pour le traitement d'une variété de maladies, y compris les troubles inflammatoires (dermatite, otite) [32] et gastro-entérite dans le cas de l'ulcère [33,34]. Il est recommandé comme antispasmodique [35], insecticide et vermifuge en détruisant les vers intestinaux [36,37].

*M.vulgare* est utilisée également dans le traitement des maladies neurodégénératives y compris la maladie d'Alzheimer par son effet inhibiteur sur le cholinestérase en augmentant la fonction cholinergique centrale [38]. Marrube blanc est surtout antitussif connu comme un remède contre la toux [39]. Le marrube blanc est aussi antiseptique [40,41] sous forme de pommade, il est utilisé pour désinfecter les plaies

Il est utilisé comme stimulant général de l'appétit et de la digestion [42]. Il est également utilisé pour combattre les états fébriles des enfants en abaissant la fièvre [43]. Et pour traiter les maladies du foie et surtout les affections hépatobiliaires, en augmentant la sécrétion de la bile d'où l'action cholérétique [44,45], il fluidifie les sécrétions bronchiques et facilite l'expectoration.



La présence de mucilages anti-inflammatoires le rend utile dans le traitement des inflammations de la gorge, c'est un dilatateur des bronches, donc il a une action bénéfique sur l'asthme [43]. Il a été utilisé pour le traitement de l'ictère (la jaunisse), la fièvre typhoïde [33] et est employé pour favoriser la perte de poids [46]. En Algérie, la décoction d'El marioua est employée comme antidiabétique, seule ou associée à d'autres plantes médicinales, elle est prescrite aussi comme antithyroïdien, anti-inflammatoire, antipyrétique, anti-diarrhéique, anti-oxydant, antivirale [47,48].

### **I.2.8 Formes d'utilisation et posologie**

- Les tisanes (3 tasses par jour, matin, midi et soir avant les repas) sont préparées à partir d'une infusion de 1,5g de drogue dans 150 ml d'eau bouillante pendant 10 minutes.
- Les teintures : 7.5 ml 3 fois par jour, matin, midi et soir avant les repas.
- Extrait sec : Quantité d'extrait correspondant à 4.5g de plante par jour. Soit 2 gélules par jour.

### **I.2.8 Contre-indication et effets indésirables**

On recommande généralement aux femmes enceintes d'éviter le Marrube blanc (*M.vulgare*) parce que selon la Commission Européenne, la plante stimulerait l'utérus et pourrait avoir une action abortive. Selon la même source (Commission Européenne) le Marrube ne possède jusqu'à présent aucun effet indésirable [49].

### **I.2.9 Composition chimique de la plante**

Le *Marrubium vulgare* contient des flavonoïdes et des diterpènes, il contient également les alcaloïdes, les mucilages, les pectines, la bétonicine, la stachydrine, beaucoup de fer, et peu d'huiles essentielles. Un certain nombre de sels minéraux ont été également identifiés [50]. En outre il y a des tanins spécifiques des Lamiacées et dérivés de l'acide hydroxycinnamique (jusqu'à 7%) (acide chlorogénique, caféique, caféoylquinique), [51] et la présence d'une faible quantité d'huiles essentielles comportant différents composés monoterpéniques (moins de 1% soit l' $\alpha$ -pinène, le camphène, le limonène) (**Figure I.7**) [52].

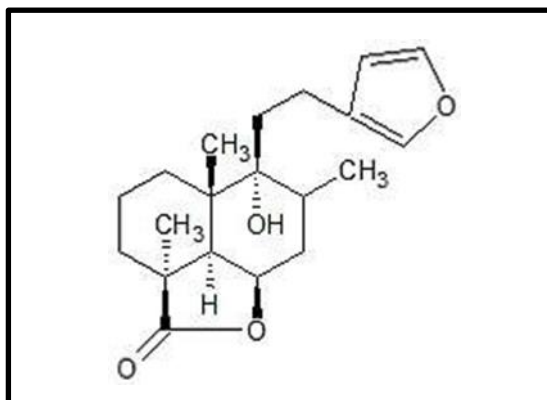


Figure I.7 : Structure chimique du M.vulgare [29].

## I.2.10 Composition biochimique de la plante

### A. Flavonoïdes de Marrubium vulgare

La plupart des flavonoïdes de *M. vulgare* sont isolés à partir des feuilles en utilisant des solvants polaires comme l'éthanol et le n-Butanol. Ce sont généralement des hétérosides flavoniques et flavoniques du quercétol, de la lutéoline et de l'apigénine, lactoylflavones, dérivés de l'acide ursolique (Figure I.8) [51,53].

D'après [41,46,54] ont pu isoler un nouveau flavonoïde à partir des sommités fleuries de *M. vulgare*, le "ladanéine" qui a été identifiée comme (5,6-dihydroxy-7-4'-diméthoxyflavone), ce composé possède une activité anti-leucémique importante [54].

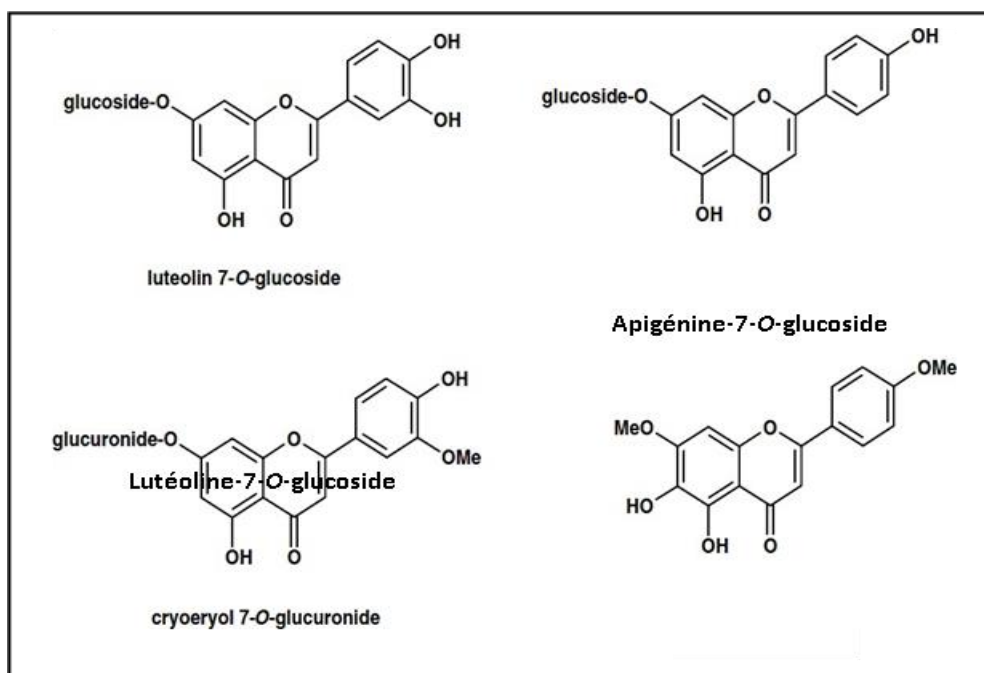
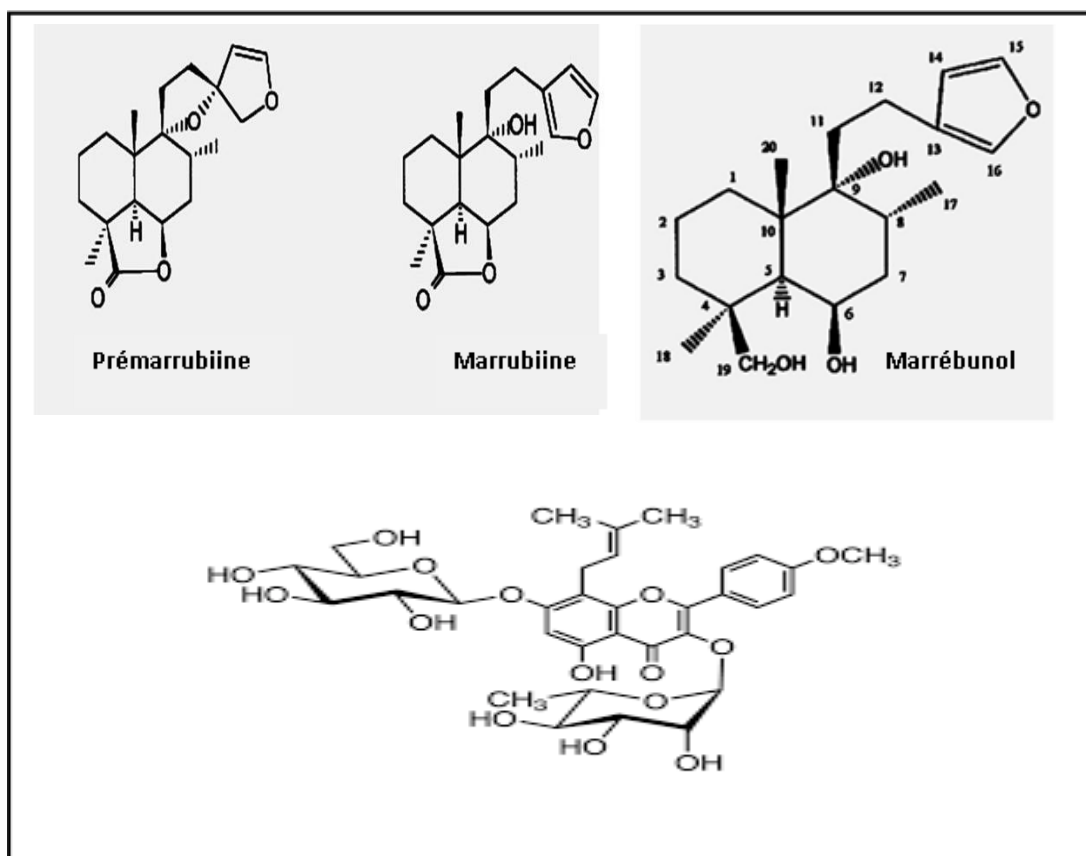


Figure I.8 : Structure de quelques flavonoïdes isolés de *M. vulgare* [46,47].

### B.Lactones diterpéniques labdaniques et autres composés

Marrubium vulgare L est une plante riche en principes actifs dont les principales structures moléculaires sont représentées dans la Figure I.9.

- **Lactones diterpéniques labdaniques** : pré marrubiine, marrubiine, marrubénol, marrubiol, acide marrubique, marrulibacétal A, geshoidine et deacetyl-forskoline [30,39,47].
- **Phénylpropanoïdes glycosides** : marrubéside, verbascoside, forsythside B, arénarioside et balloté roside [55,56].
- **Tanins spécifiques des Lamiacées**, dérivés de l'acide hydroxycinnamique : acide caféique, acide chlorogénique, acide p-coumarique [57].
- **Huiles essentielles** : limonène, sabinène,  $\alpha$ -pinène, camphène, para-cymène, ...



**Figure I.9** : Principales structures moléculaires présentes chez M. vulgare [39,46,47].

Des travaux très récents (**tableau I.3**) permettent d'identifier ses différents constituants actifs de M. vulgare et leurs fonctions

Tableau I.3 : Les différents constituants actifs de *M. vulgare*

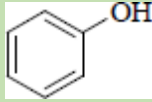
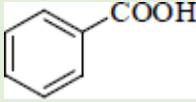
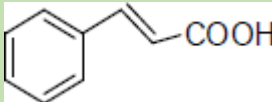
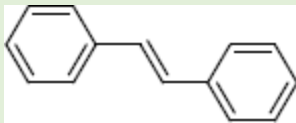
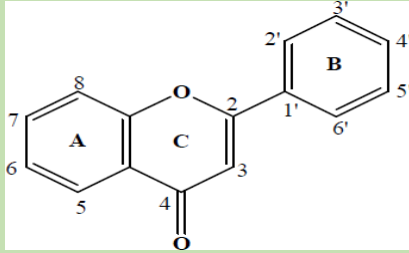
Biomolécules	Fonction
<b>Diterpènes labdanes (marrubiine, marrubénol)</b>	Anti-spasmodique, anti-inflammatoire Cholérétique, anti-hypertensive [34][39][58].
<b>Acides phénoliques, phenylethanoides (marruboside)</b>	Antioxydants, anti-inflammatoire, Antimicrobienne, Anticancéreuse [44][59][60].
<b>Flavonoïdes</b>	Antioxydants, anti-inflammatoire, Analgésique, antidiabétique, antibactérienne [42][43][61].
<b>Huiles essentielles (Eugénol)</b>	Antioxydants, anti-cholinestérase, antibactérienne [38][62][63].

### I.3 Les molécules bioactives dans *Marrubium vulgare*

#### I.3.1 Les polyphénols

Regroupe un vaste ensemble de plus de 8000 molécules, divisé en une dizaine de classes chimiques qui présentent toutes un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles. Il existe de nombreuses classes de polyphénols : acides phénoliques, stilbénoides, coumarines, flavonoïdes, tanins (**Tableau I.4**). Ces structures peuvent être acylées, glycosylées, ce qui donne une grande variété de structures et de polarités. Leur origine biosynthétique est proche, tous dérivant de l'acide Shiki Mique [64,65].

Tableau I.4 : Principales classes des phénols [64][66].

Squelette carboné	Classe	Structures de base	Exemple
C6	Phénols simples		Catéchol
C6-C1	Acides hydroxy-benzoïques		- Acide gallique - Acide vanillique
C6-C3	- Acides hydroxy-cinnamique - Coumarines		- Acide caféique - Scopolétine
C6-C2-C6	Stilbènes		- Resvératrol
C6-C3-C6	Flavonoïdes : - Flavonols - Flavanols - Flavanones - Anthocyanes		- Kaempférol - Quercétine - Catéchine - Naringénine - Cyanidine
(C6-C3)2	Lignanes	/	/
(C15) n	Tanins	/	/

### I.3.2 Les flavonoïdes

#### A. Classification

Les flavonoïdes sont des composés largement distribués dans le règne végétal et sont couramment consommés quotidiennement dans l'alimentation. Ils sont retrouvés également dans les plantes médicinales. Ils possèdent un même squelette de base (Tableau 5), la 2-phénylchromone à quinze atomes de carbones, deux cycles en C6 (A et B), reliés par un hétérocycle en C3 [64,67]. Ils sont divisés en plusieurs classes qui incluent les flavones, flavonols, flavanones, flavanols, anthocyanidines, chalcones et aurones [68,69].

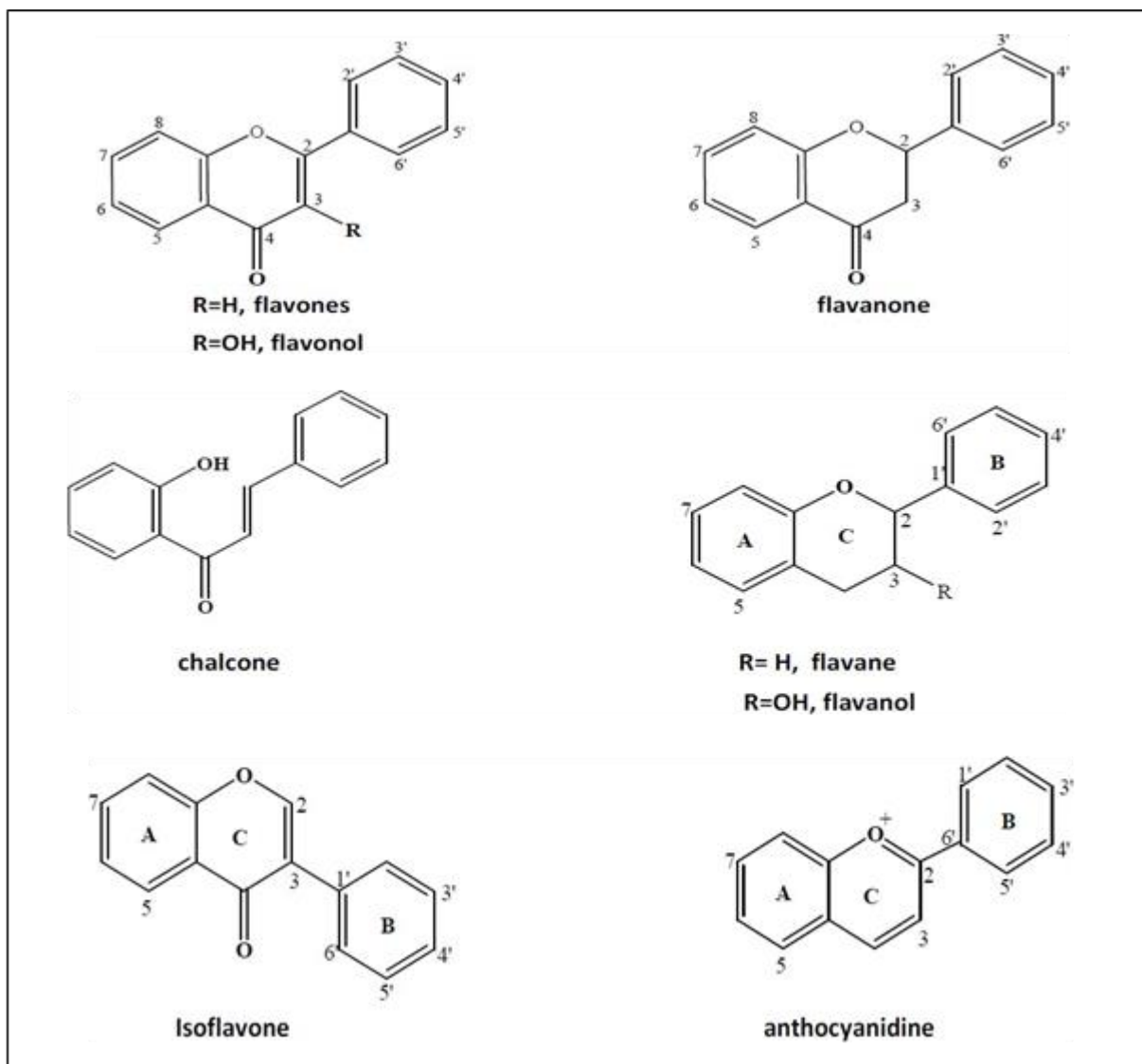


Figure I.10 : Les différentes sous-classes des flavonoïdes [68].

## B. Propriétés biologique et pharmacologique des flavonoïdes

Les flavonoïdes possèdent de nombreuses activités présentant un intérêt en thérapeutique telles que : hépatoprotectrice, antioxydante, antiinflammatoire, antibactérienne, antiulcéreuse, antidiabétique, antiallergique [70,71] et certains ont démontré des effets cardioprotecteurs importants [72].

### I.3.3 Les tanins

Les tanins sont des substances naturelles phénoliques qui peuvent précipiter les protéines à partir de leurs solutions aqueuses [73]. Ce sont des métabolites secondaires des plantes supérieures que l'on trouve dans toutes les parties des végétaux (écorces, racines, feuilles, fruits, etc) où ils jouent le rôle d'armes chimiques défensives contre certains parasites. Sur le plan

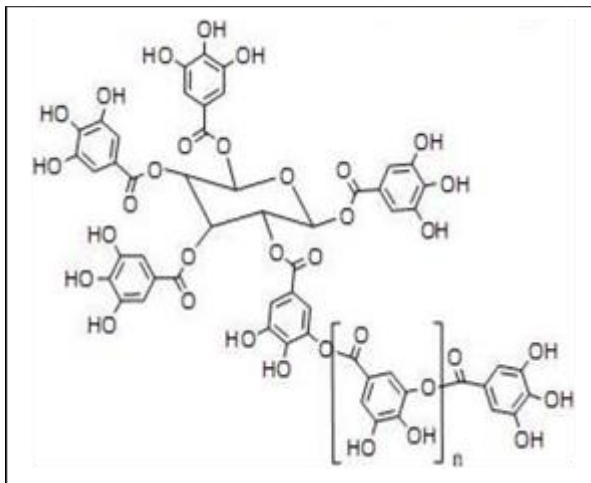
chimique, ils sont constitués soit d'oses (glucose le plus souvent), ou de catéchine ou de triterpénoïde auquel sont attachés des unités galloyles (ou leurs dérivés) soit d'oligomères ou polymères de flavanols [73]. Actuellement, l'utilisation des tannins couvre un vaste domaine, allant de la bactériologie, virologie, à l'hématologie..., traduisant ainsi leur importance dans la médecine humaine [74].

Les tanins sont classés en deux groupes selon leur structure chimique :

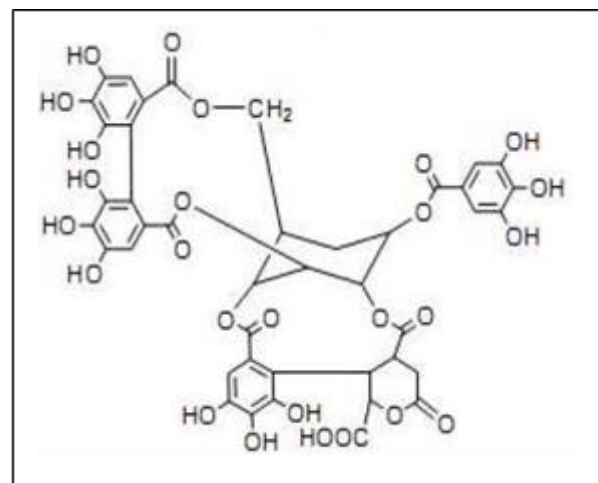
### A. Tanins hydrolysables

Ce sont des polyesters d'oses et d'acides phénols. Les oses trouvés dans ces tanins sont surtout représentés par le glucose, ces tanins sont de deux types :

- Les tanins galliques sont les esters d'oses (glucose) et d'acides galliques.
- Les tanins ellagiques sont des esters d'oses et d'acide ellagiques (Figure 14) [65,75]. Dans les deux cas, la fraction osidique est estérifiée par plusieurs molécules d'acide ellagique [76].
- Quelques auteurs définissent deux classes supplémentaires : les taragotanins (l'acide gallique et l'acide quinique comme noyau) et les caffétanins (intégrant l'acide caféique et l'acide quinique) [65].



Gallotannin



Ellagitannin

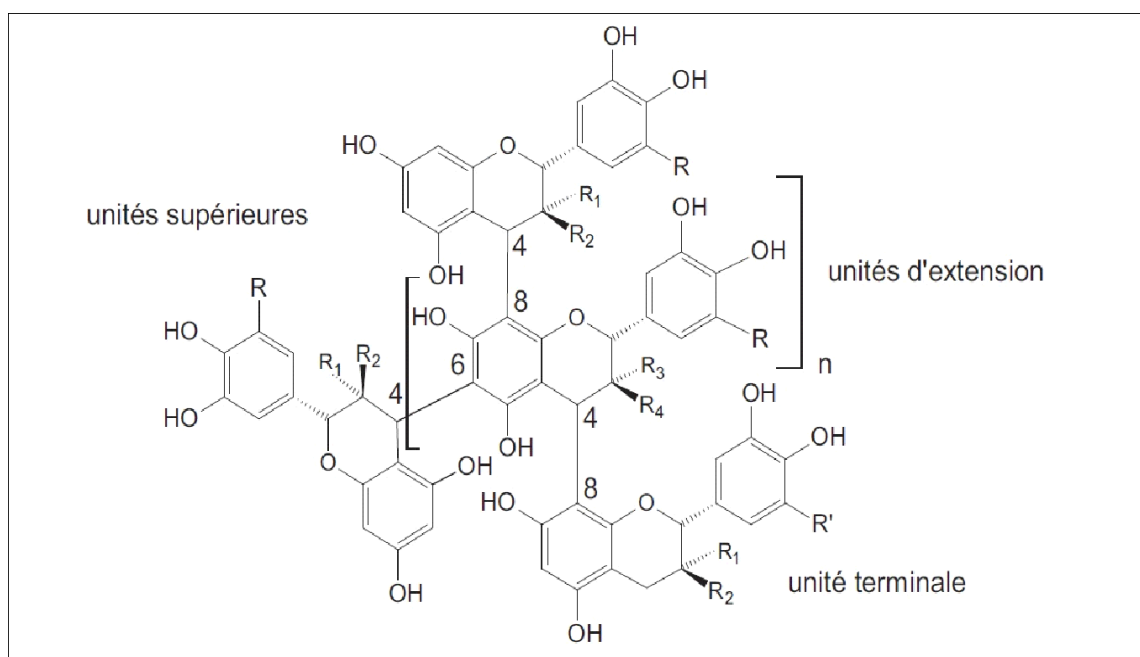
**Figure I.11** : Structure des tanins hydrolysables [76].

### B. Tanins condensés (proanthocyanidines)

De structure plus complexe, ils ne renferment pas d'oses dans leur molécule, ils ne sont hydrolysés ni par les acides, ni par les tannases mais en présence d'acide forts ou d'agents d'oxydation, ils se transforment en substances rouges : les phlobaphènes [76].

Ce sont des polymères de flavan-3-ols, appelés aussi catéchines et de flavan-3,4-diols appelés leuco-anthocyanidines ou un mélange des deux [74,75,76].

La **Figure I.12** représente la structure d'un tanin condensé polymérique.



**Figure I.12** : Structure des proanthocyanidines polymères [75].

Les propriétés biologiques des Tanins sont comme suit :

- Activité antioxydante.
- Activité antimicrobienne.

#### I.3.4 Diterpènes labdanes

Les diterpènes constituent un grand groupe de composés en C-20 issus du métabolisme du 2E, 6E, 10E-géranyl-géranyl-pyrophosphate. On dénombre plus de 1200 produits diterpéniques répartis en une centaine de squelettes. On les rencontre dans certains insectes et divers organismes marins, ils sont surtout répandus chez les végétaux, particulièrement dans les espèces des familles Lamiacées [73].



**A. Propriétés pharmacologiques des diterpènes**

Les diterpènes possèdent un grand intérêt thérapeutique. Certains sont connus tels que le taxol qui constitue une nouvelle molécule très efficace contre le développement des tumeurs cancéreuses chez l'Homme [77,78], ils possèdent également diverses potentialités thérapeutiques telles que des propriétés anti-hypertensives [58], antitumorales [79], antifongiques [80], cytotoxiques [81], anti-inflammatoires et anti-microbienne [39,82].

L'investigation phytochimique de *Salvia cinnabarina* (Lamiacées) a permis d'isoler un diterpène de type pimarane, l'acide 3, 4-secoisopimara-4(18), 7, 15-trien-3-oïque qui possède des propriétés antispasmodiques, hypotensives et antibactériennes [83]. Les analyses in vitro de 5 nouveaux seco-abietanes sur des mycobactéries (*Mycobacterium tuberculosis* H37Rv) a prouvé que ces composés exercent une activité antituberculeuse [84]. L'évaluation biologique de la marrubiine a montré la présence d'une activité antinociceptive, vasorelaxante [58,85]. D'après [22] ont établi une étude sur l'effet analgésique de la marrubiine et ses dérivés synthétiques (le marrubénol, l'acide marrubiinique) a permis de démontrer l'effet analgésique de la marrubiine et de ses dérivés notamment, l'acide marrubiinique.

Ils ont également mis en valeur la possibilité d'utiliser ces composés comme modèle pour obtenir de nouveaux agents analgésiques plus puissants [22]. Une autre étude basée sur la recherche des propriétés antiœdematogéniques de la marrubiine a été établie [39] et a montré un effet significatif. L'oridonine et la poncidine sont deux constituants majeurs de *Isodon rubescens* (Lamiacées). Des chercheurs ont montré l'activité anti-angiogénique de ces deux molécules et ils ont suggéré que ces composés peuvent fortement contribuer à l'efficacité de l'effet clinique démontré pour traiter le cancer de la prostate [42].

**I.3.5 Les huiles essentielles**

Les huiles essentielles ou essences aromatiques ou encore huiles volatiles sont des mélanges de composés aromatiques des plantes, qui sont extraites, soit par entraînement à la vapeur, soit par des solvants volatils. Ce sont des mélanges complexes, contenant de très nombreuses espèces chimiques, identifiables par chromatographie gazeuse. Les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes constituent les composants actifs les plus importants des huiles essentielles, dont les mono et sesquiterpénoïdes qui forment la majeure partie [86].

**A. Composition biochimique des huiles essentielles**

La composition chimique des huiles essentielles est assez complexe et dont les molécules appartiennent à trois grandes classes : les terpènes, les phénylpropanes et les molécules diversement fonctionnalisées. Les terpènes sont des mélanges très complexes, les constituants sont principalement des monoterpènes et des sesquiterpènes de formule générale  $(C_5H_8)_n$ . Les composés oxygénés dérivés de ces hydrocarbures incluent des alcools, des aldéhydes, des esters, des éthers, des cétones, des phénols et des oxydes. Ces composés sont de structure chimique variée, ils peuvent être acycliques, monocycliques (limonènes) ou même bi-cycliques (pinène). Plus de 1000 monoterpènes et 3000 de structures sesquiterpènes ont été estimés. Il est important de signaler que la classe des terpénoïdes est issue d'une voie métabolique secondaire de l'acide mévalonique, alors que pour la classe des phénylpropanes leur formation suit une voie biosynthétique dite de l'acide Shiki Mique [87].

**B. Activité antimicrobienne des huiles essentielles**

Une diversité d'actions toxiques des huiles essentielles sur les bactéries a été observée comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, la fuite d'électrons et la coagulation du contenu protéique des cellules [88]. Certains composés phénoliques des huiles essentielles interfèrent avec les protéines de la membrane des micro-organismes comme l'enzyme ATPase, soit par action directe sur la partie hydrophobe de la protéine, soit en interférant dans la translocation des protons dans la membrane prévenant la phosphorylation de l'ADP [87]. Une inhibition de la décarboxylation des acides aminés chez Entérobactér aéro-gènes a aussi été rapportée [87]. Les huiles essentielles peuvent inhiber la synthèse de l'ADN, l'ARN, des protéines et des polysaccharides [89].

**I.4. Formes galéniques pour les médicaments à base de marrube blanc****I.4.1 La forme galénique liquide****I.4.1.1 Le sirop**

Les sirops à base de plantes médicinales sont des préparations liquides sucrées et aromatisées, contenant des extraits de plantes médicinales. Ces sirops peuvent être préparés par macération, décoction, infusion ou percolation des plantes médicinales dans de l'eau, suivie de l'ajout de sucre et d'autres excipients pour former un sirop. Les plantes médicinales utilisées pour la préparation des sirops peuvent avoir des propriétés thérapeutiques diverses, telles que des propriétés expectorantes, antitussives, apaisantes ou antispasmodiques. Les sirops à base de

plantes médicinales sont souvent utilisés pour soulager la toux, les maux de gorge, les irritations bronchiques ou les affections des voies respiratoires supérieures [90]. Exemples de sirop :

### ➤ Schoenenberger Sirop de marrube blanc, 200 ml

Schoenenberger Sirop de marrube blanc (**Figure I.13**) est un sirop à base de marrube blanc commercialisé en flacon de 200 ml. Il est fabriqué à partir de plantes fraîches et contient des extraits de marrube blanc, de sureau noir et de thym. Ce sirop est utilisé pour traiter les affections respiratoires, en particulier la toux, le rhume et la bronchite [91].



**Figure I.13** : Schoenenberger Sirop de marrube blanc, 200 ml [91].

#### ● Composition

- Extrait de marrube blanc.
- Eau.
- Miel.
- Sucre de canne brute.

#### ● Posologie

Prendre 2 à 3 fois par jour 1 cuillère à soupe (15 ml) de sirop. Il est recommandé de prendre le sirop pur ou dilué dans un peu d'eau.

#### ● Précautions et mise en garde

- Ce sirop ne doit pas être utilisé chez les enfants de moins de 6 ans, sauf sur avis médical.
- Les femmes enceintes et allaitantes doivent demander l'avis de leur médecin avant d'utiliser ce sirop.

### I.4.1.2 Les huiles végétaux

Les huiles végétales sont des huiles obtenues à partir des graines, des noix, des fruits ou des graines de plantes oléagineuses. Elles sont utilisées en cosmétique, en aromathérapie et en cuisine pour leurs propriétés bénéfiques pour la santé.

Les huiles végétales sont riches en acides gras essentiels, en vitamines et en antioxydants, qui leur confèrent des propriétés nourrissantes, régénérantes et protectrices pour la peau. Elles sont également utilisées pour diluer les huiles essentielles avant leur application cutanée, car elles aident à transporter les molécules aromatiques dans les couches profondes de la peau [89].

Exemples de l'huile :

#### ➤ Huile de marrube blanc 30ml

L'huile de marrube blanc (**Figure I.14**) est une huile riche en acides gras essentiels et en antioxydants, qui peut avoir des propriétés hydratantes et nourrissantes pour la peau et les cheveux. Les acides gras essentiels, tels que l'acide linoléique et l'acide alpha-linolénique, aident à maintenir l'hydratation de la peau et à renforcer la barrière cutanée. Les tocophérols et les phytostérols ont des propriétés antioxydantes qui protègent la peau contre les radicaux libres et les signes du vieillissement. Les caroténoïdes ont des propriétés anti-inflammatoires et peuvent aider à réduire les rougeurs et les irritations de la peau [92].



**Figure I.14** : Flacon de d'huile végétale de marrubium vulgare [92].

#### ● Composition

- Acides gras saturés : acide laurique, acide myristique, acide palmitique, acide stéarique, acide arachidique.
- Acides gras mono-insaturés : acide oléique, acide palmitoléique.
- Acides gras poly-insaturés : acide linoléique, acide alpha-linolénique.

- Tocophérols : vitamine E.
- Phytostérols, Caroténoïdes.
- **Utilisation**
  - Inhalation : ajouter 5 à 10 gouttes d'huile de marrube blanc dans un diffuseur et respirer la vapeur pendant 10 minutes.
  - Massage : diluer 2 à 3 gouttes dans une cuillère à soupe d'huile végétale et masser la poitrine pendant 15 à 20 minutes.

- **Précautions et mise en garde**

Ne jamais ingérer l'huile de marrube blanc : L'huile de marrube blanc est destinée à une utilisation externe uniquement. Ne jamais ingérer l'huile de marrube blanc car elle peut causer des effets secondaires indésirables.

#### **I.4.1.3 Les teintures-mères**

Les teintures-mères sont des préparations à usage homéopathique inscrites à la Pharmacopée française. Par définition, ce sont des préparations liquides qui résultent de l'action dissolvante d'un véhicule alcoolique sur des drogues végétales fraîches. Elles se réalisent, comme les alcoolatures, par macération d'une plante fraîche dans de l'alcool. Les différences résident dans le fait que celle-ci est beaucoup plus longue, elle dure environ vingt et un jours et que ces teintures-mères sont préparées en général au dixième, c'est-à-dire qu'un gramme de la plante desséchée donnera dix grammes de teinture-mère. Elles sont donc moins concentrées que les alcoolatures [93]. Exemples de teintures-mères :

➤ **Teinture-mère Marrubium vulgare 50 ml**

Cette teinture-mère est utilisée comme expectorante et a une action positive sur les troubles des voies respiratoires. Le marrube blanc aide également l'organisme à tonifier les voies digestives [94].



**Figure I.15** : Flacon de teinture-mère de marrubium vulgare [94].

- **Composition**

- Eau.
- Alcool\*bio.
- Marrubeblanc\*bio (Marrubium Vulgare).

- **Utilisation**

15 gouttes matin et soir, après les repas à diluer dans l'eau. Cure de 25 jours.

- **Précaution et mise en garde**

Demander l'avis d'un médecin pour les femmes enceintes. Tenir hors de la portée des jeunes enfants.

#### **I.4.1.4 Les eaux florales**

Les eaux florales, comme leur nom l'indique, sont obtenues à partir des fleurs. Elles sont issues de la distillation de fleurs à la vapeur d'eau puis d'une décantation.

La distillation à la vapeur d'eau a lieu dans un alambic et permet d'obtenir deux liquides :

- L'huile essentielle
- L'eau florale (ou l'hydrolat) : l'eau qui a servi à la distillation et qui contient des molécules aromatiques capturées lors de ce processus

L'eau florale est donc ce qui reste dans l'alambic après la distillation de l'huile essentielle d'une fleur. L'eau obtenue possède donc les oligoéléments, les principes actifs et les molécules aromatiques contenues à l'origine dans la fleur. Il existe donc autant d'eaux florales que

d'huiles essentielles et donc tout autant de bienfaits différents. Elle peut être adoucissante, régénérante, apaisante, etc [95]. Exemples de l'eau florale :

### ➤ Hydrolat Marrube blanc BIO 200 ml DROMESSENCE

L'hydrolat de marrube blanc de Dromessence (**Figure I.16**) est certifié biologique et conditionné dans une bouteille de 200 ml. Il peut être utilisé pur en tant que tonique pour le visage ou comme ingrédient dans la préparation de masques ou de lotions pour la peau. Il peut également être utilisé en tant que spray pour apaiser les irritations cutanées ou les piqûres d'insectes [96].



**Figure I.16** : Flacon d'hydrolat de Marrubium vulgare [96].

#### ● Composition

- Eau.
- Flavonoïdes : apigénine, luthéoline, quercétine.
- Acides phénoliques : acide rosmarinique, acide caféïque.
- Sels minéraux : potassium, calcium, magnésium.
- Vitamines B1 et B2.

#### ● Utilisations

- Tonique pour le visage : appliquer l'hydrolat de marrube blanc sur le visage à l'aide d'un coton. Cela aidera à purifier et à rafraîchir la peau.
- Spray apaisant : pour les peaux irritée ou sensible, vaporiser l'hydrolat de marrube blanc sur le visage pour apaiser les rougeurs et les inflammations.

- Ingrédient dans des préparations cosmétiques : on peut utiliser l'hydrolat de marrube blanc en tant qu'ingrédient dans la préparation de masques, de lotions ou de crèmes pour la peau. Il peut aider à apaiser et à purifier la peau.

### I.4.2 La formes galénique solide

#### I.4.2.1 Les comprimés

Les comprimés sont des formes pharmaceutiques solides équivalentes à une dose. La Pharmacopée les définit comme étant des préparations, de consistance solide, contenant chacune une unité de prise d'un ou plusieurs principes actifs [93]. Ils sont destinés à la voie orale. Exemples de comprimés :

##### ➤ Flash'Rub 15 Comprimés Arkopharma

Flash'Rub comprimés (**Figure I.17**) est un complément alimentaire à base d'extraits de plantes, de vitamine C et de minéraux destiné à soulager les premiers symptômes du rhume et de la rhinite il contient de l'extrait de marrube blanc [97].



**Figure I.17** : Boîte de comprimés Flash'Rub [97].

#### ● Composition

- Extrait d'Andrographis 120 mg ;
- Extrait d'Eleuthérocoque 120 mg;
- Extrait de Pélargonium 120 mg ;
- Extrait de Marrube 100 mg;
- Extrait d'Echinacée 75 mg;
- Extrait de Quinquina 60 mg;



- **Posologie**

Prendre 3 comprimés par jour, 1 le matin, le midi et le soir avec un grand verre d'eau au moment du repas.

- **Précautions et mise en garde**

- Ne pas tenir à la portée des enfants ;
- Grossesse et allaitement : la prise est déconseillée, demandez l'avis de votre médecin avant toute automédication.
- Ne pas dépasser la dose journalière recommandée.
- Un complément alimentaire ne se substitue pas à une alimentation saine et variée.

#### **I.4.2.2 Les gélules**

Les gélules désignent une forme galénique de médicament, solide, que l'on avale. Elles sont constituées d'une enveloppe dure et creuse, qui contient le principe actif. D'après la Pharmacopée française Xème édition, les gélules, ou capsules à enveloppe dure, sont des préparations de consistance solide constituées par une enveloppe dure, contenant une quantité de médicaments qu'il est courant d'utiliser en une fois [93].

Concernant le contenu des gélules de plantes médicinales, deux grands types de préparations inscrites à la Pharmacopée sont à distinguer. Tout d'abord se placent les gélules de poudre de plantes. Elles sont obtenues par pulvérisation de la drogue entière. L'intérêt décisif de la poudre totale face aux autres formes existantes est de respecter tous les principes actifs de la plante pour les apporter, intacts, à l'organisme. Seule la poudre totale cryobroyée est capable de restituer intégralement tous les composants de la plante. De plus, grâce à sa fine granulométrie, elle libère mieux les substances actives. Les gélules de poudre de plante permettent donc d'obtenir une biodisponibilité totale des principes actifs [98].

Cette forme galénique d'utilisation des plantes médicinales représente le plus gros marché de Phytothérapie. Exemples de gélules :

➤ **MARRUBE BLANC 200 mg**

Le médicament Marrube blanc 200 mg (**Figure I.18**) contient une quantité spécifique de l'extrait de la plante Marrube blanc, standardisé pour garantir une concentration en principes actifs constants. Il est utilisé pour traiter les affections respiratoires telles que la toux, le rhume

et la bronchite. Il peut également être utilisé pour soulager les crampes abdominales et les spasmes [99].



**Figure I.18** : Boite de gélules de marrubium vulgare 200mg [99].

- **Composition**

Pour une prise journalière de 3 gélules de Marrube Blanc :

- Poudre de marrube blanc sommités fleuries : 600 mg.
- Tunique (Gélatine + glycérine) : 225 mg.

- **Posologie**

2 à 3 gélules par jour avec un grand verre d'eau pendant les repas, dans le cadre d'une alimentation équilibrée. Tenir hors de portée des enfants. Ne pas dépasser la dose recommandée.

- **Précautions et mise en garde**

- Il est conseillé de ne pas dépasser la dose journalière recommandée.
- Tenir hors de portée des petits enfants.

➤ **Marrube Blanc Labofloral 300 gélules à 200mg**

Marrube Blanc Labofloral (**Figure I.19**) est un complément alimentaire sous forme de gélules, Chaque gélule contient 200 mg de poudre de Marrube blanc ce complément alimentaire est commercialisé sous forme de boîte contenant 300 gélules, ce qui correspond à une cure de plusieurs mois [100].



**Figure I.19** : Boite de gélules de marrubium vulgare 300 gélules à 200mg [100].

- **Composition**

- Composition pour une gélule : poudre pure de marrube blanc (Marrubium vulgare) 200 mg sans excipient.
- Enveloppe : Gélule 100% naturelle et végétale Pullulan.

- **Posologie**

2 à 6 gélules par jour avec un grand verre d'eau.

- **Précautions et mise en garde**

- Il est conseillé de ne pas dépasser la dose journalière recommandée.
- Ce complément alimentaire n'est pas un médicament et ne doit pas se substituer à une alimentation diversifiée et équilibrée, et à un mode de vie sain.
- Tenir hors de portée des petits enfants.

### I.4.2.3 Les granules

En pharmacie galénique, le granulé est une préparation constituée par des grains solides et secs formés par un agglomérat de particules de poudre. Cette forme galénique est destinée à une administration par voie orale. Elle est également très fréquemment utilisée comme un stade intermédiaire dans la fabrication d'autres formes orales telles que les comprimés, les gélules, les sachets [93].

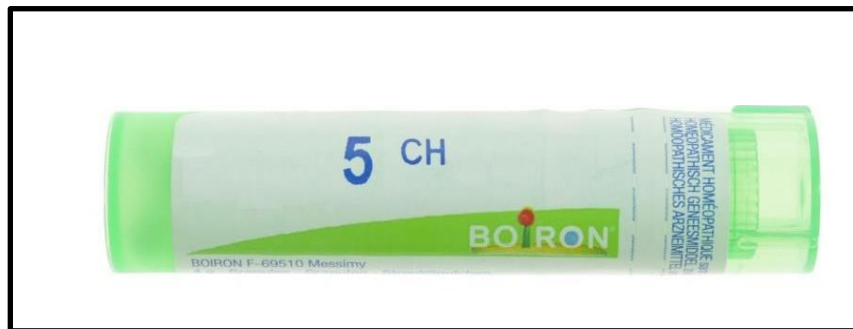
Son administration peut se faire dans des conditions très variables : on peut le déglutir tel quel, le croquer ou le dissoudre ou le disperser dans de l'eau ou dans un liquide approprié avant

administration .Les granulés peuvent être effervescents, enrobé, à libération modifiée, etc [93].

Exemple de granules :

➤ **Les granules homéopathiques de Marrubium vulgare 5 CH**

Les granules homéopathiques de Marrubium vulgare 5 CH (**Figure I.20**) sont un remède homéopathique à base de la plante Marrubium vulgare, communément appelée marrube commun ou marrube blanc. La souche homéopathique 5 CH signifie qu'il y a eu une dilution de la substance active à raison de 1/100 de façon répétée 5 fois. Selon les principes de l'homéopathie, cette dilution permettrait d'augmenter la puissance thérapeutique de la substance active, tout en minimisant les effets secondaires [101].



**Figure I.20** : Tube de granules de marrubium vulgare 4 grammes [101].

● **Composition**

- Extrait de Marrubium vulgare
- Saccharose
- Lactose

● **Posologie**

Prendre 5 granules sous la langue 3 fois par jour, à distance des repas et de toute autre source d'arôme ou de menthe. Les granules peuvent être laissés sous la langue pour se dissoudre lentement, ou peuvent être dissous dans un peu d'eau avant d'être pris.

● **Précaution et mise en garde**

Évitez de manipuler les granules avec les mains, car le contact avec des substances potentiellement allergènes (comme des parfums ou des produits de nettoyage) peut affecter leur efficacité.

- **Contre-indications**

- Évitez de prendre plus que la posologie recommandée, car cela peut causer des effets indésirables ou réduire l'efficacité de la thérapie.
- Si les symptômes ne s'améliorent pas après quelques jours d'utilisation des granules homéopathiques, ou si les symptômes s'aggravent, consultez immédiatement un professionnel de la santé qualifié.

### I.4.3 Les formes galéniques semi-solides

#### I.4.3.1 La crème

Une crème est une préparation semi-solide contenant une ou plusieurs substances actives dissoutes ou dispersées dans une base hydrophile ou lipophile. La crème est généralement utilisée pour l'application topique sur la peau. La base de la crème peut contenir des émulsifiants, des agents de conservation, des humectants et d'autres excipients pour améliorer la stabilité et l'efficacité du produit [93].

#### I.4.3.2 Le gel

Un gel, quant à lui, est une préparation semi-solide qui est principalement constituée d'une phase aqueuse ou hydroalcoolique gélifiée à l'aide d'un agent gélifiant tel que l'acide hyaluronique ou la carbomère. Les gels ont une texture légère et sont facilement absorbés par la peau. Ils sont couramment utilisés pour l'application topique sur la peau et pour leur effet rafraîchissant [93]. Exemple d'un gel crème :

➤ **Lierac Supra Radiance Gel-Creme Renovatrice Anti-Ox**

Lierac Supra Radiance Gel-Creme Renovatrice Anti-Ox (**Figure I.21**) est une crème anti-âge formulée pour améliorer la texture de la peau, réduire l'apparence des rides et des ridules, et renforcer la barrière cutanée [102].



**Figure I.21** : Lierac Supra Radiance Gel-Creme Renovatrice Anti-Ox [102].

- **Composition**

- Eau.
- Glycérine.
- Extrait de marrube blanc.
- Extrait de levure.
- Parfum/Fragrance.
- Phenoxyethanol.

- **Utilisation**

Une fois par jour.

- **Précaution et mise en garde**

- Évitez tout contact avec les yeux. En cas de contact, rincez abondamment à l'eau claire.
- Évitez d'utiliser ce produit sur des peaux irritées ou abîmées, ainsi que sur des zones présentant des éruptions cutanées.
- Gardez hors de la portée des enfants.

➤ **Lierac Supra Radiance Eye Radiance Serum**

Lierac Supra Radiance Eye Radiance Serum (**Figure I.22**) est un produit cosmétique pour les yeux conçu pour aider à réduire les signes de l'âge et de la fatigue autour des yeux. Ce sérum pour les yeux est fabriqué par la marque de soins de beauté Lierac et contient une combinaison d'ingrédients actifs d'origine naturelle [102].



**Figure I.22** : Lierac Supra Radiance Eye Radiance Serum [102].

- **Composition**

- Eau.
- Glycérine.
- Extrait de marrube blanc.

- Parfum/Fragrance.
- Phenoxyethanol.

- **Utilisation**

Une fois par jour.

- **Précaution et mise en garde**

- Évitez tout contact avec les yeux. En cas de contact, rincez abondamment à l'eau claire.
- Gardez hors de la portée des enfants.

# Chapitre II



La partie expérimentale a été réalisée au Laboratoire d'Analyses de Méthodes Physiques d'Analyses (MPA), au sein du Département Génie des Procédés de la Faculté de Technologie de l'Université A. MIRA-BEJAIA. Cette étape visait à étudier la phytochimie et évaluer l'activité antioxydante de la plante *Marrubium vulgare*.

### II.1 Matériel végétale

La plante du *Marrubium vulgare* (**Figure II.1**) a été récoltée en mois d'avril (2023) dans la région de SEMAOUNE CENTRE située dans la wilaya de BEJAIA en Algérie (**Figure II.2**).



**Figure II.1** : photographie de plante.



**Figure II.2** : Localisation de la commune  
SEMAOUNE

#### II.1.1 Préparation de la matière végétale pour l'extraction

Les parties aériennes du Marrube blanc, à savoir les feuilles et les fleurs, ont été préparées pour l'extraction. Elles ont été lavées plusieurs fois avec de l'eau distillée afin d'éliminer toute poussière et particules contaminantes, puis séchées à l'air libre, à l'abri de la lumière, pendant 7 jours. (**Figure II.3**).



**Figure II.3 :** séchage des feuilles et des fleurs.

Après le processus de séchage, les feuilles de couleur vert foncé et les fleurs de couleur vert clair (**Figure II.4**) ont été broyées à l'aide d'un broyeur (**Figure II.5**) afin d'homogénéiser la matière végétale et de maximiser la surface de contact avec le solvant. Cette étape vise à faciliter l'extraction des composés d'intérêt. Les échantillons végétaux ont été ensuite conservés dans des récipients propres, à l'abri de la lumière et de l'humidité, pour une utilisation ultérieure.



**Figure II.4 :** Poudre de feuilles et de fleurs.



**Figure II.5 :** Broyeur (Retsch ZM 200).

## II.2 Détermination de taux d'humidité

Le taux d'humidité dans les feuilles et les fleurs de Marrube blanc a été déterminé à partir d'un échantillon de (10g) avant et après séchage (**Figure II.6**).

Le taux d'humidité est exprimé selon cette relation :

$$\text{Taux d'humidité (\%)} = ((M_i - M_f) / M_i) * 100 \quad (1)$$

Où :

**M<sub>i</sub>** : Masse des feuilles et des fleurs avant séchage.

**M<sub>f</sub>** : Masse des feuilles et des fleurs après séchage.



Les feuilles avant séchage

Les feuilles après séchage



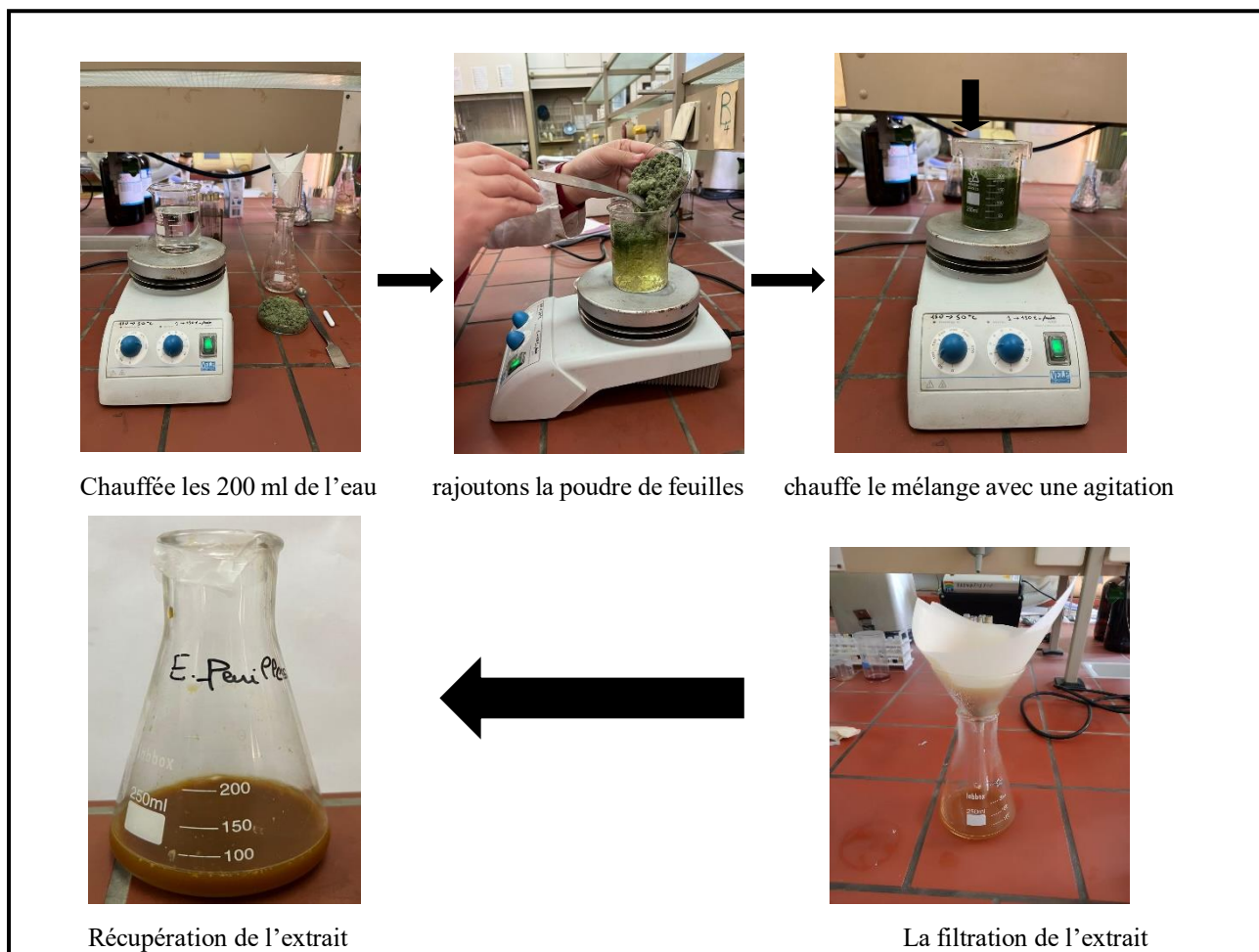
Les fleurs avant séchage

Les fleurs après séchage

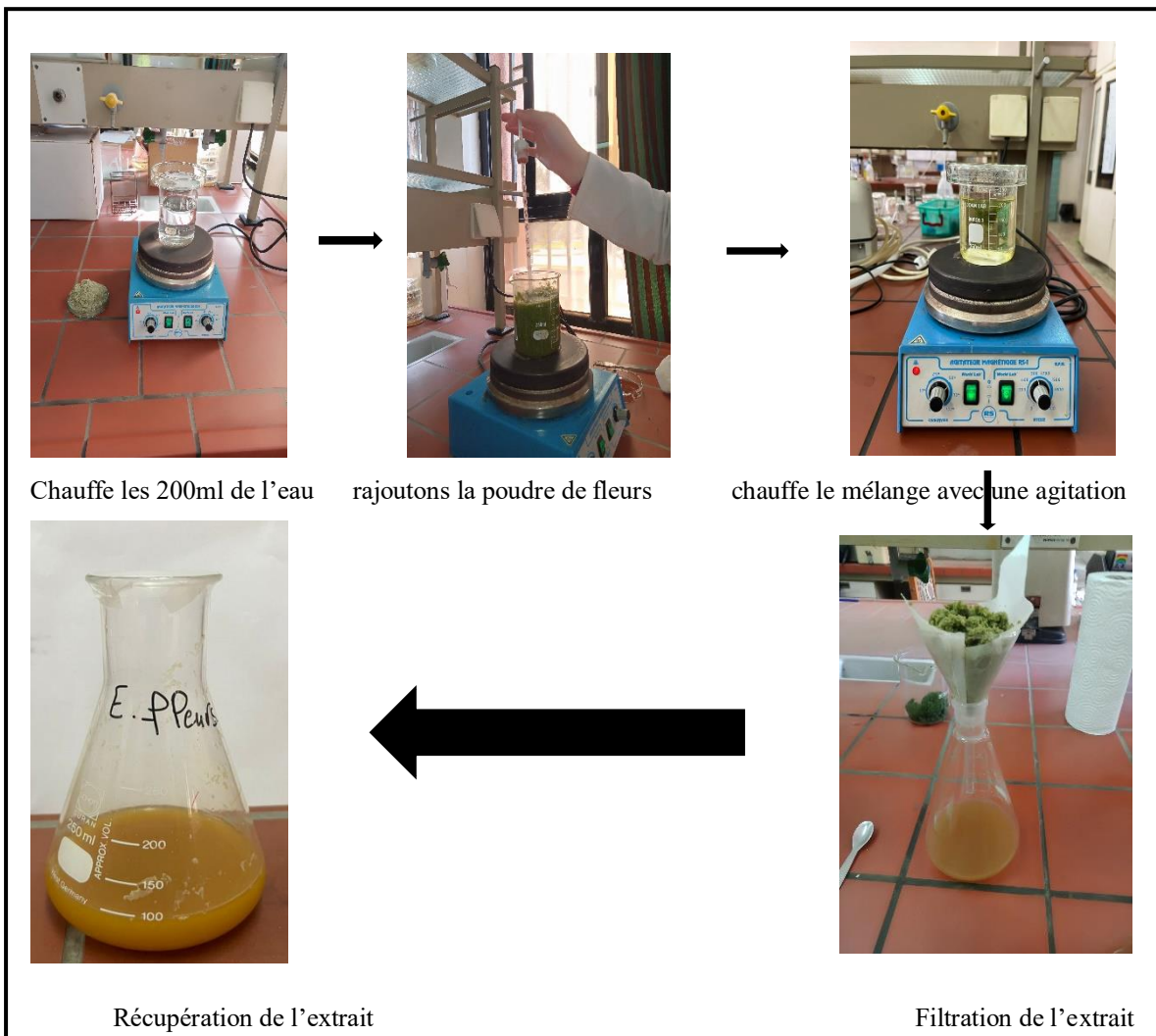
**Figure II.6** : Les feuilles et les fleurs du Marrubium vulgare avant et après séchage.

### II.3 Extraction des métabolites secondaires du Marrubium vulgare

L'extraction des métabolites secondaires des parties aériennes du Marrubium vulgare (feuilles et fleurs) a été réalisée par décoction dans l'eau, conformément à la méthode traditionnellement utilisée pour la préparation des tisanes. Pour cela, une prise d'essai de 10g de poudre de feuilles et de fleurs a été mélangée avec 200 mL d'eau distillée. Le mélange a été chauffé à 60°C avec une agitation modérée pendant 15 minutes. Ensuite, l'extrait a été filtré à l'aide de papier Wattman N1 pour séparer les matières solides. Ce procédé d'extraction a été répété trois fois sur le résidu de la filtration afin d'assurer une extraction maximale des métabolites (**Figure II.7**) (**Figure II.8**).



**Figure II.7** : Les étapes d'extraction de feuilles.



**Figure II.8 :** Les étapes d'extraction des fleurs.

#### II.4 Détermination de rendement d'extraction

A la fin de l'extraction, les deux extraits (l'extract feuilles et l'extract fleurs) sont évaporés au moyen d'un évaporateur rotatif (Heidolph Rotavapor) a une température (60°C) et une pression de 130 bars (**Figure II.9**), Cela permet de concentrer l'extract obtenu. Pour évaluer le rendement de l'extraction, la relation suivante a été utilisée [103] :

$$R (\%) = (Me/Mv) * 100 \quad (2)$$

Où :

**R (%) :** Le rendement d'extraction en pourcentage.

**Me :** Masse de l'extract (feuilles ou fleurs) après évaporation du solvant (en gramme).

**Mv :** Masse de la matière végétale utilisée (10g de poudre de feuilles ou de fleurs).



Figure II.9 : Evaporateur rotatif IKA.

## II.5 Méthodes de caractérisations qualitatives et quantitatives des métabolites secondaires dans les extraits de feuilles et de leurs du *Marrubium vulgare*

### II.5.1 Méthode de caractérisation qualitatives

#### II.5.1.1 Le skreening phytochimque

Dans le cadre de l'étude, l'identification qualitative des métabolites secondaires tels que les polyphénols totaux, les flavonoïdes et les tanins a été réalisée en utilisant différents réactifs spécifiques à chaque métabolite. La présence de ces métabolites dans les extraits de feuilles et de fleurs du Marrube blanc a été détectée par un changement de couleur spécifique ou par la formation d'un précipité caractéristique. Les réactifs utilisés, les protocoles d'identification et les résultats positifs indiquant la présence des différents métabolites dans les extraits étudiés sont répertoriés dans le **Tableau II.1**.

**Tableau II.1** : Les différentes réactions utilisées dans le screening phytochimique des métabolites secondaires dans les extraits du marrube blanc.

Nature des métabolites secondaires	Réactifs et protocoles d'identification	Le résultat positif
Tanins totaux [104,105]	5ml de l'extrait brut + 1 ml de la solution de $\text{FeCl}_3$ (2%).	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La coloration bleue indique la présence des tanins gallique.</li> <li>• La coloration verdâtre indique la présence des tanins condensés.</li> </ul>
	2 ml de l'extrait brut + 1 ml de la vanilline chlorhydrique et chauffage au bain marie pendant 15min.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La coloration rose foncée indique la présence des tanins condensés.</li> </ul>
Flavonoïdes [106]	1ml de l'extrait brut + 1ml de la solution d' $\text{AlCl}_3$ (2%).	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Coloration jaune.</li> </ul>
Polyphénols [107]	0.2ml de l'extrait + 1ml du réactif Folin Ciocalteu, on laisse incuber pendant 4 min à température ambiante puis on ajoute 0.8ml de $\text{Na}_2\text{CO}_3$ (2%).	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Coloration bleue.</li> </ul>

### II.5.1.2 Caractérisation par chromatographie

#### II.5.1.2.1 Chromatographie sur couche mince CCM

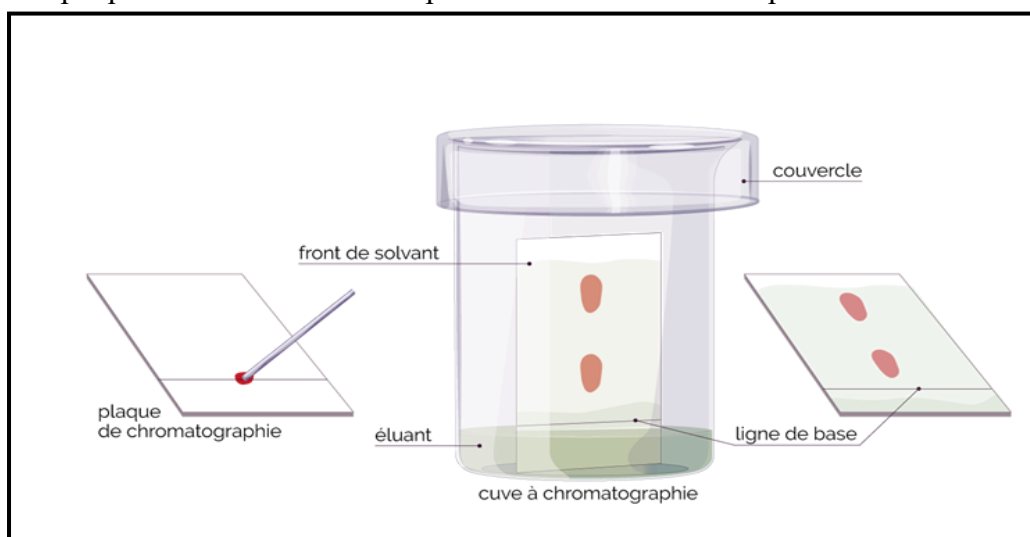
La Chromatographie sur couche mince (C.C.M) est une technique analytique utilisée au cours de la séparation et de l'identification des métabolites, Il s'agit d'une technique d'analyse qui s'appuie sur les différences d'affinités de substances chimiques entre une phase fixe, la plaque,

et une phase mobile, l'éluant. Cette différence va permettre la séparation de ces différentes substances sur la plaque. La séparation s'effectue par migration des molécules à travers la phase stationnaire (plaque de gel de silice ou d'alumine) dans un solvant ou un mélange de solvants appropriés (phase mobile) (**Figure II.10**) [108]. La mise en œuvre d'une CCM nécessite plusieurs matériels tel que :

-Une cuve chromatographie : c'est un récipient en verre, fermé par un couvercle maintenu étanche.

-Une phase stationnaire : c'est une couche d'absorbant étalé uniformément sur un support en aluminium ou en verre de dimension variable (généralement 20\*20cm) une épaisseur comprise entre 0.5 et 2mm. L'absorbant que nous avons utilisé est le gel de silice.

-La phase mobile : c'est l'éluant, il est composé d'un mélange de solvant qui migre lentement le long de la plaque en entraînant les composants de l'échantillon déposé.



**Figure II.10** : Protocole d'analyse par chromatographie sur couche mince.

Dans le cas de l'identification des métabolites secondaires dans les extraits de feuilles et de fleurs de Marrube blanc par chromatographie sur couche mince (CCM), la phase stationnaire utilisée est une plaque de gel de silice. L'éluant est un mélange de solvants composé d'eau, de méthanol et d'acide acétique dans les proportions de 35% d'eau, 60% de méthanol et 4,5% d'acide acétique (v/v/v) [105]. Ce mélange de solvants permet une séparation efficace des métabolites en fonction de leurs affinités et de leurs propriétés chimiques. Pour révéler les plaques de CCM, une lampe UV (CN6) est utilisée, émettant à deux longueurs d'ondes différentes : 254 nm et 365 nm (**Figure II.11**). Ces longueurs d'ondes permettent la visualisation des métabolites présents sur la plaque [109].



Le résultat fourni par une analyse de CCM est le rapport frontal ( $R_f$ ), utilisé pour caractériser la migration des métabolites sur la plaque de CCM et permet d'évaluer leur polarité et leur affinité avec la phase stationnaire il est déterminé par la relation suivante [109] :

$$R_f = \frac{\text{Distance par l'échantillon}}{\text{Distance parcourue par le front de solvant}} = \frac{h}{H} \quad (3)$$

Où :

**h** : Distance parcourue par la substance en cm.

**H** : Distance parcourue par l'éluant en cm.

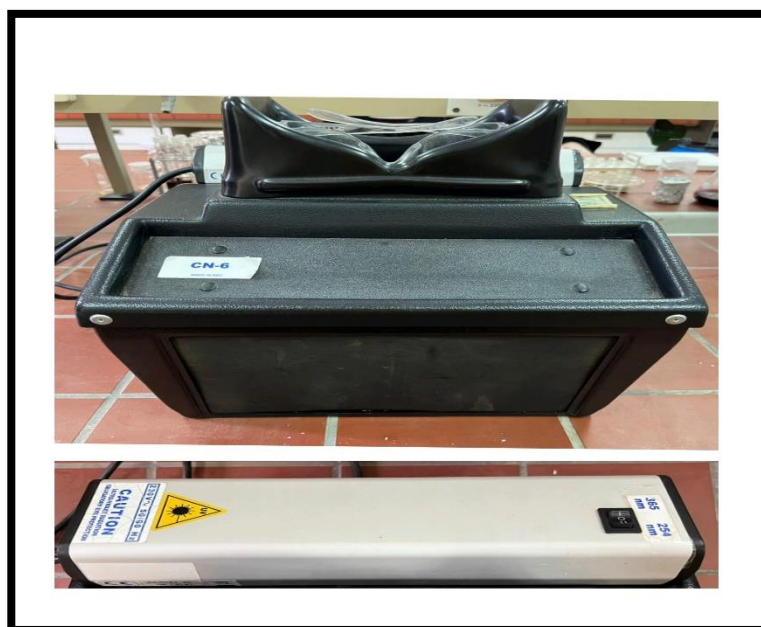


Figure II.11 : Lampe UV-Visible.

#### II.5.1.2.2 Caractérisation par UV-Visible

La spectrophotométrie UV-vis est une méthode analytique qualitative et quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique en solution, plus cette espèce est concentrée plus elle absorbe la lumière dans les limites de proportionnalité énoncées par la loi Beer-Lambert [110] :

$$A = \epsilon \cdot l \cdot C$$

Où :

**A** : Absorbance.

$\epsilon$  : Le coefficient d'absorption molaire en  $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$ .

$l$  : épaisseur de cuve ou trajet optique (1 cm).

$C$  : La concentration de la solution en mol/L.

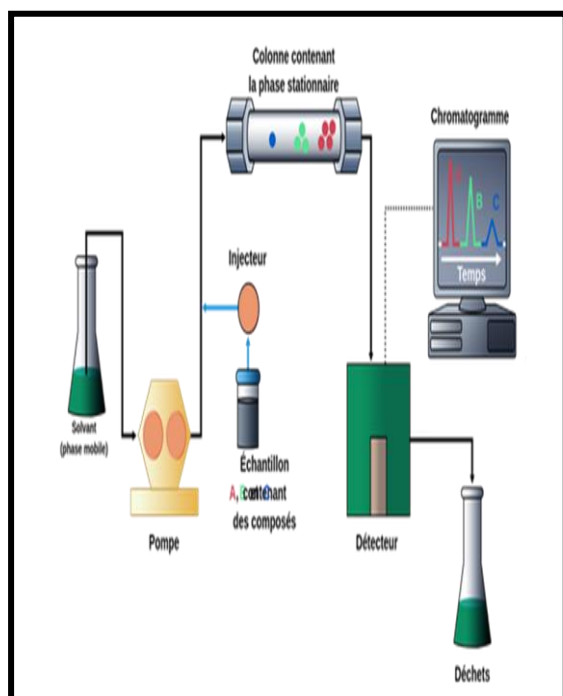
Dans le cadre de l'étude des métabolites secondaires dans les extraits de feuilles et de fleurs de Marrube blanc, un spectrophotomètre UV-Vis **SHIMADZU UV-1205** ( **Figure II.12**) a été utilisé pour identifier et quantifier certains métabolites secondaires cette quantification a été réalisé en exploitant les courbes d'étalonnage préalablement établies avec des standards spécifiques pour estimer la concentration des polyphénols totaux, des flavonoïdes ainsi que des tanins dans les extraits végétaux.



**Figure II.12** : Appareil de l'UV-Vis Spectrophotomètre (UV-1205).

### II.5.1.2.3 Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC)

La chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) est une technique utilisée pour la séparation, l'identification et la quantification des composés d'un mélange. Le système chromatographique comprend un réservoir de solvant (phase mobile), une pompe, une colonne (phase stationnaire), un injecteur, un détecteur UV-Vis et une station d'acquisition de données (**Figure II.13**) [111]. Dans notre étude, nous avons utilisé un appareil **HPLC ULTIMATE 3000**(**Figure II.14**). Cette technique, en présence de la détection UV-Vis, permet une séparation efficace des métabolites présents dans les extraits de feuilles et de fleurs de Marrube blanc, ainsi que leur identification et leur quantification.



**Figure II.13** : Un système chromatographie (HPLC) **Figure II.14** :Un appareil HPLC ULTIMATE 3000.

Pour le protocole d'analyse qualitative des flavonoïdes, des polyphénols et des tanins dans les extraits de feuilles et de fleurs de Marrube blanc par HPLC un volume de 20  $\mu$ l de chaque extrait sont injectés dans une colonne de type phase inverse (C18) de dimensions 1254.6 mm. La phase mobile utilisée est un mélange de trois solvants : eau distillé / méthanol/ acide acétique dans les proportions suivantes : 50% /47% / 3% (v/v/v). Un gradient d'éluion de type isocratique est appliqué sur une durée de dix minutes (10 min), avec un débit de 1 ml/min. La détection des composés est réalisée à l'aide d'un détecteur UV-Vis à une longueur d'onde de 330 nm [109].

## II.5.2 Etude quantitative des métabolites secondaires dans les extrais de marrube blanc

### II.5.2.1 Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans les extraits de feuilles et de fleurs de la plante étudiée est effectué selon la méthode décrit par **Boizot** [112] Le reactif Folin Ciocalteu utilisé et constitué d'un mélange acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_4$ ) de couleur jaune. Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par ce réactif, qui entraîne la formation d'un nouveau complexe d'oxydes métallique de tungstène et de molybdène de couleur bleu [113].

➤ **Protocole de dosage**

Dans le protocole de dosage des polyphénols totaux, 200 µl de l'extrait de feuille ou de fleur de marrube blanc sont mélangés avec 1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu dilué (contenant de l'acide phosphotungstique et de l'acide phosphomolybdique). Après une incubation de 4 minutes, 800 µl de solution de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2%) sont ajoutés, suivi d'une incubation de 45 minutes à l'abri de la lumière. Enfin, l'absorbance de la solution est mesurée à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible. Ce processus permet l'oxydation des composés phénoliques présents dans l'extrait, et la formation d'un complexe d'oxydes métalliques de tungstène et de molybdène colorés.

➤ **Expression des résultats**

Les teneurs en polyphénols totaux dans les extraits des différentes parties de la plante sont exprimées en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme (mg EAG/g d'extrait). La quantification des polyphénols a été réalisée par l'exploitation d'une courbe d'étalonnage tracée avec un standard, l'acide gallique et à différentes concentrations (0,04-0,2mg/ml) et dans les mêmes conditions opératoires que les extraits végétaux. **Figure III.1 en (Annexe II)** présente la courbe d'étalonnage utilisée pour quantifier les polyphénols totaux dans les extraits de la plante.

### II.5.2.2 Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode basée sur la formation d'un complexe très stable ; entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes [114].

➤ **Protocole de Dosage**

Le protocole de dosage des flavonoïdes décrit est réalisé de la manière suivante : 400 µl de l'extrait de feuilles ou de fleurs est ajouté à 120 µl de chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) à une concentration de 2%. Le mélange est agité pour assurer une homogénéité, puis incubé pendant 30 minutes à température ambiante. Après l'incubation, l'absorbance de la solution est mesurée à une longueur d'onde de 430 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible. Cette absorbance est ensuite utilisée pour évaluer la concentration de flavonoïdes dans l'échantillon en se référant à une courbe d'étalonnage préalablement établie.

➤ **Expression des résultats**

La teneur en flavonoïdes dans les extraits de feuilles et de fleurs est exprimée en milligrammes équivalents de quercétine par gramme de poids sec (mg EQR/g d'extrait). La quantification des flavonoïdes est effectuée en utilisant une courbe d'étalonnage tracée avec un standard, la quercitrine, à différentes concentrations. Les mesures sont réalisées dans les mêmes conditions expérimentales que celles utilisées pour les extraits végétaux. **La Figure III.2 en Annexe II** présente la courbe d'étalonnage utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les extraits de la plante. En se référant à cette courbe d'étalonnage, la concentration de flavonoïdes dans les extraits végétaux peut être déterminée en fonction de l'absorbance mesurée à la longueur d'onde appropriée

### **II.5.2.3 Dosage des tanins condensés**

Nous avons adopté la méthode à la vanilline en présence d'un acide (HCl). Cette méthode dépend de la réaction de la vanilline avec le groupement flavonoïde terminal des tanins condensés [115,116] ; et la formation d'un complexe de couleur rouge l'anthocyanidols [117].

➤ **Protocole de Dosage**

Le protocole de dosage des tanins en présence de la vanilline consiste à mélanger 50 µl de l'extrait de feuilles ou de fleurs avec 1,5 ml d'une solution vanilline/méthanol (4%) et à ajouter de l'acide chlorhydrique concentré. Après agitation et incubation pendant 20 minutes à température ambiante (la réaction de condensation entre la vanilline et les tanins se produit), l'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 510 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible. La formation d'un complexe de couleur rouge ou brunâtre entre la vanilline et les tanins permet la quantification des tanins par la mesure de l'absorbance, en utilisant une courbe d'étalonnage préalablement établie avec des solutions étalons de tanins.

➤ **Expression des résultats**

La quantification des tanins condensés dans les extraits de feuilles et de fleurs est réalisée selon la méthode de vanilline décrite par **R.Julkunen-Titto [118]**. Les teneurs en tanins condensés sont exprimées en milligrammes d'équivalent de catéchine par gramme de poids sec des feuilles et des fleurs (mg EC/g d'extrait). Pour la quantification, une courbe d'étalonnage est tracée en utilisant un standard, la catéchine, à différentes concentrations et dans les mêmes conditions expérimentales que les extraits végétaux. La mesure de l'absorbance est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible à une longueur d'onde spécifique, en se référant à la courbe

d'étalonnage pour déterminer la concentration en tanins condensés dans **la Figure III.3 en l'Annexe II**.

#### **II.5.2.4 Dosage des tanins gallique**

Les tannins galliques, également connus sous le nom d'acide gallique, sont des composés phénoliques présents dans de nombreux végétaux. Les tannins galliques peuvent être dosés en utilisant le réactif  $\text{FeCl}_3$  [104].

##### **➤ Protocole de Dosage**

Le protocole de dosage des tannins galliques est réalisé en mélangeant 500  $\mu\text{l}$  de l'extrait de feuilles ou de fleurs avec 1 ml d'une solution de chlorure de fer ( $\text{FeCl}_3$  2%). Le mélange est agité et incubé pendant 15 minutes à température ambiante. Ensuite, l'absorbance de la solution est mesurée à une longueur d'onde de 750 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible. La réaction entre les tannins galliques présents dans l'extrait et le  $\text{FeCl}_3$  forme un complexe coloré qui peut être détecté à cette longueur d'onde. La quantification des tannins galliques dans l'extrait se fait en se référant à une courbe d'étalonnage préalablement établie en utilisant des solutions étalons de tannins galliques de concentrations connues.

##### **➤ Expression des résultats**

Les teneurs des tannins galliques est exprimée en milligramme d'équivalent de l'acide gallique par gramme de poids sec des feuilles et fleurs (mg EAG/g d'extrait) [119]. La quantification des tannins gallique est réalisée par l'exploitation d'une courbe d'étalonnage tracée avec un standard ; l'acide gallique à différentes concentrations et dans les mêmes conditions opératoires que les extraits végétaux **La figure III.3 de l'Annexe II** présente cette courbe d'étalonnage. En mesurant l'absorbance des échantillons à une longueur d'onde spécifique et en se référant à la courbe d'étalonnage, il est possible de déterminer la concentration en tannins galliques dans les extraits végétaux.

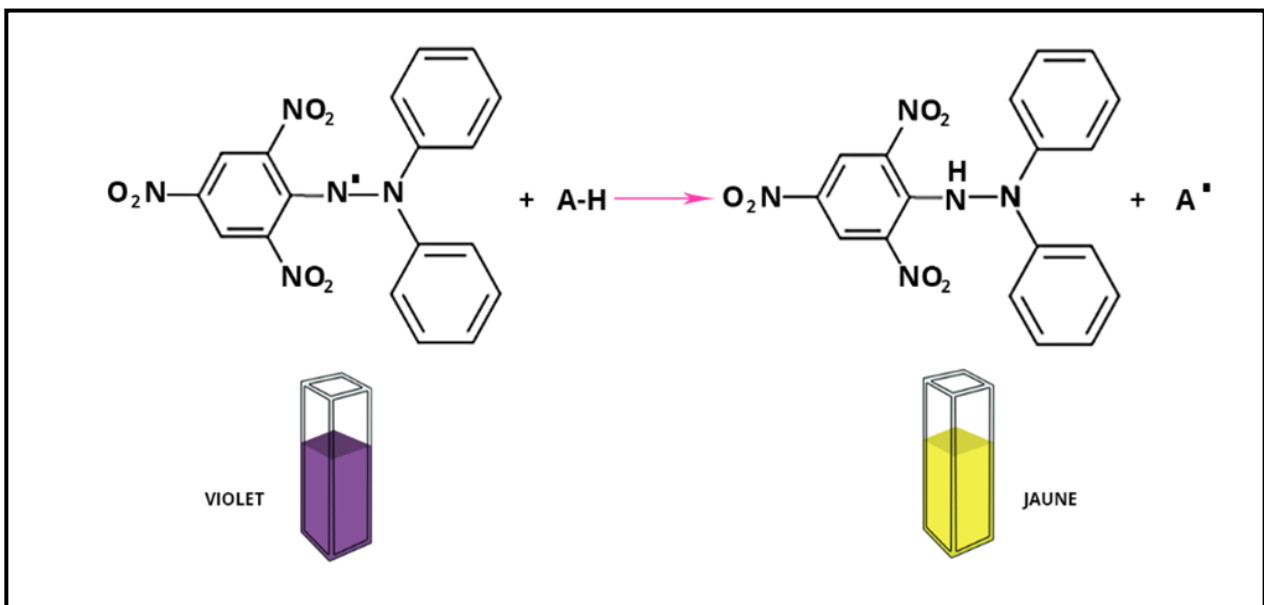
#### **II.6 Evaluation de l'effet antioxydant des extraits de feuilles et de fleurs de marrube blanc**

- L'effet antioxydant se réfère à la capacité d'une substance à neutraliser ou à inhiber les réactions d'oxydation dans un système chimique. Les radicaux libres, qui sont des molécules instables et réactives, peuvent causer des dommages aux cellules et aux tissus en réagissant de manière excessive. Les antioxydants agissent en neutralisant les radicaux libres en leur donnant un électron, ce qui stabilise la molécule et prévient ainsi les

dommages causés à d'autres structures cellulaires [120]. Les antioxydants peuvent être présents naturellement dans certains aliments, tels que les fruits, les légumes et les herbes, ou ils peuvent être obtenus par le biais de suppléments alimentaires. Leur capacité antioxydante peut être évaluée à l'aide de diverses méthodes, telles que les tests de piégeage des radicaux libres ou les tests d'inhibition de l'oxydation lipidique. Un apport adéquat en antioxydants est important pour maintenir l'équilibre oxydant-antioxydant dans l'organisme et contribuer ainsi à une bonne santé.

➤ Évaluation par la méthode de l'inhibition DPPH (Le Diphényle picryl-hydrazole)

Le test du piégeage du radical DPPH (diphényl-picrylhydrazyle) est une méthode couramment utilisée pour évaluer l'activité antioxydante d'une substance végétale. Le DPPH est une molécule qui produit des radicaux libres stables grâce à la délocalisation des électrons dans sa structure, ce qui lui confère une couleur violet foncé. Lorsqu'un agent antioxydant réduit les radicaux DPPH, la solution change de couleur et devient jaune (Figure II.15). Ce changement de couleur peut être mesuré par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 517 nm.[121][122].



**Figure II.15:** Neutralisation du radical DPPH• en présence d'un antioxydant.

Où (AH)<sub>n</sub> représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en Diphényl-picryl-hydrazine (jaune) [123].

➤ **Protocole de Dosage**

Le protocole de mesure de l'activité antioxydante par la méthode du piégeage du radical DPPH a été réalisé en préparant une solution de DPPH dans du méthanol, puis en mélangeant cette solution avec différents volumes d'extraits de feuilles et de fleurs. Les mélanges obtenus ont été laissés dans l'obscurité pendant 30 minutes avant de mesurer leur absorbance à 517 nm.

Parallèlement, une solution d'acide ascorbique a été préparée et mélangée avec le DPPH. Pour servir de contrôle positif, l'absorbance a également été mesurée à 517 nm. Cette méthode permet de déterminer l'activité antioxydante des extraits de plantes en observant la décoloration de la solution de DPPH, indiquant une réduction des radicaux libres par les composés antioxydants présents dans les extraits. [109].

L'évaluation de l'activité antioxydante en utilisant la méthode **DPPH•** est exprimée en pourcentage d'inhibition selon la relation suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = \frac{A \text{ témoin} - A \text{ échantillon}}{A \text{ témoin}} \times 100$$

**Avec :**

**%d'inhibition :** pourcentage d'inhibition.

**A témoin :** Absorbance du contrôle positif.

**A échantillon :** Absorbance de l'échantillon.

➤ **Détermination de l'activité anti-radicalaire**

L'activité anti-radicalaire (AAR) est une mesure de la capacité d'une substance à neutraliser les radicaux libres dans un système chimique. Elle est souvent évaluée à l'aide de la méthode DPPH (Diphényl-picrylhydrazyle). L'AAR est exprimée par :

$$\text{AAR} = 1/\text{IC}_{50} \quad (5)$$

**AAR :** Activité anti-radicalaire.

**IC<sub>50</sub> :** La quantité de substance d'antioxydant nécessaire pour réduire 50%.



### II.7 Evaluation de l'activité antifongique des extraits de feuilles de marrube blanc

Une lotion à base d'un extrait aqueux des feuilles marrube blanc a été utilisée pour traiter une infection fongique au niveau du pied d'une jeune fille de 36 ans, identifiée par un dermatologue comme étant causée par **Candida albicans** (Figure II.16).



**Figure II.16** : photographie du pied d'une jeune fille de 36 ans, atteint par une infection fongique causée par **Candida albicans**.

#### ➤ **Candida albicans**

C'est une espèce de champignon (**Figure II.17**) responsables d'infections fongiques chez les êtres humains. Il est souvent présent dans le corps humain, en particulier dans la bouche, le système digestif et les parties génitales, sans causer de problèmes. Cependant, dans certaines circonstances, *Candida albicans* peut se multiplier de manière excessive et provoquer une infection. Les symptômes de l'infection à *Candida albicans* dépendent de la zone touchée. Par exemple, une infection vaginale à *Candida albicans* peut causer des démangeaisons, des brûlures, des pertes vaginales épaisses et blanches, ainsi que des douleurs lors des rapports sexuels. Dans la bouche, cela peut provoquer une infection appelée muguet, caractérisée par des taches blanches sur la langue, les joues et le palais, accompagnées de douleurs et d'inconfort.

Les infections cutanées à *Candida albicans* peuvent se manifester par des rougeurs, des démangeaisons et des éruptions cutanées dans les zones touchées. Il est important de consulter un professionnel de la santé pour obtenir un diagnostic précis et un traitement approprié en cas de symptômes d'infection à *Candida albicans*. [125]



**Figure II.17 :** champignon le *Candida albicans*.

### **II.8 Préparation de la Lotion à base de d extrait aqueux de feuilles de marrube blanc**

La lotion à base de l'extrait aqueux de feuilles de marrube blanc est préparée par décoction dans l'eau (80ml) de de poudre de feuilles de marrube blanc (10 g) pendant 15 minutes. Le mélange ensuite est filtré. La lotion obtenue a été utilisée dans le traitement antifongique, de l'inflammation causée par le champignon *Candida albicans* [126].

### **II.9 Préparation d'une pommade**

Une autre forme galénique de l'extrait de feuilles de marrube blanc a été préparée sous la forme d'une pommade avec une concentration de 1% en principe actif. Pour cela, un extrait aqueux de feuilles de marrube blanc a été préparé en suivant le même protocole décrit précédemment pour la préparation de la lotion. Après évaporation de l'eau, le résidu obtenu (1 g) a été mélangé avec 100 g de vaseline pour former la pommade. Cette préparation peut être utilisée localement pour ses potentielles propriétés bénéfiques [126].

# Chapitre III

### III. Interprétation des résultats

#### III.1 Détermination du taux d'humidité dans les parties aérienne du Marrubium vulgare

Le tableau III.1 présente les taux d'humidité des feuilles et des fleurs de marrube blanc après un temps de séchage de 7 jours à l'air libre et à l'abri de la lumière. Le séchage à l'air libre et à l'abri de la lumière est couramment utilisé pour préserver les propriétés des plantes médicinales tout en éliminant l'excès d'humidité.

**Tableau III.1** : Taux d'humidité des feuilles et des fleurs du Marrubium vulgare.

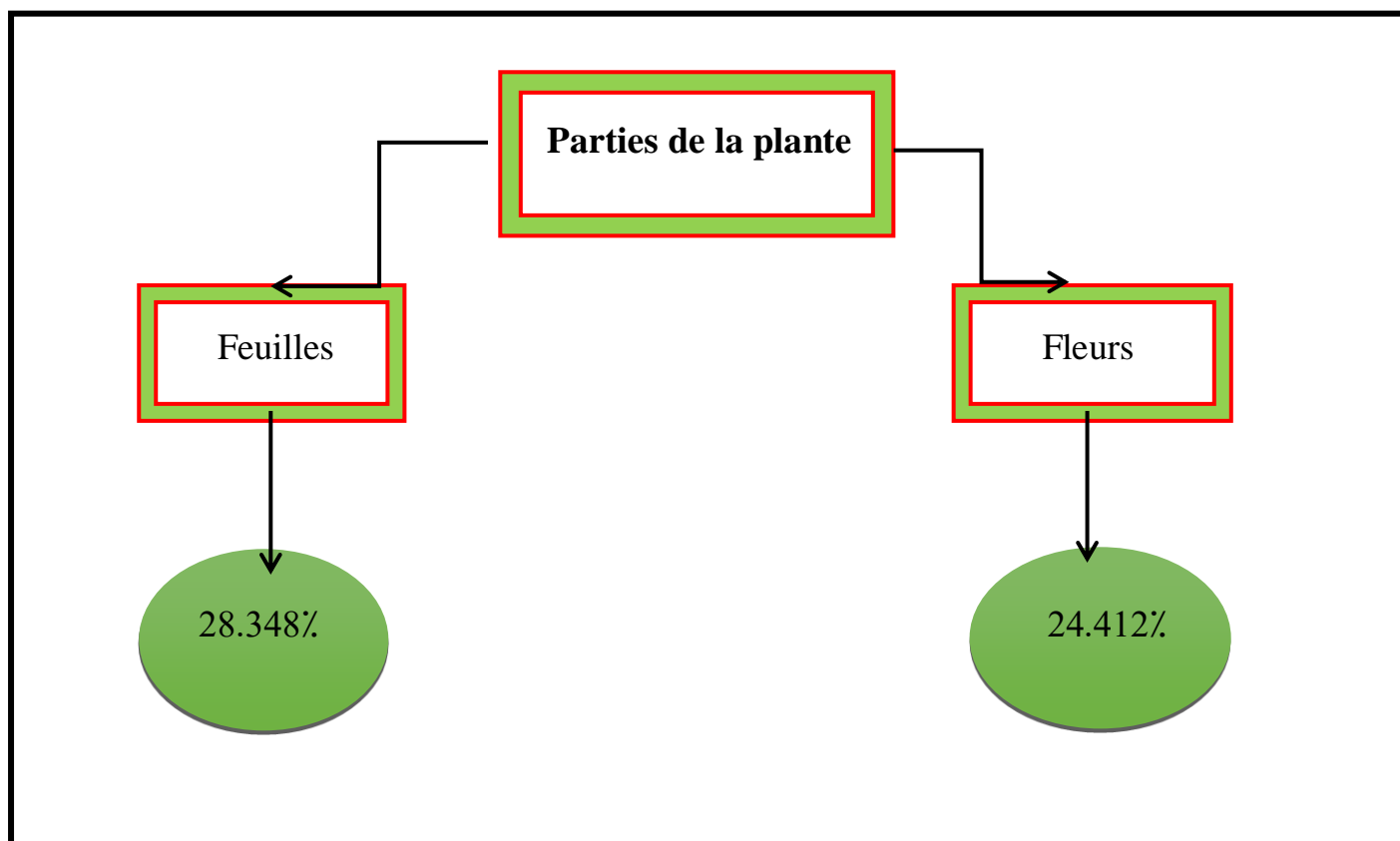
Organe	Les feuilles	Les fleurs
Le taux d'humidité (%)	70.13	67.64

Les résultats du Tableau III.1 indiquent que les feuilles du Marrubium vulgare présentent un taux d'humidité de 70,13%, tandis que les fleurs ont un taux d'humidité de 67,64%. La mesure du taux d'humidité est importante pour évaluer la teneur en eau résiduelle des échantillons de plante, ce qui peut avoir un impact sur la qualité et la stabilité des produits dérivés de ces parties de la plante. Ces données sont essentielles pour évaluer l'efficacité de la méthode de séchage utilisée et garantir la qualité de l'extrait final à utiliser dans la préparation des différentes formes galéniques, telles que la lotion et la pommade à base de feuilles de marrube blanc.

Par ailleurs, une étude réalisée par **Bouterfas, K. et al[27]** dans la région de Mont de Tessala (Sidi-Belabesse) a trouvé un taux d'humidité de 40,32% pour les feuilles de marrube avec la même méthode de séchage et pour la même durée. Le marrube de la région de Semaoune présente nettement un taux d'humidité supérieur à celui de cette région. Les variations rencontrées dans les teneurs en eau peuvent être dues à des facteurs environnementaux, tels que les conditions climatiques et la répartition géographique, qui influencent la quantité d'eau absorbée et retenue par les plantes. Ces données soulignent l'importance de prendre en compte les conditions de culture et de récolte pour garantir la qualité et la cohérence des extraits de marrube utilisés dans les applications médicinales.

#### III.2 Détermination de rendement d'extraction

Le rendement d'extraction des composés phénoliques dans les différentes parties (feuilles et fleurs) de la plante Marrubium vulgare dans l'eau par décoction est représenté sur la **Figure III.1**



**Figure III.1 :** Le rendement d'extraction.

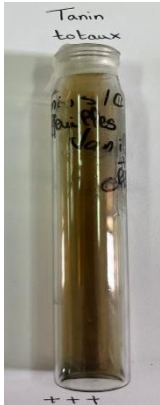


D'après les résultats de la **Figure III.1**, il est observé que le rendement d'extraction des feuilles est de 28,34%, ce qui est supérieur à celui des fleurs qui est de 24,41%. Le rendement d'extraction représente la quantité d'extrait sec obtenue par rapport à la quantité de matière végétale utilisée. Dans ce cas, les feuilles de la plante *Marrubium vulgare* ont montré un meilleur rendement d'extraction par rapport aux fleurs. Ces données sont importantes pour évaluer l'efficacité de la méthode d'extraction utilisée et pour déterminer quelle partie de la plante est la plus appropriée pour obtenir un rendement élevé d'extrait.


### **III.3 Caractérisations qualitatives des métabolites contenus dans les feuilles et les fleurs de *Marrubium vulgare***

#### **III.3.1 Résultats du screening phytochimique**



Les résultats de screening phytochimique par coloration des métabolites présents dans les feuilles et les fleurs de *Marrubium vulgare* ; sont résumés respectivement dans le **Tableau III.2** et **Tableau III.3**

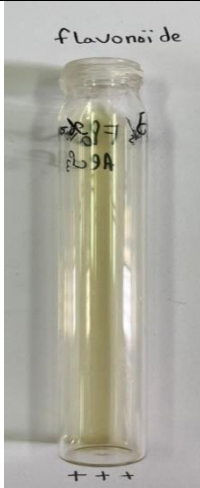

**Tableau III.2** : Résultats des tests de caractérisation par coloration réalisées sur l'extrait aqueux des feuilles de **Marrubium vulgare**.

Nature du métabolites	Réactifs d'identification	Résultats positifs
<b>Tanins condensés</b>	Vanilline + Acide chloridrique	 <p>Coloration <b>rouge</b></p>
<b>Tanins galliques</b>	Chlorure Ferrique ( $FeCl_3$ )	 <p>Coloration <b>Verdâtre</b></p>
<b>Flavonoïdes</b>	Chlorure d'Aluminium ( $AlCl_3$ )	 <p>Coloration <b>jaune</b></p>

<p><b>Polyphénols</b></p>	<p>Folin Ciocalteu + Carbonate de Sodium (<math>\text{Na}_2\text{CO}_3</math>)</p>	 <p>Coloration <b>bleu</b></p>
---------------------------	--	---

**Tableau III.3** : Résultats des tests de caractérisation par coloration réalisées sur l'extrait aqueux des fleurs de **Marrubium vulgare**.

<p>Nature des métabolites</p>	<p>Résultats d'identification</p>	<p>Résultats positifs</p>
<p><b>Tanins condensés</b></p>	<p>Vnilline+acide chhlorodrique</p>	 <p>Coloration <b>rouge</b></p>
<p><b>Tanins galliques</b></p>	<p>Chlorure Ferrique (<math>\text{FeCl}_3</math>)</p>	 <p>Coloration <b>bleu noir</b></p>

<p><b>Flavonoïdes</b></p>	<p>Chlorure d'Aluminium (<math>AlCl_3</math>)</p>	 <p>Coloration <b>jaune</b></p>
<p><b>Polyphénols</b></p>	<p>Folin Ciocalteu + Carbonate de Sodium (<math>Na_2CO_3</math>)</p>	 <p>Coloration <b>bleu</b></p>

D'après les résultats positifs des tests de coloration spécifiques à chaque type de métabolite présentés dans les **Tableaux III.2 et III.3**, il est confirmé la présence de polyphénols totaux, de flavonoïdes et de tanins dans les extraits aqueux des feuilles et des fleurs de marrube blanc. Une étude similaire réalisée par **Djahra.Ali.Boutelis** ; a également confirmé la présence de flavonoïdes, de tanins, de saponosides, de stérols et de triterpènes dans la même plante, à l'exception des alcaloïdes et des coumarines. En observant l'intensité des couleurs relatives à la présence des différents métabolites dans l'extrait des feuilles par rapport à celui des fleurs, on peut conclure que les feuilles contiennent une concentration plus élevée de métabolites secondaires que les fleurs. Ces résultats mettent en évidence la richesse en composés bioactifs des feuilles de marrube blanc, ce qui peut avoir des implications pour leur utilisation potentielle en tant que source de principes actifs dans des applications thérapeutiques ou médicinales.



### III.3.2 Caractérisations par Chromatographie sur couche mince (C.C.M)

L'analyse chromatographique sur couche mince (C.C.M) des extraits aqueux des feuilles et fleurs de *M. vulgare* a révélé la présence de métabolites spécifiques représentés par des spots distincts dans les **Figures III.1 et III.2 (Annexe III)**.

L'exploitation des résultats fournis par les plaques de CCM, avec une observation sous lampe UV à deux longueurs d'onde différentes, dans un éluant (eau 35%, méthanol 60% et acide ascorbique 4.5%) a permis la détermination des rapports frontaux des différents métabolites présents dans les extraits de feuilles et de fleurs du marrube blanc, ainsi que leur identification en comparant ces rapports frontaux avec ceux des standards utilisés : acide gallique (AG), quercitrine (QR) et catéchine (T). Les rapports frontaux ( $R_f$ ) relatifs à chaque type de métabolite présent dans l'extrait végétal étudié sont représentés dans le **Tableau III.4**. Cette analyse permet de mettre en évidence les composés spécifiques présents dans les extraits et d'établir des comparaisons avec des composés de référence, ce qui facilite leur identification et leur classification en fonction de leur migration sur la plaque de CCM.

**Tableau III.4** : Résultats d'analyse CCM pour l'extrait de feuilles et fleurs de *M. vulgare* et les standard.

Parties de la plante	Le Metabolite secondaire	La Couleur de la tache	Le Rapport frontale $R_f$
<b>Les feuilles</b>	Polyphénols ( $R_f=0.92$ )	Vert olive	<b>0.91</b>
	Flavonoïdes ( $R_f=0.70$ )	Ocre	<b>0.68</b>
	Tanins condensés ( $R_f=0.94$ )	Rouge ocre	<b>0.92</b>
<b>Les fleurs</b>	Polyphénols ( $R_f=0.97$ )	Vert olive	<b>0.96</b>
	Flavonoïdes ( $R_f=0.79$ )	Ocre	<b>0.77</b>
	Tanins condensés ( $R_f=0.92$ )	Rouge ocre	<b>0.90</b>

Les résultats du **Tableau III.4** indiquent que pour les feuilles, on observe la présence de polyphénols avec une tache de couleur vert olive et un rapport frontal (Rf) de 0,91, ce qui est proche de celui de l'acide gallique (Rf=0.92). On observe également la présence de flavonoïdes avec une tache de couleur ocre et un Rf de 0,68, qui est proche de celui du standard quercitrine. De plus, on observe la présence de tanins condensés avec une tache de couleur rouge ocre et un Rf de 0,92, également proche du standard (Rf=0.94). La comparaison des rapports frontaux des constituants de l'extrait des fleurs avec ceux des standards confirme aussi la présence des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins dans ces extraits.

### III.3.3 Caractérisation par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC)

Les chromatogrammes des extraits de feuilles et de fleurs de **Marrubium vulgare** obtenus par HPLC sont présentés sur la Figure **III.3**, **Figure III.4 (Annexe III)**. Ils révèlent la présence de plusieurs pics correspondant aux différents métabolites secondaires, notamment les polyphénols totaux, les flavonoïdes et les tanins, qui ont été préalablement détectés par chromatographie sur couche mince (CC.M). L'ensemble des résultats obtenus est illustré dans le **Tableau III.5**.

**Tableau III.5** : Les temps de rétention des extraits et des standards.

Extrait Et l'étalon	Extrait de feuilles	Extrait de fleurs	Catéchol	Acide gallique	Quercétine	Catéchine
Temps de rétention (min)	1.702 5.078	1.867 5.208	2.357 32.097	1.646	5.542	1.617

En comparant les temps de rétention des extraits de feuilles et de fleurs du marrube blanc avec ceux des standards (catéchol, acide gallique, quercétine et catéchine), on observe des similitudes significatives. Les temps de rétention des extraits de feuilles (1,702 min) et de fleurs (1,867 min) sont proches de ceux de l'acide gallique (1,646 min) et de la catéchine (1,617 min), ce qui suggère la présence de polyphénols totaux et de tanins dans ces extraits. De plus, les chromatogrammes révèlent des pics avec des temps de rétention de (5,078 min) pour les feuilles et de (5,208 min) pour les fleurs, similaires à celui de la quercétine, suggérant ainsi la présence

de flavonoïdes dans les extraits de feuilles et de fleurs du marrube blanc. Ces résultats concordent avec d'autres études, notamment celle réalisée par Ghedadba, N 2013 [109] sur les extraits méthanoïques des feuilles de marrube blanc, qui a également confirmé la présence de polyphénols avec un temps de rétention de (15 min) et de flavonoïdes avec un temps de rétention de (35 min). Ainsi, les comparaisons des temps de rétention des métabolites des extraits de feuilles et de fleurs avec ceux des standards confirment la présence des polyphénols totaux, des tanins et des flavonoïdes dans ces extraits de marrube blanc.

### III.4 Caractérisations quantitative des métabolites contenus dans les feuilles et les fleurs du *M.vulgare*

#### III.4.1 Dosages des polyphénols, des flavonoïdes et les tanins

Le dosage de l'ensemble des métabolites secondaires dans les extraits de feuilles et de fleurs du *Marrubium vulgare* est résumé dans **Tableau III.6**

**Tableau III.6** : Teneurs des métabolites secondaire dans l'extrait aqueux des feuilles et fleurs du *M.vulgare*.

Parties de la plante	Polyphénols Totaux (mg EAG/g d'extrait sec)	Flavonoïdes (mg EQR/g d'extrait sec)	Tanins gallique (mg EAG/g d'extrait sec)	Tanins condensés (mg ECaté/g d'extrait sec)
Les feuilles	<b>33.49</b>	<b>57.66</b>	<b>32.67</b>	<b>104.643</b>
Les fleurs	<b>3.358</b>	<b>13.46</b>	<b>16.37</b>	<b>155.571</b>

En comparant les résultats des feuilles et des fleurs du *Marrubium vulgare* dans le Tableau III.6", on observe les différences suivantes :

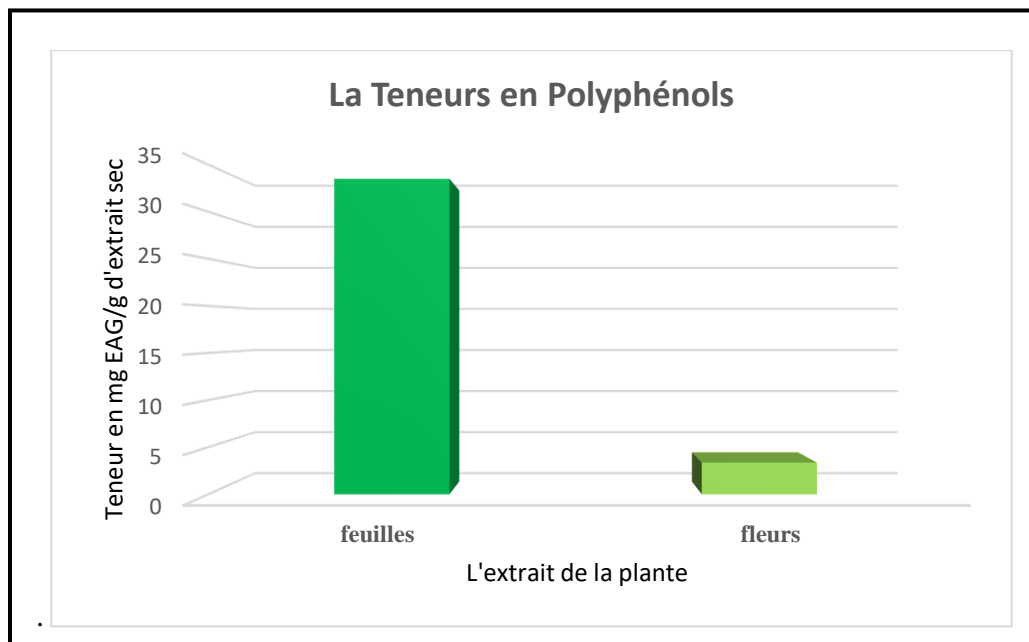
1. Polyphénols totaux : Les feuilles présentent une teneur plus élevée en polyphénols totaux (33,49 mg EAG/g d'extrait sec) par rapport aux fleurs (3,358 mg EAG/g d'extrait sec). **Figure III.2**. Les feuilles contiennent donc une quantité significativement plus importante de

polyphénols totaux que les fleurs.

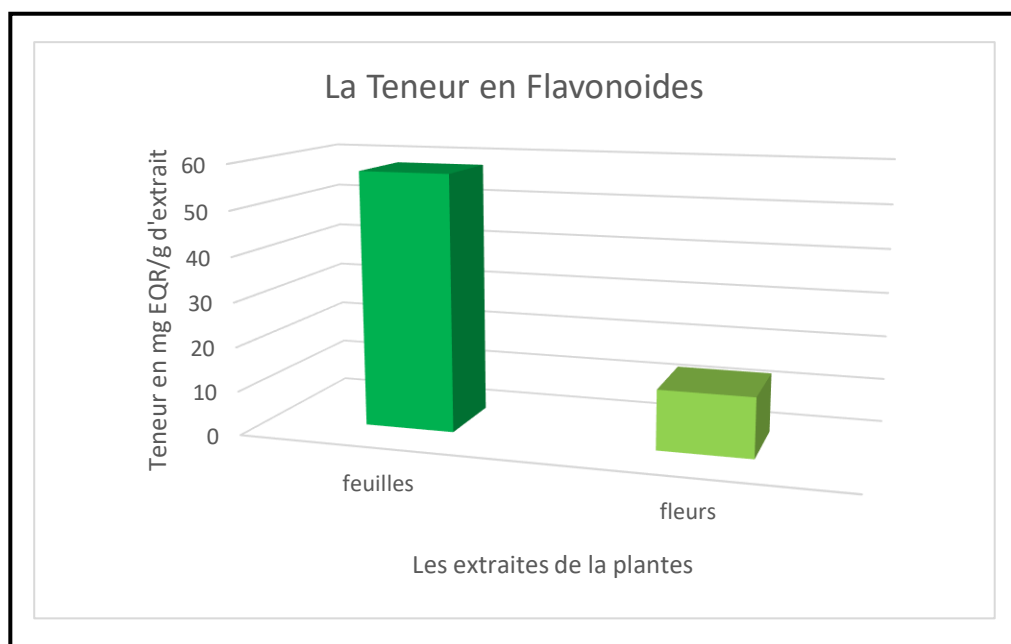
2. Flavonoïdes : Les feuilles affichent également une teneur plus élevée en flavonoïdes (57,66 mg EQR/g d'extrait sec) par rapport aux fleurs (13,46 mg EQR/g d'extrait sec). **Figure III.3.** Les feuilles contiennent donc une concentration plus importante de flavonoïdes que les fleurs.

3. Tanins galliques : Les feuilles montrent une teneur en tanins galliques de 32,67 mg EAG/g d'extrait sec, tandis que les fleurs présentent une teneur légèrement plus faible de 16,37 mg EAG/g d'extrait sec. **Figure III.4.** Les feuilles contiennent donc une quantité plus élevée de tanins galliques que les fleurs.

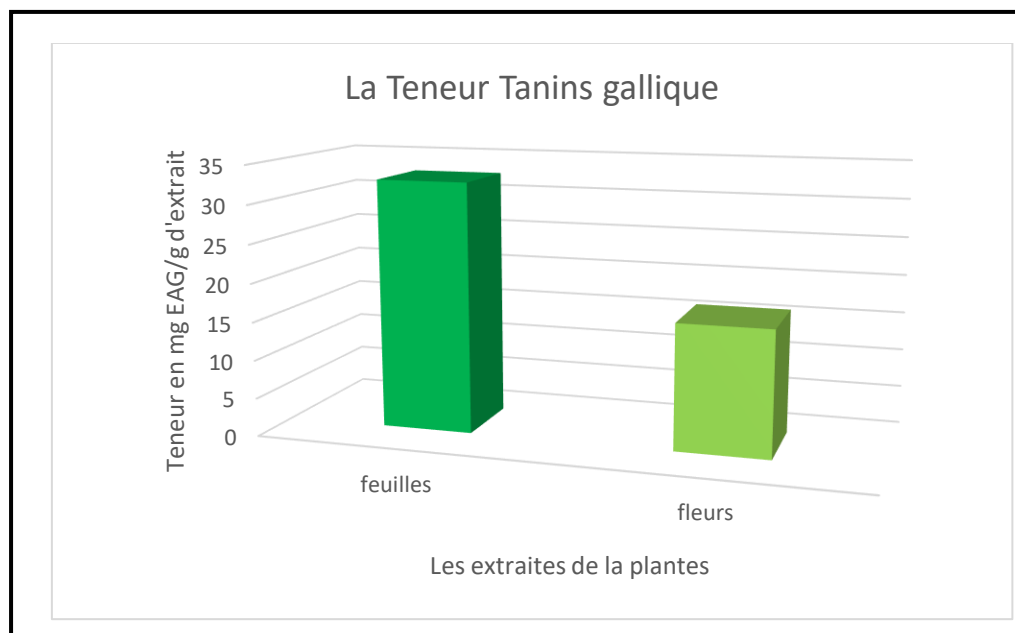
4. Tanins condensés : Les fleurs présentent une teneur plus élevée en tanins condensés (155,571 mg ECaté/g d'extrait sec) par rapport aux feuilles (104,643 mg ECaté/g d'extrait sec) **Figure III.5.** Les fleurs contiennent donc une concentration plus importante de tanins condensés que les feuilles



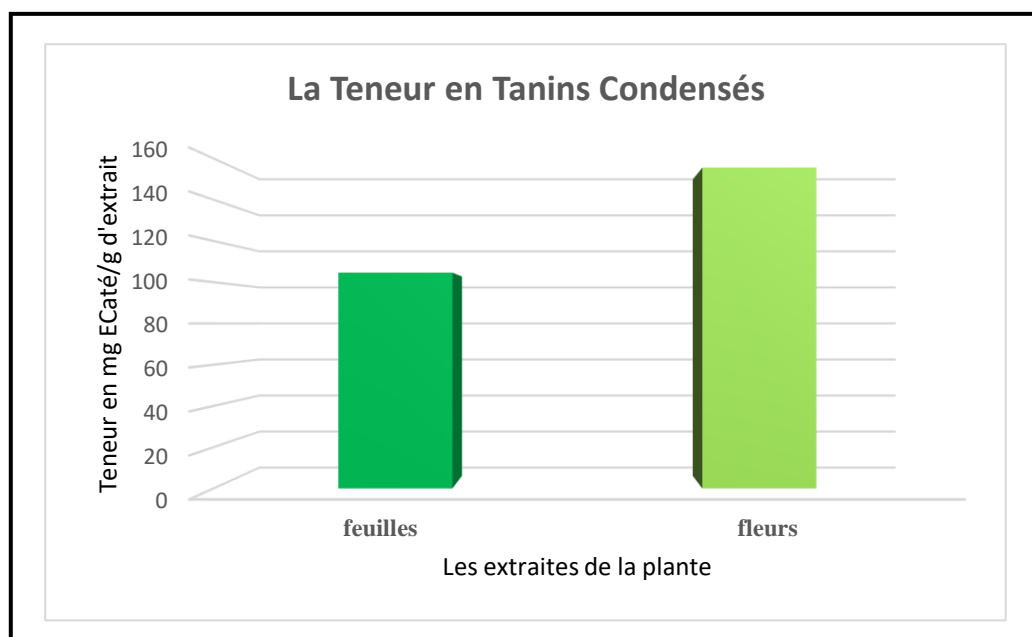
**Figure III.2:** Teneurs en polyphénols des feuilles et fleurs (mg EAG/g d'extrait sec).



**Figure III.3 :** Teneurs en Flavonoïdes des feuilles et fleurs (mg EQR/g d'extrait sec).



**Figure III.4:** Teneurs en Tanins gallique des feuilles et fleurs (mg EAG/g d'extrait sec).

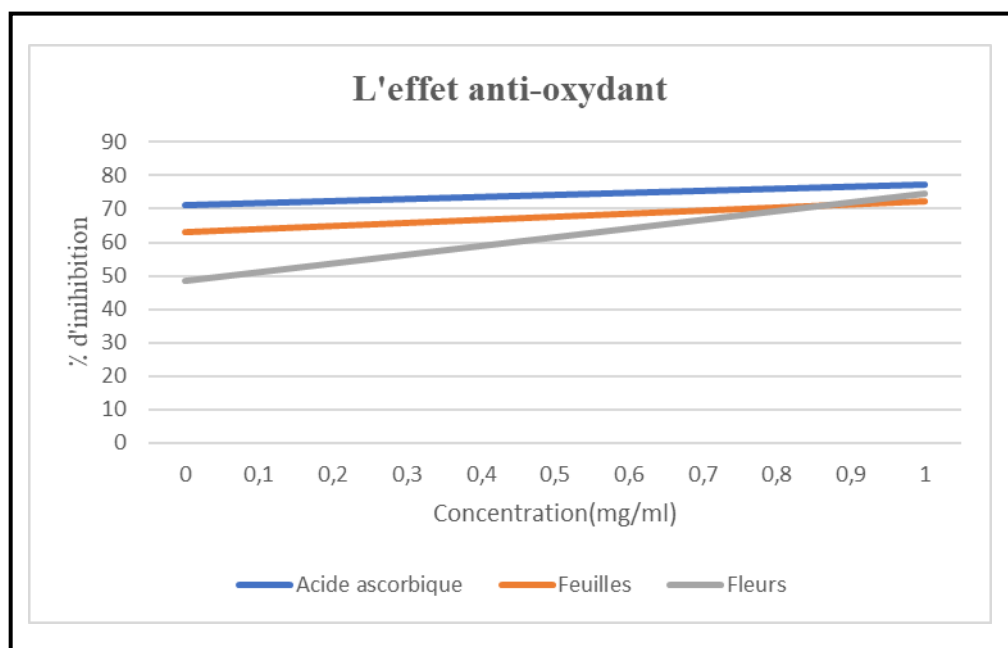


**Figure III.5:** Teneurs en Tanins condensés des feuilles et fleurs (mg ECaté/ g d'extrait sec).

En résumé, les feuilles du Marrubium vulgare ont des teneurs plus élevées en polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins galliques par rapport aux fleurs. Cependant, les fleurs ont une teneur plus élevée en tanins condensés par rapport aux feuilles. Ces différences peuvent refléter les variations dans la composition chimique des parties de la plante et peuvent avoir des implications sur leurs propriétés pharmacologiques et leurs utilisations potentielles.

### III.5 Evaluation de l'effet antioxydant :

Une comparaison de l'activité antioxydante de l'acide ascorbique (vitamine C) avec celle des extraits de feuilles et de fleurs de marrube blanc avec le test du piégeage au DPPH° est représentée sur la **figure III.6**

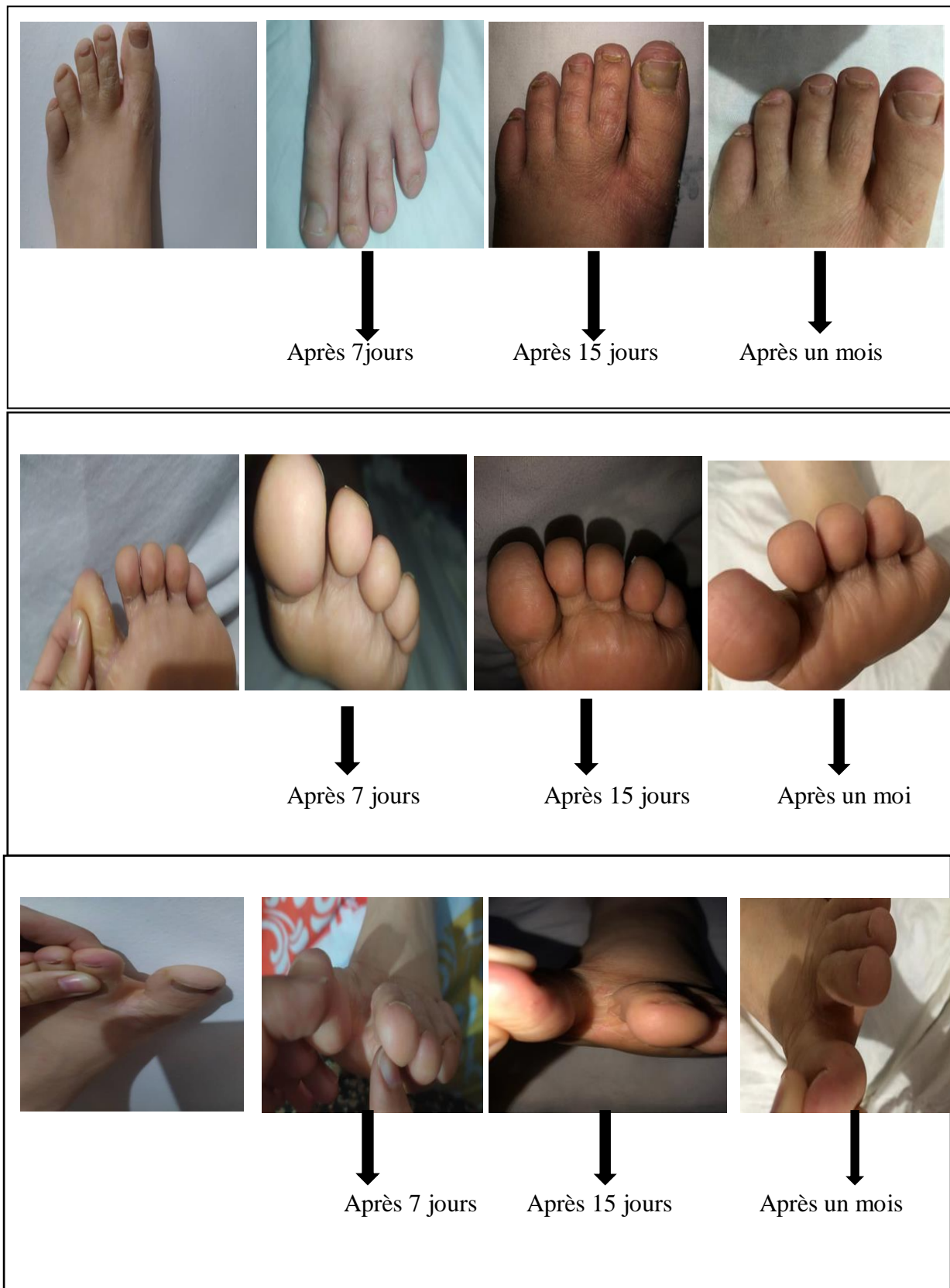


**Figure III.6 :** Etude comparative de l'activité anti oxydante des extraits aqueux des parties aériennes de *M.vulgare* et acide ascorbique.

D'après la figure III.11, il est observé que l'effet antioxydant des extraits aqueux de feuilles et de fleurs du Marrubium vulgare est significatif. Cependant, cet effet est légèrement inférieur à celui de l'acide ascorbique, qui est utilisé comme référence pour son fort pouvoir antioxydant, et ce pour toutes les concentrations testées. En ce qui concerne la quantité de substance antioxydante nécessaire pour inhiber 50% du radical DPPH (IC50), on remarque que l'extrait aqueux des fleurs présente un IC50 à une concentration supérieure à 0,15 mg/ml. En revanche, pour les feuilles, cette inhibition est atteinte à des concentrations plus faibles, ce qui indique une meilleure activité antioxydante des feuilles par rapport aux fleurs. Ces résultats suggèrent que les extraits aqueux de feuilles du Marrubium vulgare ont un potentiel antioxydant plus élevé que les extraits de fleurs, ce qui peut être attribué aux différences dans la composition chimique des deux parties de la plante. Les feuilles pourraient donc être considérées comme une source plus prometteuse d'antioxydants.

### III.6 Evaluation in vivo de l'activité antifongique d'extrait de feuilles de Marrubium vulgare

Dans la Figure III.7, on peut observer les résultats de l'application quotidienne pendant 30 jours de l'extrait aqueux de feuilles de marrube blanc sur le pied infecté par *Candida albicans*.



**Figure III.7 :** Photographies des résultats de l'application quotidienne pendant 30 jours de l'extrait aqueux de feuilles de marrube blanc sur le pied infecté par **Candida albicans**.



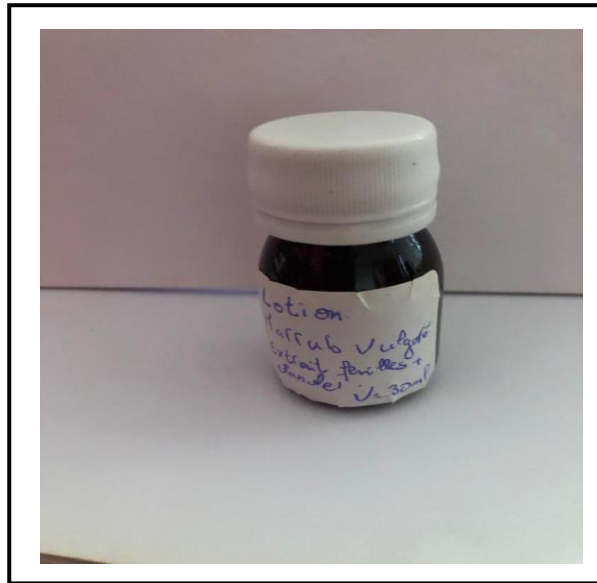
Le **tableau III.7** résume l'ensemble des symptômes observés avant l'application de l'extrait aqueux de feuilles de marrube blanc, causés par la contamination avec le *Candida albicans*, ainsi que les améliorations observées après différentes périodes d'application (3 jours, 7 jours, 15 jours et 30 jours)

**Tableau III.7** : Les différents symptômes.

Avant application	Après application
<ul style="list-style-type: none"> <li>-Des rougeurs et des plaques rouges légèrement enflées</li> <li>-Les démangeaisons intenses qui s'intensifient en cas de chaleur ou de frottement avec les chaussures</li> <li>-vésicules remplies de liquide clair.</li> <li>-desquamation, sur la zone infectée qui provoque une sensation de sécheresse et d'irritation.</li> <li>-sensation de brûlure au contact de l'eau ou des produits détergents.</li> <li>-Sensible après avoir porté des chaussures.</li> </ul>	<p><u>Après 3 jour d'application</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- la peau moins dure au touché</li> <li>-Douleurs et quelques saignements au niveau des plaques rouges, mais sans gravité.</li> <li>-Diminution des desquamations</li> </ul>
	<p><u>Après 7 jours d'application :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Arrêt des saignements.</li> <li>-Amélioration de la cohésion cutanée jour après jour.</li> <li>-Réduction des rougeurs.</li> <li>-Diminution des démangeaisons.</li> </ul>
	<p><u>Après 15 jours d'application :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Continuation de l'amélioration de la cohésion cutanée.</li> <li>- Rémission presque complète des rougeurs.</li> <li>- Absence totale de démangeaisons.</li> </ul>
	<p><u>Après les 30 jours</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Arrêt définitif des saignements.</li> <li>-Cohésion cutanée complète et normale.</li> <li>- Disparition totale des rougeurs.</li> <li>- Absence totale de démangeaisons.</li> <li>- La peau est devenue douce et lisse.</li> </ul>

**III.7 Préparation d'une Lotion à base de l'extrait de feuilles du *M.vulgare***

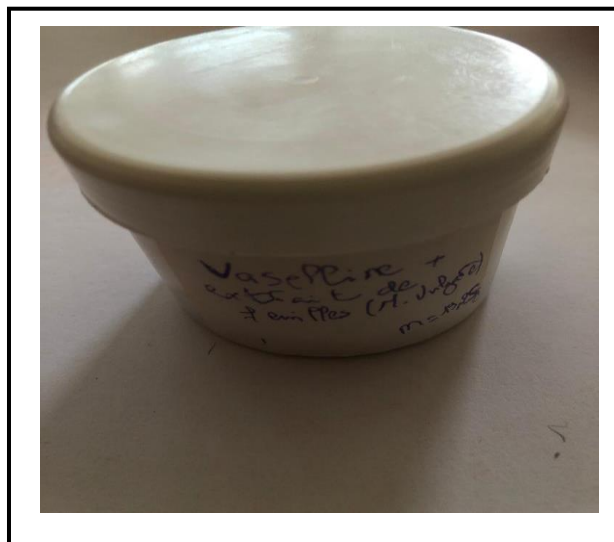
La lotion à base de l'extrait aqueux de feuilles de marrube blanc est présentée sur **Figure III.8** est conditionnée dans un flacon de 30 ml stériliser verre fumé et maintenue au réfrigérateur à 4°C.



**Figure III.8 :** Lotion aqueuse à base de l'extrait de feuilles du **M.vulgare**.

### III.7.1 Préparation d'une pommade à base de l'extrait de feuilles du **M.vulgare**

Une pommade de 1% préparé avec la vaseline et l'extrait aqueux de feuilles de marrube blanc est représenté sur la **Figure III.9**



**Figure III.9 :** pommade à base de l'extrait de feuilles du **M.vulgre**.

# Conclusion

## Conclusion générale

---

Dans le cadre de notre étude sur le Marrubium vulgare (Merrouyeth), une plante récoltée dans la région de SEMAOUNE, wilaya de BEJAIA. Nous avons pu identifier et caractériser les métabolites secondaires présents dans cette plante, notamment les polyphénols totaux, les flavonoïdes et les tanins condensés et galliques. Nous avons également évalué l'effet antioxydant de cette plante, ainsi que son activité antifongique contre *Candida albicans*.

Nos résultats ont démontré que le Marrubium vulgare possède des propriétés antioxydantes significatives, ce qui suggère son potentiel en tant qu'agent protecteur contre les dommages oxydatifs. De plus, l'extrait des feuilles de Marrubium vulgare a montré une activité inhibitrice prometteuse contre *Candida albicans*, ouvrant ainsi la voie à de nouvelles perspectives dans le traitement des infections fongiques.

En outre, notre étude a permis de développer deux formes galéniques à base de l'extrait de marrube blanc, offrant ainsi des options pratiques et efficaces pour son administration.

Ces résultats soulignent l'importance de la phytothérapie et du Marrubium vulgare en tant que ressource thérapeutique potentiellement précieuse. Cependant, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour mieux évaluer leur sécurité et leur efficacité à plus grande échelle.

Comme perspectives et sur la base des résultats prometteurs obtenus dans notre étude, il convient d'explorer davantage le potentiel thérapeutique du Marrubium vulgare. Voici quelques perspectives envisageables :

- ✓ Étude des mécanismes d'action : Il est important de comprendre les mécanismes moléculaires par lesquels les métabolites du Marrubium vulgare exercent leurs effets antioxydants et antifongiques. Des études approfondies, telles que des essais *in vitro* et des études sur des modèles animaux, peuvent aider à élucider ces mécanismes.
- ✓ Évaluation de l'efficacité clinique : Il est essentiel de mener des essais cliniques rigoureux pour évaluer l'efficacité de l'extrait de marrube blanc dans le traitement des affections spécifiques, telles que les infections fongiques. Cela permettra de valider son utilisation dans la pratique médicale.
- ✓ Étude de la sécurité : Des études toxicologiques approfondies sont nécessaires pour évaluer la sécurité de l'utilisation du Marrubium vulgare, notamment à des doses thérapeutiques. Il est important de déterminer les éventuels effets indésirables et les interactions médicamenteuses potentielles.

## Conclusion générale

---

- ✓ Valorisation économique : Étant donné que le Marrubium vulgare est une plante largement disponible et abordable, il est important d'explorer les opportunités de valorisation économique de cette ressource. Cela peut inclure la production d'extraits standardisés, de produits dérivés et de formulations commerciales.
- ✓ La mise en place de mesure corrective : Pour améliorer les procédures de fabrications sous d'autres formes galéniques tout en respectant les normes de la pharmacopée ainsi que les conditions de conservation.

# **Références Bibliographiques**

## Références bibliographies

---

- [1] Hodek P., et al. **Traditional Medicine in Developing Countries**. In : Bouayed J., Bohn T. (eds) Nutrition and Lifestyle in Neurological Autoimmune Diseases. Academic Press, 171-186 ;2019.
- [2] Yadav, S. S., Shukla, M. K., & Chandra, S ; « Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function, and Pharmacological Properties » ; An International Journal of Life Sciences, 13(1), 1-14 ;2019.
- [3] Zaabt N., Darbour N., Bayet C., Michalet S., Doléans-Jordheim A., Chekir-Ghedira L., Akkal S.,Dijoux-franca M-G. 2010. Etude préliminairede Marrubium deserti de Noé,une lamiaceae endémique algérienne.pharmacognosie,8,353-358.
- [4]. Dr Ben Moussa MT ; « PHYTOTHERAPIE », Département de pharmacie Batna (Laboratoire de pharmacognosie (3<sup>ème</sup> année) ),16 juillet 2007.
- [5]. Wichtl M ; Anton R ; « Plantes thérapeutiques-Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique » ;2<sup>ème</sup> édition,Ed.TEC & DOC,2003.
- [6]. La revue Prescrire ; « Bien utiliser les plantes en situation de soins », numéro spécial été T.27, n°286 ;2007
- [7]. Naouel OUIS ; « ETUDE CHIMIQUE ET BIOLOGIQUE DES HUILES ESSENTIELLES DE CORIANDRE, DE FENOUIL ET DE PERSIL », Thèse de doctorat, Université Ahmed Ben Bella-Oran, Alger ; 28/04/2015.
- [8]. Moreau, B. Maître de conférences de pharmacognosie à la faculté de Pharmacie de Nancy ; Travaux Dirigés et Travaux Pratiques de Pharmacognosie de 3<sup>ème</sup> Année de Doctorat de Pharmacie ;2003.
- [9]. Devoyer, J ; Stéphane Korsia-Meffre, rédacteur et coordinateur du Guide des plantes qui soignent (éd. Vidal) ; Publié Le, 28/09/2012.
- [10]. Jean-Marie Gazengel et Anne marie Orecchioni ; « Le préparateur en pharmacie » ; Technique et documentation ;1999.
- [11]. V. Fintelmann et R. F Weiss ; « Manuel pratique de phytothérapie » ; Edition VIGOT 2004.
- [12]. Berlencort A ; « Huiles essentielles,Aromathérapie Histoire review of medicinal plants » 10.413/0973-7847.95849 ;2008-2013.
- [13]. M.Ali.Youssef ; « Plants médicinales de Kabylie », Ed : Ibis press (Paris), P : 349,2006.
- [14]. Mahmoudi Yahia ; « La thérapeutique par les plantes communes en Algérie » ; Palais Du Livre, Blida ;1990.
- [15]. AL KADI ; « Usage de quelques plantes dans la médecine populaire en libé » ; Vol1-2 ;1989.
- [16]. Pierre Quezel & Santa,S ; « La nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales » ; tome II, Ed : CNRS,Paris ;1993.
- [17]. M.K. Boukef ; « Les plantes dans la médecine traditionnelle tunisienne » ;1986.
- [18]. Bellakhdar Jamal ; « Médecine Arabe Ancienne et Savoirs Populaires, La pharmacopée marocaine traditionnelle », Ed. Le Fennecet Ibio Press, impression : Dunes France ; P 341 ;1997.
- [19]. Bonnier G ; « La Végétation de la France, Flore Complète » ; Tome 09, Suisse et Belgique. Paris. 472, pp : 25-26 ;1990.
- [20]. Dansk Flora (Frederiksen et al. 2012). Photo de marrubium vulgare site internet: [http://www.biopix.eu/marrube-blanc-marrubium-vulgare\\_photo-13742.aspx](http://www.biopix.eu/marrube-blanc-marrubium-vulgare_photo-13742.aspx)
- [21]. Schlemper, V., Ribas, A., Nicolau, M., & Cechinel Filho, V ; « Antispasmodic effects of hydroalcoholic extract of Marrubium vulgare on isolated tissues ». Phytomedicine, 3(2), 211–216 ; Science Paris ;1996

## Références bibliographies

---

- [22]. **Meyre-Silva, C., Yunes, R. A., Schlemper, V., Campos-Buzzi, F., et Cechinel-Filho, V** ; « Analgesic potential of marrubiin derivatives, a bioactive diterpène present in *Marrubium vulgare* » ; *Brazil Farmaco*, 60(4), pp 321–326, 2005.
- [23]. **Rigano D, Apostolidse A. N, Bruno M, Formisano C, Grassia A, Piacente S, Piozzi F, Senatore F** ; « Phenolic compounds of *Marrubium globosum* ssp. *libanoticum* from Lebanon » . *Biochemical Systematics and Ecology*. 34 : 256-260p ;2006.
- [24]. **Kearney, T. H., et Peebles, R. H** ; « Arizona flora » University of California Press, Berkeley and Los Angeles, California, p 1085 ;1960.
- [25]. **Parker, K. F** ; « An illustrated guide to Arizona Weeds » ; The University of Arizona Press, Tucson, AZ, p 338,1972.
- [26]. **Bonnet, E. D** ; « Note sur le *Marrubium vulgare* L, nomenclature, taxonomie, synonymie », *Tela Botanica*, pp 282-287 ;2012.
- [27]. **Bouterfas, K ; Mehdadi, Z ; Latreche, A ; Hazem, Z ; et Bouredja, N** ; « Quantification de quelques polyphénols de *Marrubium vulgare* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale) pendant les deux périodes de végétation et de floraison » ; *Journal les technologies de laboratoire*, 8(31), pp 34-41,2013.
- [28]. **Boullard, B** ; « Plantes médicinales du monde », Editions Estem, pp 340-341,2001.
- [29]. <https://www.shutterstock.com>
- [30]. <https://jardinage.lemonade.fr>
- [31]. <https://quelle-est-cette-fleur.com/Fiches-botaniques/Fiche-espece-marrube-blanc.php>.
- [32]. **Balmé, F** ; *Plantas médicinais*. Ed. Hemus Ltda, São Paulo ;1982.
- [33]. **Salinas, G. M. M., Guerra, M. C. R., Villareal, J. V., Cardenás, B. D. M., Montes, P. B., et Fernández, S. S** ; « Bacterial activity of organic extracts from *Flourensia cernua* against strains of *Mycobacterium tuberculosis* ». *Archives of Medical Research*, 37, pp 45–49 ;2005.
- [34]. **Yousefi, K., Fathiazad, F., Soraya, H., Rameshrad, M., Maleki-Dizaji, N., et Garjani, A** ; « *Marrubium vulgare* L. methanolic extract inhibits inflammatory response and prevents cardiomyocyte fibrosis in isoproterenol-induced acute myocardial infarction in rats », *BioImpacts*, 4(1), pp 21-27 ;2014.
- [35]. **Newal, C. A., Anderson, L. A. et Philipson, J. D** ; « Herbal medicines » ; guide for health care professionals ; The Pharmaceutical Press, London ;1996.
- [36]. **De Souza, M. M., DeJesus, R. A. P., Cechinel-Filho, V., et Schlemper, V** ; « Analgesic profile of hydro-alcoholic extract obtained from *Marrubium vulgare* » ; *Phytomedecinr*, 5(2), pp 103-107 ;1998.
- [37]. **Pavela, R** ; « Insecticidal activity of certain medicinal plants ». *Fitoterapia*, 75, pp 745–749 ;2004.
- [38]. **Orhan, I. E., Belhattab, R., Senol, F. S., Gülpinar, A. R., Hosbas, S., et Kartal, M** ; « Profiling of cholinesterase inhibitory and antioxidant activities of *Artemisia absinthium*, *A. herba-alba*, *A. fragrans*, *Marrubium vulgare*, *M. astranicum*, *Origanum vulgare* subsp. *glandulosum* and essential oil analysis of two *Artemisia* species » ; *Industrial Crops and Products*, 32, pp 566-571 ;2010.
- [39]. **Stulzer, H. K., Tagliari, M. P., Zampirolo, J. A., Cechinel-Filho, V., et Schlemper, V** ; « Antioedematogenic effect of marrubiin obtained from *Marrubium vulgare* ». *Journal of Ethnopharmacology*, 108(3), pp 379-384 ;2006.
- [40]. **Karryev, M. O., Bairyev, C. B., et Ataeva, A. S** ; « Some therapeutic properties and phytochemistry of common horehound », *Seriya Biologicheskikh Nauk*, 3, pp 86–88 ;1976
- [41]. **Pukalskas, A., Venskutonis, P. R., Salido, S., Waard, P., et Van Beek, T. A** ; « Isolation, identification and activity of natural antioxidants from horehound (*Marrubium vulgare* L.) cultivated in Lithuania » *Food Chemistry*, 130, pp 695-701,2012.



## Références bibliographiques

---

- [42]. Yousefi, K., Soraya, H., Fathiazad, F., Khorrami, A., Hamedeyazdan, S., Maleki-Dizaji, N., et Garjani, A ; « Cardioprotective effect of Marrubium vulgare L. on isoproterenol induced acute myocardial infarction in rats ». Indian J Exp Biol, 51, pp 653-660,2013.
- [43]. Bouterfas, K., Mehdadi, Z., Elaoufi, M. M., Latreche, A., et Benchiha, W, « Antioxidant activity and total phenolic and flavonoids content variations of leaves extracts of white Horehound (Marrubium vulgare Linné) from three geographical origins » ; Ann Pharm Fr, [http://dx. doi. Org /10.1016 /j.pharma.2016.07.002](http://dx.doi.org/10.1016/j.pharma.2016.07.002) ;2016.
- [44]. Ahmed, B., Masoodi, M. H., Siddique, A. H., et Khan, S ; « A new monoterpene acid from Marrubium vulgare with potential antihepatotoxic activity » ; Natural Product Research, 24, pp 1671–1680,2008.
- [45]. Zaabt, N ; Darbour ; N, Bayet, C ; Michalet,S ;Doléans-Jordhem,A ;chelr-Ghedira,L ;Akkal,S ;et Dijoux-Franca,M.G ; « Étude préliminaire de Marrubium deserti de Noé, une Lamiaceae endémique algérienne », Pharmacognosie, 8, pp 353-358 ;2010.
- [46]. Boudjelal, A., Henchiri, C., Siracusa, L., Sari, M., et Ruberto, G ; « Compositional analysis and in vivo anti-diabetic activity of wild Algerian Marrubium vulgare L » ; infusion, Fitoterapia, 83, pp 286-292 ;2012.
- [47]. Amessis-Ouchemoukh, N., Abu-Reidah, I. M., Quirantes-Piné, R., Madani, K., et Segura-Carretero, A, « Phytochemical profiling, in vitro evaluation of total phenolic contents and antioxidant properties of Marrubium vulgare (horehound) leaves of plants growing in Algeria », Industrial Crops and Products, 61, pp 120–129 ;2014.
- [48]. Bouterfas, K., Mehdadi, Z., Benmansour, D., Khaled, M. B., Bouterfas, M., et Latreche, A ; « Optimization of extraction conditions of some phenolic compounds from white horehound (Marrubium vulgare L.) » leaves. International Journal of Organic Chemistry, 4, pp 292-308 ;2014.
- [49]. Djahra.Ali.Boutelis ; « Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ou Marrubium vulgare L », thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar, Annaba, 2013.
- [50]. Çitoğlu G.S ; Aksit F ; « Occurence of marrubiin and ladanein in Marrubium trachyticum Boiss » ; from Turkey ; Biochem Syst Ecol, 30 :885–886 ;2002.
- [51]. Nawwar M.A.M., El-Mousallamy A.M.D., Barakat H.H., Buddrus J. ; Linscheid M ; « Flavonoid lactates from leaves of Marrubium vulgare » ; Phytochemistry, 28 : 3201–3206 ;1989.
- [52]. Papoutis Z., Kassi E., Mitakou S., Aligiannis N., Tsiapara A. and Chrousos G.P ; « Acteoside and martynoside exhibit estrogenic/antiestrogenic properties » ; J. Steroid Biochem Mol Biol, 98 : 63–71 ;2006.
- [53]. Wolski, T., Matosiuk, D., Baj, T., et Ziewiec, A ; « White horehound (Marrubium vulgare L.) medicinal plant with multidirectional pharmacological activity » ; Post. Fitoterapii, 8, pp 39-45 ;2007.
- [54]. Alkhatib, R., Joha, S., Cheok, M., Roumy, V., Idziorek, T., Preudhomme, C., et al ; « Activity of ladanein on leukemia cell lines and its occurrence in Marrubium vulgare » ; Planta Medica, 76, pp 86–87 ;2010.
- [55]. Sähpaz, S., Garbacki, N., Tits, M., et Bailleul, F ; « Isolation and pharmacological activity of phenylpropanoïds esters from Marrubium vulgare » ; Journal of Ethnopharmacology, 79(3), pp 389–392 ;2002a.
- [56]. Sähpaz, S., Hennebelle, T., et Bailleul, F ; « Marruboside, a new phenylethanoid glycoside from Marrubium vulgare L » ; Natural Product Letters, 16(3), pp 195–199 ;2002b.
- [57]. Wojdylo, A., Oszmianski, J., et Czemyers, R ; « Antioxidant activity and phenolic compounds en 32 selected herbs » ; Food Chemistry, 105, pp 940-949 ;2007.

## Références bibliographiques

---

- [58]. **El-Bardai, S., Lyoussi, B., Wibo, M., et Morel, N** ; « Comparative study of the antihypertensive activity of *Marrubium vulgare* and of the dihydropyridine calcium antagonist amlodipine in spontaneously hypertensive rat » ; *Clinical and Experimental Hypertension*, 26(6), pp 465–474 ;2004.
- [59]. **Berrougui, H., Maxim, I., Cherki, M., et Khalil, A** ; « *Marrubium vulgare* extract inhibits human-LDL oxidation and enhances HDL-mediated cholesterol efflux » in *THP-1 macrophage*, 80, pp 105-112 ;2006.
- [60]. **Xue, Z., et Yang, B** ; « Phenylethanoïd Glycosides : Research Advances in Their Phytochemistry, Pharmacological Activity and Pharmacokinetics » ; *Molecules*, 21(991), pp 2-25 ;2016.
- [61]. **Elberry, A. A., Harraz, F. M., Ghareib, S. A., Gabr, S. A., Nagy, A. A., et Abdel-Sattar, E** ; « Methanolic extract of *Marrubium vulgare* ameliorates hyperglycemia and dyslipidemia in Streptozotocin-induced diabetic rats ». *International Journal of Diabetes Mellitus*, 3, pp 37-44 ;2015.
- [62]. **Kadri, A., Zarai, Z., Békir, A., Gharsallah, N., Damak, M., et Gdoura, R.** ; « Chemical composition and antioxidant activity of *Marrubium vulgare* L » ; essential oil from Tunisia. *African Journal of Biotechnology*, 10(19), pp 3908-3914 ,2011.
- [63]. **Bokaeian, M., Saboori, E., Saeidi, S., Niazi, A. A., Amini-Borojeni, N., Khaje, H., et Bazi, S** ; « Phytochemical analysis, antibacterial activity of *Marrubium vulgare* L against *Staphylococcus aureus* in vitro » ; *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 16(10), pp 60-64,2014.
- [64]. **Bruneton, J** ; « Pharmacognosie, Phytochimie. Plantes médicinales », 3e édition. Editions Tec & Doc ; Editions médicales internationales, Paris, P 1120,1999.
- [65]. **Hennebelle, T** ; « Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de Lamiacées productrices d'antioxydants : *Marrubium peregrinum*, *Ballota larendana*, *Ballota pseudodictamnus* (Lamiacées) et *Lippia alba* (Verbenacées) » ; Thèse de doctorat. Chimie Organique et Macromoléculaire. Université de Lille, pp 37-114,2006.
- [66]. **Bravo, L** ; « Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance » ; *Nutrition Reviews*, 56(11), pp 317-333 ;1998.
- [67]. **Pietta, P. G** ; « Flavonoïds as antioxydants » ; *Journal of Natural Products*, 63, pp 1035-1042 ;2000.
- [68]. **Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., et Bobilya, D. J** ; « Flavonoïds antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships » *Journal. Nutr. Biochem*, 13, pp 572-584 ;2002.
- [69]. **Hendrich, A. B** ; « Flavonoïd-membrane interactions : possible consequence for biological effects of some polyphenolic compounds » ; *Acta Pharmacologica Sinica*, 27, pp 27-40 ;2006.
- [70]. **Mercader, A. G., Duchowicz, P. R., Fernández, F. M., Castro, E. A., Bennardi, D. O., Autino, J. C., et Romanelli, G. P** ; « QSAR prediction of inhibition of aldose reductase for flavonoïds » *Bioorgan. Med. Chem.*, 16, pp 7470–7476 ;2008.
- [71]. **Cushnie, T. P. T., et Lamb, A. J** ; Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoïds. *International Journal of Antimicrobial Agents*, pp 1-9 ;2011.
- [72]. **Hooper, L., Kroon, P.A., Rimm, E.B., Cohn, J.S., Harvey, I., Le Cornu, K.A., Ryder, J.J., Hall, W. L., et Cassidy, A** ; « Flavonoids, flavonoïd-rich foods, and cardiovascular risk: A meta-analysis of randomized controlled trials » ; *Am. J. Clin. Nutr.*, 88, pp 38-50 ;2008.
- [73]. **Bruneton, J** ; « Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales », 4e éd., revue et augmentée, Tec & Doc - Éditions médicales internationales. Paris, p 1288 ;2009.
- [74]. **Mamadou, B** ; Actions pharmacologiques des tanins. Thèse de doctorat. Université Cheikh Anta Diop de Dakar, pp 1-25 ;2002.

## Références bibliographiques

---

- [75]. **Atefeibu, E. S. I** ; « Contribution à l'étude des tanins et de l'activité antibactérienne d'Acacia Nilotica Var Andesonii » ; Thèse de Doctorat. Université cheikh Anta Diop de Dakar, p 33 ;2002.
- [76]. **Peronny, S** ; « La perception gustative et la consommation des tannins chez le MAKI (Lemur Catta) » ; Thèse de Doctorat du Muséum national d'histoire naturelle. Discipline Eco- Ethologie, p 151 ;2005.
- [77]. **Wani, M. C., Taylor, H. L., Wall, M. E., Coggon, P., et Mc-Phail, A. T** ; « Plant anti-tumor agents. VI. The isolation and structure of taxol, a novel anti-leukemic and anti-tumor agent from Taxus brevifolia », Journal of the American Chemical Society, 93, pp 2325-2327,1971.
- [78]. **Rowinsky, E. K., Onetto, N., Canetta, R. M., et Arbuck, S. G** ; « Taxol the 1st of the texanes, an important new class of anti-tumor agents » Seminars in Oncology, 19, pp 646-662 ;1992.
- [79]. **Chang, C. I, Chang, J. Y, Kuo, C. C, Pan, W. Y, et Kuo, Y. H** ; « Four new 6-nor5 (6→7) abeo-abietane type diterpenes and antitumoral cytotoxic diterpene constituents from the bark of Taiwania cryptomerioides » Planta Medica, 71(1), 72-76 ;2005.
- [80]. **Aouadhi, G., Ghazghazi, H., Hasnaoui, B., et Maaroufi, A** ; « Comparaison de l'activité antifongique d'extraits méthanoliques de trois plantes collectées du nord-ouest de la Tunisie », Microbiol. Hyg. Alim, 25, pp 9-14,2013.
- [81]. **Santos, H. S., Barros, F. W., Albuquerque, M. R., Bandeira, P. N., Pessoa, C., Braz-Filho, R., Monte, F. J., Leal-Cardoso, J. H., et Lemos, T. L** ; « Cytotoxic diterpenoids from Croton argyrophyllodes » ; Journal of Natural Product, 72(10), pp 1884-1887 ;2009.
- [82]. **Zarai, Z., Kadri, A., Ben Chobba, I., Ben Mansour, R., Bekir, A., Mejdoub, H., et Gharsallah, N** ; « The in-vitro evaluation of antibacterial, antifungal and cytotoxic properties of Marrubium vulgare L », essential oil grown in Tunisia. Lipids in Health and Disease, 161, pp 1-10,2011.
- [83]. **Bisio, A., Pagano, B., Romussi, A., Bruno, O., De Tommasi, N., Romussi, G., et Mattia C. A** ; « Relative stereochemistry of a diterpene from Salvia cinnabarina », Molecules, 12(10), pp 2279-2287,2007.
- [84]. **Chen, J. J., Wu, H. M., Peng, C. F., Chen, I. S., et Chu, S. D** « Seco-Abietane diterpenoids, a phenylethanoid derivative, and antitubercular constituents from Callicarpa pilosissima », Journal of Natural Products, 72(2), pp 223-228.
- [85]. **De Jesus, R. A. P., Cechinel-Filho, V., Oliveira, A. E., et Schlemper, V** « Analysis of the antinociceptive properties of marrubiin isolated from Marrubium vulgare » ; Phytomedicine, 7, pp 111-115,1999.
- [86]. **Calsamiglia, S., Busquet, M., Cardozo, P. V., Castillejos, L., et Ferret, A** ; « Essential oils as modifiers of Rumen microbial fermentation » ; Journal of Dairy Science, 90, pp 2580- 2595 ;2007.
- [87]. **Mohammedi, Z** ; « Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielle et flavonoïdes de quelques plants de la région de Tlemcen », Thèse de Magistère. Université de Tlemcen. P 6-14.
- [88]. **Davidson, P. M** « Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. In : M. P. Doyle, L. R. Beuchat and T. J. Montville (eds.) ». Food Microbiology, pp 520-556 ;1997.
- [89]. **Zani, F., Massimo, G., Benvenuti, S., Bianchi, A., Albasini, A., Melegari, M., Vampa, G., Bellotti, A., et Mazza, P** « Studies on the genotoxic properties of essential oils with Bacillus subtilis rec-Assay and Salmonella/microsome reversion assay ». Planta Medica, 57, pp 237-241,1991.
- [90]. **BOUZOURENE Samia, BOURKACHE Samia** ; « ETUDE PHYTOCHIMIQUE DU MARRUBE BLANC (MARRUBIUM VULGARE.L) » ; Mémoire Master, Département De Chimie, Université Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou, 12 Juillet 2016.

## Références bibliographiques

---

- [91].<https://www.medisite.fr/medicament-schoenenberger-sirop-de-marrube-blanc.603454.8022.html>,2021.
- [92].**Md.Ruhul kuddus** ,"Marrubium vulgare: A comprehensive review on its phytochemistry, pharmacology and ethnomedicinal uses", la revue scientifique Asian Pacific Journal of Tropical Medicine ,2017.
- [93]. Pharmacopée française Xème édition.
- [94]. **Philippe Andriane** ;"Marrubium vulgare TM, la teinture-mère : une préparation de qualité pour un usage thérapeutique", la revue scientifique Phytothérapie ;2008.
- [95]. **Pierre Franchomme, Danièle Festy, Pascale Lafay, Nelly Grosjean** ; « Aromathérapie », éditions Le Courrier du Livre, 2009.
- [96].<https://www.dromessence.com/hydrolats-bio/102-hydrolat-marrube-blanc-bio-200-ml.html>
- [97]. <https://www.vidal.fr/medicaments/gammes/flash-rub-45055.html>.
- [98]. **Editions Romart**, « L'ABC des plantes », guide pratique de Phytothérapie, Ed. Romart. Janvier 1997.
- [99]. <https://www.medicaments.gouv.fr/medicaments/marrube-blanc.2018>.
- [100].<https://www.phytomoincher.com/marrube-blanc-apaisant-calmant-irritation-gorge-319-1.html>.
- [101].<https://www.pharmonet.be/en/homeo-nouvelles-souches/46128-marrubium-vulgare-5ch-granule-boiron.html>
- [102]. <https://fr.lierac.com>.
- [103]. **Bohui. P.S.G; Adima. A.A; Niamke. F.B; N'Guessan. J.G.**, « Etude comparative de trois méthodes d'extraction des flavonoïdes totaux à partir des feuilles des plantes médicinales » Journal of Société Ouest--Africaine de Chimie, 46, 50-58 ;2018.
- [104]. **Mole S ; Waterman P.G**, « Tannic acid proteolic enzymes : enzyme inhibition substratderivation », Phytochemistry ;26,99-102 ;1987.
- [105].**Ben Nacer C ;Ayed N et Match M** , « Quantitative determination of the polyphenolic content of pomegranate peel »,Z lebensm UntersFrosh,203 :374-378 ;1996.
- [106].**Bahorun T ;Gressier B ;Trozin F ;Brunet C ;Dine T ;Luyckx M ;Vasseur J ;Cazin M ;Cazin J.C et Pinkas M** ; « Oxygem species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations » ;Arzneim-ForschDrung Research,46 :1086-1108 ,1996.
- [107].**NegiP.S,Jayaprakasha G.K ;Jena B.S** ; « Antioxidant and antimutagenie activities of pomegranate peel extracts »,Food Chemistry ;80 :393-397 ;2003.
- [108].**Amarowicz R., Troszynska A., Shahidi, F** ,« Antioxidant activity of almond seed extract and its fractions » ; J food lipids , 12: 344-358 ,2005.
- [109].**N.Ghedadba ,H.Bousselsela ,L.Hambaba ,S.Benbia,Y.Mouloud** ; « evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuries de Marrubium vulgare L » universite El-hadj-Lakhder ,05000Batna,Algerie,2014.
- [110]. **Silverstein, R., Basler, G-C., Morill, T. C.**, « Identification spectrométriques des composés organiques », De Boeck (Ed). Bruxelles, 411p ;1998.
- [111]. **L.R Snyder, J.J. Kirkland et J.W. Dolan** ;«Introduction to Modern Liquid Chromatography » ;2010.
- [112].**Boizot N et Charpentier J-P** ; « Méthode rapide d'évaluation du contenu des composés

## Références bibliographiques

---

- phénolique des organes d'un arbre forestier »,Chier des Technique de INRA, Numéro spécial :79-82 ;2006.
- [113].**Ribéreau-Gayon ,P ;et Gautheret ;R.J** ; « Les composés phénoliques des végétaux » ;173-201 ;1968.
- [114]. **L .Lagnika**, « Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises »,Thèse de doctorat, Université Louis Pasteur, Strasbourg, page :249, 2005.
- [115]. **H.P.S.Makkar**, « In Quantification of tannins in tree foliage » ; Working document, FAO/IAEA, Vienna, 2000.
- [116]. **P.Schofield, D.M. Mbugua, A.N.Pell**, « Analysis of condensed tannins », a review. Anim. Feed Sci. Technol, Vol (91) ,pge :21 ;2001.
- [117]. **B.Sun, JM.Richardo-da-Silvia, I.Spranger**, « Critical factors of vanillin assay forcatechins and proanthocyanidins », J. of Agriculture and Food Chemistry, Vol. (46),page : 4267 ;1998.
- [118]. **R.Julkunen-Titto**, « Phenolic constituents in the leaves of northemwiliows methods forthe analysis of certain phenolics » ; Journal of Agricultural and Food chemistry,Vol.page: 213 ;1985.
- [119].**CHAOUCHE Tarik Mohammed**, « Contribution a l'étude des activités antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de quelque plantes médicinales » ;Thèse de Doctorat, Université Abou-Baker-Belkaid ;Tlemcen ;27/05/2014.
- [120].**Dupont.M et Martin.J** ; « Antioxidant effects :Mechanisms and implication »,Journal of chemistry and Biology volume 15,numero 3,2010.
- [121]. **Molyneux, P.**, « The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) forestimating antioxidant avticity.Songklanakarim » ; J .Sci .Technol, 26, 211 – 219 ,2004.
- [122]. **Popovici C, Saykova I, Tylkowski B** ; « Evaluation de l'activité antioxydantdescomposés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH » ; Revue degénieindustriel.4 :25-39 ;2009
- [123]. **.Mansouri.A ;Embarek G ;Kokkaalou E.and Kefalas P** ; « Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (Phoenix dactylifera) » ;Food Chemistry ;89 :411-420 ;2005.
- [125]. **Odds, F.C., Brown, A.J., Gow, N.A.R** « Candida albicans genome sequence: à platform for genomics in the absence of genetics ». Genome Biology, 5(7) ;2004.
- [126]. **Nathalie Guellier** ; « Le marrube blanc : médicament des affections pulmonaires » ;journal le monde ;Publier le 13/12/2018.

## Références bibliographiques

---

# **Annexes**

## Annexes

### Annexe I

Tableau II.1 : Les réactifs et leurs propriétés.

REACTIF	FORMULE CHIMIQUE	MASSE MOLAIRE (g/mol)	PURTE %
Acetate d'éthyl	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	88,11	99,8
Acetonitrile	C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> N	41,05	/
Acide Chlorhydrique	HCl	36,46	35_38
Acide sulfurique	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	98.079	/
Carbonate de Sodium	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	105.98	99.8
Chlorure d'Aluminium	AlCl <sub>3</sub>	133.34	95_98
Chlorure de fer III	FeCl <sub>3</sub>	162,2	/
Chlorure de Sodium	NaCl	58.44	
Dichloromethane	CH <sub>2</sub> CL <sub>2</sub>	84,93	100
Eau distillé	H <sub>2</sub> O	18	/
Ethanol	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O	46,07	96
Folin-cioalteu	/	/	/
Hydroxyde de sodium	NaOH	39.997	/
Methanol	CH <sub>3</sub> OH	375.13	99
Nitrite de sodium	NaNO <sub>2</sub>	68,9953	99
Vanilline	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	152,15	99

#### II. Préparations des réactifs

**Le reactif Folin-cioalteu** :(1ml reactif dans 10ml de H<sub>2</sub>O).

**Vanilline** : 1g de vanilline complétée avec 100ml de H<sub>2</sub>O.

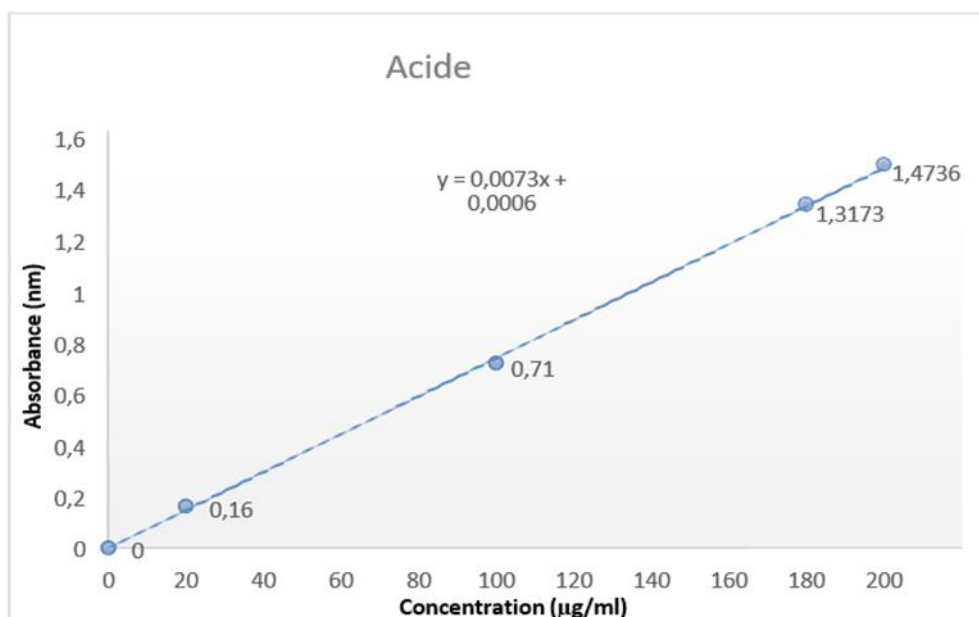
**FeCl<sub>3</sub> 0.1%** : dissoudre 2g de la poudre dans une fiole.

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 2%** : dissoudre 2g d la poudre dans une fiole.

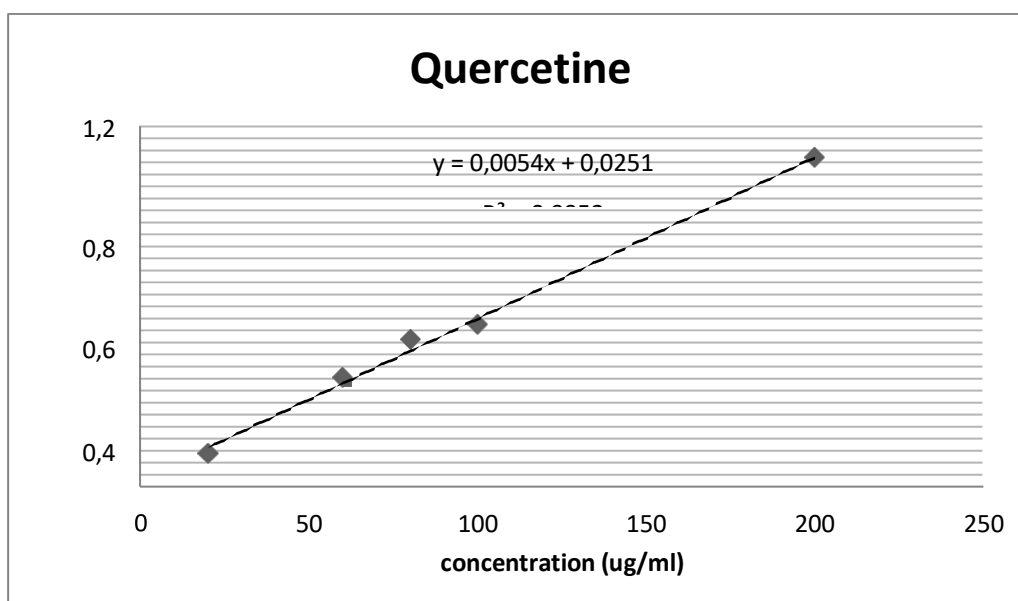
**AlCl<sub>3</sub> 2%** : dissoudre 2g de la poudre dans une fiole.



## Annexe II



**Figure II.1 :** Courbe d'étalonnage acide gallique.



**Figure II.2 :** Courbe d'étalonnage de la quercétine

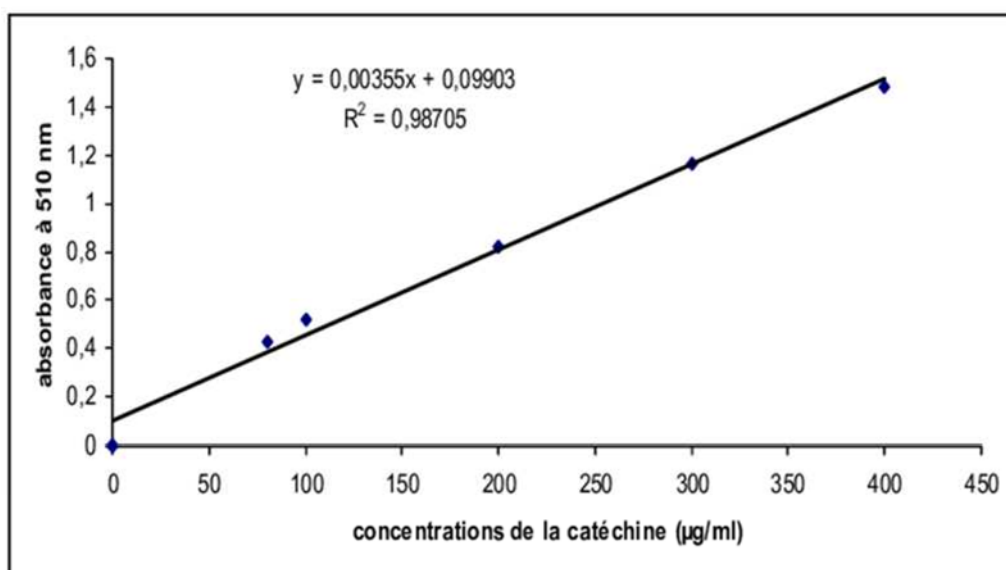


Figure II.3 : Courbe d'étalonnage de la catéchine.

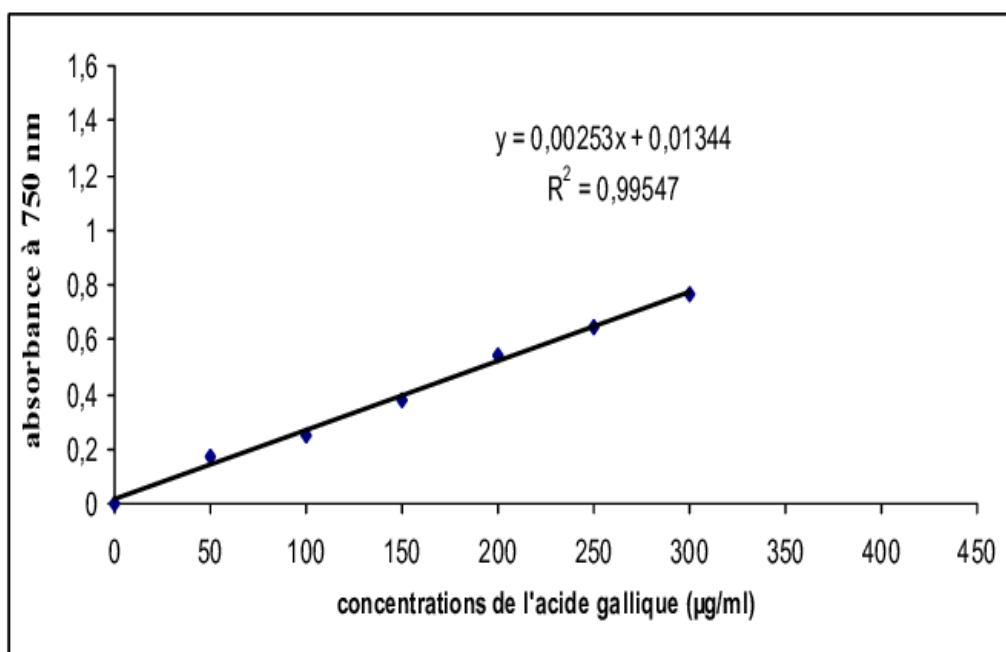

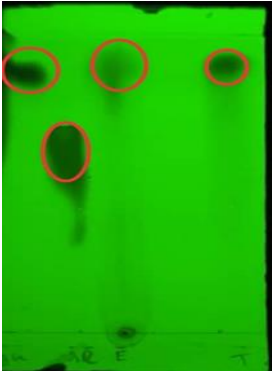
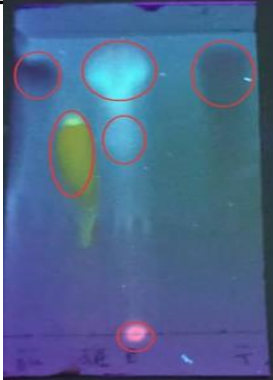



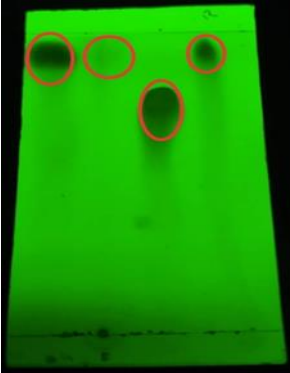

Figure II.4 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

# Annexes

## Annexe III

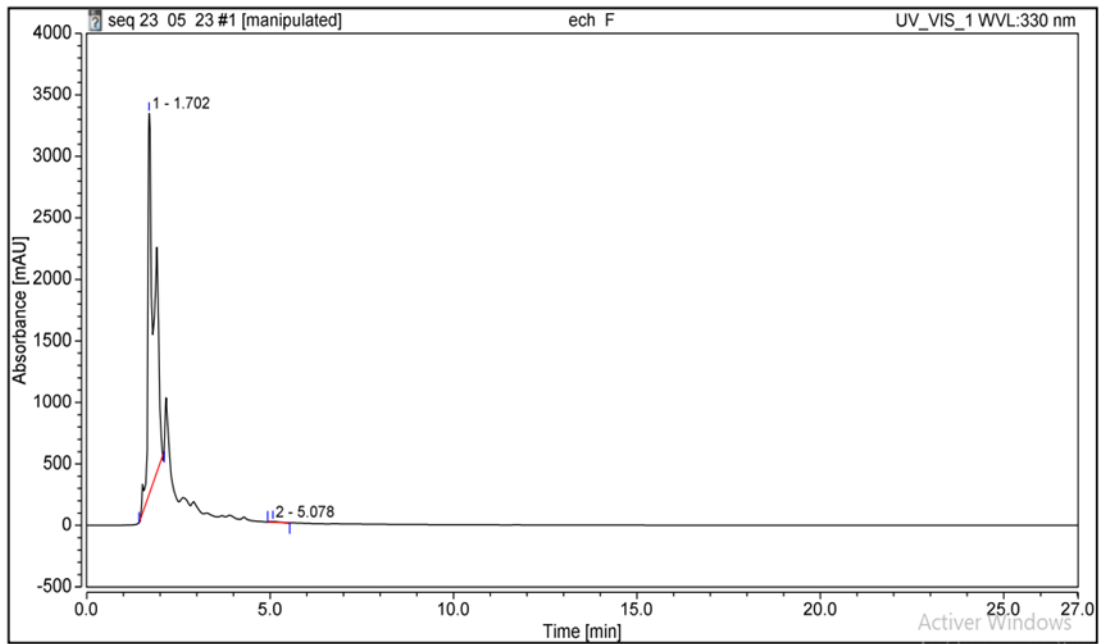
observation a l'œil nu	observation sous UV 254nm	observation sous UV 365nm
		

**Figure III.1 :** Résultats séparation CCM sur l'extrait de feuilles.

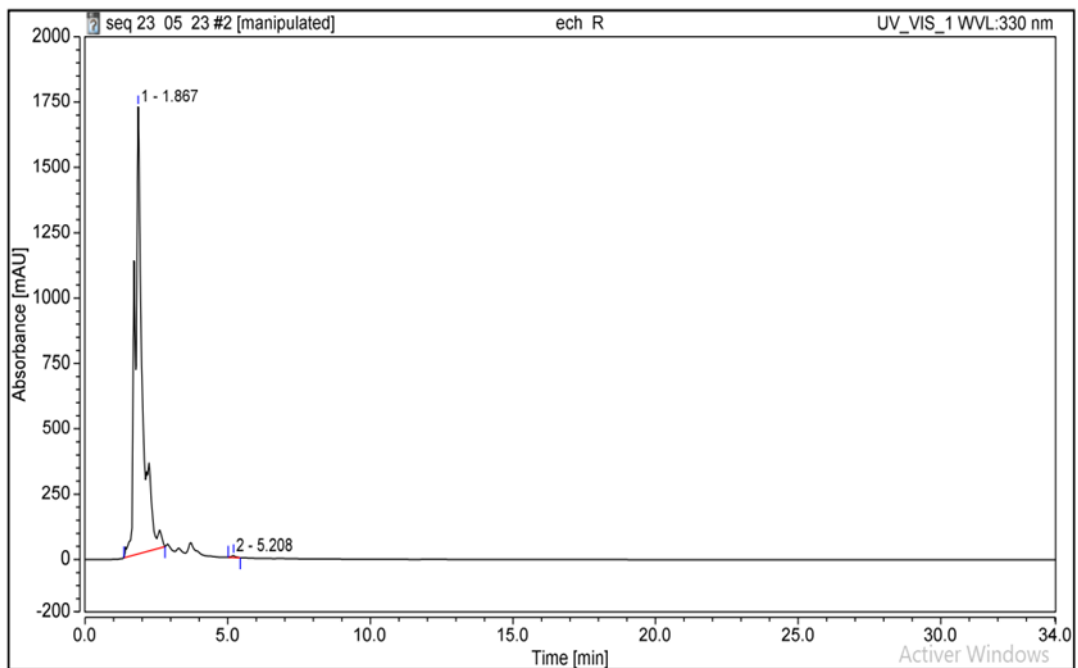
Observation à l'œil nu	Observation sous UV 254 nm	observation sous UV 365nm
		

**Figure III.2 :** Résultats séparation CCM sur l'extrait de fleurs.

## Annexes

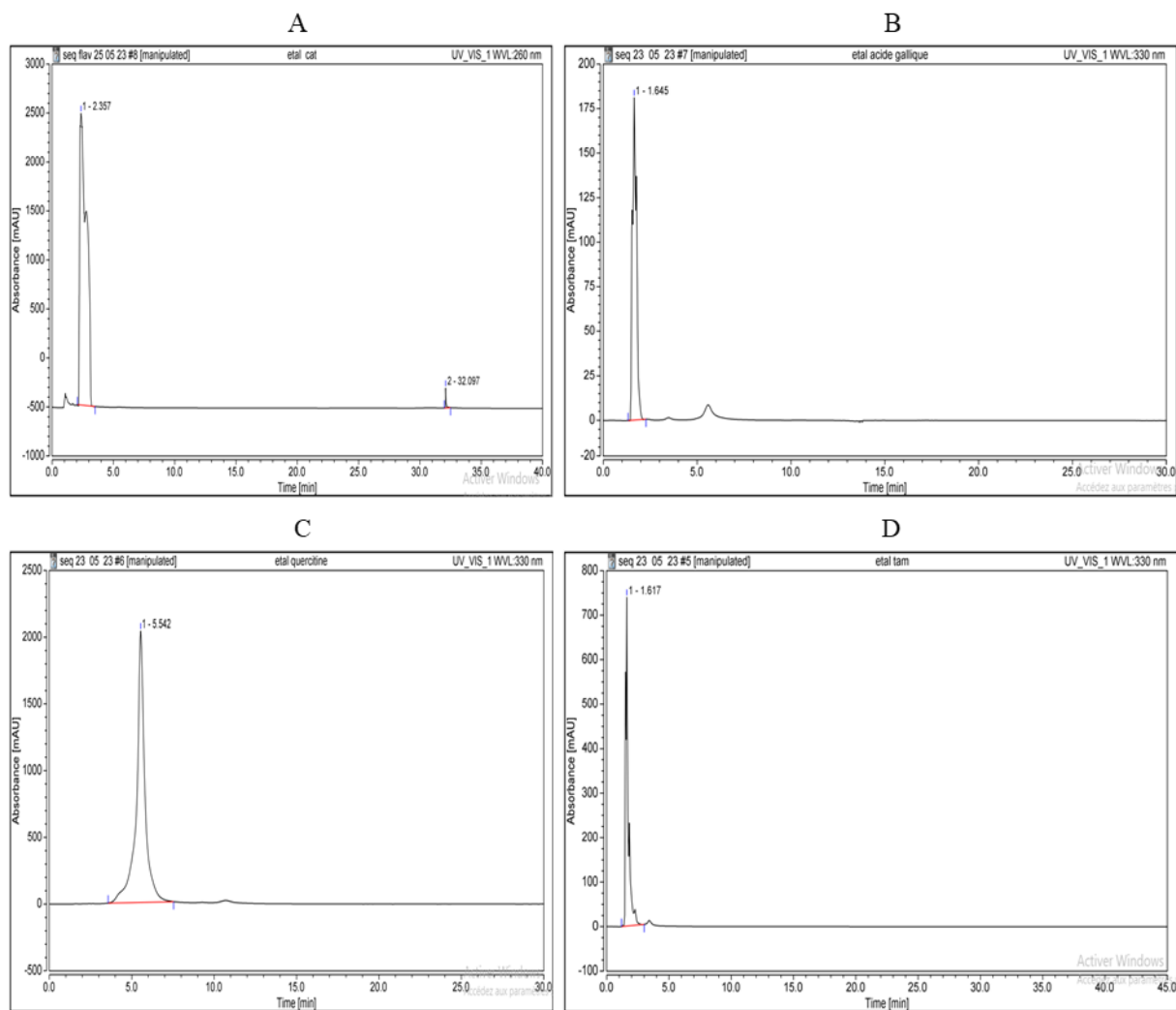


**Figure III.3 :** Chromatogramme HPLC de l'extrait de feuilles de **Marrubium Vulgare**.



**Figure III.4 :** Chromatogramme HPLC de l'extrait de fleurs de **Marrubium Vulgare**.

## Annexes



**Figure III.5 :** Chromatogramme HPLC des standards.

**A :** Chromatogramme HPLC du standard catéchol.

**B :** Chromatogramme HPLC du standard acides gallique.

**C :** Chromatogramme HPLC du quercétine.

**D :** Chromatogramme HPLC du standard catéchine.

## Annexes

---

### Annexe IV

**Tableau IV.1 : Résultats UV-visible (pour les fleurs et les feuilles)**

<b>[C]mg/ml</b>	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1
<b>Volume (ml)</b>	0	2.5	5	7.5	10	12.5	15	17.5	20	22.5	25
<b>Abs(nm)</b> Les fleurs	0.087	0.088	0.090	0.097	0.104	0.113	0.122	0.127	0.135	0.149	0.168
<b>Abs(nm)</b> Les feuilles	0.095	0.084	0.087	0.091	0.092	0.098	0.099	0.106	0.107	0.108	0.119

**Tableau IV.2 : Résultats UV-visible de l'acide ascorbique**

<b>[C]mg/ml</b>	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1
<b>Volume(ml)</b>	0	2.5	5	7.5	10	12.5	15	17.5	20	22.5	25
<b>Abs(nm)</b>	0	0.070	0.071	0.075	0.078	0.079	0.080	0.081	0.084	0.084	0.094

**Tableau IV.3 : Résultats UV-visible des dosages (polyphénols ; flavonoïdes, et tanins)**

<b>Dosage</b>	Polyphénols	Flavonoïdes	Tanins condensés	Tanins Galliques
<b>Abs(nm)</b> Les feuilles	0.984	1.063	0.842	0.840
<b>Abs(nm)</b> Les fleurs	0.491	0.752	0.888	0.842

## Résumé

L'étude s'est concentrée sur l'identification des composés bioactifs présents dans le *Marrubium vulgare* (Merrouyeth), une plante médicinale traditionnellement utilisée en Algérie. Les feuilles et les fleurs de la plante ont été soumises à une étude phytochimique approfondie, révélant une forte présence de tanins condensés, de polyphénols, de flavonoïdes et de tanins galliques. Les extraits ont démontrés aussi une puissante activité antioxydante, les feuilles ont montré des propriétés antifongiques remarquables contre *Candida albicans*. Ces résultats préliminaires ouvrent la voie à de futures recherches sur les applications médicinales potentielles de cette plante. Des tests supplémentaires sont nécessaires pour évaluer l'efficacité et la sécurité du *Marrubium vulgare* dans diverses conditions médicales, telles que les infections bactériennes

**Mots clés :** *Marrubium vulgare* L, screening phytochimique, extrait aqueux, activité antioxydante.

## Summary

The study focused on identifying bioactive compounds in *Marrubium vulgare* (Merrouyeth), a traditional medicinal plant used in Algeria. Through extensive phytochemical analysis, the leaves and flowers were found to contain significant amounts of condensed tannins, polyphenols, flavonoids, and gallotannins. The extracts exhibited powerful antioxidant activity, and the leaves showed remarkable antifungal properties against *Candida albicans*. These preliminary findings pave the way for further research on the potential medicinal applications of this plant. Additional testing is needed to evaluate the efficacy and safety of *Marrubium vulgare* for various medical conditions, including bacterial infections.

**Keywords:** *Marrubium vulgare* L, phytochemical screening, aqueous extract, antioxidant activity.