

N° Ref :.....

Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf - Mila

Institut des Sciences et de la Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire préparé En vue de l'obtention du diplôme de **Master**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biologie Appliquée et Environnement
Option : Biotechnologie et Amélioration des Plantes

Thème :

Etude des substances actives chez le marrube blanc (*Marrubium vulgare* L.)

Préparé par : AZZOUZ Fatima

MOKHENACHE Imane

Devant le jury composé de :

- | | | |
|---------------------------------------|--------------------|------------------------------|
| -Président: <i>Mme</i> Himour S. | Maitre assistant A | Centre Universitaire de Mila |
| -Examineur: <i>Melle</i> Bouassaba K. | Maitre assistant A | Centre Universitaire de Mila |
| -Promoteur: Mr Yahia A. | Professeur | Centre Universitaire de Mila |

Année Universitaire: 2016/2017

الحمد لله الذي خلق آدم من تراب وله الأسماء
كلها.

قال رسول الله صلى الله
عليه وسلم ' صنفان لا غنى
الناس عنهما الأَطباء لأبدانهم
والعلماء لأديانهم' .



Remerciement

Avant tout, nous remercions ALLAH de nous avoir donnés la volonté afin arriver à la finalité de ce modeste travail.

Nos vifs remerciements vont également à notre promoteur Monsieur le Pr. Yahia Abdelouhab pour avoir dirigée ce travail et pour sa grande patience, sa disponibilité, ses conseils judicieux et votre confiance.

Nous remercions également M^{me} Himour S, pour avoir accepté de présider le jury.

Nous remercions aussi à M^{lle} Bouassaba K, pour sa participation à l'évaluation de notre travail.

Merci à tous les membres du Département de Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf de Mila, pour leur aide dans la réalisation de cette étude notamment dans laboratoire de biologie de l'institut des Sciences et de la technologie.

Sans oublier Tous les enseignants du département des Sciences Biologiques.

Nos remerciements s'étendent également aussi à tous nos enseignants durant les années des études.

Enfin, pour leur soutien sans faille et permanent, nous tiens à remercier de tout coeur nous parents, nous frères et nous amies.

FATIMA et IMANE



Dedicaces

A mes parents,

TAYAB, DAHBIA

Qui au long de mon existence m'ont couvert d'amour et d'affection et pour tout leurs sacrifices et efforts à faire à moi ce que je suis.

A la personne qui a toujours m'encouragé durant mes études, pour son donneur et son surveillances. ♥

A mes frères,

Rabah, Badis et sa femme somia, Ahmed, Hassan

Pour son aide, son soutien et son confiance. ♥

A mes soueurs,

Fatiha, Samia, Samira, Djanete, Ibtissem. ♥

Pour son présence, son intimité, son encouragement, merci

A mes amies,

Abela, Ibtissem, Laila, Sohyla, Rahma, Djihad, Amina, Fedjeriaï. ♥

A Mon binôme Fatima

A mes chers petites : Alaeddin, assil, youness. ♥

A toute personne ayant participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

IMANE

Dédicaces

*A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de
Ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie:*

A mes chers parents

♥ *Mon père AHMED et Ma mère AICHA* ♥

A mon mari

YOUCEF

A mes chère soeur

♥ *Sakina.Suoria.Leila.Raoiya et Hanane* ♥

A mes frères

♥ *Nuoari.Mahmoud.Houcine.Abedalhalim et Kamel* ♥

A mes chères amies

♥ *Imane.Amina.Djihad.* ♥

*A tous mes enseignants du primaire, du secondaire et du
supérieur.*

FATIMA

Liste des figures

Figure	Titre	Page
1	Grandes voies de synthèse des métabolites secondaires et relations avec le métabolisme primaire.	07
2	Photo représente la plante <i>Marrubium vulgare</i> .	12
3	Squelette de base des flavonoïdes.	15
4	Structure de quelques alcaloïdes.	17
5	Squelette de base des tanins condensés (1) et tanins hydrolysables (2).	19
6	Structure de l'isoprène (C ₅ H ₈).	21
7	Différentes classes des organismes microbiennes.	23
8	Photo représente les poudres végétales de marrube blanc.	25
9	Photo représente les réactifs des tests phytochimiques.	25
10	Photo des représente les réactifs utilisés.	30
11	Protocole général de la préparation des extraits végétaux.	31
12	Morphologie de souches bactériennes étudiées.	32
13	Etapes de la méthode de diffusion sur disque en milieu gélose.	34
14	Protocole de la méthode de diffusion par disque en milieu gélose.	35
15	Résultat de test des saponines.	36
16	Résultat de test des glycosides.	37

17	Résultat de test des tanins.	37
18	Résultat de test des huiles essentielles.	38
19	Résultat de test des alcaloïdes.	38
20	Résultat de test des stérols et triterpènes.	39
21	Résultat de test des flavonoïdes.	40
22	Résultat de test des cardinolides.	42
23	Exemple de l'activité inhibitrice des extraits (Eth ₁ f, Eth ₁ t).	44
24	Exemple de l'activité inhibitrice des extraits (Eth ₂ f, Eth ₂ t).	47
25	Exemple de l'activité inhibitrice des extraits aqueux.	49

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
I	Description et origine des souches bactériennes.	32
II	Screening phytochimique des métabolites secondaires de marrube blanc.	41
III	Diamètre (mm) des zones d'inhibition induite par l'extrait éthanolique (1) (Eth ₁ f, Eth ₁ t).	43
IV	Diamètre (mm) des zones d'inhibition induite par l'extrait éthanolique (2) (Eth ₂ f, Eth ₂ t).	45
V	Diamètres (mm) des zones d'inhibition induites par l'extrait aqueux (Eau ₁ f, Eau ₁ t, Eau ₂ f, Eau ₂ t).	48

Liste des abréviations

BN : Bouillon nutritif.

°C : Degrés Celsius.

CHCl₃ : Chloroforme.

C : Extrait brut.

Eau : Extrait aqueux

Eth₁f : Extrait éthanolique (1) des feuilles.

Eth₂f : Extrait éthanolique (2) des feuilles.

Eth₁t : Extrait éthanolique (1) des tiges.

Eth₂t: Extrait éthanolique (2) des tiges.

E.coli : *Escherichia coli*.

F : Feuilles.

fig : Figure

FeCl₃:Chlorure ferrique.

HCl : acide chlorhydrique.

Gram+: Gram positif.

Gram- : Gram négatif.

H₂SO₂: Acide sulfurique.

MH : Mueller Hinton.

min : Minutes.

ml : Millilitre.

mm : Millimètre.

MUV: *Marrubium vulgare*.

NH₄OH : Molybdate d'ammonium.

KOH : Hydroxyde de potassium.

ROH : Alcool.

R : Racines.

S.aureus : *Staphylococcus aureus*.

T : Tiges.

Tm : Témoin.

1/8 : Dilution de 12,5%.

1/4 : Dilution de 25%.

1/2: Dilution de 50%

% : Pourcentage.

Mg: Magnésium.

Liste des figures
Liste des tableaux
Liste des abréviations

Sommaire

Introduction

Partie I: Synthèse Bibliographique

Chapitre 01: Généralité sur les plantes médicinales

I.1-Historique	03
I.2-Définition.....	03
I.3-Origine des plantes médicinales	04
I.4-Importance économique des plantes médicinales	04
I.5-Intérêt thérapeutique des plantes médicinales	05
I.6-Utilisation des plantes médicinales	05
II- Les métabolites secondaires des plantes médicinales :	
II.1-Definition	06
II.2-Classification des métabolites secondaires	07
II.2.1-Composés phénoliques	07
II.2.2-Composés azotés.....	09
II.2.3-Substances amères	09
III-Intérêts des métabolites secondaires	09

Chapitre 02: Marrube blanc (*Marrubium vulgare* L.)

1-Historique.....	11
2-Origine et répartition géographique	11
3-Définition et description botanique.....	11
4- Classification botanique.....	12
5-Composition chimique	13
6-Intérêt thérapeutique	13
7-Contre-indications et effets indésirables	13

Chapitre 03: Quelques substances bioactives de marrube blanc

1- Généralités	14
A-Flavonoïdes	14
A.1-Définition	14
A.2-Structure chimique et classification	14

A.3-Répartitions et localisation dans la plante.....	15
A.4-Rôles au niveau de la plante.....	15
A.5-Utilisation thérapeutique.....	15
B-Alcaloïdes.....	16
B.1-Définition	16
B.2-Structure chimique et classification	16
B.3-Répartitions et localisation dans la plante	17
B.4-Rôles au niveau de la plante.....	17
B.5-Utilisation thérapeutique	17
C-Tanins.....	18
C.1-Définition	18
C.2-Structure chimique et classification	18
C.3-Répartitions et localisation dans la plante.....	19
C.4-Rôles au niveau de la plante.....	19
C.5-Utilisation thérapeutique	19
D-Huiles essentielles	20
D.1-Définition	20
D.2-Structure chimique et classification	20
D.3-Répartitions et localisation dans la plante.....	21
D.4-Rôles au niveau de la plante.....	21
D.5-Utilisation thérapeutique	21

Chapitre04:Activité antibactérienne

1-Généralités	22
2-Les antibiotiques	22
3-Classification des agentes microbiennes.....	23
4-Les infections bactériennes	23
5-Activités antibactériennes des métabolites secondaires.....	23
6-Mécanismes d'action des polyphénols sur les bactéries	24

Partie II: Partie expérimentale

Chapitre 01:Matériel et méthodes

I-Tests phytochimiques	25
I.1-Matériel végétal.....	26
I.2-Réactifs	26
I.3-Matériel du laboratoire	27

I.4-Screening phytochimique	27
II-Test du pouvoir antibactérien	30
II.1-Matériel du laboratoire.....	30
II.2-Produits chimiques et milieu de culture.....	31
II.3-Préparation des extraites végétales	31
II.4-Souches bactériennes	33
II.5-Description de la méthode	34
II.6-Evaluation de l'activité antibactérienne	35

Chapitre 02: Résultats et discussion

I-Résultats et discussion des tests phytochimiques	36
II-Résultats et discussion de l'activité antibactériene.....	49

Conclusion générale

Références bibliographiques

Annexes

Résumés

Introduction

Dès son origine l'homme est associé par une relation étroite avec la nature qui lui fournit tout ce qui est important pour la survie, de plus les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme, car il s'en sert pour se nourrir et parfois dans ses rites religieux (**Benkiki, 2006**), mais à côté de ces fonctions, l'homme découvrit bien d'autres fonctions que pouvaient lui procurer de la plante, notamment le pouvoir de guérison. En effet, cette faculté de soulagement des plantes fut connue longtemps de nos ancêtres depuis, les temps reculés. Elle deviendra plus tard la médecine traditionnelle avec toutes les avancées notoires qu'on peut lui attribuer. D'abord, il y a eu un intérêt croissant pour l'étude des plantes médicinales et leur utilisation traditionnelle dans différentes régions du monde et en plusieurs domaines comme la décoration, la cosmétologie, la pharmacologie (**Muthu et al., 2006**), cela est grâce à leurs richesses en molécules bioactives divers, telles que les flavonoïdes, les acides phénoliques, les tanins, les stérols et les terpénoïdes, qui ont été identifiées dans ces plantes (**Berrougui et al., 2006**).

L'émergence rapide de l'antibiorésistance est un problème majeur pour la santé publique et les données de surveillance montrent qu'il y a une augmentation des infections causées par des bactéries pathogènes résistantes aux antibiotiques dans plusieurs pays (**Vincent et al., 2013**). La multi-résistance microbienne aux antibiotiques est l'image la plus grave de la résistance car elle réduit notablement les possibilités thérapeutiques. Face à ces nombreux obstacles qui présentent l'utilisation des antibactériens disponibles, il est indispensable de rechercher de nouvelles substances antibactériennes efficaces et à large spectre d'action. Les orientations mondiales sont diversifiées vers les polyphénols. Ces derniers sont des composés quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de plusieurs fonctions des fleurs, des fruits et parfois des feuilles, aussi ces composés sont utilisés par les thérapeutes traditionnels pour leurs différentes propriétés médicinales et protectrices surtout contre les bactéries pathogènes. Cette propriété antimicrobienne est l'un des propriétés des plantes médicinales qui est connue depuis l'antiquité (**OMS, 2015**).

En effet, la flore Algérienne est caractérisée par sa diversité florale: Méditerranéenne, Saharienne et une flore Paléo Tropicale, estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques. Ces espèces sont pour la plupart spontanées avec un nombre non négligeable (15 %) d'espèces endémiques (**Ozenda, 1977**). Pour notre part, notre choix s'est porté sur le marrube blanc ou *Marrubium vulgare* ou Merriwt (مريوت) de la famille lamiacées, cette plante pousse spontanément dans les montagnes et les sols secs, elle est utilisée pour plusieurs vertus thérapeutiques les plus importantes : l'antidote, la douleur dentaire, les problèmes digestifs et le

rhumatisme (Hossine, 2007). Des études réalisées sur le marrube blanc montrent la richesse de cette espèce en substances ont une forte activité biologique comme l'antimicrobienne.

Notre présente étude s'est fixée pour l'objectif de l'identification des groupes phytochimiques du marrube blanc, qui caractérisent l'extrait de ces trois parties végétales (feuilles, tiges et racines) et la recherche de l'activité antibactérienne et les potentialités que peuvent avoir les extraits de la partie aérien (feuilles et tiges).

Notre mémoire est sectionné en deux parties :

La première partie propose la synthèse bibliographique comporte cinq chapitres :

- Généralités sur les plantes médicinales.
- Métabolites secondaires des plantes.
- Marrube blanc (*Marrubium vulgare*).
- Quelques substances bioactives de marrube blanc.
- Activité antibactérienne.

Le second partie comporte le procédé expérimental et constitue des deux chapitres :

- Le premier chapitre a résumé le matériel utilisé et les méthodes suivent pour la réalisation des tests phytochimiques et l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits éthanoliques et aqueux des parties étudiés de la plante.
- Le second chapitre a montré les résultats des deux tests réalisés et la discussion des résultats remarquables.

Enfin, on a terminé par une conclusion générale.

Partie I

Synthèse Bibliographique

CHAPITRE I

Généralité sur les plantes médicinales

I.1-Historique :

L'histoire de la médecine traditionnelle remonte aux plus anciennes civilisations, en effet, dès son origine, l'homme a cherché à calmer ses maux et à réduire ses souffrances. Pour cela, il est utilisé les produits immédiatement à sa portée. Le règne végétal lui fournissant en grande partie son alimentation fut son premier champ d'expériences. Peu à peu, il a appris à discerner les propriétés des plantes, leurs vertus, leur toxicité. L'Afrique dispose d'une diversité importante des plantes médicinales (**Dibong et al., 2011**) qui jouent une rôle primordiale dans la prévention de la santé publique. Selon **Valnet (1984)** toutes les civilisations antiques: mésopotamienne, égyptienne, chinoise, indienne, précolombienne avaient une panoplie de remèdes végétales, ainsi se constitua au fil du temps une pharmacopée traditionnelle. L'usage pratique fut la seule voie de connaissances acquises au cours des siècles, sans réelle approche théorique ni compréhension du mode d'action des plantes, constituant les données empiriques de la tradition (**Knore, 1999**).

La tombe du Toutankhamon découvert en Février 1922, à découvert à partir de plantes et d'huiles végétales, c'est la preuve que l'ancienne civilisation de l'Egypte n'a pas ignoré cette science, donc les sages et les prêtres à l'époque pharaonique de la première qui sont intéressés par les plantes médicinales et connaissaient ses avantages et extraient des matériaux efficaces (**Outemen et Yahia, 1994**).

Depuis 150 ans, les plantes médicinales sont fournies à la pharmacie des médicaments très efficaces. Jusqu'à présent, de nombreux travaux menés dans le domaine de l'ethnopharmacologie. Ils montrent que les plantes utilisées en médecine traditionnelle et qui sont testées sont souvent d'une part, des plantes efficaces dans les modèles pharmacologiques et d'autre part seraient quasiment dépourvues de toxicité (**Gurib et Fakim, 2006**). Donc les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (**Elqaj et al., 2007**).

I.2-Définition :

D'après **Bigo (2011)**, la phytothérapie ou le traitement par les plantes qui nous permettent de nous soigner et favoriser le bon fonctionnement de notre organisme, c'est la base de la médecine. Les plantes médicinales ou la médecine publique traditionnelle sont des synonymes au sens d'utilisation des remèdes naturels pour la guérison des maladies humaines, (**Farnsworth et al., 1986**). Leur action médicamenteuse repose sur les milliers de substances chimiques actives (métabolites secondaires) qu'elles contiennent (**Iserin et al., 2001**).

Selon **Dutertre (2011)**, une plante médicinale est une plante utile pour la santé humaine ou animale grâce à leurs propriétés bénéfiques existant soit dans les racines, les tiges, les feuilles ou fleurs Suit à des manières différentes (décoction, macération, infusion...).

I.3-Origine des plantes médicinales :

Les plantes médicinales portent sur deux origines à la fois. En premier lieu les plantes spontanées dites "sauvages" (**Bézanger, 1986**), qui sont furs les seules utilisées autrefois et représentent encore un pourcentage notable du marché européen. Leur répartition dépend du sol et surtout du climat (**Pelt, 2004**), et en second les plantes cultivées qui sont assurés une matière première en quantité suffisante pour répondre aux besoins humains, aussi les drogues recueillies qui sont homogènes par leur aspect et leur composition chimique (**Bézanger, 1986**).

I.4- Importance économique des plantes médicinales :

Les plantes médicinales ont une forte valeur économique en raison de leurs richesses par les substances actives et les huiles essentielles, utilisées dans les objectifs alimentaires et médicinales, ainsi que l'orientation du monde moderne à tout ce qui est sain et naturel a conduit à une forte demande et la popularité sur ces plantes, surtout les pays développés tels que l'Allemagne, le Royaume-Uni, les États-Unis et les pays industrialisés, ce qui conduit à une augmentation de l'importance économique et donc un chiffre d'affaires à l'exportation au niveau mondial et local (**Annonym (1), 2017**).

Les résultats de l'étude de marché au cours des dernières années ont montré que ces cultures occupent une position privilégiée dans l'économie égyptienne, car elle contribue aux exportations égyptiennes 10% des exportations de l'industrie alimentaire. Il existe aussi plusieurs importances de ces remèdes naturels parmi lesquelles :

1-Elles sont cultivées dans les régions nouvellement endiguées, économisant ainsi la vieille terres agricoles pour les cultures vivrières, nourrir et vêtir.

2-Intervention dans le cycle agricole de la diversification des cultures, même réduire le risque de dépendance à l'égard d'une seule culture, et ne pas insister sur la zone agricole.

3- Peut être séché et exporté certaines d'entre elles des huiles ou des pâtes ou des résumés extraits, et peut exporter certains d'entre eux frais, ce qui augmente la longueur totale des possibilités d'exportation, et en fonction des besoins des importateurs et des marchés étrangers (**Annonym (2), 2017**).

I.5-Intérêt thérapeutique des plantes médicinales :

Les espèces végétales possèdent des vertus thérapeutiques à cause de leur composition en substances actives qui agissent sur l'individu (**Iserin, 2001**), parmi les on a les plantes médicinales les plus importantes dans la pharmacologie et la production des médicaments, soit de forme directe comme agents thérapeutiques, ou indirectement comme matières premières pour la synthèse de médicaments ou modèles des composés pharmaco-logiquement actifs (**Decaux, 2002**). Encore il y a 90% de la population mondiale utilise uniquement des plantes brutes pour se soigner (**Small et Catling, 2000**). Il est reporté qu'au minimum 119 composés dérivés de 90 espèces de plantes peuvent être considérés comme des médicaments importants (**Chen, 2006**).

Les scientifiques ont étudiés les effets négatifs de la plupart des drogues de synthèse, ainsi que la toxicité aiguë et chronique qui résultent de son utilisation. On croit causé beaucoup de ces composés dans l'apparition de maladies par exemple les divers de cancer et d'autres maladies graves qui tuent les êtres humains sans pitié ni répit, grâce à la gravité de la situation et l'émergence de millions de victimes qui ont perdu la vie en raison des effets secondaires des médicaments synthétiques et l'utilisation abusive, l'Organisation mondiale de la santé a soulevé depuis le slogan des années quatre-vingt "retour à la nature" ou "Green Wave" afin de revenir à tout ce qui est naturel et non-chimio synthétique, à cause de la un haut degré de sécurité et pour éviter le risque d'effets secondaires(**Lamri et Nasser, 1993**).

Les plantes sont de plus en plus intervenues dans l'industrie pharmaceutique qui offre des garanties de santé publique, il est impossible d'imaginer le monde sans la quinine qui est employée contre la malaria ou sans la digoxine qui soigne le cœur, ou encore l'éphédrine que l'on retrouve dans de nombreuses prescriptions contre les rhumes (**Iserin et al., 2001**).

I.6-Utilisation des plantes médicinales :

Selon **Iserin et al (2001)**, la phytothérapie à la différence de la médecine classique, recommande d'utiliser la plante entière, appelée aussi "totum" plutôt que des extraits obtenus en laboratoire. Une plante entière est plus efficace que la somme de ses composants, les plantes contiennent des centaines voire des milliers de substances chimiques actives.

De nombreuses plantes ayant une importance médicinale, qui poussent sauvages dans le cadre du groupe de plantes avec effet grave et rapide, et ne devraient pas être échangés ou utilisés que par des spécialistes pour éviter les cas d'intoxication, comme la plupart des sécrétions plantes à feuilles caduques, *Sofa publicain*, *Alaovorbea*, *Datura* et *Alsenamki* (**Chiej, 1984**).

II- Les métabolites secondaires des plantes médicinales :

II.1-Définition :

Les métabolites sont des molécules issues du métabolisme des végétaux ou des animaux, on distingue deux groupes : en premier lieu les métabolites primaires qui sont caractérisés par leur propriété nécessaire et vitale à la survie de la cellule ou de l'organisme, elles sont divisés en trois groupes; les glucides, les lipides et les acides aminés (**Kone, 2009 ; Badiaga, 2011**). En secondes lieu, les métabolites secondaires qui ne sont pas vitaux pour la cellule ou l'organisme. Elles sont synthétisées à partir de métabolites primaires via deux voies (**fig.1**): la voie de l'acide shikimique et la voie des poly-acétates (**Bravo, 1998 ; Lugasi et al., 2003**) à une forte activité métabolique, et lié aux conditions de vie de la plantes (**Kansole, 2009**). Elles sont divisés en trois groupes; les composés phénoliques, les terpénoïdes, stéroïdes et les composés azotés ou les alcaloïdes (**Guignard et al., 1985 ; Badiaga, 2011**). Ces substances constituent un moyen de lutte contre les déférents nocifs naturels, grâce à la production des substances toxiques et des mauvais goûts (**Benchacha, 2008**), ils interviennent dans la défense contre les parasites pathogènes (**Toure, 2015**), aussi dans l'adaptation de la plante à son environnement, sans oublier l'intérêt aux population humain (**Judd et al., 2002**).

Selon **Rodney et al (2000)**, les métabolites secondaires ont été démontrés pour avoir une grande indication dans la protection contre les infections microbiennes, et comme attractifs pour les pollinisateurs et les graines de dispersion des animaux. Ces molécules dérivent principalement des métabolismes primaires via les molécules charnières comme l'acide Shikimique et l'acétyle-CAO, il existe donc des relations étroites entre les fonctions physiologiques des végétaux (photosynthèse et respiration)et la production de métabolites secondaires (**Regnault, 2008**). Les plantes médicinales sont riches en métabolites secondaires très développées (**Madi, 2010 ; Benchacha, 2008**).

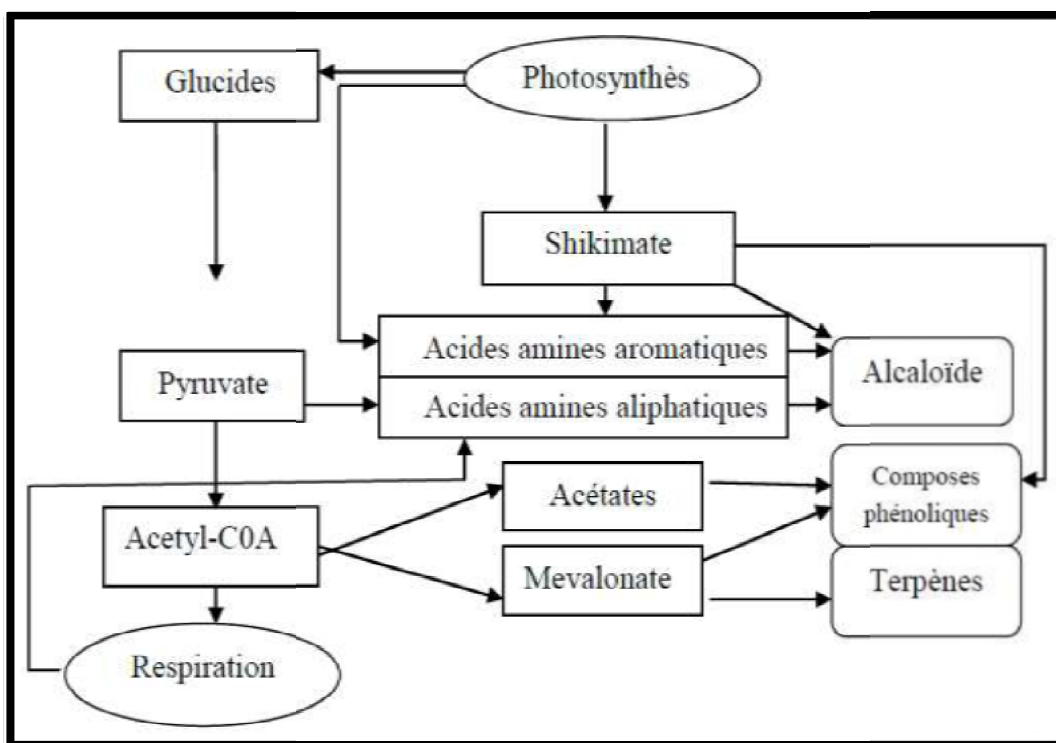


Figure 01 : Grandes voies de synthèse des métabolites secondaires et relations avec le métabolisme primaire (Regnault, 2008).

II.2-Classification des métabolites secondaires :

Le monde végétal caractérisé par la présence des molécules ont des structures complexes classées selon leur compositions chimiques (Judd *et al.*, 2002), et leur structures chimiques, il y a plus de 200.000 structures définies aune variété structurale extraordinaire mais sont produits en faible quantité (Hartmann, 2007).

Parmi ces substances on trouve les composés phénoliques (les flavonoïdes, les tanins, les saponosides ...) les huiles essentielles et les alcaloïdes qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique.

II.2.1-composés phénoliques :

Il existe une très grandes variété de phénols, qui peuvent être classifiés, selon le nombre et l'arrangement de leurs atomes de carbones en plusieurs classes de poly-phénols comme les composés phénoliques qui ont un rôle anti-inflammatoires et antiseptiques, il ya aussi l'acide rosmarinique a une forte activité antioxydant et des propriétés antivirales (Iserin, 2001).Parmi les qu'elles :

A-Tanins :

Les tanins sont des substances constituées par un mélange de glucosides et d'acide gallique. On les rencontre en petite quantité dans très nombreuses plantes (**Verdrager, 1978**).

B-Flavonoïdes :

Terme en latin: flavus : jaune, ont une structure de C6-C3-C6 à poids moléculaire faible, ils peuvent être considérés parmi les agents responsables des couleurs de plante à côté des chlorophylles et caroténoïdes, et de goût (**Wichtl et Anton, 2009**).

C-Saponines :

Le terme de saponines est dérivé de la saponaire, qui est jadis utilisée comme matière du savon, les saponines sont des substances hétérosidiques à propriétés tensioactives, constituent d'aglycones non polaires liés à un ou à plusieurs sucres, cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires dans leurs structure signifie leur comportement moussant en solution aqueuse (**Hopkins, 2003**). Selon la nature de la gémine, on distingue deux groupes: les saponines à gémine stéroïdique et les saponines à gémine triterpénique (**Guignard et al., 1995 ; Harbone, 1998**).

Les saponines jouent un rôle de défense contre les pathogènes microbiens des végétaux, mais toxiques pour les animaux à sang froid et en particulier pour les poissons et les mollusques, certaines drogues à saponines sont utilisées pour leurs propriétés antitussives (rhizome de la réglisse), mais aussi anti-œdémateuses (cotylédons de la graine de Marronnier d'Inde) ou encore analgésiques (**Sabrina, 2003**), Ils manifestent des propriétés hémolytiques, antimicrobiennes, insecticides (**Vincken et al., 2007**).

D-Cardénolides :

Les cardénolides ou hétérosides cardiotoniques ont la même structure des saponines et possèdent des propriétés de détergente (**Wichtl et Anton, 2009**).

E-Coumarines :

Les coumarines se trouvent dans nombreuses espèces végétales au différents types et possèdent des propriétés très diverses, constituent un groupe de lactones issues de la formation d'un cycle fermé à partir de l'acide hydroxycinnamique. Le coumarine n'est pas toxique en soi, car elle contient de l'huile de bergamote, ce dernier est utilisé pour parfumer le tabac de pipe, le thé (**Hopkins, 2003**), ils sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes (**Madhavi et al., 1996**).

F-Quinones :

Ce sont des composées oxygénés qui correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques. Les quinones peuvent être classées en quatre groupes : benzo-quinones, naphtho-quinones, anthra-quinones et isoprénoides-quinones (**Guignard et al., 1995 ; Harbone, 1998**).

G-Huiles essentielles:

Ce sont des substances particulièrement aromatiques, très volatiles, ont s'évaporer facilement, les huiles responsable des parfums caractéristiques des végétaux (**Ticli, 1997**).

II.2.2-Composés azotés :

A-Alcaloïdes :

Ce sont des substances azotées produites dans les plantes dont l'action sur l'homme et les animaux est extraordinaire, leurs intoxications nécessite de ne les utiliser que sur ordonnance et avec surveillance médicale strict (**Ticli, 1997**).

B-Glycosides :

Les glycosides sont des substances organiques complexes qui résultent de l'établissement d'une composante osidique et d'une composante non osidique (aglycone ou la génine) (**Bruneton, 1993**). Ils sont plus hydrosolubles que leurs aglycones respectifs (**Kren, 2001**). On les trouvent d'une manière générale dans toutes les plantes vasculaires (**Erlund, 2004**).

C-Terpenoïdes:

La famille des terpènes comprend des hormones comme les gibbérellines, l'acide abscissique, les stérols (**Hopkins, 2003**), les terpenoïdes sont des composés synthétisant par l'assemblage d'un nombre entier d'unité penta-carbonée ramifiée, le 2-méthyle-butadiène (isoprène), selon le nombre d'unité isoprénique qui les constituent, on distingue: les monoterpènes en C 10, les sesquiterpènes en C15, les diterpènes en C20 et les triterpènes en C30 (**Guignard et al., 1995 ; Harbone, 1998**).

II.2.3-Substances amères :

Les substances amères ont un gout amère, cette propriété lui donnant la capacité de stimule les sécrétions, augmente l'appétit et améliore la digestion. Parmi ses éléments on a l'absinthe, la chirette, le houblon et la marrubiine (**Iserin., 2001**).

II.3-Intérêts des métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires sont des substances naturelles issues des végétaux ont des bienfaits multiples mis à profit dans l'industrie, en alimentation, en cosmétologie et en

pharmacie qui utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale (**Bahorun, 1997**). Ces molécules peuvent être utilisées dans la réponse aux facteurs abiotiques et comme régulateurs du fonctionnement cellulaire (**Macheix et al., 2005**), par exemple les monoterpènes, via leur capacité de thermoprotection, pourrai jouer un rôle différent en protégeant les plantes contre un stress de chaleur suite à une augmentation brusque de la température (*heat flecks*) des feuilles causée par le soleil (**Delfine et al., 2000, Penuelas et Llusia, 2002, Copolovici et al., 2005, Sharkey et al., 2008**), aussi jouent un rôle dans la stimulation des mécanismes de défense pour lutter contre les infections des agents phytopathogènes (**Macheix et al., 2005**), pour cela nombreux chercheurs ont testé l'activité antibactérienne des extraits bruts des plantes (**Simoès et al., 2009**), qui est liée à la diversité de leurs structures chimiques ainsi que de leurs substances pures sur de nombreuses souches bactériennes (**Gibbon, 2004**). Ces substances sont induisant l'activation et l'expression des gènes codant pour les enzymes impliquées dans leur biosynthèse (**Hoffmann, 2003**).

CHAPITRE 02

Marrube blanc (*Marrubium vulgare* L.)

1-Historique:

Le marrube blanc est connu depuis la haute antiquité, dans l’Egypte Grèce anciennes le utilise comme principale ingrédient, notamment l’antidote des poisons végétaux, et le spécifique des affections de l’appareil respiratoire, elle est considérée par J-E. Gilibert (1798) comme « l’une des meilleures plantes d’Europe » (**Schalempher, 1996**).

2-Origine et répartition géographique :

Selon **Judd et al (2002)**, la distribution géographique des lamiacées est cosmopolite, les Lamiacées sont rencontrées sous tous les climats, à toutes les altitudes. Le genre *Marrubium* comporte environ 40 espèces, répartisse sur la long de la Méditerranée, les zones tempérées du Continent Eurasien et quelques pays d’Amérique Latine (**Rigano, 2006 ; Meyre et al., 2005**). Les espèces *Marrubium vulgare* connues pour leurs propriétés médicinales, trouvent d’ores et déjà une large utilisation en médecine traditionnelle et en phytothérapie (**Iserin et al., 2001**).

Le marrube blanc est une espèce originaire d’Europe méridionale (**Nicolas, 2012**), d’Afrique du nord et d’Asie (**De Souza et al., 1998**), pousse spontanément au cours des terrains vagues (**Nicolas, 2012**), lieux incultes, décombres, ainsi que dans les prairies chaudes et sèches. En générale sur sols calcaires (**De Souza et al., 1998**). Selon **Aouadhi (2010)** cette plante pousse naturellement dans les garrigues, les montagnes et les friches sur des sols secs et alcalins, elle est reconnue depuis l’antiquité, pour ses propriétés thérapeutiques.

En Algérie, on retrouve 6 espèces différentes au sein de ce même genre : *Marrubium vulgare* (**Kurbatova et al., 2003**), *Marrubium peregrinum* (**Hennebelle et al ., 2007**), *Marrubium supinum*, *Marrubium alysson*, *Marrubium alyssode pomel* et *Marrubium deserti de Noé* (**Quezel et Santa., 1963**).

3-Définition et description botanique :

Le marrube blanc est une plante herbacée vivace dégage une odeur forte de pomme, poussant sous forme de touffes, atteindre 80cm de hauteur (**Schlempheret al., 1996**), dont les tiges anguleuses (**Nicolas, 2012**), quadrangulaire cotonneuse, couverte d’un duvet blanc (**Aouadhi, 2010**), portent des feuilles opposées blanches et tomenteuses, de l’aisselle des supérieurs émergent des verticilles impaire de petites fleurs blanches apparaissent du mois de mai jusqu’au mois de Septembre, et parfois encore en hiver. Ses fruites tétrakène (**Nicolas, 2012**), sa saveur est âcre et amère (**Aouadhi, 2010**).

La plante est récoltée au stade végétatif au mois de mars puis au stade reproducteur au mois de mai.



Figure 02: Photo de la plante *Marrubium vulgare*.

4-Classification botanique :

Selon APG III (2009), la classification de marrube blanc est comme suivant :

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

Les noms donnés à la plante sont les suivants : en Algérie est connue par le nom Marriouth (Quezel et Santa, 1963), Merrîwt au Maroc (Bellakhdar, 1997), Marroubia en Tunisie (Boukef, 1986). En Anglais : Harehound, en Italien Marrubbio. Selon (Bonnier, 1909), le marrube est composé de deux mots hébreux : mar : suc, rob : amer.

5-Composition chimique :

Le Marrube blanc contient des flavonoïdes, des diterpènes, des tanins, des résines, beaucoup de fer, peu d'huiles essentielles, des mucilages et certain taux de choline. Le principe actif est une substance amère c'est la marrubiine (De Souza et al., 1998). Il ya aussi des alcaloïdes, des sesquiterpènes, des diterpènes, les triterpènes (Ashkenazy et al., 1983). Selon Nicolas (2012), le marrube blanc contient un principe amer, la marrubine (6.5%), des tanins et des saponines. On sait très peu au sujet des composants du marrube et de leur mode d'action pharmacologique. En juin 2002, des chercheurs français isolaient d'ailleurs dans la plante un glucoside jusqu'alors inconnu, le marruboside (Sahpaz, 2002).

Le marrube blanc contient de choline, des hétérosides, des tanins, une cire contenant des stérols, des saponosides, des acides-phénols, des flavonoïdes, des mucilages, des huiles essentielles, beaucoup de nitrates et du fer (Anonyme (3), 2017).

6-Intérêt thérapeutique :

Grâce a leur richesse en composition chimique, le marrube blanc dont plusieurs propriétés médicinales : elle est lutter contre les refroidissements des voies aériennes supérieures, la toux, le catarrhal, l'asthme, stimule l'appétit, la sécrétion des sucs gastriques et participe a l'ensemble du processus digestif. Ainsi ce remède naturel augmente l'activité hépatique, la sécrétion biliaire et efficace pour soulager les règles douloureuses et régler le rythme cardiaque, et aussi pour soigner les blessures infectées (Nicolas, 2012). Des essais sur des souris indiquent que le marrube blanc a des propriétés antiseptiques et analgésiques (Sahpaz et al., 2002). Ainsi elle est utilisée pour le traitement de diabète (Azzi et al., 2014), les dyspepsies, elle est utilisée pour le traitement des difficultés respiratoire, des bronchites et de la coqueluche (Bellakhdar, 1997), les extraits de marrube blanc utilisent pour soigner le Rhumatisme, les maladies buccale et pharyngien, et pour animer le mémoire et les nerveux (Houcine, 2007).

7-Contre-indications et effets indésirables :

Malgré leur efficacité positive, dans certain cas il faut d'éviter ou la prudence d'utilisation du marrube blanc dans le cas de diabétiques sus médication et de femmes enceintes car elle stimulerait l'utérus et pourrait avoir une action abortive (Weel, 1999), parce qu'elle est une plante amère à caractère salin et ne peut donc pas être toléré s'il ya une gastroentérite ou des situations de nausées ou de vomissements ou encore en cas de dyspepsie (Aouadhi, 2010).

CHAPITRE 03

quelque substances bioactives du marrube blanc

1-Généralité :

Les principes actifs des plantes médicinales sont souvent liés aux produits des métabolites secondaires, leurs propriétés sont actuellement pour un bon nombre reconnue et donc mises à profit dans le cadre des médecines traditionnelles et également dans la médecine allopathique moderne (**Bourgaud et al., 2001 ; Kar, 2007**). Le marrube blanc ou *Marrubium vulgare* est une source très riche en substances actives qui lui permettant à franchir au déférent contraintes d'environnement telle que les flavonoïdes, les alcaloïdes, les tanins et les huiles essentielles que l'on rencontre dans ces organes (**Ashkenazy et al., 1983**).

A-Flavonoïdes :

A.1-Définition :

Le nom flavonoïde proviendrait du terme flavedo, désignant la couche externe des écorces d'orange (**Piquemal, 2008**), les flavonoïdes ont été isolés par le scientifique Chervreul en 1814, mais ont été réellement découverts qu'en 1930 par Albert Szent-Györgyi, désignés sous le nom de vitamine P, en raison de leur efficacité à normaliser la perméabilité des vaisseaux sanguins (**Nijveldt et al., 2001**). En générale, ces substances sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racines, tiges, feuilles, fruits, graines, bois, pollens (**Verhoeven et al., 2002**). Les flavonoïdes sont synthétisés par les plantes lors de l'invasion microbienne (**Dixon et al., 1983**), ils sont solubles dans les solvants organiques apolaires (**Bruneton, 2009**).

A.2-Structure chimique et classification :

Les flavonoïdes présentent un squelette de base à 15 atomes de carbone, fait de deux cycles benzéniques C₆ reliés par une chaîne en C₃. Le pont à 3 carbones entre les deux phényles forme généralement un troisième cycle pyrone (**fig03**).

Structuralement elles peuvent être regroupées en plusieurs classes selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central, on distingue les flavones, les flavonols, les flavanones, les dihydro-flavonols, les isoflavones, les chalcones, les auronnes et les anthocyanes. Ces diverses structures se rencontrent à la fois sous forme libre (aglycone) ou sous forme de glycosides (**Bruneton, 2009**). Ces composées dérivant respectivement de la voie métabolique des carbohydrates et des phénylpropanoïdes (**Wollgast et Anklam, 2000 ; Ferrer et al., 2008**).

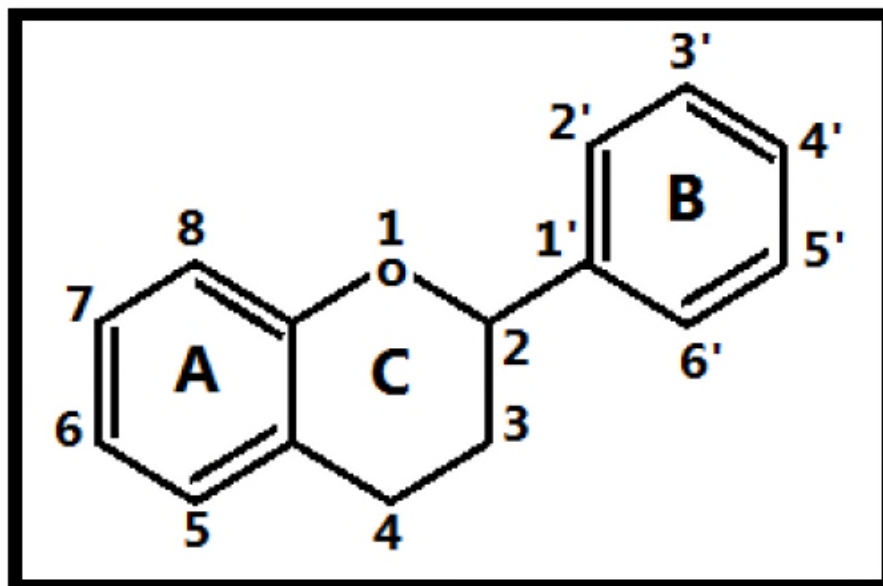


Figure03 : Squelette de base des flavonoïdes (Heim *et al.*, 2002).

A.3-Répartition et localisation dans la plante :

Les flavonoïdes présentant dans les organes aériens de la plante, ils ont une teneur maximale dans les organes jeunes feuilles et boutons floraux (Paris et Hurabielle, 1980). Selon les espèces, elles concentrent dans l'épiderme des feuilles ou répartissent entre l'épiderme et le mésophile (Bruneton, 1999).

A-4-Rôles au niveau de la plante :

Les flavonoïdes sont responsables de donner la coloration aux végétaux, attire et guide les insectes vers le nectar pour assurant le transport du pollen (Yoshikawa *et al.*, 1994), et repoussent certains d'autres par leur goût désagréable, ce qui lui permettant de jouer un rôle dans la protection des plantes, ils sont capables d'inhiber la croissance de différents types de bactéries : *Staphylococcus aureus* (Babayi, 2004), *Escherichia coli* (Ulanowska, 2006), de plus ils sont impliqués dans la photosensibilisation, morphogenèse, détermination sexuelle, photosynthèse et régulation des hormones de croissance des plantes (Medjroubi *et al.*, 2003), il a été prouvé que les teneurs en flavonoïdes sont élevées lorsque le milieu de vie de la plante n'est pas adéquat, dans ce cas la plante favorise la synthèse des métabolites secondaires afin de s'adapter et de survivre (Hammoudi, 2015).

A.5-Utilisations thérapeutiques :

Les flavonoïdes jouent un rôle important dans la fonction immunitaire, l'expression génique, la circulation sanguine dans les capillaires et le cerveau, la fonction hépatique, l'activité enzymatique, l'agrégation des plaquettes et le métabolisme du collagène, des phospholipides, du

cholestérol et de l'histamine (**Hertog et al., 1993**). Ils sont ainsi utilisés pour le traitement des troubles impliquant la circulation rétinienne, et le traitement du lymphoedème du membre supérieur après traitement radio-chirurgical du cancer du sein (**Bruneton, 2009**).

Les flavonoïdes ont pour effet d'inhiber l'activité d'une enzyme, la topo-isomérase II, qui joue un rôle essentiel dans l'apparition du cancer, notamment la maladie de Hodgkin. Ces substances ont largement montré leurs effets protecteurs contre plusieurs cancers, dont la prostate, le côlon et le poumon. Tout cela grâce à la chasses des radicaux libres et le fracassement de la chaîne des réactions racinaires par la formation des composés plus stable pour éviter la déformation d'ADN, partant provoqué des mutations qui sont considérer comme le signal de l'appariation de cancer (**Accord, 2010 ; Bouziane, 2002**).

B-Alcaloïdes :

B-1- Définition :

Le terme d'alcaloïde a été introduit par W. Meisner au début du 19^{ème} siècle pour désigner des substances naturelles réagissant comme des bases (**Bruneton, 1999**). Elles sont des composés organiques naturels des végétaux, avec l'azote comme hétéroatomes, de structures moléculaires complexes plus ou moins basique et doué de propriétés physiologiques prononcées même à faible dose (**Zenk et Juenger, 2007**). A l'état normal, ils sont généralement salifiés par les acides organiques (tartrates, malates) ou combinés à des tanins (**Guignard et al., 1985**). Ils se combinent avec les acides et forment des sels (**Badiaga, 2011**), leur solubilité dans les solvants organiques comme l'alcool et le chloroforme est en général élevée par rapport à la solubilité dans l'eau, puisque la plupart de ces substances sont insolubles ou peu solubles dans l'eau (**Merghem, 2009**).

B-2-Structure chimique et classification :

Les alcaloïdes sont des substances basiques, contenant un atome ou plus d'azote généralement inclus dans un système hétérocyclique (**Harbone, 1998**), la plupart de ses substances sont dérivés des acides aminés tels que le tryptophane, la lysine, l'aspartate, l'anthranilate, la phénylalanine et la tyrosine. Ces acides aminés sont décarboxylés en amines et couplées à d'autres squelettes carbonés (**Cyril, 2001**), les alcaloïdes sont divisés en trois classes :

-Alcaloïdes vrais : représentent le plus grand nombre d'alcaloïdes, sont toxiques et disposent d'un large spectre d'activités biologiques. Ils dérivent d'acides aminés et comportent un atome d'azote dans un système hétérocyclique. Ils sont présents dans les plantes, soit sous forme libre, soit sous forme de sel, soit comme N-Oxyde (**Badiaga, 2011**).

-Proto-alcaloïdes : ils ne possèdent pas un azote intra-cyclique et ont une structure proche des amines (Guignard, 2000), avec un caractère basique, sont élaborés *in vivo* à partir d'acide aminé. Les proto-alcaloïdes sont souvent appelés « amines biologiques » et sont soluble dans l'eau (Badiaga, 2011).

-Pseudo-alcaloïdes: ils présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés (Badiaga, 2011).

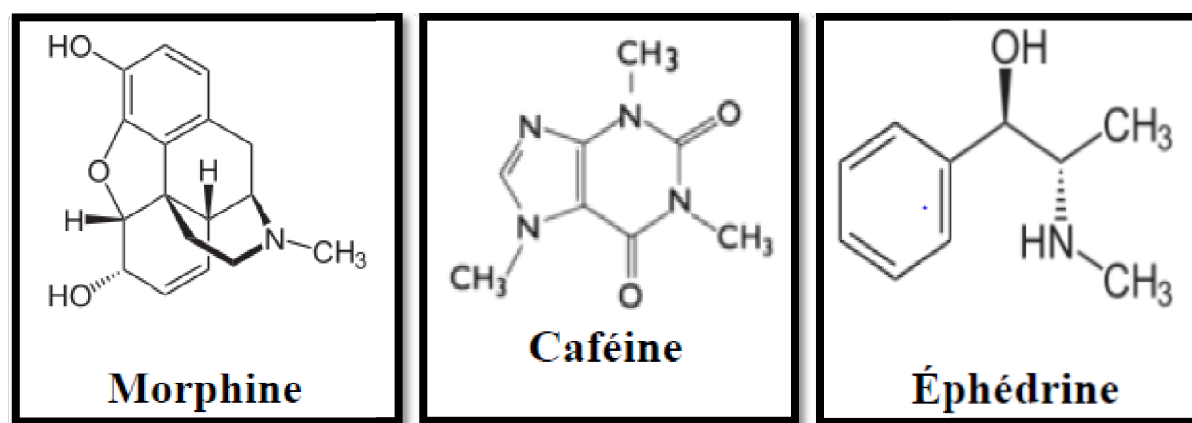


Figure 04 : Structure de quelques alcaloïdes (Badiaga, 2011).

B-3- Répartition et localisation dans la plante :

Les alcaloïdes se rencontrent surtout chez les angiospermes et très répandus chez les dicotylédones. Ils se rencontrent surtout au niveau des épidermes, des laticifères et de façon générale dans tous les tissus en voie de croissance, elles s'accumulent surtout dans les vacuoles, leur synthèse se fait au niveau du réticulum endoplasmique (Guignard *et al.*, 1985).

B-4-Rôle au niveau de la plante :

Plusieurs alcaloïdes sont très toxiques et offrent un arsenal chimique de défense des plantes contre l'attaque des herbivores et microorganismes, par exemple le nicotine qui empêche la croissance des larves du tabac, ainsi que elles protègent les plantes contre les risques provoqués par la lumière UV et constituent une réserves de substances capable de fournir l'azote (Bhat *et al.*, 2005).

B-5-Utilisation traditionnelle et thérapeutique :

Les alcaloïdes sont utilisées dans plusieurs médicaments, chez l'être humain, ses substances provoquent diverses réponses physiologiques et psychologiques, ils affectent le système nerveux particulièrement les transmetteurs chimiques tels l'acétylcholine, norépinephrine et acide γ aminobutyrique, car ils interfèrent avec les neurotransmetteurs, d'autres effets pharmacologiques sont attribués également aux alcaloïdes telles que l'effet

analgésique et sédatifs (cocaïne) (Hopkins, 2003), anti-cholinergique (atropine), anti-malaria (quinine), anti-hypertensive (réserpine), antitussive (codéine), stimulant centrale (caféine), dépressant cardiaque et diurétique narcotique (morphine), anti-tumeur et sympathomimétique (éphédrine) (Badiaga, 2011), ainsi la nicotine(alcaloïdes du tabac) est un poison violent pour les insectes, c'est l'un des premières insecticides usés par l'humanité, ces substances sont considérés comme moyen de défense contre les agents microbiennes (Hopkins, 2003), Ils sont capables d'inhiber la croissance de *Staphylococcus aureus* (Babayi et al., 2004), d'*Escherichia coli* (Ulanowska, 2006).

C-Tanins :

C-1-Définition :

Les tanins sont des substances d'origine organique, ayant la capacité de précipiter les protéines. Ils forment après coagulation des composés très stables et des protéines. Les tanins ont un effet principal pour les plantes pour les rendre peu digestibles (Paris et Hurabielle, 1981).

C-2-Structure chimique et classification :

Chez les végétaux supérieurs, Il y a deux groupes de tanins différents par leur structure aussi bien que par leur origine biogénétique, les tanins hydrosolubles et les tanins condensés :

-Tanins hydrolysables :

Les tanins hydrolysables sont des polyesters de glucides et d'acides phénols, ils sont facilement fractionnés par les enzymes de tannases en oses et en acide phénol, selon la nature de celui-ci on distingue: les tanins galliques, et les tanins ellagiques (Paris et Hurabielle, 1981).

1-Tanins galliques (Gallo tanins) : ils donnent par hydrolyse des oses et de l'acide gallique(Paris et Hurabielle, 1981).

2-Tanins ellagiques (Ellagitanins) : ils sont scindés par les enzymes en oses et en acide ellagique (Paris et Hurabielle, 1981).

-Tanins condensés :

Les tanins condensés sont des molécules non hydrolysables et sont des polymères flavanoliques constitués d'unités flavan-3-ols, le plus souvent épicatechine et catéchine (Khanbabaeva et Ree, 2001), leur structure voisine de celle des flavonoïdes est caractérisée par l'absence de sucre (Paris et Hurabielle, 1981).

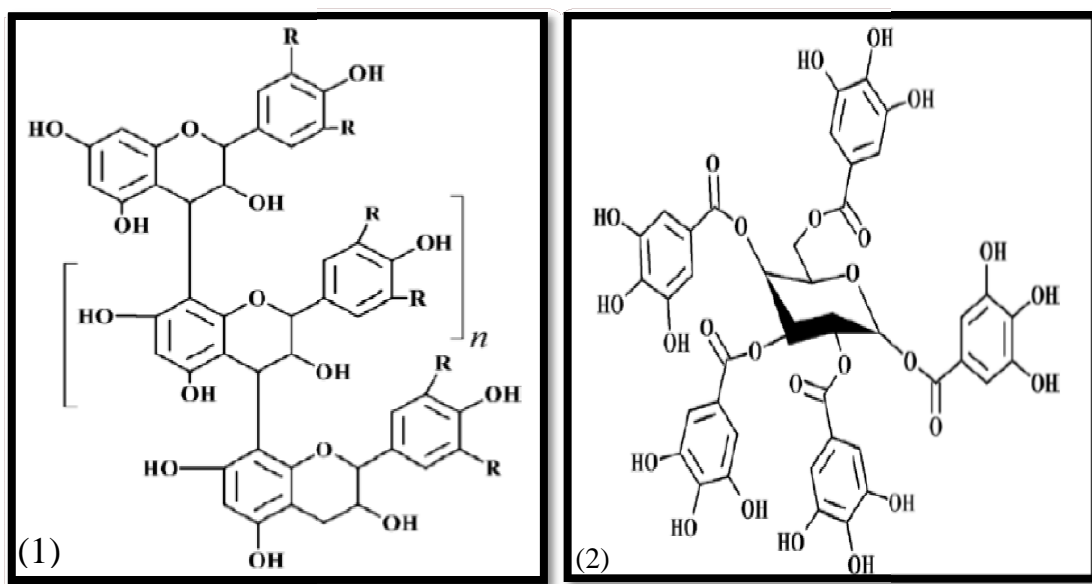


Figure05 : Squelette de base des tanins condensés(1) et tanins hydrolysables(2) (Bruneton, 1999).

C-3-Répartition et localisation dans la plante :

Ils sont présents dans tous les végétaux à toutes leurs parties, essentiellement dans les écorces, les tanins sont caractérisées par leur astringence (sensation de dessèchement en bouche), et leurs solubilités dans l'eau (Peronny, 2005).

C-4-Utilisation traditionnelle et thérapeutique :

Les tanins sont très importants dans l'industrie des cuirs, ils agissent en donnant des combinaisons insolubles avec les protéines et rendent ainsi les peaux moins perméables à l'eau et imputrescibles (Paris et Hurabielle, 1980). Les drogues à tanins servent surtout en thérapeutique pour leurs propriétés astringentes à l'extérieur et anti diarrhéiques en usage interne, sur la peau et les muqueuses. Il s'ajoute une action vaso-constrictrice des petits vaisseaux, d'où l'emploi contre les hémorroïdes, les blessures superficielles. Les extraits tanniques sont aussi anti-inflammatoires dans les brûlures.

Les drogues à tanins sont employées s'ajoute l'action antiseptique, aussi les tanins libres étant détruits rapidement par le suc intestinal alcalin. Il a été constaté que certains extraits tanniques inhibaient la croissance de champignons, de bactéries, de virus. Ceci justifie l'emploi de drogues à tanins comme antiseptiques notamment dans les maladies pulmonaires (Paris et Moyse, 1971). Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples comme dans le cas des veines variqueuses, pour drainer les sécrétions excessives, comme dans la diarrhée et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure (Nowitz et Bottet, 2000).

D-Huiles essentielles :

D-1-Définition :

Le terme « huile essentielle » a été inventé au 16^{ième} siècle par le médecin Suisse Parascelsus Von HOHENHEIM pour désigner le composé d'un remède naturel (**Burt, 2004**), ces substances sont des mélanges de divers produits issus d'une espèce végétale, passent avec une certaine proportion d'eau lors d'une distillation effectuée dans un courant de vapeur d'eau. Les huiles essentielles constituent le principe odoriférant des végétaux, cette odeur est due à la libération de molécules très volatiles contenant 10, 15, 20 atomes de carbone.), elles ne sont que très peu soluble ou pas dans l'eau (**Rhayour, 2002, Benini, 2007, Benayad, 2008**), mais solubles dans les solvants organiques usuel (**Roquebert, 2002**), ces substances sont volatiles (**Roux et Catier, 2007**), solubles, et ont un pouvoir rotatoire (**Mebarki, 2010**).

D-2-Structure chimique et classification :

La cellule végétale est capable de coordonner les multiples réactions enzymatiques et biochimiques participant à la vie des plantes (respiration , photosynthèse), conduisant à la production d'huiles essentielles qui sont constituées des mélanges complexes de composés organiques, possèdent des structures et des fonctions chimiques diverses (**Lahlou, 2004**), ces substances sont des mélanges de composés aromatiques des plantes, qui sont extraites par distillation par la vapeur ou des solvants (**Smallfield, 2001**).

Les huiles essentielles appartiennent à deux groupes, en premier lieu, les terpénoïdes qui sont formés par la combinaison de 5 atomes de carbone (C5) nommée l'isoprène (**Bakkali, 2008**) (**fig.06**), seuls les terpènes de faible masse moléculaire sont rencontrés dans les huiles essentielles, telle que les monoterpènes (C10) constituent par l'assemblage de deux unités isopréniques, et les sesquiterpènes (C15) forment par l'assemblage de trois unités isopréniques, il y a aussi les diterpènes (C20), les sesterpènes (C25), les triterpènes (C30) (**Soldermann, 2002**), en seconde lieu, le groupe des composés aromatiques dérivés de phényle-propane (C6-C3) (**Roux et Catier, 2007**), se produisent beaucoup moins fréquemment que les terpènes et renferment divers produits issus de processus dégradatifs mettant en jeu des constituants non volatils, telle que l'alcool et le phénol (**Ghestem et al., 2001**). Les huiles essentielles de marrube blanc ont une odeur forte et fétide avec une saveur aromatique, amère et âcre (**De Souza et al., 1998**).

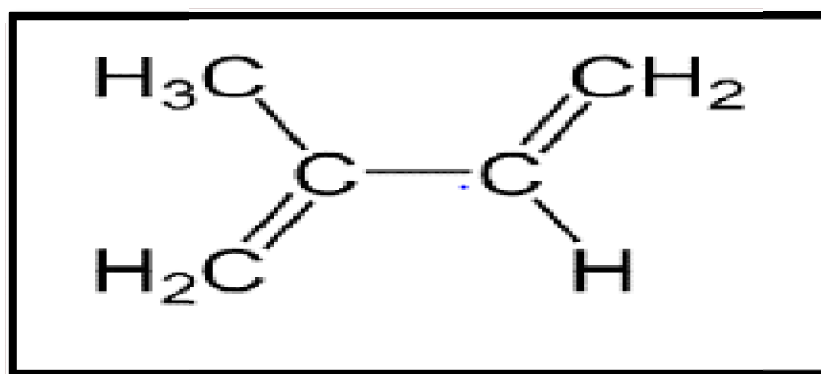


Figure 06 : Structure de l'isoprène (C₅H₈) (Bakkali, 2008).

D-3-Répartition et localisation dans la plantes :

Les huiles essentielles n'ont pas une présence générale chez les végétaux, parmi 1500000 espèces végétales, seulement 10% sont dites « aromatiques » (Degryse et al., 2008), la famille du Labiées se caractérise par la grande nombre d'espèces à essences des huile essentielles (Benayad, 2008), elles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : sommités fleuries (le Menthe), écorces (cannelier), racines (Vétirer), rhizomes (curcuma et Gingembre), fruits et bois. Dans une même plante les huiles essentielles peuvent être présentés à la fois dans différents organes (Hertog et al., 1993), elles sont produites dans le cytoplasmes des cellules sécrétrices et s'accumulent à la surface des cellules glandulaires spécialisées et recouvertes d'une cuticules, puis stockée dans des cellules dites cellules à huiles essentielles dans des poils sécréteurs, dans des canaux sécréteurs (Boz et al., 2009).

D-4-Utilisation traditionnelle et thérapeutique :

Depuis longtemps, les huiles essentielles sont utilisées en phytothérapie, contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne (Mebarki, 2010), leurs applications sont vastes. L'usage de ses substances en médecine ne fut jamais abandonné malgré la découverte des processus de synthèse organique et la naissance de l'industrie pharmaceutique. Elles sont considérées comme un véritable réservoir de molécules de base qui sont irremplaçables (Ouraini et al., 2007).

Les huiles essentielles requièrent de bonnes connaissances et le bon fonctionnement du corps humain, leur pouvoir antiseptique est indiscutable, leur toxicité l'est aussi (Moreno et al., 2006). De nombreuses huiles essentielles se trouvent dans différentes préparations pharmaceutiques: sirop, gouttes, gélules (Domaracky et al., 2007). A l'heur actuel, les huiles essentielles représentent la base de l'industrie des parfums et des médicaments, aussi constituent une ressource économique non négligeable pour un grand nombre de pays.

CHAPITRE 04

Activité antibactérienne

1-Généralité :

Les échecs thérapeutiques et les coûts de plus en plus élevés pour le traitement des infections dues aux bactéries résistantes à la plupart des antibiotiques, suite à cette préoccupation concernant les effets indésirables des molécules synthétiques destinées à la lutte contre les infections bactériennes, appellent à trouver d'autres alternatives de soin et l'utilisation des antibiotiques classiques, comme les plantes médicinales qui sont la source primordiale des drogues végétales, ces derniers interviennent dans la production des médicaments sous forme des extraits ou des substances actives pour produire les composés chimiques (**laabed, 2009**). Grâce à leurs composés chimiques qui sont considérés comme des substances antimicrobiennes, les plantes capables d'inhiber la croissance bactérienne en agissant sur des cibles cellulaires différentes de celles visées par les antibiotiques utilisés tels que les pénicillines, macrolides. Ils pourraient également de présenter une valeur clinique significative dans le traitement des infections aux souches microbiennes résistantes (**Eloff, 1998**).

2-Les antibiotiques :

Les antibiotiques sont des substances synthétisant par les champignons, les bactéries et les plantes supérieures, ils sont capables de tuer les microorganismes ou d'inhiber leur croissance (**Prescott et al., 1995 ; lebose, 2012**). Les antibiotiques sont classés selon leur composition chimique et mécanisme d'action, ce dernier est le plus répandu et selon le on a deux groupes d'antibiotiques d'après **Monsieur (2005)** sont :

- 1-Des antibiotiques inhibent la croissance des bactéries comme la cefphonamide.
- 2-Des antibiotiques tuent les micro-organismes comme la pénicilline.

Cependant, la prescription à grande échelle est parfois inappropriée de ces agents a entraîné la création des souches multi-résistantes. Il est donc important d'orienter les recherches vers de nouvelles voies, et surtout vers les végétaux qui ont toujours constitué une source d'inspiration de médicaments (**Billing et Sherman, 1998**).

3-Classification des agentes microbiennes :

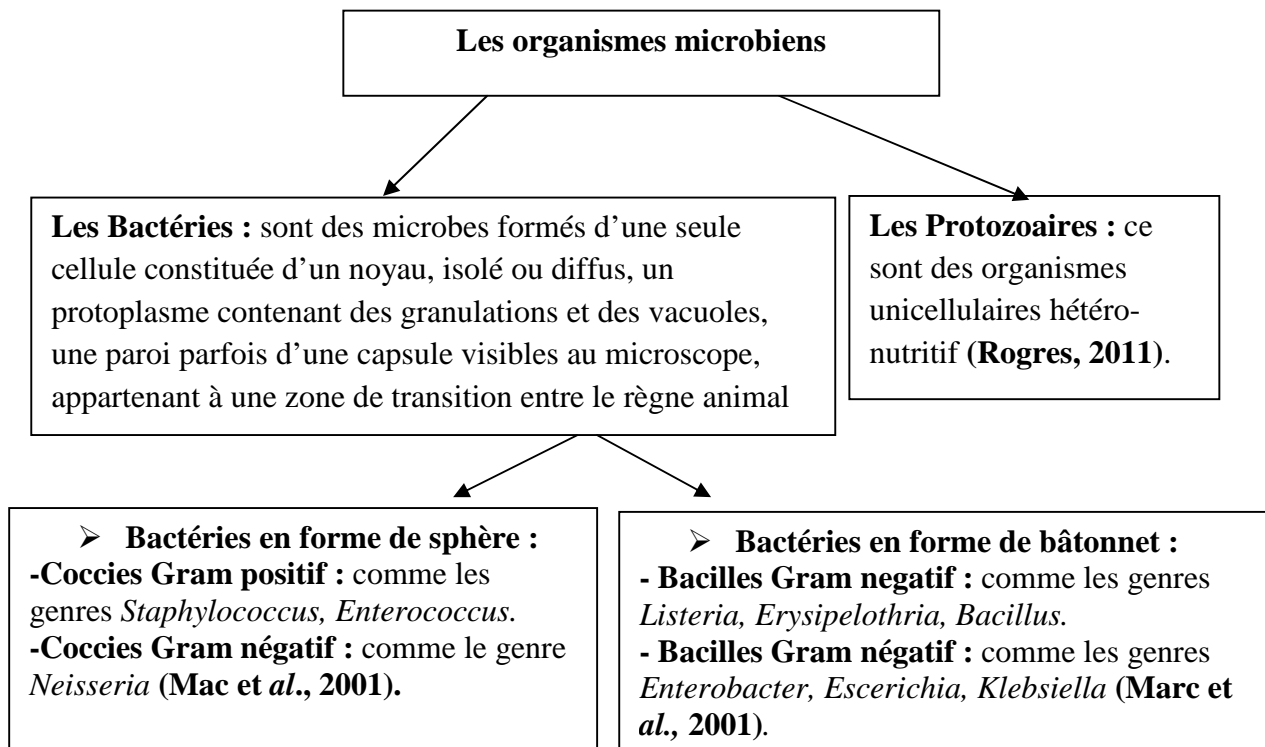


Figure 07 : les différentes classes des organismes microbiennes.

4-Les infections bactériennes :

Une infection bactérienne est un ensemble de troubles qui résultent de la pénétration d'une bactérie pathogène dans un organisme. Elle peut être :

- Locale : lorsqu'elle se manifeste uniquement au niveau où les germes ont pénétré.
- Générale : lorsqu'un germe franchit les barrières opposées par l'organisme.
- focale : c'est l'infection en foyer dans les tissus ou les organes où les germes sont apportés par la circulation ou les solvants existants dans la cible (Pocidalò et al., 1989).

5-Activités antibactériennes des métabolites secondaires :

La plante médicinale contient un grand nombre de molécules à des intérêts multiples et une action antibactérienne très importante et diverses, probablement due à leurs diversités structurales (Abedini, 2013 ; Silva et al., 2006 ; Dominico et al., 2005). Parmi ces substances on a les tanins qui ont reçu d'attention due à leur large spectre et une forte activité contre les infections bactériennes, et à leur capacité de supprimer un nombre de facteurs de virulence microbienne (Nguz et al., 1996). Certains quinones présentent un effet bactériostatique sur les bactéries à Gram positif mais pas vis-à-vis des bactéries à Gram négatif (Riffel et al., 2002), aussi les coumarines exercent plusieurs activités très efficaces contre les Gram positifs (Benkiki, 2006).

Des études récentes sur les plantes médicinales présentent la grande capacité des flavonoïdes et des huiles essentielles à résister contre les infections bactériens. Selon **Cowan (1999)**, les flavonoïdes dépourvus des groupements hydroxyles libres ont plus d'activité antimicrobienne par rapport à ceux qui en sont pourvus, ce qui conduit à une augmentation de leur affinité chimique aux lipides membranaires. Ainsi les huiles essentielles ont une forte activité antimicrobienne, surtout contre les pathogènes résistants aux antibiotiques tels que le Meticillin résistant (*S. aureus*), en fonction de leur composition chimique, et en particulier de leurs composés volatils majeurs (**Shkukaniet al., 2008**). En effet, les bactéries à Gram positif seraient plus résistantes aux huiles essentielles que les bactéries à Gram négatif (**Santos, 2012**).

4-Mécanismes d'action des polyphénols sur les bactéries :

Les polyphénols ont un effet dû partiellement à une perturbation des fractions lipidiques de la membrane plasmique des microorganismes, qui résulte une altération de la perméabilité de la membrane et la perte de ses organites intracellulaires (**Domineco et al., 2005**). Ils sont aussi capable d'introduire plusieurs actions sur les cellules microbiennes telle que :

1-L'inhibitions de la croissance microbienne et de la germination des spores, par la formation des complexes avec des composants des parois (les flavonoïdes et les coumarines) (**Rojas et al., 1992 ; Perret et al., 1995**).

2-La perturbation de la membrane cytoplasmique bactérienne et la coagulation du contenu protéique des cellules (les huiles essentielles) (**Dorman et Deans, 2000 ; Bekhechi, 2008**).

En effet, Les tanins exercent une activité antibactérienne par interaction avec la membrane cellulaire qui induit un changement morphologique de la bactérie, en inhibant l'activité des protéases, des protéines de transport et des adhésions (**Cowan, 1999**). La toxicité de ces substances pour les microorganismes peut être liée à leur propriété astringente qui peut induire une complication avec les enzymes ou les substrats, à leur action sur les membranes des microorganismes et à leur capacité à complexer les ions métalliques (**Akiyama et al., 2001**).

L'activité antibactérienne des flavonoïdes peut être expliquée par le mécanisme de toxicité vis-à-vis des microorganismes qui se fait soit par des interactions non spécifiques telles que l'établissement des ponts hydrogènes avec les protéines des parois cellulaires ou les enzymes, la chélation des ions métalliques, inhibition du métabolisme bactérien, la séquestration de substances nécessaires à la croissance des bactéries (**Karou et al., 2005**).

Partie II

Partie expérimentale

CHAPITRE 01

Matériel et méthodes

I-Tests phytochimiques :

I.1-Matériel végétal :

- **Préparation des poudres végétales :**

Les trois parties (feuilles, tiges et racines) de marrube blanc (*Marrubium vulgare*) ont été récoltées dans la région de Ferjdjioua wilaya de Mila au mois de décembre 2016. Les parties récoltés ont été découpées en petites morceaux et séchées à l'ombre dans un endroit bien aéré, à une température ambiante et à l'abri de la lumière, pour préserver le maximum l'intégrité des molécules puis broyé afin d'obtenir des poudre sec (**fig.08**). Le matériel végétal préparé soumis à des expériences afin d'identifier les différentes classes de composés chimiques contenues dans la plante et pour le test biologique.



Figure 08 : photo représente les poudres végétales de marrube blanc.

I.2-Réactifs :

Le screening phytochimique a nécessité divers réactifs pour la réussite des tests (**fig.09**).



Figure 09 : Photo de réactifs des tests phytochimiques.

I.3-Matériel du laboratoire :

Balance, rota vapeur, bain marie, agitateur, autoclave, appareil de distillation, condensateur red, tous sont reportés dans l'Annexe (01).

I.4-Screening phytochimique :

Les tests phytochimique ont été réalisés sur les poudres préparés de la plante, par des techniques de caractérisation qualitatives, toujours avec un témoin sans réactifs. Toutes les expériences de cette étude ont été effectuées au sein du laboratoire de biologie de l'institut des Sciences et de la technologie au Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf Mila.

❖ Principe

La macération est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple. Elle consiste la mise en contact du matériel végétal avec le solvant avec ou sans agitation, à température ambiante pour une durée déterminée. Cette méthode commence avec le choix d'un solvant d'extraction adéquat (Llaneza Coalla et al., 2009).

➤ Test des saponines :

Dans des flacons nommés, on a introduit 2g de poudre préparé de chaque partie étudié plus 80ml d'eau distillé, puis bouillonné le mélange, le filtrat laissé jusqu'à fraichir, placé dans des tubes à essai, avec le tube témoin qui contienne d'eau distillé, agité pendant 15secondes et laissé le mélange au repos pendant 15min, une hauteur de mousse supérieur à 1cm indique la présence de saponines (Balbaa et al., 1981).

➤ Test des glycosides :

On a prend 5g de poudre préparé pour les feuilles et 2g pour les tiges et les racines séparément et les mélangé avec 50ml de 2% l'acide tartrique dans l'éthanol puis chauffé le mélange sous condensateur red pendant 4 h. Filtré l'extrait net et le vaporisé dans un rota vapeur à 60°C, et après dissoudre le sédiment dans 12ml d'eau distillé chauffé, finalement fait les deux testes suivant sur l'extrait aqueux:

1-Teste des sucres réducteurs :

Environ 2ml de la solution de chaque partie de la plante ont ajoutés dans des tubes à essai et faire bouillir avec une solution Fehling (5ml (A) +5ml (B) et ajusté à 100ml avec l'eau distillée) dans un bain marie pendant 15min, la réduction de la solution Fehling et

l'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des sucres réducteurs dans les différents membres étudiés (**Gonzloez et Delgado, 1962**).

2-Test des Kitoses :

On a Mélangé 2g du solution de chaque partie séparément dans des tubes a essai avec 2ml de la solution du molybdate ammonium (NH_4OH) plus 1ml d'acide acétique glacielle puis bouillonné dans un bain marie pendant 5min, la présence des Kitoses signifié par l'apparition d'une coloration bleu foncé (**Gonzloez et Delgado, 1962**).

➤ **Test des tanins :**

Dans des flacons nommés extraire par l'éthanol (70%) 5g de poudre végétale pour chaque partie de la plante étudié séparément, pendant une nuit entière puis filtrer l'extrait par le papier filtre et réaliser le test du FeCl_3 sur le filtrat après la séparation de couche alcoolique du couche hydrique dans ampoule à décanter comme suivant :

Introduire dans des tubes à essai 5ml de chaque extrait éthanolique et ajouter quelques millilitres de solution aqueuse de FeCl_3 sur le bord intérieur des tubes, la présence des tanins cathéchiques notifié par l'apparition d'une coloration vert foncé (**Balbaa et al., 1981**).

➤ **Test des alcaloïdes :**

La détection des alcaloïdes consiste à prendre 5g de poudre végétale pour chaque partie de la plante étudié séparément dans des flacons nommés contiennent 50ml d'acide hydrochlorique dilué (HCL 1%) pendant une nuit entière, filtrer l'extrait, puis séparer la couche acide du couche organique à l'aide d'ampoule à décanter, la couche acide rendre basique par l'ajoute de 1ml de solution d'Hydroxyde de potassium (KOH), puis extraire le mélange 03 fois avec 20 ml de chloroforme (CHCl_3) dans l'ampoule à décanter, collecte les 3 extraits chloroformiques et évaporer le mélange dans le rota vapeur, dissoudre le résidu dans 2 ml d'HCL dilué à 1%, puis ajouter 1ml de réactif Wagner (2g de KI et 1.3 g I, sont dissous dans 75ml d'eau distillée, puis ajustés à 100ml avec l'eau distillée), l'apparition d'une coloration orange ou rouge brique, respectivement révèle la présence d'alcaloïdes (**Balbaa et al., 1981**).

➤ **Test des stérols et tri-terpènes (Harborne, 1973):**

Vaporiser dans le rota vapeur le filtrat obtenu par l'extraction de 5g de poudre végétale pour chaque partie de la plante étudié séparément par l'éthanol (70%), le sédiment dissoudre dans 15ml de chloroforme pur et séparer en 2 partie :

-La première partie de la solution chloroformique, est mélangés avec 1ml d'acide acétique anhydride, puis ajouter 1ml d'acide sulfurique (H_2SO_4) concentré dans la paroi intérieur de tube sans agitation, et laisser reposer 20min. La formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux liquides et une coloration vert de solution indique la présence de stérols et tri-terpènes.

-Ajouter aux seconde partie 5ml d'acide sulfurique (H_2SO_4) concentré dans la paroi de tube sans agitation et avec prudence, l'apparition de la colore jaune signifier la présence des tri-terpènes.

➤ **Test des flavonoïdes (Tadros, 1979) :**

Filtrer l'extrait obtenu par la macération de 5g de poudre végétale pour chaque partie de la plante étudié séparément dans 75ml d'HCl (1%), pendant une nuit entière, le filtrat séparer en 2 partie et faire les testes suivant :

- 5ml de solution rend alcalin par des goûtes d'hydroxyde de potassium(KOH), l'apparition d'une coloration jaune claire indique la présence des flavonoïdes dan les trois organes étudiés.

-Mélanger 5ml de solution avec 3ml d'alcool amylique, puis séparer la couche alcoolique de la couche hydrique, la coloration jaune du couche alcoolique montre la présence des flavonoïdes libres dans les organes étudiés, la couche hydrique bouillonné avec 3ml d'HCl dans le bain marin pendant 2 min et séparer la solution hydrique en deux partie :

-3ml de solution sont mélangés avec 2ml d'alcool amylique, la présence de la colore jaune signifié l'existence des flavonoïdes glycosidiques.

-Ajouter 1g de poudre de magnésium (Mg) au 3ml de solution avec prudence, l'apparition de la colore rouge indique la présence des flavonoïdes glycosidiques dans les organes étudiés.

➤ **Test des huiles essentielles :**

Dans des flacons spécialisé on ajoute 5g de poudre végétale pour chaque partie de la plante séparément plus 500ml d'eau distillée, puis relier le flacon avec un appareil de distillation pendant trois heures, les notes des huiles essentielles ou la couche blanc dans l'extrait distillée montre leur présence (**The Egyptian pharmacopeia, 1963**).

➤ **Test des cardinolides:**

Dans des flacons nommés, macérer 1g de poudre sèche de chaque organe étudié séparément dans 20ml d'eau distillée, prélever 10ml de filtrat et les extraire avec un mélange de 10ml de chloroforme (CHCl₃) et d'éthanol (C₂H₅OH) (5/5), puis évaporer la phase organique dans le rota vapeur et dissoudre le résidu dans 3ml d'acide acétique glacial (CH₃COOH), placer dans des tubes à essai et ajouter quelques gouttes de FeCl₃ suivi de 1ml de H₂SO₄ concentré sur les parois du tube. La présence des cardénolides révéler par l'apparition d'une couleur vert bleuâtre (**Tadros, 1979**).

II-Activité antibactérien:

➤ **Objectif :**

Ce teste est pour une éventuelle activité antibactérienne des extraits aqueux et éthanoliques des feuilles et des tiges de marrube blanc (*Marrubium vulgare*), afin de comparer entre l'aptitude de chaque extrait à inhiber la croissance des souches bactériennes pathogènes testés, la technique des disques en papier a été choisie pour évaluer cette activité. Cette méthode a l'avantage d'être d'une grande souplesse et de s'appliquer sur deux ou plusieurs espèces bactériennes (**Keskin et al., 2012**).

II.1-Matériel du laboratoire :

Autoclave, spectrophotomètre, étuve, bac benzène, rota vapeur, microonde, plaque chauffante avec agitation (**Annexe01**).

II.2-Produits chimiques et milieu de culture :

Dans le but de l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraites aqueux et éthanoliques de marrube blanc, nous avons utilisé le milieu de culture : Mueller-Hinton (MH), le bouillon nutritif (2.8g dans 100ml d'eau distillé), l'eau physiologique (9g de NaCl dans 1000ml), l'éthanol, Chlorure de sodium (NaCl).



BN : Bouillon nutritif, **EP** : Eau physiologique, **MH** : Mueller-Hinton.

Figure 10 : Photo des réactifs utilisés.

➤ **Stérilisation de matériel :**

Les produits et le matériel (tubes à essai, les pinces, les écouvillons, les disques en papier Wattman) utilisés dans le teste du pouvoir antibactérienne enserrés par le papier aluminium ont été stérilisés dans l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes et conservés dan un milieu stériles.

II.3-Préparation des extraites végétales :

On a Macérer 50g des feuilles et 30g des tiges dans 200 ml d'éthanol dans des flacons séparément, la même quantité des deux organes est macéré séparément dans 200ml d'eau distillé pendant une nuit entière, les filtrats sont nommé comme suivant (Eth_{1f}, Eth_{1t}, Eau_{1f}, Eau_{1t}), le résidu végétale d'éthanol ré-macérer dans 200 ml d'eau distillé, et le résidu végétale d'eau distillé, rémacérer dans 200 ml d'éthanol, et les filtrats nommer comme suivant (Eau_{2f}, Eau_{2t}, Eth_{2f}, Eth_{2t}), tous les filtrats aqueux et éthanoliques évaporer séparément dans le rota vapeur à 60C⁰, les résidus sont presque séchés dans l'étuve à 45C⁰ pendant 24h, les extraits obtenus de (Eau_{1f}, Eau_{1t}, Eau_{2f}, Eau_{2t}) dissoudre séparément dans 10ml d'eau distillé stérile, et de (Eth_{1f}, Eth_{1t}, Eth_{2f}, Eth_{2t}) dans 10ml d'éthanol, les tous conserver dans des flacons en verre fermés (**fig.11**).

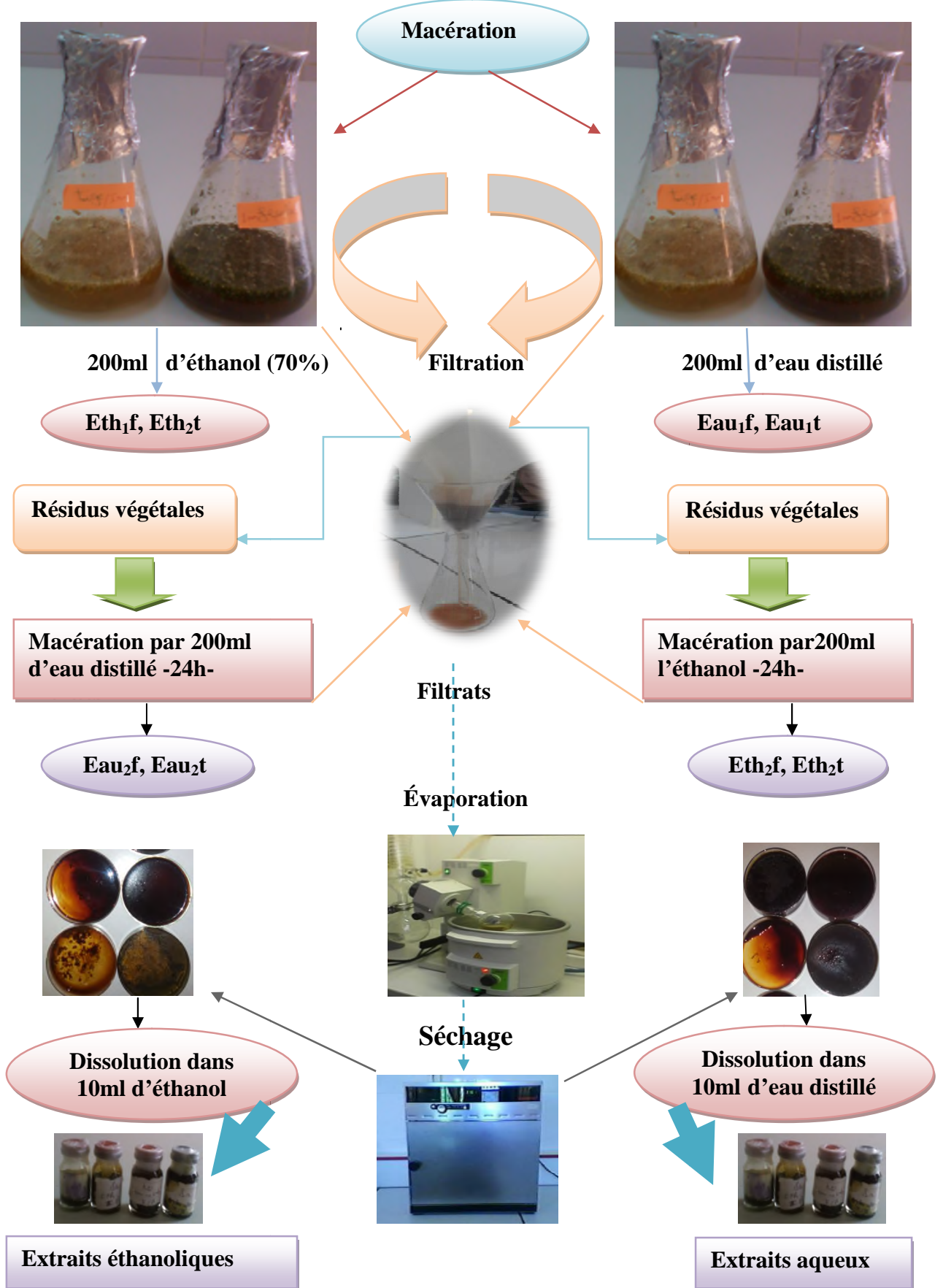


Figure 11 : Protocole général de la préparation des extraits végétaux.

II.4-Souches bactériennes :

Dans notre travail on a utilisé deux espèces bactériennes (*E. Coli* et *S.aureus*), les caractéristiques et l'origine des souches sont citées dans le tableau suivant :

Tableau (I): Description et origine des souches bactériennes.

Souches	Origines	Description
<i>E.coli</i>	ATCC25922	Bactérie à Gram négatif (Kaper et al., 2004), est un hôte commun de l'intestin de l'homme, et genre témoin de contamination fécale, dans l'eau et les aliments, de type aérobie facultative et de forme bâtonnet, sa longueur varie de 2 à 6µm, alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5µm (Percival, 2004) (fig.12(A)).
<i>S.aureus</i>	ATCC25923	Des cocci Gram positif, aérobies ou anaérobies facultatifs avec un diamètre de 0,5 à 1,5µm, immobiles, de forme non sporulée, elles sont habituellement non capsulée, ou possédant des capsules limitées, elles sont anaérobies facultatives (Dworkin et Falkow, 2006) (fig.12(B)).

La morphologie des souches testés est désigné dans la figure suivant :

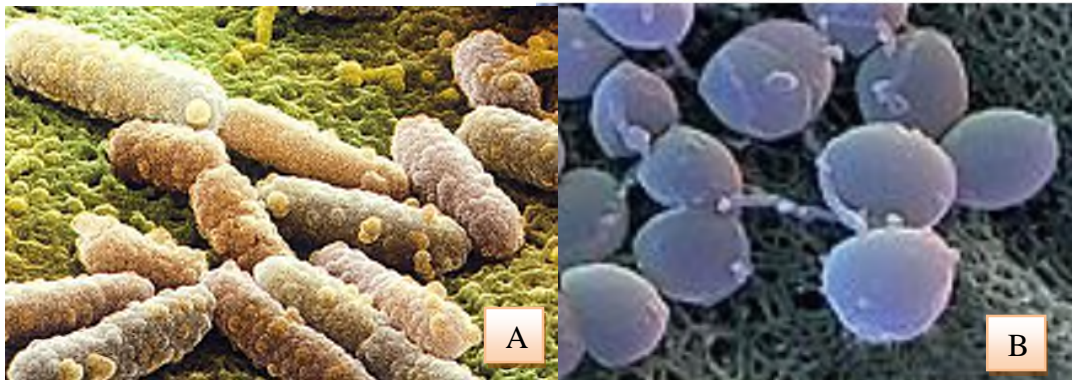


Figure 12 : Morphologie des souches bactériennes étudiées (*E.Coli*(A), *S.aureus*(B)) (**Djahra, 2014**).

❖ **Principe :**

L'activité antibactérienne des extraits éthanoliques et des extraits aqueux des organes étudiés de marrube blanc (*Marrubium vulgare*) a été évaluée par la méthode de

diffusion sur disque en milieu gélosé, le travail a réalisé dans la zone stérile autour de bac benzène, et chaque teste a été répété deux fois.

II.5-Description de la méthode :

➤ Préparation des disques :

Des disques papier wattman N3 de 6mm de diamètre, sont préparés par l'appareille spéciale et ajoutés dans un tube à essai hermétiquement fermé, puis stérilisés à l'autoclave pendant 15minutes à 120°C.

➤ Réactivation de la souche bactérienne :

L'une du deux souches bactériennes utilisés (*S.aureus*) est réactivée dans un tube à essai contenant le Bouillon nutritif (BN) et incubée pendant 24 heures à 37°C, l'autre est déjà réactivé et incubée (**fig.13 (A)**).

➤ Préparation des précultures:

Les deux souches microbiennes à tester sont repiquées au préalable par la méthode de la strie à l'aide d'une anse de platine stérilisé dans le bec benzène dans des boites de pétrie contenant le milieu nutritif (MH) et incubé pendant 24 h à 37°C, afin d'obtenir une culture jeune de bactéries et des colonies isolées (**fig.13 (B)**) (**Bendahou et al., 2007**).

➤ Préparation des suspensions bactériennes :

Quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques sont prélevées à l'aide d'une anse de platine et mises dans 8ml d'eau physiologique stérile à 0.9% de sel (Na Cl) (**fig.14 (C)**). La suspension bactérienne est bien homogénéisée en suspension jusqu'à l'obtention d'une densité optique de 0.08 à 0.10 à une longueur d'onde de 625nm et laissée sur la zone stérile de paillasse pendant 30 minutes (**fig.13 (D)**) (**Bendahou et al., 2007**) .

➤ Etalement (**Mazari et al., 2010**) :

15ml à peu près de milieu nutritive(MH) est coulé dans chaque boîtes de pétri, et laisser 20min sur la zone stérile de paillasse pour la refroidissement et la solidification du milieu de culture (MH) (**fig.13 (E)**), l'ensemencement est réalisé par l'écouvillonnage sur les boites de pétri, on a trempé un écouvillon dans la suspension (l'eau physiologique) et étalé la surface entière de la gélose (MH) à trois reprises, en tournant la boîte à environ 60° après chaque application dont le but d'avoir une distribution égale de l'inoculum. Enfin, on a écouvillonné partout autour du bord de la surface de la gélose (**fig.13 (F)**). Puis on a

préparé les différentes concentrations par la dilution, les extraits aqueux (Eau_{1f}, Eau_{1t}, Eau_{2f}, Eau_{2t}) dilué par l'eau distillé stérile (C(5ml d'extrait brut), C/2(5ml d'extrait brut+5ml d'eau), C/4(5ml de C/2+5ml d'eau), C/8(5ml de C/4+5ml d'eau)).La même méthode suivie pour la dilution des extraits éthanoliques mais par l'éthanol.

Enfin, dans des conditions aseptiques et à l'aide d'une pince stérile, les disques imbibés par 2ul des concentrations croissantes d'extraits aqueux et éthanolique (C, C/2, C/4, C/8) des feuilles et des tiges de la plante étudié (*Marrubium vulgare*), ont déposés sur le milieu de culture (MH) (5disques/boite) et pour le témoin on a ajouté des disques imbibés par l'eau distillé stérile (**fig.13 (G)**). Toujours dans la zone stérile, les boîtes sont ensuite fermées et incubées à 37°C pendant 24 heures.

II.6-Evaluation de l'activité antibactérienne :

Après 24h, l'activité antibactérienne a été déterminée par la mesure de diamètre de la zone d'inhibition, déterminé à partir d'extrait pur et les différentes concentrations des deux extraits autour des disques, le dispositif adopté pour la réalisation de cette partie est représenté par la (**fig.13, 14**) :

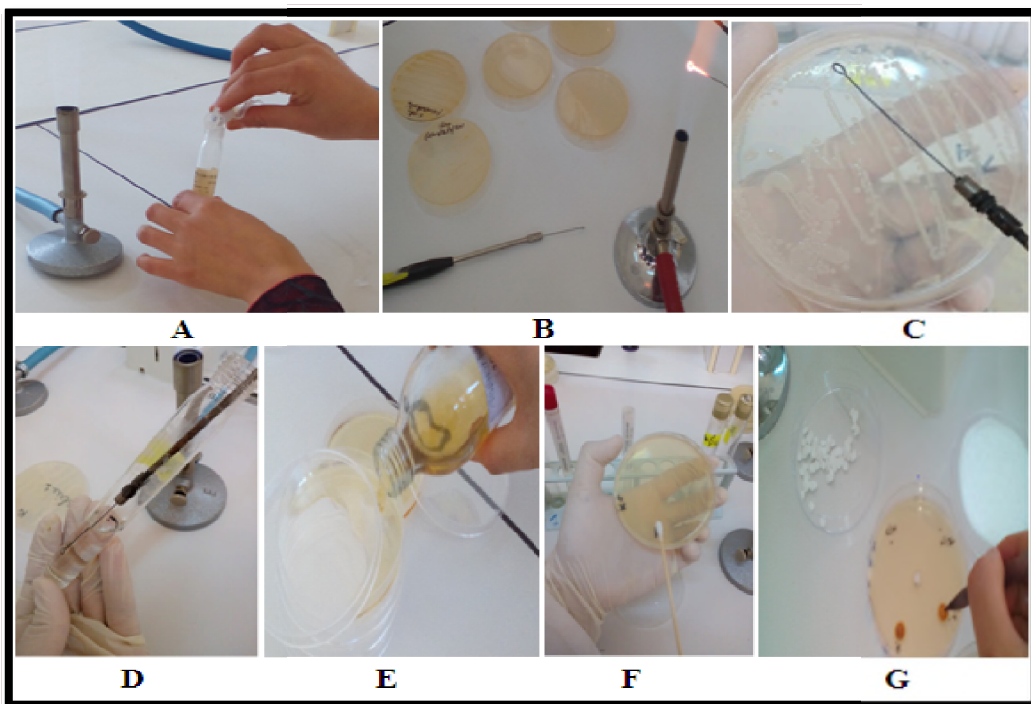
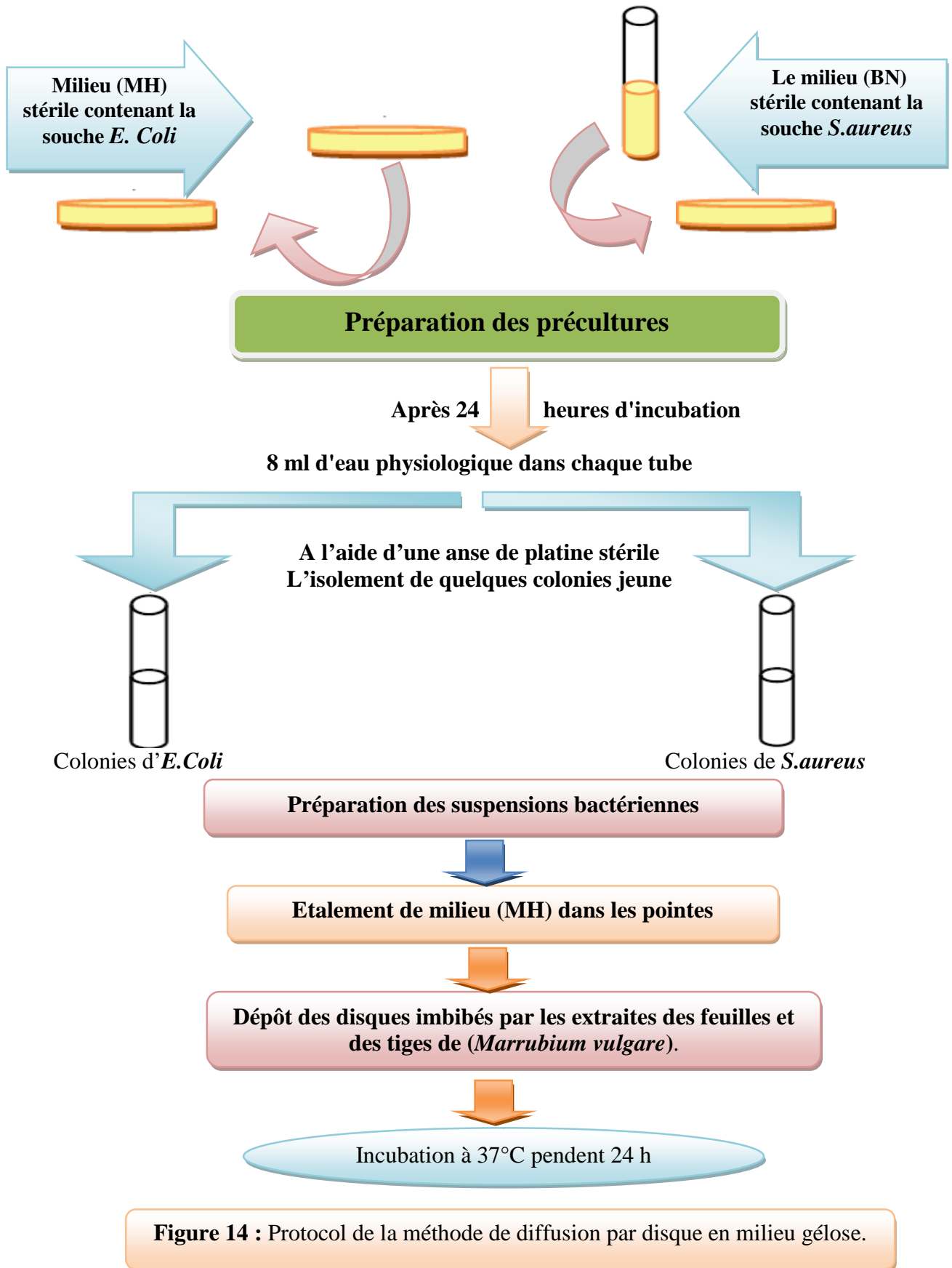


Figure 13 : Etapes de méthode de diffusion sur disque en milieu gélosé.



CHAPITRE 02

Résultats et discussion

I-Tests phytochimiques :

La phytochimie qualitative basée sur des réactions colorées ou de précipitation par des réactifs chimiques spécifiques, ce travail est réalisée sur les extraits reconstitués à partir de la poudre sèche de trois parties végétales (racines, tiges, feuilles) d'une plantes médicinale reconnu par le nom de marrube blanc (*Marrubium vulgare*),a pour but de révéler les différents groupes de substances bioactives existants dans cette plante, les résultats de ce criblage phytochimique ont été repris dans le **tableau (II)** et identifiés comme suivant : ++ : Fortement positif, + : Moyennement positif ; +- : Faiblement Positif, - : Négatif. Bien entendu, les tests de caractérisation présentent des imprécisions car ils sont basés sur l'analyse qualitative.

- **Test des saponines :**

Les résultats de la composition phytochimique préliminaire des trois membres (tiges, feuilles, racines) de MUV par screening chimique montre la présence des mousses dans les extraits après l'agitation (**fig.15(A)**), et à un durés plus de 30min (**fig.15(B)**), cela indique que les trois organes étudiés de MUV contiennent des saponines.

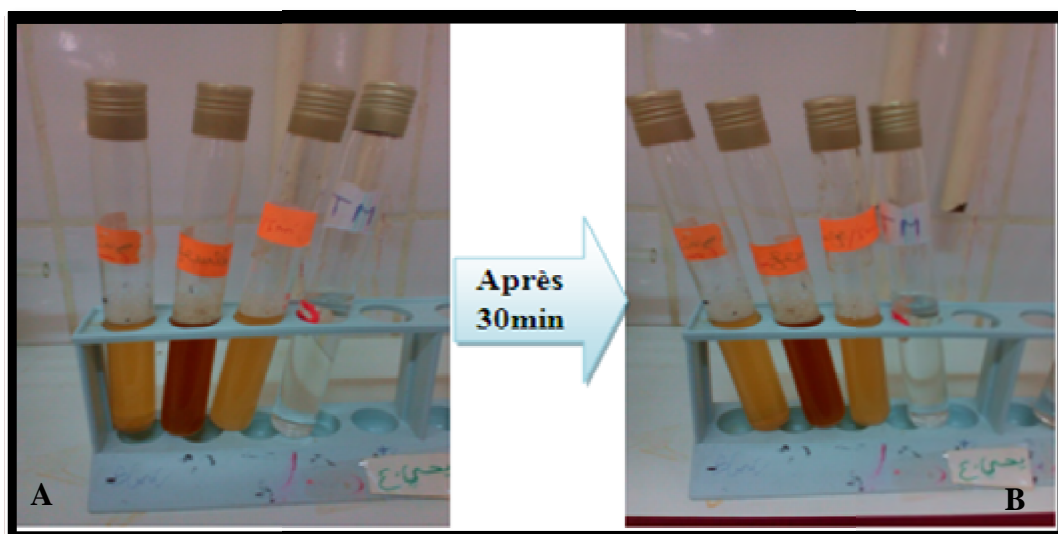


Figure15 : Résultat de test des saponines.

- **Test des glucosides :**

- **Test des kitoses :**

Au vu des résultats de (**fig.16**), nous avons enregistré l'apparition d'une faible coloration bleu, ce qui signifié l'existence d'une faible teneur des kitoses dans les trois membres (tiges, feuilles, racines) de MUV.

➤ **Teste des sucres réducteurs :**

Pour ce test et en comparaison avec le témoin, on a constaté la réduction de la solution Fehling qui suivi par l'apparition d'une précipité rouge brique (**fig.16**), donc on note la présence des sucres réducteur avec une intensité importante dans les partie étudiés.

Ces deux résultats confirment que les tiges, les feuilles et les racines de MUV renferment des glycosides.

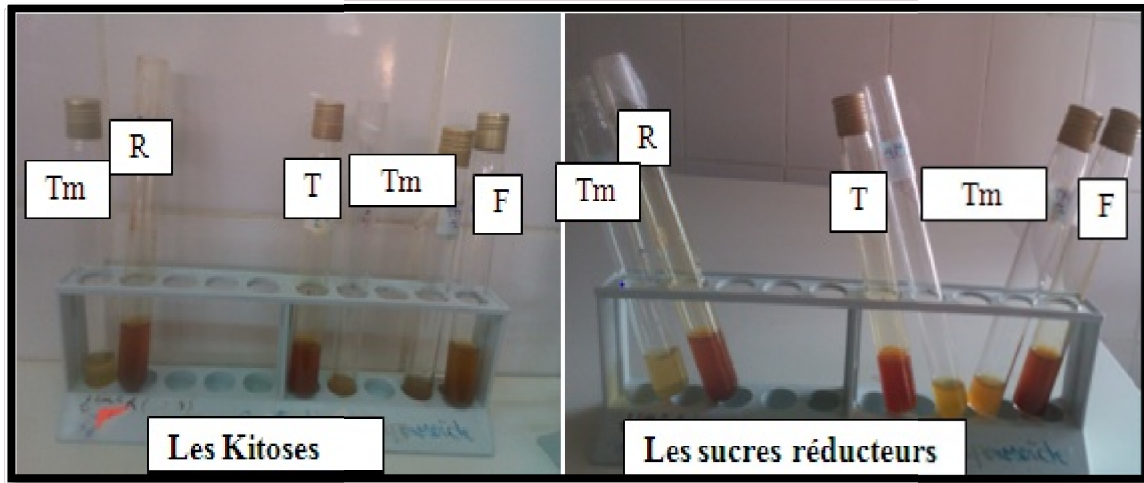


Figure16 : Résultat de test des glycosides.

• **Test des tanins :**

Le test des tanins a montré la présence d'une coloration vert foncé, ce qui signifie que les tiges, les feuilles et les racines de MUV contiennent des tanins catéchiques.

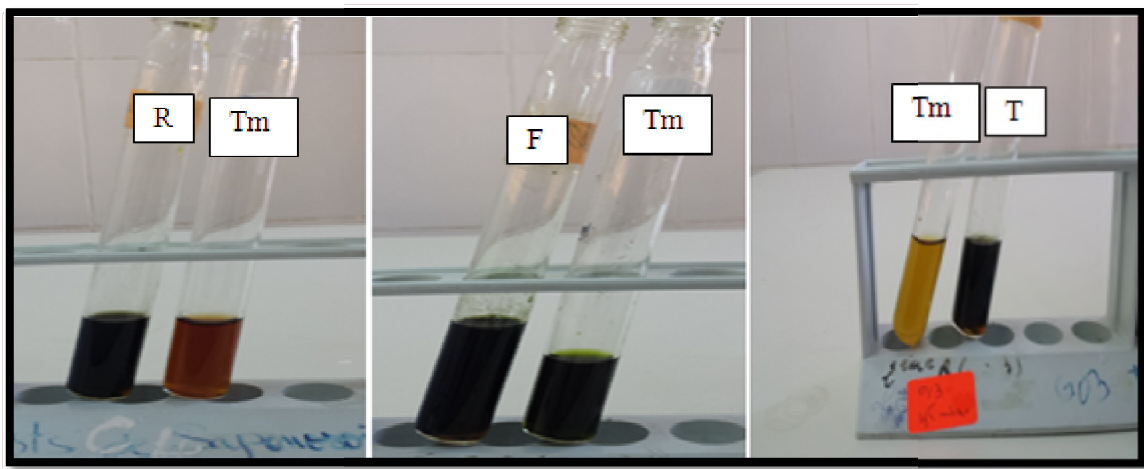


Figure 17 : Résultat de test des tanins.

- **Test des huiles essentielles :**

Notre étude nous a permis d'identifier les notes des huiles essentielles dans les extraits distillés des trois organes étudiés de MUV, ces signes sont plus au niveau des feuilles que les deux autres (**fig.18**), donc les MUV contient des huiles essentielles.

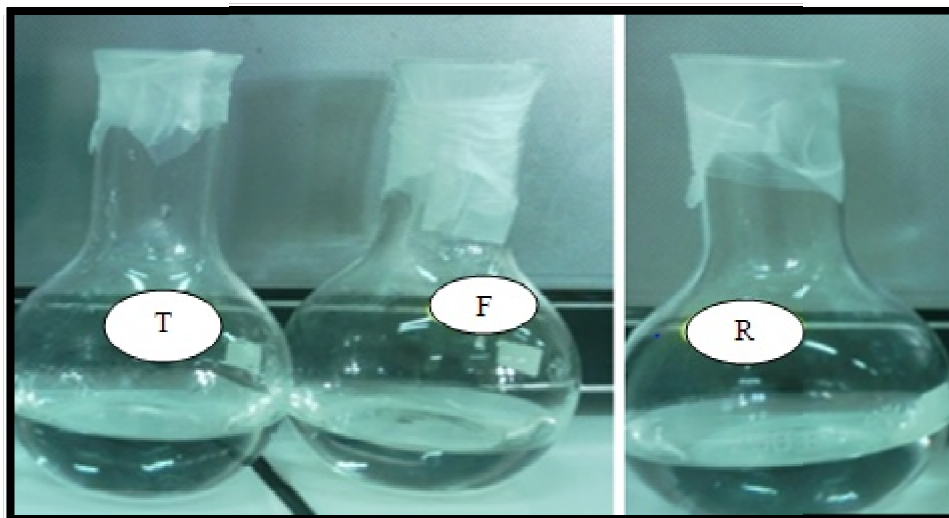


Figure 18 : Résultat de test des huiles essentielles

- **Teste des alcaloïdes :**

Pour ce test et en vu de (**fig.19**), on a enregistré l'apparition d'une coloration rouge brune, dans les trois membres analysé de MUV, on constaté que le MUV contenue des alcaloïdes avec des quantités plus important dans les feuilles.

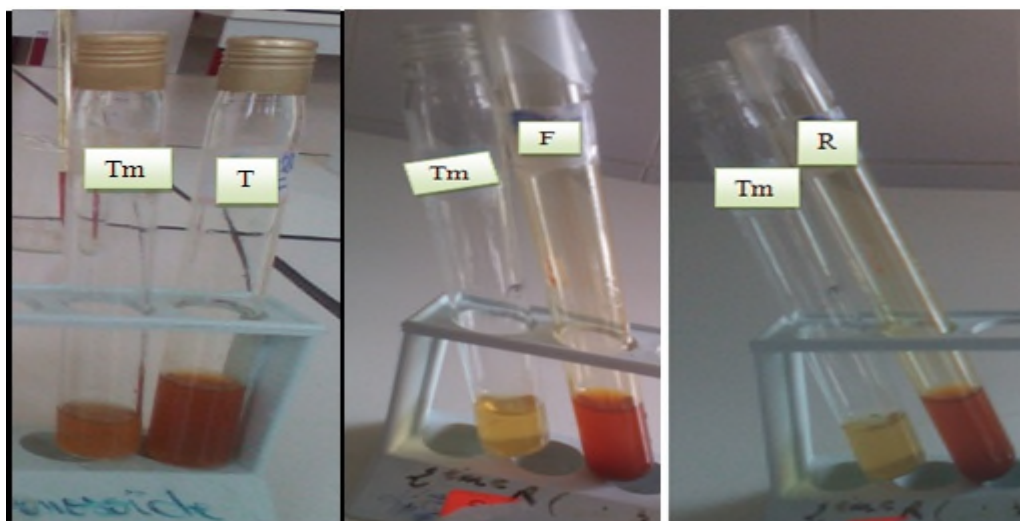


Figure 19 : Résultat de test des alcaloïdes.

- **Test des stérols et triterpènes :**

- **Teste d'Acide acétique anhydride avec l'Acide sulfurique :**

On note le virage de la couleur de solution au vert et la formation des anneaux rouges brunâtre dans les trois organes de MUV en comparaison avec les témoins, et surtout dans les feuilles et les tiges (**fig.20**), ce qui traduit la présence des stérols et triterpènes dans les membres étudiés.

- **Test d'Acide sulfurique :**

La transformation de la couleur jaune au rouge violet (**fig.20**), révèle l'existence des stérols et triterpènes dans les tiges et feuilles de MUV, Quant aux racines, ces éléments sont moins détectés que la partie aérien.

Les résultats des deux tests confirment que ces trois organes de MUV contiennent des stérols et triterpènes, notamment dans les tiges et les feuilles.

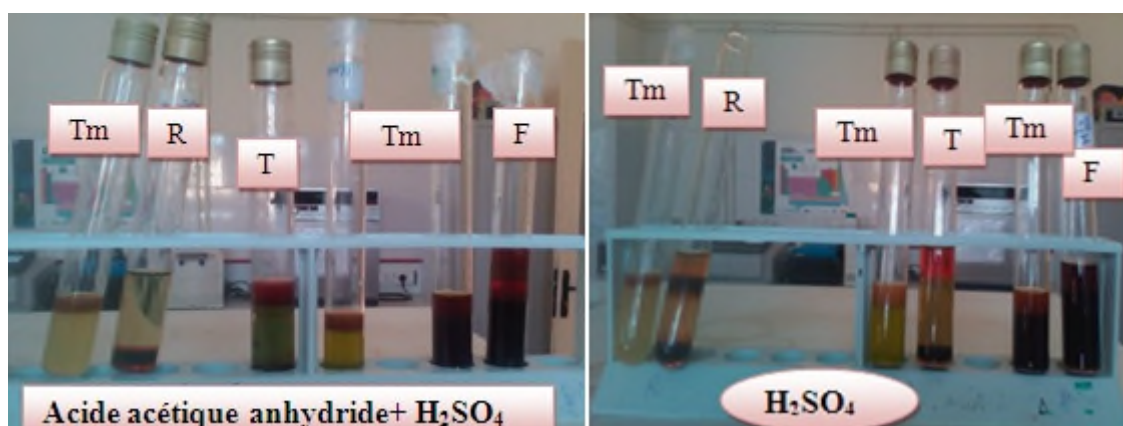


Figure 20 : Résultat de test des stérols et triterpènes.

- **Teste des flavonoïdes :**

Au cours de l'expérience, on a remarqué après l'ajoute de la solution d'hydroxyde de potassium, une coloration jaune claire dans les extraits des trois organes étudiés de MUV, c'est la preuve de la présence des flavonoïdes dans ces organes, aussi la coloration jaune de la couche alcoolique ensuite de leur réaction avec l'alcool amylique (**fig.21**), signifié l'existence des flavonoïdes libres dans ces membres. Le test fait sur la phase hydrique par l'alcool amylique résulte l'apparition de la couleur jaune avec une densité importante dans les tiges et les feuilles que dans les racines (**fig.21**), et pour le test de poudre Mg, on note une forte coloration rouge dans les extraits des tiges et des feuilles, en revanche, dans les racines on remarqué une faible coloration

(fig21), ce qui notifié l'existence des flavonoïdes glycosidiques dans ces membres à une teneur déférent.

Les résultats obtenus ont montré la présence des flavonoïdes au niveau des feuilles et des tiges de MUV. En outre, les racines des cette plante sont presque dépourvues de ces substances.

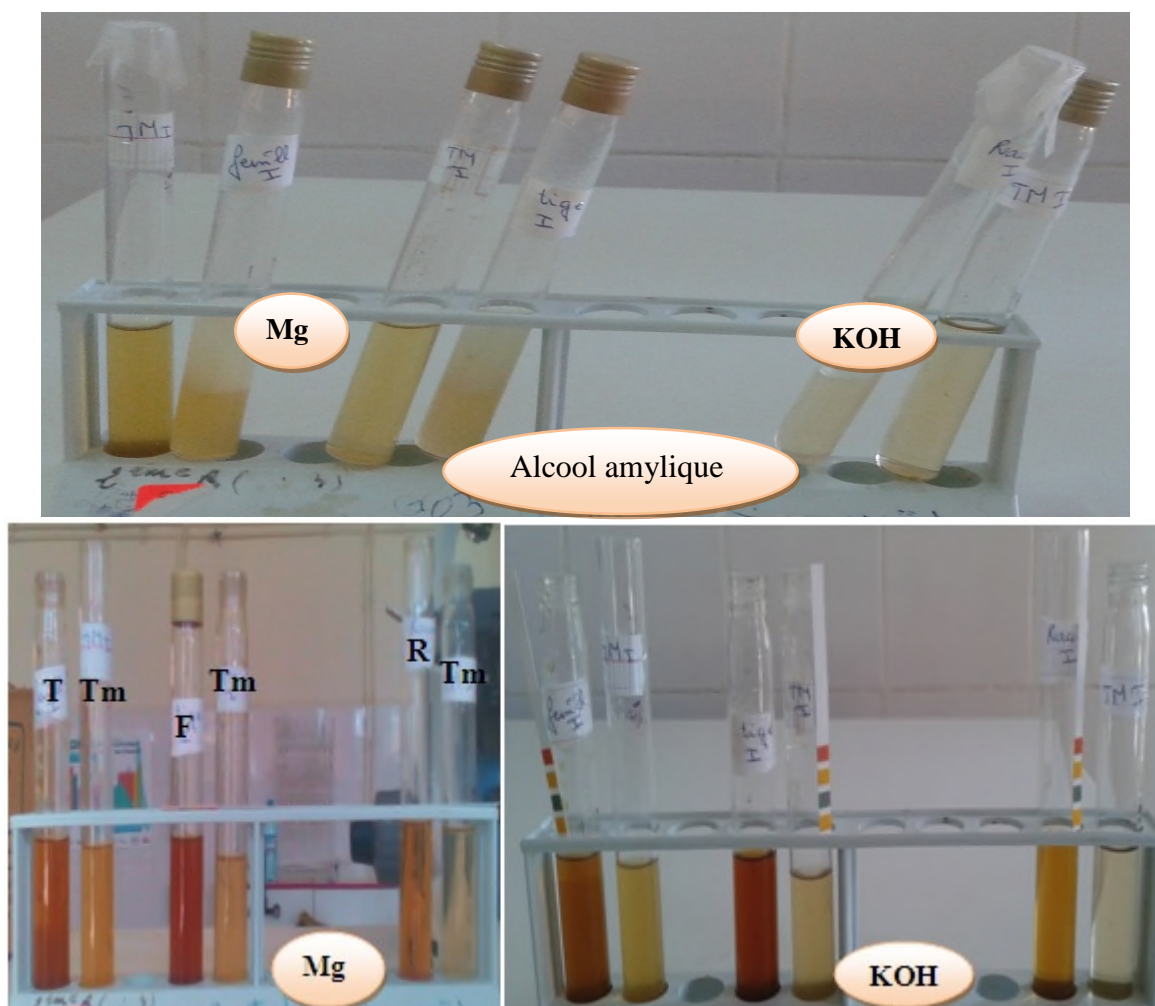


Figure 21 : Résultat de test des flavonoïdes.

- **Test des cardinolides :**

Le criblage phytochimique des extraits des trois parties (tiges, feuilles et racines) de MUV, indique la présence des cardinolides dans ces organes, cela justifié par l'apparition de la couleur vert bleuâtre dans les extraits des trios membres (fig. 22).

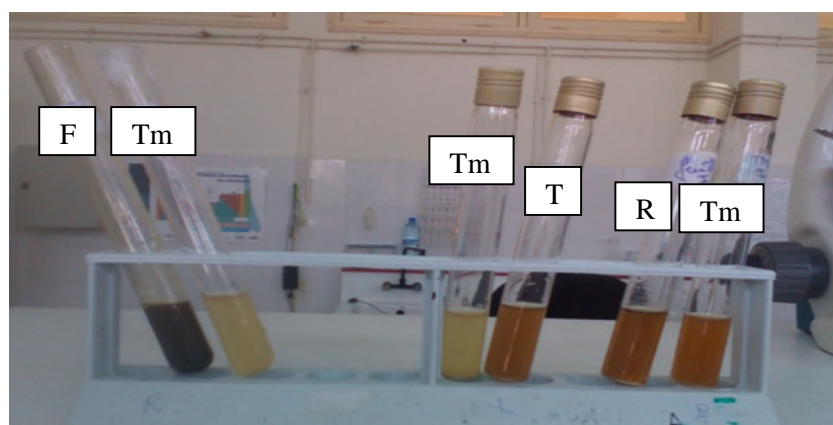


Figure 22 : Résultat de test des cardinolides.

Tableau (II) : Screening phytochimique des métabolites secondaires de marrube blanc.

Tests phytochimiques			Résultats		
Métabolites secondaires	Réactifs	Observations	Tiges	Feuilles	Racines
Saponines	L'eau distillée	Mousse persistante	+	+	+
Tanins	Gouttes de Chlorure de Fer	Couleur vert foncé	++	++	++
Huiles essentielles	L'eau distillée	L'apparition des notes d'huile	-+	+	-+
Glycosides	Kitoses Molybdate ammonium + acide acétique glacial	Couleur bleu foncé	-+	-+	-+
	Sucres réducteurs Liqueur de Fehling	Réduction de solution Fehling/ précipité rouge brique	++	++	++
Flavonoïdes	KOH/Alcool amylique	Couleur jaune/Jaune Claire	++	++	-+
	Mg	couleur rouge	++	++	-+
Alcaloïdes	Réactif de Wagner	Couleur brune	+	+	-+
Stérols et triterpènes	d'acide acétique anhydride + H ₂ SO ₄	L'anneau rougebrunâtre	+	+	+
	H ₂ SO ₄	Couleur rouge violet	+	+	+
Cardinolides	Gouttes de Chlorure de fer+Acide sulfurique	Couleur vert bleuâtre	-+	+	-

++ : Fortement positif ; + : Moyennement positif ; + - : Faiblement positif ; - : Négatif.

-Discussion :

Le **tableau (II)** montre la composition phytochimique des tiges, des feuilles et des racines de marrube blanc, qui est identifié par le screening phytochimique, ce dernier nous a permis de mettre en évidence la présence de quelques métabolites secondaire (Saponines, tanins catéchiques, flavonoïdes, alcaloïdes, composés réducteurs, huiles essentielles, stérols et tritépènes) dans les parties étudiés.

De même, nous avons enregistré que les trois organes de MUV, contiennent une faible quantité des kitoses et des cardinolides et que les feuilles renferme de ces substances phytochimique plus important que les deux autres parties (tiges et racines).

D'après **Bouterfa et al (2013)**, les phénols totaux, les flavonoïdes et les tannins ont été quantifiés dans différents organes de MUV du mont de Tessala (Algérie occidentale) en période de végétation, et quelle que soit la période de prélèvement, les feuilles sèches sont les plus riches en polyphénols, suivies des fleurs alors que de faibles concentrations sont observées pour les tiges et les racines.

Les résultats obtenus des tests phytochimiques, réalisés sur les extraits des trois parties étudiées de MUV, ont révélé la richesse de cette plante en tanins et en composés réducteurs, aussi en flavonoïdes, stérols et tritépènes. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés dans la littérature par les travaux de **Djahra (2014)**, qui montre la présence, des terpènes et stérols, des saponines, des flavonoïdes à un taux de 5,9 %, et un taux plus élevé de tanins catéchiques avec 11,44 %. Ceci a été démontré dans les travaux d'**Azzi et al., (2014)**, qui révèlent la présence des flavonoïdes, des tanins, des saponines, des triterpènes, et des sucres réducteurs.

Une autre étude phytochimique réalisée par **Ashkennazy (1983)** sur le genre *Marrubium* a permis d'isoler un grand nombre de métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les triterpènes. Il confirme aussi l'existence des tanins. **Moussaid (2012)**, a été observé la présence des alcaloïdes, des tanins, des flavonoïdes, des triterpènes, stéroïdes, des saponines et composés réducteurs a partir des tests phytochimiques préliminaires de type qualitatif effectués sur le MUV. Dans une autre étude phytochimique a entrepris par **Hennebelle et al (2007)**, révèle que de nombreux espèces de *Marrubium* inclus la présence des flavonoïdes et phenylethanoidess, diterpénoïdes, des composés phénoliques et des huiles essentielles, ce résultat est largement comparable avec celui de **Rigano et al (2006)** qui est conclu que les extraits analysés de la partie aérienne de marrube blanc contiennent des flavonoïdes, des terpénoïdes et les sucres réducteurs, ainsi que les saponines, par contre, les alcaloïdes se sont révélés négatifs

Nos résultats de l'analyse phytochimique de MUV sur la présence des saponines et tanins concordent avec ceux de **Nicolas (2012)**. Sur l'existence des huiles essentielles, de plus **Bouzouita et al (2008)** montrent que les huiles essentielles se rencontrent dans les familles des plantes à haute teneur en matières odorants comme les labiacées. Entre autre (**Gonzalez et al., 2007**) ont démontré d'après un criblage phytochimique sur *Rosmarinus officinalis* qui fait une partie de la famille lamiacées, la présence de flavonoïdes, des tanins et des saponines, par contre les alcaloïdes sont absents.

II-Test du pouvoir antibactérien :

Dans ce test deux extraits (éthanoliques et aqueux) des feuilles et des tiges de MUV, sont testés contre deux souches bactérienne du Gram- (*E. Coli*) et Gram+ (*S. aureus*), l'activité antibactérienne des deux extraits des membres étudiés contre les deux souches testés et leur puissance sont réparties par la présence ou l'absence d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné d'extrait brut et d'extrait dilué à différents concentrations étudié. Les résultats sont enregistrés après 24h d'incubation à 37°C, puis la récupération des boites et la mesure des diamètres d'empêchement en millimètre, les mesures obtenues sont énumérés dans les **tableaux (03), (04), (05)**.

D'après les résultats obtenus, le témoin négatif testé d'eau, n'a aucun effet sur les souches étudiées. Cependant toute action inhibitrice observée est donc due aux substances actives contenues dans les extraits testés.

Tableau (III) : Diamètres (mm) des zones d'inhibition induites par l'extrait éthanolique (1) (Eth_{1f}, Eth_{1t}).

Concentration Souches		Diamètres d'inhibition (mm)								
		C		C/2		C/4		C/8		Tm
		Eth _{1f}	Eth _{1t}	Eth _{1f}	Eth _{1t}	Eth _{1f}	Eth _{1t}	Eth _{1f}	Eth _{1t}	Eau
<i>E.Coli</i>		15	08	10	03	08	03	06	03	00
		21	13	12	06	10	06	08	06	00
<i>S. aureus</i>										

C : Extrait brut, *E.Coli* : *Escherichia col*, *S. aureus*: *Staphylococcus aureus*.

Les résultats consignés dans le **tableau (III)**, ont montré que l'extrait éthanolique (Eth_{1f}, Eth_{1t}), des feuilles et des tiges de MUV, a montré une activité inhibitrice aux différentes concentrations testées sur les deux souches bactériennes (**fig.23**), avec des diamètres d'inhibition s'échelonnent entre 06 et 15mm pour les feuilles et entre 03 et 08mm pour les tiges sur l'*E. Coli*, par ailleurs, envers le *S. aureus* les diamètres d'inhibition sont compris entre 08 et 21mm pour les feuilles et entre 06 et 13mm pour les tiges.

Les études de **Stagos et al (2012)** révèlent que l'activité biologique des Lamiacées intéressante est attribuée aux polyphénols, aux terpènes et aux huiles essentielles. Sachant que l'extrait brut (C) des deux organes étudiés a présenté la valeur maximale 15mm pour (Eth_{1f}) et 08mm pour (Eth_{1t}) envers l'*E. Coli*. En revanche, on a remarqué 21mm pour (Eth_{1f}) et 13mm pour (Eth_{1t}) sur le *S. aureus*. On a distingué que l'extrait des tiges, a montré un effet inhibiteur élevé sur les deux souches jusqu'à la concentration moyen (1/2), ou il devenir stable avec un diamètre de 03mm envers l'*E. Coli* et 06mm sur le *S. aureus*.

Cependant, la forte sensibilité a été observée envers la souche de *S. aureus* avec des diamètres d'inhibition plus importante que l'*E. Coli*, et la meilleure zone d'empêchement avec un diamètre de 21mm au (C), dépassent souvent celles enregistrées avec les extraits dilués au (1/2) et (1/4), (1/8). Aussi, comme l'extrait éthanolique est concentré, la zone d'inhibition est étendue ce qui indique la diminution de la croissance bactérienne, dans ce point **Sarker et al (2005)** montrent également que l'effet d'un extrait est probablement due à la synergie entre le nombre de composants, qui lorsqu'ils sont séparés deviennent inactifs.

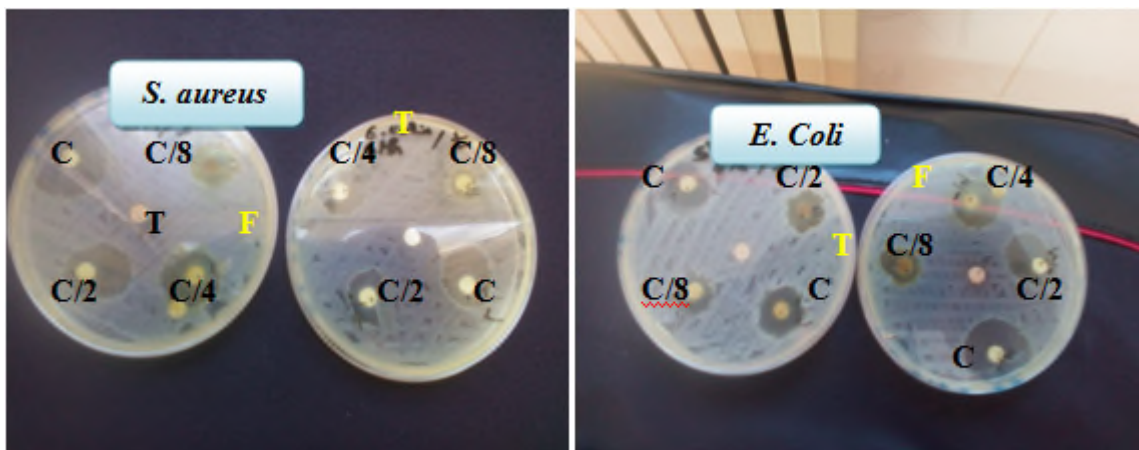


Figure 23: Exemple de l'activité inhibitrice des extraits (Eth_{1f}, Eth_{1t}).

Tableau (IV) : Diamètres (mm) des zones d'inhibition induites par l'extrait éthanolique (2) (Eth_{2f}, Eth_{2t}).

Concentration souches		Diamètres d'inhibition (mm)								
		C		C/2		C/4		C/8		Tm
		Eth _{2f}	Eth _{2t}	Eth _{2f}	Eth _{2t}	Eth _{2f}	Eth _{2t}	Eth _{2f}	Eth _{2t}	Eau
<i>E. Coli</i>		15	13	16	15	22	17	21	18	00
<i>S. aureus</i>		15	14	20	15	19	16	25	20	00

C : Extrait brut, *E. Coli* : *Escherichia coli*, *S. aureus*: *Staphylococcus aureus*.

Les résultats illustrés dans le **tableau (IV)**, indiquent que les extraits éthanoliques (Eth_{2f}, Eth_{2t}) des feuilles et des tiges de MUV ont une activité antimicrobienne très importante (**fig.24**), cet activité a été distingué par l'apparition d'une zone d'inhibition, leur diamètre d'empêchement a été augmenté avec la diminution de la dose d'extrait éthanolique. Il apparait que le *S. aureus* est la souche la plus sensible car elle a les diamètres d'inhibition élevés qui sont comprises entre 15 et 25mm pour les feuilles et entre 14 et 20mm pour les tiges, a l'opposé l'*E. Coli* a montré les moins valeurs des zones d'inhibitions qui s'échelonnent entre 15 et 21mm pour les feuilles et entre 13 et 18mm pour les tiges, le meilleur résultat a été enregistré dans l'extrait des feuilles au niveau de C/8 pour les deux souches avec le diamètre de 25mm pour le *S. aureus* et 21mm pour l'*E. Coli*. Un résultat obtenu par **Djahra (2014)** indique que la souche *S. aureus* semble très résistante aux flavonoïdes purs (00mm) mais plus sensibles aux dilutions (1/2 et 1/4).

D'après ces résultats, nous avons fait ressortir que les extraits éthanoliques, des feuilles et des tiges de MUV ont un effet comparable entre eux concernant les deux souches testés (*E. Coli*, *S. aureus*) et la diminution ou l'augmentation de la dose des extraits utilisés.

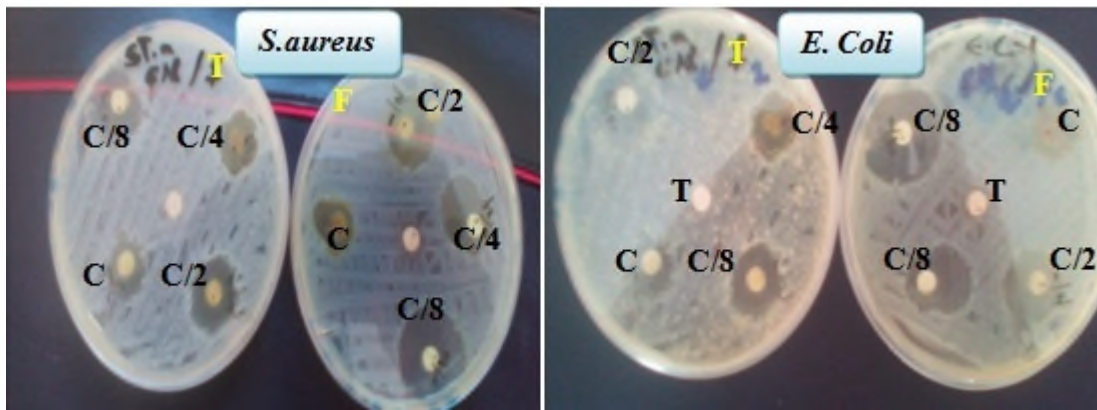


Figure 24 : Exemple de l'activité inhibitrice d'extrait (Eth₂f, Eth₂t).

Globalement, les extraits éthanoliques des feuilles ont présentés un effet inhibiteur assez élevé sur la croissance bactérienne à différents dilutions que les extraits éthanoliques des tiges, variabilité d'inhibition de la croissance microbienne des extraits des deux membres peut être due à la richesse des feuilles en composés ayant la capacité d'inhiber la croissance des microorganismes, ils sont les plus utilisées car elles sont en même temps le siège des réactions photochimiques et réservoirs de matières organiques qui en dérivent (Ould el hadj et al., 2003). Ainsi la bactérie à Gram- est plus résistante à l'extrait éthanolique (Eth₁f et Eth₁t, Eth₂f et Eth₂t) que la bactérie à Gram+, dans ce point Perry et al (2004) montrent que le paroi des bactéries à Gram- est plus épaisse car elle est constituée de deux membranes plasmiques séparées par une couche de peptidoglycane, par contre au celle des bactéries à Gram+ qui est formé d'une membrane plasmique et une couche de peptidoglycane, tout cela confirme la sensibilité de *S. aureus* dans notre études.

En effet, Holley et Patel (2005) signalent que chaque souche des microorganismes répond de manière variable aux différents composés phénoliques, mais les Gram+ semble plus sensible que les Gram-. De plus Masika et Afolayane (2002) montrent que les extraits méthanoliques de *Mentha piperita* de la famille lamiacée semblent être plus actifs contre les bactéries à Gram+ que les bactéries à Gram-.

On note également que l'activité antibactérienne d'extrait éthanolique (Eth₂f, Eth₂t) est plus élevée que d'extrait éthanolique (Eth₁f, Eth₁t), cela est due à la capacité d'éthanol à extraire des substances plus importantes après l'eau que l'extraction directe, il peut être que l'eau extrait les substances qui inhibent l'absorption des polyphénols par l'éthanol. La sensibilité d'*Escherichia coli* et de *Staphylococcus aureus* traduit l'action antibactérienne des extraits de MUV.

En effet, cette sensibilité est en relation avec la composition phytochimique de cette plante, dans notre étude on a précisé les feuilles et les tiges qui sont constitués d'un mélange des composés bioactives appelant les métabolites secondaires, cela justifié l'effet inhibiteur de leurs extraits éthanoliques sur la croissance des deux souches étudiés. Selon nos résultats des tests phytochimiques réalisés sur cette espèce nous avons rappelé que le marrube blanc contient des flavonoïdes, des saponines, des glycosides, des alcaloïdes et des tanins. D'après **Scalbert (1991)** ces composés ayant des propriétés antibactériennes connues, leur présence pourrait donc expliquer les propriétés antimicrobiennes observée notamment, les flavonoïdes qui sont détecté dans nos tests par une forte coloration rouge (++). Selon **Rojas et al (1992)** ces substances ont la capacité d'inhiber la croissance microbienne et de la germination des spores le même résultat est obtenu par **Perret et al (1995)**. Aussi les tanins révèlent (++) par une robuste coloration vert dans notre test, et la toxicité de ces substances pour les microorganismes liée à leur propriété astringente qui peut induire une complication avec les enzymes ou les substrats, à leur action sur les membranes des microorganismes et à leur capacité à complexer les ions métalliques (**Akiyama et al., 2001**).

Une autre étude de **Hussain et al (2008)** sur la composition chimique et l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle a démontré le fort pouvoir inhibiteur contre neuf microorganismes pathogènes. Ces substances ont le pouvoir d'introduire la perturbation de la membrane cytoplasmique bactérienne (**Dorman et Deans, 2000, Bekhechi, 2008**). Une revue de **Domineco et al (2005)** montre que le principe cible de ces composés naturels est la membrane bactérienne, donc l'activité antibactérienne des substances naturelles s'explique par la lyse de ces membranes plasmiques.

Donc la capacité de MUV d'inhiber la croissance bactérienne est due leur composition en métabolites secondaires notamment, les flavonoïdes et les triterpènes qui sont révélés (++) au niveau des deux organes, cela en accord avec ce qui de **Laid et al (2008)** qui montrent que l'activité antibactérienne détectée pour *Marrubium vulgare* est due à la présence de terpénoïdes signalée pour cette plante, de plus les huiles essentielles, les flavonoïdes, les alcaloïdes voire même les tanins pourraient induire une fuite d'ions potassium au niveau de la membrane et par voie de conséquences des lésions irréversibles au niveau de cette membrane. Cette perméabilité au potassium est un effet précurseur de leur mort (**Rhayour, 2002**). Une autre résultat est obtenu par **Doss et al., (2009)** révèle que les tanins exercent un effet bactériostatique sur différentes souches tel que l'*E. Coli* et *S. aureus*. Leur effet inhibiteur écrit par (**Cowan, 1999**). Alors que les phénols sont responsables en grande partie de l'activité antimicrobienne de ces extraits (**Meyre et Silva, 2005**).

Tableau (V) : Diamètres (mm) des zones d'inhibition induites par l'extrait aqueux (Eau_{1f}, Eau_{1t}, Eau_{2f}, Eau_{2t}).

souches	Diamètres d'inhibition (mm)								Tm
	C		C/2		C/4		C/8		
<i>E. Coli</i>	Eau _{1f} /t	Eau _{2f} /t	Eau _{1f} /t	Eau _{2f} /t	Eau _{1f} /t	Eau _{2f} /t	Eau _{1f} /t	Eau _{2f} /t	Eau
	-	-	-	-	-	-	-	-	00
<i>S. aureus</i>	Eau _{1f} /t	Eau _{1f} /t	Eau _{1f} /t	Eau _{1f} /t	Eau _{1f} /t	Eau _{1f} /t	Eau _{1f} /t	Eau _{1f} /t	Eau
	-	-	-	-	-	-	-	-	00

C : Extrait brut, *E. Coli* : *Escherichia coli*, *S. aureus*: *Staphylococcus aureus*.

D'après le **tableau (V)**, les extraits aqueux des feuilles et des tiges (Eau_{1f} Eau_{1t}, Eau_{2f} Eau_{2t}) n'ont aucune activité antimicrobienne sur les deux souches testées (**fig.25**), l'absence d'activité inhibitrice de la croissance bactérienne semble être due à l'incapacité de l'eau à extraire les substances bioactives de MUV ou peut être à la dégradation de ces molécules par la température élevée d'extraction dans le rota vapeur, ou aussi à la présence d'une autre classe de molécule qui n'ont pas un effet inhibiteur sur ces souches. En effet, l'eau à haute température provoque la perturbation des cellules facilitant la pénétration du solvant et la solubilisation des molécules (**Albano et Miguel, 2011**). Par contre, **Mubashir et al., (2009)** signalent que l'extrait aqueux des feuilles de l'espèce *Marrubium vulgare* exerce une forte activité inhibitrice sur les souches de *S. aureus* et une activité de degré moindre sur l'*E. Coli*. Ainsi, **Su et al., (2006)** ont rapporté que le rendement des extractions aqueuses augmente avec la température.

Selon **Candan et al (2003)**, les polyphénols qui sont extraire par l'eau ont une faible activité inhibitrice envers les souches bactériennes, par contre aux polyphénols qui sont extraire avec les solvants organiques, grâce à la capacité de ces dernières d'accumuler sur la membrane plasmique microbienne et lui détruire. Ce résultat négatif peut être dû à la méthode ou le solvant utilisé pour l'extraction. En effet **Hayouni et al (2007)** ont montré que la méthode d'extraction et la nature du solvant peuvent influencer sur l'activité antibactérienne des composés phénoliques.

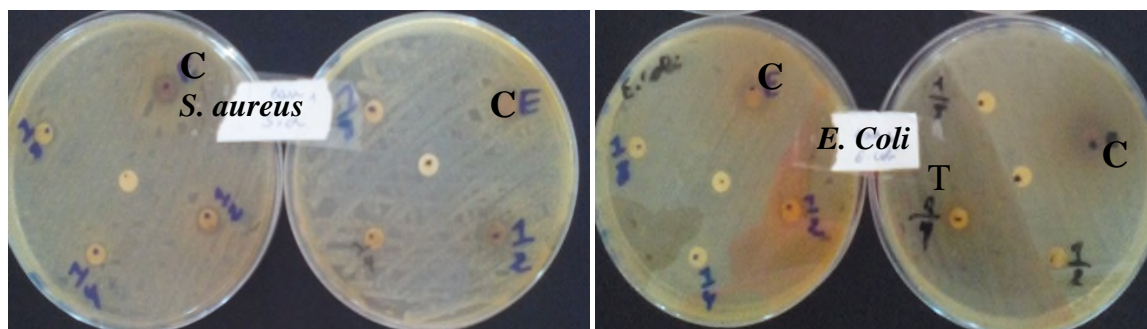


Figure 25 : Exemple de l'activité inhibitrice d'extrait aqueux.

Tout les résultats précédant montre que l'éthanol c'est le solvant adéquat pour l'extraction des polyphénols de MUV par contre d'eau, ce qui est confirmé par **Mohsen et Ammar (2009)** qu'ont prouvé que l'éthanol était le meilleur solvant pour l'extraction des composés phénoliques, suivi du méthanol et finalement par l'eau cela confirme la différence de nos résultats. Ce résultat en accord avec ceux rapportés dans la littérature par les travaux de **Jouda (2013)** qui révèlent que les extraits éthanoliques ont montré une activité antimicrobienne et une synergique avec antibiotiques mieux que les extraits méthanoliques et aqueux. Généralement les solvants organiques sont les plus utilisés pour l'extraction des différents constituants des plantes (**Velickovic et al., 2006**).

Selon **Stankovic (2011)** tout le contenu phénolique dans les extraits du *Marrubium vulgare* dépend du type d'extrait, c'est-à-dire de la polarité du solvant utilisé dans l'extraction, car la solubilité élevée des phénols dans les solvants polaires donne la concentration élevée de ces composés dans les extraits obtenus, ce qui justifié l'efficacité des extraits éthanoliques envers l'*E. Coli* et le *S. aureus*, a fait l'objet d'une étude entreprise par **Edziri et al., (2007)** signalant une sensibilité assez élevée de ces souches envers l'extrait éthanolique des feuilles d'une autre espèce de *Marrubium* (*Marrubium alysson*).

Nos résultats ont indiqué que le type des micro-organismes ciblés, le type et la concentration de l'extrait sont des paramètres peuvent influencer la détermination de l'activité antimicrobienne, le même résultat est confirmé par **Cushnie et al., (2003)**.

Enfin, on a conclu que le marrube blanc renferme des substances actives, ces derniers lui permettant à franchir aux agressions bactériennes.

Conclusion générale

Ce travail a effectué bien que modeste est axé sur la détection de huit métabolites secondaires plus répandues dans le règne végétale, à partir des tests phytochimiques qualitatives réalisés sur trois organes (feuilles, tiges et racines) d'une plante médicinales, dit le *Marrubium vulgare* de la famille lamiacées, récoltées dans la région de Ferdjioua, wilaya de Mila. A la lumière des résultats obtenus de ces tests, nous avons conclu que ces organes très riches en tanins, sucres réducteurs et flavonoïdes, et contiennent aussi des saponines, des huiles essentielles, des alcaloïdes. Par ailleurs, les cardinolides révèlent sauf au niveau de la partie aérien, ces trois organes sont presque dépourvus des kitoses.

Les polyphénols du *Marrubium vulgare* possèdent diverses activités biologiques telle que l'activité antibactérienne, ce dernier est évaluée par le test de diffusion sur gélose réalisé sur deux extraits de la parties aérien (tiges et feuilles) de la plante, obtenus de la macération par l'eau suivi par l'éthanol et la macération par l'éthanol suivi par l'eau sur deux germes multirésistants responsables des maladies infectieuses, l'une à Gram+ (*Staphylococcus aureus*) et l'autre à Gram- (*Escherichia Coli*).

Notre travail nous a permis de mettre en évidence que les extraits aqueux n'ont aucun effet inhibiteur de la croissance microbienne enregistré et que les extraits éthanoliques ont un pouvoir antimicrobien important envers les deux souches. On a révélé que le *Staphylococcus aureus* est plus sensible aux extraits éthanoliques des feuilles avec les diamètres élevés 21mm (C(Eth₁)) et 25mm (C/8(Eth₂)) que les extraits des tiges qui ont les moins valeurs d'empêchements d'une part, dans un autre part l'*Escherichia Coli* est plus résistant aux extraits étudiés que le *Staphylococcus aureus* qui semble très sensible aux extraits éthanoliques (2) que les extraits éthanoliques (1) des deux parties végétales étudiés.

Notre étude confirme la richesse de marrube blanc en substances actives qui ont le pouvoir antibactérien et antiseptique qui vient rivaliser l'action des antibiotiques sans des dommages sanitaires remarquables, et comme perspectives on propose :

- L'effet antimicrobien observé pourrait être amélioré par l'utilisation des concentrations plus faibles que celles testées, ou par l'utilisation des autres solvants.
- Déterminer de nouvelles substances bioactives pouvant répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif de médicaments synthétiques.
- Développer des substances antibactériennes à base de marrube blanc et d'autres plantes.
- D'orienter les recherches scientifiques vers la réalisation des études approfondies et complémentaires qui seront nécessaires et devront pouvoir confirmer les performances mises en évidence.

Références bibliographiques

The image features the French phrase "Références bibliographiques" (Bibliographic references) in a large, bold, sans-serif font. The text is rendered with a vibrant rainbow color gradient, starting with purple and pink on the left, transitioning through red, orange, yellow, green, and ending in blue and purple on the right. The letters have a slight 3D effect, with a soft, grey shadow cast beneath them, suggesting they are floating above a surface. The background is plain white.

A

- **Abedini.A., (2013).** Evaluation biologique et phytochimique des substances naturelles d'hyptisat rorubens poit. (Lamiacées), sélectionnée par un criblage d'extraits de 42 plantes. Thèse de doctorat en Pharmacognosie., Université Lille Nord De France. P.53-54.
- **Akiyama.H. Fujii.K. Yamazaki.O. Oono.T et Iwatsuki.T., (2001).** Antibacterial action of several tannins against Staphylococcus aureus. Journal of Antimicrobial chemotherapy (48). p. 487-491.
- **Aouadhi.S., (2010).** Mémoire Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle étude de 57 plantes recommandées par les herboristes.
- **Ashkenazy.D. Friedman.J et Kashman.Y., (1983).** The furocoumarin composition of Pituranthostrira diatus. Journal of medicinal plant research, (47).p.218-220.
- **A.P.G.III., (2009).** An update of the angiosperm phylogeny group classification For the orders and families of flowering plantes.apg iii. Bot. J. Linn. Soc.
- **Azzi.R. Lahfa.F et Djaziri.R.,(2014).** Phytochemical, antihyperglycemic and antihyperlipidemic study of crude hydroalcoholic extract of aerial parts of Marrubium vulgare L.In normal and streptozotocin induced-diabetic wistar Rats.Int J Pharm Sci Res. 5(5).p.13.

B

- **Babayi.H.Kolo.I et Okogum.J.I., (2004).** The antimicrobial activities of methanolic extracts of Eucalyptus camaldulensis and Terminaliacatappa against some pathogenic Microorganisms. Biochemistri.16 (2).p.102.105.
- **Badiaga.M., (2011).** Etude ethnobotanique, phytochimique et activité biologique de nauclea Latifolia Smith une plante médicinale Africaine récoltée au Mali. Thèse de doctorat en chimie organique. Université. Bamako (Mali). P.13.
- **Bahorun.T., (1997).** Substances naturelles actives, la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research, Conseil Mauritus.
- **Bakkali.F., (2008).** Biological effect of essential oils- A review. Food Chem Toxicol.(46). 446-475.Universit de bamako .p.10
- **Balbaa.S.I. Hila.S.H et Zaki.A.Y., (1981).** Médicinales utilisation de 400 plantes. Poulshau en burg. Ferdinande. Paris. p 254-255.

- **Bekhechi.C.Atk. Bekkara.F et Abdelouhib.D.E., (2008).** Composition et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Origanum glan dulosum* d'Algérie- phytothérapie. (6). p. 153-159.
- **Bellakhdar.J., (1997).** Médecine Arabe Ancienne et Savoirs Populaires, La pharmacopée marocaine traditionnelle. Ed. Le Fennecet I bio Press, impression : Dunes France. P.340. 341.
- **Benaissa.O., (2012).** Comparative evaluation of phytochemical and antimicrobial activity between two plants from the Lamiaceae family: *Marrubium vulgare* L. And *Origanum majorana* L. International Journal of Natural Products Research.(1). P.11-13.
- **Benaissa.O., (2011).** Etude des métabolismes terpénique et flavonique d'espèces de la famille des composées, genres *Chrysanthemum* et *Rhantherium*. Activité Biologique, Thèse de doctorat, université Mentouri Constantine.p.63.
- **Benayad.N., (2008).** Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines, Moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Université Mohammed V. Agdal. Rabat.p.63.
- **Benchacha.A., (2008).** Etude de l'effet allélochimique de l'extrait aqueux de quelques plantes médicinales et aromatiques sur la germination des grains des mauvaises herbes. p.5.23
- **Benini.C., (2007).** Contribution à l'étude de la diversification de la production d'huiles essentielles aux Comores. Mémoire d'ingénieur. Université Gembloux.p.109.
- **Benkiki.N., (2006).** Etude phytochimiques des plantes médicinales Algérienne *Rutamontana*, *Matricaria pubescences* et *Hypericum perforliatum* Thèse de Doctorat .Université de batna.
- **Berrougui.H. Maxim.I. Cherki.M et Khalil.A., (2006).** *Marrubium vulgare* extract inhibits human-LDL oxidation and enhances HDL-mediated cholesterol efflux in THP macrophage. Life Sciences, (80).p.105-12.
- **Bérubé.G.J., (2006).** Isolation et identification de composés antibiotiques des écorces de *Picea mariana*. Mémoire comme exigence partielle de la maîtrise en ressources renouvelables. Quebec.
- **Bezanger.B.L. Pinkas.M. Torck.M et Troutin.F., (1990).** Plantes Médicinales des régions tempérées. Maloine édition.
- **Bézanger.B.L. Pinkas.M et Torck.M., (1986).** Les plantes dans la thérapeutique moderne.
- **Bhat.S.V, Nagasampagi.B.A. Sivakumar.M., (2005).** Chemistry of natural products.Ed.Narosa, New Delhi, India.P. 237.

- **Bigo C., (2011).** La phytothérapie utilisée dans l'éréthisme cardiaque .Thèse de doctorat En pharmacie.
- **Billing.JetSherman.P.W., (1998).** Antimicrobial Functions of Spices: Why Some Like it Hot. Q. Rev. Biol(73).p.3-49.
- **Bravo.L., (1998).** Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. Nutrition Reviews.56(11). P.317.333.
- **Bruneton.J., (2009).** Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. 4^{em} Ed.Lavoisier. Paris. P.1269.
- **Bruneton.J., (1999).** Pharmacognosie 4^{eme} Ed. Lavoisier.
- **Bruneton.J., (1993).** Plantes toxiques: végétaux dangereux pour l'homme et les animaux, 2ème édition. P.129.136.268.277-279.
- **Bonnier.G., (1909).** La Végétation de la France, Flore Complète. Tome 09. Ed. Suisse et Belgique. Paris. P.25.26.
- **Boukef. M.K., (1986).** Médecine Traditionnelle et Pharmacopée L e s plantes de la médecine traditionnelle tunisienne, Agence de Coopération Culturelle et Technique Paris, France. p.163-164.
- **Bourgaud.F.Gravot A. MilesiS et Gontier.E., (2001).** Production of plant secondary metabolites: a historical perspective; Plant Science (161).p. 839 -851
- **Pousset JL., (1989).** Plantes médicinales africaines. Edition Ellipses.
- **Bouterfa.K.Zohei.M.Ali.L. Zouaoui.H et Bouredja.N., (2013).** Quantification of some polyphenols of Marrubium vulgare L. Of Tessala mount (western Algeria) at the vegetative and the flowering periods les technologies de laboratoire, volume 8, n°3.
- **Bouziane.M., (2002).** Caractérisation structurale de quelques molécules organiques dans la plante :Cotulacinereade la région d'Ouargla. Mémoire de Magister. Spécialité Chimie Organique. Université kassdimerbah. Ouargla. p.53.
- **Bouzouita.N. Kachouri.F. Ben Halima.M et Chaabouni.M.M., (2008).** Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de Juniperusphoenicea. Journal de la Société Chimique de Tunisie.(10).p.119-125.
- **Burt.S., (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods- a review. Int. J. Food Microbiology.(94). p. 223-253.

C

- **Candan.F. Unlu.M. Tepe.B. Daferera.D. Polissiou.M. Sökmen.A et Akpulat.H.A., (2003).** Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *Mille folium* aff. (*Asteraceae*). *Journal of Ethnopharmacology* (87). p. 215-220.
- **Chen.X., (2006).** Database of traditional Chinese medicine and its application to Studies of mechanism and to prescription validation. *British Journal of Pharmacology* Vol.(149).p 103-1092.
- **Chiej.R., (1984).** The Macdonald Encyclopedia of Medicinal Plants. Macdonald et Co. (Publishers) Ltd. London. p.447.
- **Copolovici.L.O et Filella.I., (2005).** The capacity for thermal protection of photosynthetic electron transport varies for different monoterpenes in *Quercus ilex*. *Plant Physiol.*p.139.485.496
- **Cowan.M.M.,(1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews.* 12 (4).p.564.582
- **Cushnie TP, Hamilthoh VES, Lamb AJ. 2003.** Assesment of the antimicrobial activity of selected flavonoïds and consideration of discrepancies between previous reports. *Microbiol Res* .158(4).p.9.281.
- **Cyril.T., (2001).** Etude des métabolismes primaires et secondaires de racines transformées de *Catharanthus Roseusen*, vue du développement d'un modèle cinétique, université de Montréal.p.28.

D

- **Daniela. R. Nelly A. Arnold. Maurizio.B. Carmen.F. Armando.G .Sonia.P et Franco.P., (2006).** Felice Senatore, Phenolic compounds of *Marrubium globosum* ssp. *libanoticum* from Lebanon, *Biochemical Systematics and Ecology.*p.34.256.
- **Dibong.S.D. Mpondo.M. E. Nigoye. A. Kwin M. FetBetti.J L., (2011).** Ethnobotanique et phytomédecine des plantes médicinales de Douala, Cameroun. *Ethnobotany and phytomedicine of medicinal plants sold in Douala markets. Journal of Applied Biosciences* (37).p.2496-2507. ISSN.p.1997-5902. Published online at www.biosciences.elewa.org.
- **Djahra.B., (2014).** Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, antihepatotoxique du Marrube blanc, Thèse de doctorat en Biologie, Université de Anaba.

- **Decaux.I .,(2002).** Phytothérapie. Mode d'empilo. Ed. Le bien public.p.6.7.
- **Degryse. A.C. Voinier.M.A. Delpla.I., (2008).** Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. Atelier santé environnement -IGS- EHESP.p.87.
- **Delfine.S etCsikyo., (2000).** Fumigation with exogenous monoterpenes of a nonisoprenoid-emitting oak (*Quercussuber*). monoterpene acquisition, translocation, and effect on the photosynthetic properties at high temperatures.*New Phytolo*.p.27.36.146.
- **De souza.M.M et al., (1998).** Analgesic profile of hydroalcolic extract obtained from *Marrubium*.*Phytomedicine*.5(2).p103.107.
- **Dixon.R.A. Dey.P.M et Lamb.C. J., (1983).** Phytoalexins: Enzymology and molecular Biology, *Adv. Enzymol*.55.p.136.
- **Domaracky.M.Rehak.P.Juhas.S. Koppel.J., (2007).** Effets of selected plant essential oils on the Growth and development of Mouse preimplentation Embryos in vitro *Physiol.Res.*(56). p.97-104.
- **Domenico.T.Francesco.C.Maria.GS. Vincenza.V. Mariateresa. CD. Antonella. S. Gabriela.MetGiuseppe.B., (2005).** Mechanisms of antibacterial action of Three monoterpenes. *Antimicrobial Ag. Chemotherapy* (49). P. 2474-2478
- **Dorman.H.J.D et Deans.H.J.D., (2000).** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*. 88 (2) 308-316.
- **Dutertre.J. M et Josèphe., (2011).** Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l'île de la réunion : à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin généraliste. Thèse de doctorat.p.33.57.

E

- **Edziri H., Ammar.S. Groh.P. Mahjoub.M.A. Mastouri.M. Gutmann.L. Zine.M et Aouni.M.. (2007).** Antimicrobial and cytotoxic activity of *Marrubium alysson* and *Retamaretama* in Tunisia, *Pak. J. Biol. Sci.*, Vol. (10),p. 1759-1762.
- **Eloff.J.N., (1998).** A sensitive and quick method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. *Planta Med*, Vol (64). 711-713.
- **Elqaj.M. Ahami.A et Belghyti D., (2007).** La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique Ressources naturelles et antibiotiques. Maroc.

- **Erlund., (2004).** Plantes médicinales et aromatique. Nut. Res. p.24.851.74.

F

- **Farnsworth N.R. Akerele O. Bingel A.S. Soejarto D.D et Guo Z., (1986).** Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. Bulletin de l'organisation mondiale de la santé.p.64.
- **Ferrer.J.L. Austin.M.B. Stewart.J.R.C et Noel.J.P., (2008).** Structure and function of enzymes involved in the biosynthesis of phenylpropanoids, review. Plant physiology and biochemistry.p.46. 356.370.

G

- **Ghestem.A. Seguin E. Paris M.et Orecchioni.A.M., (2001).** Le préparateur en pharmacie dossier 2^{ème} Ed. TEC et DOC. Paris. p.275.
- **Gibbons.S., (2004).** Anti-staphylococcal plant natural products. Natural Product Rep. 21.p.263.277
- **Gonzalez.T.Penaiei.Martinezal.Moreno.j. Guevara.F.P. Deciga Campos.M et Lopez.M., (2007).** Evaluation of the antinociceptive effect of rosmarinus officinalis l. Using three different.
- **Gonzloez et Delgado.J.N., (1962).** J. PHARA. SCI. p.5.8.786.
- **Guignard.J.L. Cosson.L et Henry.H., (1995).** Abrégé de phytochimie; Hasson.p.224.
- **Guignard.J.L. Cosson.L et Henry.M., (1985).** Abrégé de phytochimie. Ed. Masson Paris.p.155.174
- **GuribetFakim.A., (2006).** Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow, Molecular Aspects of Medicine.p.27.93.

H

- **Hammoudi.R., (2015).** Activités biologiques de quelques métabolites secondaires extraits de quelques plantes médicinales du Sahara méridional algérien: thèse de doctorat., Université Kasdi Merbah. Ouargla.p.152.
- **Harbone.J.B., (1998).** Phytochemical methods .A guide to modern techniques of plant analysis 3e ed. : Chapman and Hill.p.303.
- **Harborne.J.B., (1973).** Phytochemical methods, London. Chapman and Hall, LTD.p. 49-188.

- **Hartmann.T., (2007).** From waste products to ecochemicals: Fifty years research of Plant secondary metabolism. *Phytochemistry*.p.2831-2846.
- **Hayouni. EA. Abedrabba.M. Bouix.M. Hamdi.M., (2007).** The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercuscoccifera*L. and *Juniperusphoenicea*L. fruit extracts. *Food Chemistry*, (10).p.10-16.
- **Heim.K.Tagliaferro.AetBobilya.D., (2002).** Flavonoids antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*(13).p.572-584.
- **Hennebelle.T.Sahpaz.S.Skaltsounis.A.LetBailleul.F., (2007).** Phenolic compounds and diterpenoids from *Marrubium peregrinum*.*Biochem.Syst. Ecology*.p.624-626.
- **Hertog.M.G. Feskens.E.J. Hollman.P.C. Katan.M.B et Kromhout.D., (1993).**Dietaryantioxidantflavonoid and risk of coronaryheartdisease. The Zutphen Elderly Study. *Launcet* (342) .p.1007-1011.
- **Hertog.M.G.L.Hollman.P.C.H et Vande.P.B., (1993).**Content of potentially anticarcinogenicflavonoïds of tea infusions, wine and fruit juices.*Journal of Agricultural and Food Chemistry*.p.6.41.125.
- **Hoffman.L., (2003).** Etude du metabolism phenylpropanoïdes, analyse de l'interaction de la caféoyl-CoenzymeA 3-O méthyl transférase (CCOAO MT) avec son substrat et caractérisation fonctionnelle d'une nouvelle acyltrnsférase, l'hydroxycinnamoyl- CoA shikimate /quinat hydroxycinnamoyl transférase (HCT). Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur-Strasbourg.p.143.
- **Holley.R.A et Patel.D., (2005).** Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiology*.22 (4). p. 273.292.
- **Hopkins.W.G., (2003).** Physiologie végétale. 2éme édition américaine, de Boeck et Lancier SA, Paris 514.p 273-279.286.
- **Hussain.A.I.Anwar.F. Sherazi.S.H et Przybylski R., (2008).** Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chem.* (108).p.986-995.

I

- **Iserin.P., (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales, Larousse VUEF, 2^{ème} Ed.14.Paris. p.131-335.

•Iserin.P. Masso.M.Restellini.jp. Yberte.Delaage de meus a. Moulard.F.Zha.E.De la roque.R.De la roque.O.Vican.P. Deelesalle.F.Biaujeaud.M.Ringuet.J. Bloth.J.Botrel.A., (2001). Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. 2éme édition deVUEF, Hong Kong.p.10-16.335.

J

Jouda.M.M., (2013). The Antibacterial Effect of Some Medicinal Plant Extract and their Synergistic Effect with Antibiotic and Non-antibiotic Drugs By Islamic University gaza Deanship of Graduate Studies Faculty of Science Biological Sciences Master Program p.102.

•Judd.W.S. Campbell.C.S. Kellogg.E.A et StevenP., (2002). Botanique systématique.UnePerspective phylogénétique. 1ere Ed : Paris et Bruxelles. p.369.384.

K

•Kansole., (2009). Etude ethnobotanique, photochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucasmartini cansis* (Jacquin) R.Brown.

•Kar.A.,(2007). Pharmacognosy and Pharmabiotechnologie; Ed 2: New Age International publishers. p.30.

•Karou.D. Dicko.M.H. Simporé.J. Yameogo S. Sanon.S et Traor. A. S.,(2005). Activités antioxydantes et antibactériennes des polyphénols extraits de plantes medicinales de la pharmacopée traditionnelle du Burkina Faso. Maitrise des procédés en vue d'améliorer la qualité des aliments, utilisation des OGM, analyse des risques en agroalimentaire.p.8-11.

•Khanbabae.K et Ree.T.R., (2001).Tannins: Classification and Definition. Journal ofRoyalsociety of Chemistry. (18).p.641-649.

•Knore,E., (1999). Plante et santé. Ed.Mourite.

•Kone.D., (2009). Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes extraction identification d'alcaloïdes. Caractérisation, quantification de polyphénols, étude.

•Kren.V., (2001). Martinkova, L. Glycosides in medicine. The rol of glycoside residue in biological activity.Curr-Med. Chem.p.1313-1338

•Kurbatova.N.V.Muzychkina.R.A.N.Mukhitdinov.MetParshina.G.N.,(2007)

L'activité antioxydante. Thèsedoctorat de l'université de Bamako.

L

- **Lahlou.M., (2004).** Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytother Res.* (18).p.48.435
- **Laid.M.F.Hegazy.A et Ahmed.A., (2008).** Sesquiterpene lactones from Algerian *Artemisia herbaalba*. *Phytochemistry.* p. 85-88.
- **LlanezaCoalla.H.Blanco.J.M. Fernández. MorísMorán.M.A et LópezBobo.M. R., (2009).** Biogas generation apple pulp. *Bioresource technology.* 100(17).p. 3843-3847.
- **Lugasi. A. Hovari. J. Sagi .K.VetBiro.L.,(2003).** The Role of Antioxidant of the Flavonoids Luteolin. *Mini-Reviews In Medicinal Chemistry.* p.9.31.59.

M

- **Macheix.J.J.Fleuriet.A et Jay.C., (2005).** Nature et diversité des composés phénoliques. IN: les composés phénoliques des végétaux, un complexe de métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes, CH-105 Lausanne.1-31.
- **Madhavi.D.L. Deshpande.S.S et Salunkhe.D.K., (1996).** Food Antioxidants. Technological, Toxicological, and Health Perspectives. Marcel Dekker, Inc. New York. p. 65.
- **Madi.A., (2010).** Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magister, Université Mentouri Constantine. p.18.26.
- **Marc.T. Gerard.W et Denis.L., (2001).** Classification des anti-inflammatoires in *Guide pharmacologie.* Etudiants et professionnels paramédicaux. 4ème Edition. p. 426.
- **Masika.P et Afolayane. A., (2002).** Antimicrobial activity of some plants used for the treatment of live stock diseases in Eastern Cape, South Afr. *Journal Ethnopharmacology,* (83).
- **Mazari.K. Bendinerad.N. Benkhechi.C.H et Fernandez.X., (2010).** Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* L and *Cupressus sempervirens*. *Medicinal Plants Research.* 4(10).p.959-964.
- **Mebarki.N., (2010).** Extraction de l'huile essentielle de thymus fontanesiitd application à la formulation d'une forme médicamenteuse- antimicrobienne. These de magister. Université de Boumerdes. p.124.

- **Medjroubi.K.Benayache.F.Leon.F. et Bermejo.B.J., (2003).** Complete assignment of the ¹³C and ¹H NMR spectra of two known guaianolides isolated from *Centaurea musimomum*. *Revista Colombiana de Quimica*.p.32.17
- **Merghem.R., (2009).** Elément de biochimie végétale, 1^{ère} édition. *Ed Bahaeddine*. P.149-158.
- **Meyre.C. Silva. Yunes.R.A. Schlemper.V. Campos.F.B et Cechinel.V.F., (2005).** Analgesic potential of marrubiin derivatives, a bioactive diterpene present in *Marrubium vulgare* (Lamiaceae), *Il Farmaco*. p.60.321.326.
- **Mohsen.S.M. Ammar.A.S.M., (2009).** Total phenolic contents and antioxidant activity of corn tassel extracts. *Food Chem.*(112).p.595-598.
- **Moreno. Roohiguez.J.F et Sotomendivil.E.A., (2006).** Chemical composition and fungicidal activity of the essential oil of *T.Vulgaris* against *Alternariacitri.Z.Gnosis*.4(16). mukherjeePK.Sarikha.GS.suresh. Antibacterial potential of two different *Hypericum* species available in India. *Phytothe. Res.* p.692-695
- **Moreno.S. Scheyer.T. Romano.C.S et Nojnov.R., (2006).** Antioxydant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphénol composition. *Free Rad Res.*40(2).p.31.223.
- **Moussaid.M.Abd El Aziz.E.Chadi.B. Hassane.M. Noureddine.B et Mouhamed.B., (2012).** Comparative evaluation of phytochemical and antimicrobial activity between two plants from the Lamiaceae family: *Marrubium vulgare* (L.) And *Origanum majorana* (L.) *International Journal of Natural Products Research* 1 (1).p. 11-13
- **Moussaid.M.Abdel.A.Elamrani.C. Berhal.H. Moussaid.N. Bourhim.M E et Muthu.C.Ayyanar. M. Raja. NetIgnacimuthu. S., (2006).** Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuram District of Tamil Nadu, India. *Journal of ethnobiology and Ethnomedicine*, doi.(10).p.2-43.4269.1746.1186.

N

- **Nicolas.B., (2012).** Atlas illustré des plantes médicinales et curatives 1^{er} Ed. Asie, de borée.p.172.
- **Nijveldt.R. Van Nood.E. Van Hoorn.E. Boelens.P. Van Norren.K et Van Leeuwen., (2003).** Comparative phytochemical investigation of the composition and content of biologically active substances in *Marrubium vulgare* and *M. alternidens*, *chemistry of natural*.

- **Nguz.K., (1996).** Evaluation de la dégradation des tannins. *Phytochimiques*. p.225-230.
- **Nowitz.TetBottet.J., (2000).** Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation, soins. Edition Larousse.

O

- **O.M.S., (2015).** Organisation mondiale de santé, antibiotiques : à manipuler avec Précaution.
- **Ould El Hadj.M.D. Hadj.M. Zabeirou.M.H et Chehma.A.,(2003).** Importance Des Plantes Spontanees Medicinales Dans La Pharmacopee Traditionnelle De La Region De Ouargla(Sahara septentrional - Est algérien.p.47-51
- **Ouraini.D. Agoumi.A. Ismaili.A.M. Alaoui.K. Cherrah.Y. Alaoui.M.A et Belabbas M.A., (2007).** Activité antifongique de l'acide oléique et des huiles essentielles de *Thymus saturejoides* L, et *Mentha pulegium*L, comparée aux antifongiques dans les dermatosesmycosiques, phytothérapie. p.6-14.
- **Ozenda.p., (1977).** Flore du sahara. Centre national de la recherche scientifique. 2^{ème} Ed. Paris. Rns.p.250-259.

P

- **Paris.M et Hurabielle.M., (1980).** Abrégé de matière médicale Pharmacognosie. Tome 1^{er}Ed. Masson. Paris. p. 82-89.
- **Paris.R.R et Moyses.H., (1971).** Précis de matière médicale, pharmacognosie spéciale dicotylédones(tome III). p.32-52
- **P.A.M.,(2001).** Flavonoids.A review of probable mechanisms of action and potential applications.*American Journal Clinical Nutrition*.74.p.418.425.
- **Pelt J.M., (2004)** .Les vertus des plantes.
- **Penuelas.J et Llusia.J., (2002).** Linking photorespiration, monoterpenes and thermotolerance in *Quercus*.*New phytol*. p.155. 227.237.
- **Peronny.S., (2005).** La perception gustative et la consommation des tannins chez le maki.
- **Perrett.S., Whitfield P.J., Sanderson L., Bartelert A. (1995).**The plant molluscide *Millettiarhortningii* (leguminosae) as a topical antischistosomal agent . *Journal ofEthnopharmacology*.(4). p.54.749.

- **Perry.J.J. Staley. J.T et Lory.S., (2004).** Microbiologie. Cours et questions de révision. Ed.Dunod.
- **Piquemal.G., (2008).** Les flavonoïdes (enligne):<http://www.detoursante.com/index.php>.
- **Prescott.L.M.Harley.J.P. et Klein.D.A., (1995).** Microbiologie. 2^{ème} édition. Ed. De boec.

Q

- **Quezel.P et Santa.S., (1963).** La nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques Méridionales. Tome II, Ed : CNRS. Paris.p.11.68360.361.

R

- **Regnault.C., (2008).** Biopesticides d'origine végétale .Ed.TEC et DOC. Paris. p.51-60
- **Rhayour.K., (2002).** Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *mycobacterium fortuitum*. Thèse de doctorat. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès, Maroc. p.158.170.
- **Riffel.A.Medina.L.F.Stefani.V. Santos.R.C. Bizani.Brandelle., (2002).** In vitro antibacterial Activity of a new series of 1, 4- napthaquinones.Brazillian journal of medical and biological research.35 (7).p.811-818.
- **Rigano.D.,(2006).**Antibacterial activity of flavonoids and phenylpropanoids from *Marrubium globosum* ssp. *Libanoticum*.PhytotherRes Dec (21) epub ahead of print.Re (21).p.395-397.
- **Ringuet.J.Bloth.J.EtBotrel.A., (2001).**Larousse des plantes medicinales, identification, préparation, soins. Ed Larousse. p.10-12.
- **Rodney .C. Toni. M.K et Norman .G. L., (2000).** Natural products Secondary Metabolites.
- **RojasA. Hernandez.L. Perrada.M.R et Matg.R., (1992).** Screening for antibacterial activity of crude drug extract and pure natural products from Mexican medicinal plants.JournalofEthnopharmacology(35).p.275-283.
- **Rogres K., (2011).**Fungi, Algae and protists Britannica Educational. New York. p.209.
- **Roquebert.M.F., (2002).** Les contaminants biologiques des biens culturels. Ed. Elsevier. Paris. p. 419.

●**Roux.D et Catier.O.,(2007).** Botanique, Pharmacognosie et Phytothérapie. Ed. wolterskluwerfrance .p.74.

S

●**Sabrina.k., (2003).**Métabolites secondaires des plantes et comportement animal. Thèse de docteur en écologie et chimie des substances naturelles, muséum national d'histoire naturelle.p.29.

●**Sahpaz.S.,(2002).** Marruboside, a new phenylethanoid glycoside from Marrubium vulgareL. Nat Prod Lett (16). (3).p.9.195.389-392.

●**Santos.F.S.R., (2012).**Novales M G M. Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial.

●**Sarker.S.D. Latif.Z et Gray.A.I., (2005).** Natural products isolation. Humana Press (Totowa).p.1-23.

●**Scalbert.A., (1991).** Antimicrobial properties of tannins. Phytochemistry (30).p.3875-3883.

●**Schlempher.,(1996).** Antispasmodic effects of hydroalcolic extract of Marrubium vulgare on isolated tissues. Phytomedicine.2 (3).p.211.216.

●**Sharkey.T.Wiberley.D. A. E et al. (2008).** Isoprene emission from plants: Why and how. Ann. Bot.p.101. 5.18.

●**Shkukani.H.G.Ahmad.M.D.Shomaf.M.S, et Al Quadan.F., (2008).** Antifertility Effect of Ethanolic Extract of Juniperus phoenica (L.) In Male Albino Rats.Journal of Herbal Pharmacotherapy (7).p.179-189.

●**Silva.S.Gomes.L.Leitão.F. Coelho.A.V et Vilasboas.L., (2006).** Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of OleaeuropaeaL. Fruits and Leaves. 12(5).p.385-396.

●**Simoes.M. Richard.N. Bennett.B et Eduardo.A.S.R., (2009).** Understanding antimicrobial activities of phytochemicals against multidrug resistant bacteria and biofilms.Natural Product Reports.p.26.746.757.

●**Small.E et Catling.P.M., (2000).** Les cultures médicinalescanadiennes. Les presses.

●**Smallfield.B.,(2001).** Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes.Crop and Food Research.Number 45.p.4.

●**Soldermann.N., (2002).** Etude et développement du processus Tandem réaction de DielsAlderréarrangement de Irland-Claisen. Application à la synthèse de la Juvabione. These de Doctorat. Université de Neuchâtel.

●**Stagos.D.Portesis.N. Spanou.C, mossialos.D. Aligiannis.N. Chaita.E. Panagoulis.C. Reri.E. Skaltsounis.I. Tsatsakis.A.M et kouretas.D., (2012).** Correlation of total polyphenoliccontent with antioxidant and antibacterial activity of 24 extracts from greek domestic lamiaceae species.Food chemtoxicol.2012; 50(11).p.24-4115

●**Stankovi.S et M., (2011).** Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of Marrubium peregrinum L. Extracts, Kragujevac J. Sci., Vol. (33).p.63-72.

●**Su.X.Duan J. Jian.Y., Shi.J et Kakuda.Y., (2006).** Effect of soaking conditions on the antioxidant potensials of oolong tea. Journal of Food Composition and Analysis.(19).p 348-353.

T

●**Tadros.S.H., (1979).** Pharmacognostical study of entrolobium cyclocarpum griseb growing in egypt. Ph.D.thesis.Faculty of pharmacy.Cairo university.Florida state horticultural society.p.426.

●**The Egyptian pharmacopeia, (1963).**

●**Ticli.B., (1997).** L'herbier de santé. 1^{er}édition. Paris.Ed.vecchisao.(01).p.206.

● **Toure D., (2015).** Etudes Chimique Et Biologique Des Huiles Essentielles De Quatre Plantes Aromatiques Médicinales De Côte d'ivoire.Thèse de Doctorat en Biochimie. Université félixhouphouët-boigny. p.20.21.

U

●**Ulanowska.K., (2006).** Differential antibacterial lactivity of genisteinarising from global inhibition of DNA, RNA and proteinsynthesis in some bacterial strains.Arch. Microbial.184 (5).p.8.271.

V

●**Valnet.J., (1984).** Aromathérapie. Dixième édition. Paris.

●**Velickovic.M. Velickovic.Z et Dunckley.H., (2006).** Diversity of killer cell immunoglobulin-like receptor genes in Pacific Islands populations. Immunogenetics.(58).p.523-532.

●**Verdrager.J., (1978).** Ces médicaments qui nous viennent des plantes. 1^oédition, Paris, éditionMaloine S.A., vol.01.p. 233.

- **Verhoeven.M.E. Bovy.A. Collins.G. Muir.S. Robinson S. De Vos C.H.R et Colliver S., (2002).** Increasing antioxidant levels in tomatoes through modification of the Flavonoid biosynthesis pathway. *Journal of experimental botany*.53 (377).p.209-210.
- **Vincent.Jl. Brealey.D. Libert.N. Abidine. O'dwyer.M et Zacharowski.K., (2013).** Rapid diagnosis of infection in the critically ill, a multicenter study of molecular detection in bloodstream infections, pneumonia, and sterile site infections. *Crit care med* (43). P. 283.91.
- **Vincken.J.P.Heng.L. DeGroot.A et Gruppen.H., (2007).** Review Saponins classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry* .p.68.275.297.

W

- **Weel.K.G.C., (1999).**Antioxidant activity of horehound. *Marrubium vulgare L. Grown in lenthunia.fett-lipid*.p.101.395.400.
- **Wichtl.M et Anton.R., (2009).** Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale science et thérapeutique. Éditionlavoisier, Paris.p.38. 41.
- **Wollgast.JetAnklam.E., (2000).** Review on polyphenols in The obroma cacao. Changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification.*Food Research International*.p.33. 423. 447

Y

- **Yoshikawa.M.Haradae. Naitoh.Y.Inoue K. Matsouda.H. Shimoda.H. Yamahara.J et Murakami.N., (1994).** Developpement of bioactive Function in *Hydrangeae dulcis folium*. III. On the antiallergic and antimicrobial Principles of *Hydrangeaedulcis folium*, *Chem. Pharm. Bull*, p. 225.

Z

- **Zenk.M.H et Juenger.M.,(2007).**Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds.*PhytochemistryReview*, (68).p. 275.

قائمة المراجع باللغة العربية

- العابد.(2009). الدراسة الفعالية المضادة للبيكتيريا والمضادة للاكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات TrangammNudatum مذكرة الماجستير. تخصص كيمياء عضوية تطبيقية. جامعة قاصدي مرباح. ورقة. ص. 10. مذكرة.
- العمرى. نصر احمد.(1993). النباتات الطبية. عودة الى الطبيعة. مجلة اسيوط للدراسات البيئية. جامعة اسيوط. العدد الثامن. يناير. ص. 89-96.
- حسين عبد الحميد نيل.(2007). العجب العجاب في التداوي بالأعشاب القسم الثاني. دار اليقين للنشر و التوزيع. الطبعة الثانية. ص. 273.
- لبوز.(2012). الدراسة الفيتوكيميائية لنبته *Rhetinole pisonadioides Coss* الزيوت الطيارة و الليبيدات. مذكرة ماستر اكايمي. تخصص كيمياء عضوية. جامعة قاصدي مرباح. ورقة. ص. 80.
- ميثاق(2010). بحث و تحديد نواتج الايض الثانوي لنبات القات *CathaEdulis*. مذكرة الدكتوراه. جامعة منتوري قسنطينة. ص. 177.
- عثمان. يحي. حامد.(1994). التداوي بالأعشاب. عدد خاص. جامعة اسيوط. مجلة اسيوط للدراسة البيئية. ص. 59-78.

Sites d'internet

- Anonyme (1) (2017) :<https://books.google.dz/books?id=OthKCwAAQBAJ&pg>.
- Anonyme (2) (2017) :<http://kenanaonline.com/users/Emap/posts/686846>.
- Anonyme (3) (2017) :<http://download-health-medicine-pdf-ebooks.com/2231-free-book>.

Annexes

-Annexe 01: Le matériel de laboratoire utilisé.



Rota vapeur

Etuve

Appareil de distillation



Agitateur magnétique

Balance de précision

Bac benzène



Bain-marie



Autoclave



Spectrophotomètre



Micro onde

Annexe 02: Les verriers utilisés

- Pipettes
- Micro pipette
- Boîtes de pétries
- Tubes à visse
- Flacons (250 ml)
- eumolpes
- Béchers
- Spatule
- Pipettes pasteur
- Papier Whatmann
- Entonnoir
- Anse de platine et les ompoles

Annexe 03 : Préparation des solutions pour l'analyse biochimique.

➤ **Ethanol 70%**

Ethanol	70ml
Eau distillée.....	30ml

➤ **Eau physiologique**

Chlorure de sodium.....	9g
Eau distillée.....	1000ml

Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min.

➤ **Chlorure ferrique**

Chlorure ferrique.....	0.1g
Eau distillée.....	100ml

Annexe03 : Composition des milieux de culture.

➤ **Gélose Mueller-Hinton**

Infusion de viande de bœuf.....	3000cm ³
Peptone de caséine.....	17.5g
Amidon de maïs.....	1.5g
Agar.....	17g
Eau distillée.....	1000ml

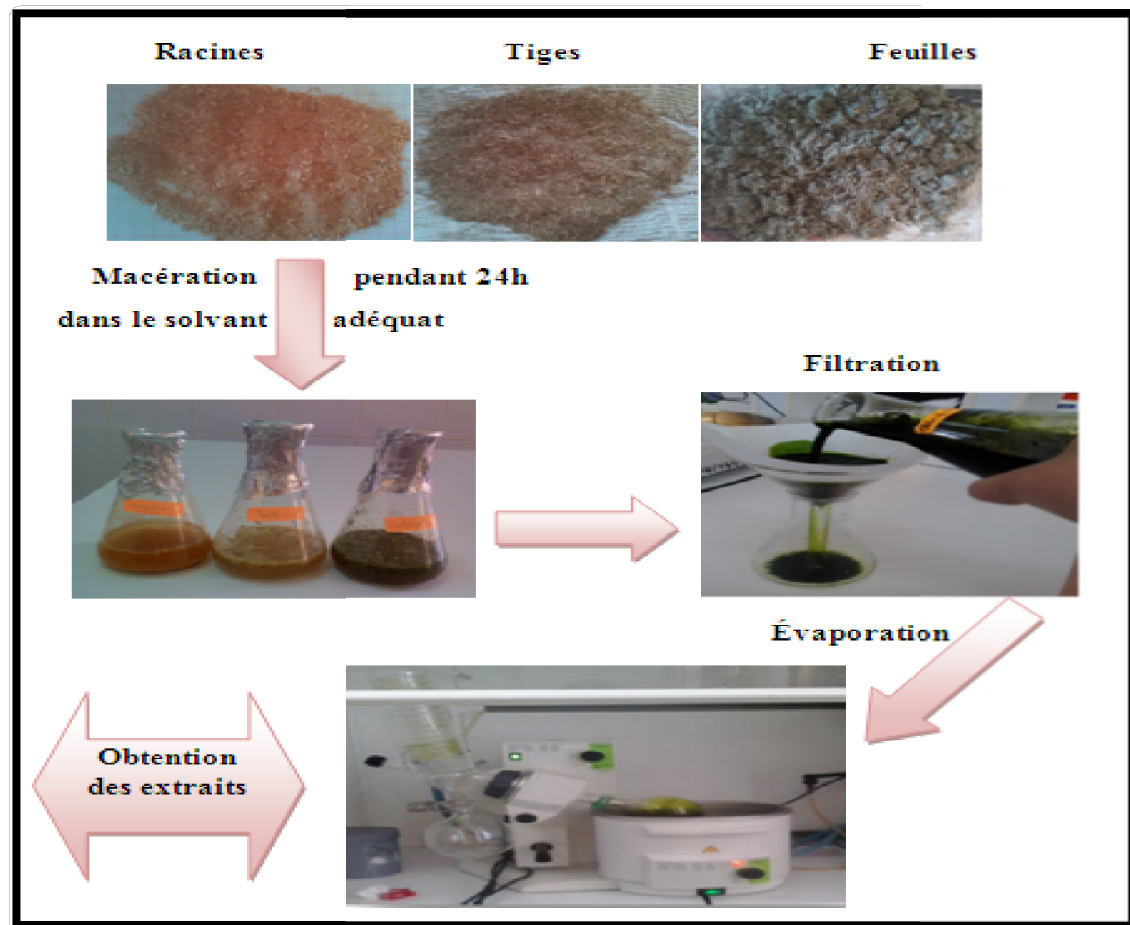
Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min.

➤ **Bouillon nutritif (pH 7,2)**

Peptone.....	5 g
Extrait de viande	1g
Extrait de levure.....	2g
Chlorure de sodium.....	5g
Eau distillée.....	1000ml

Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min.

Annexe 04 : Le principe de la macération.



Résumé

Dans le contexte d'évaluation de la richesse en ressources naturelles végétales et en particulier en espèces médicinales dans la région du Mila. Notre étude est intéressée à détecter les substances bioactives et à évaluer l'activité antimicrobienne des extraits de ces substances qui sont isolés d'une espèce médicinale pousse spontanément le *Marrubium vulgare* de la famille lamiacées, qui est utilisée pour ses vertus thérapeutiques.

Le criblage phytochimique préliminaire des trois organes (feuilles, tiges et racines) de cette plante a montré qu'ils contiennent des saponines, des tanins, des glycosides, des huiles essentielles, des flavonoïdes, des alcaloïdes, des stérols et triterpènes, quand les cardinolides ne sont révélés que dans la partie aérienne. Le test de l'activité antimicrobienne a été effectué sur les extraits éthanoliques et les extraits aqueux de la partie aérienne de *Marrubium vulgare* aux différents concentrations vis-à-vis deux souches bactériennes, il a montré que les extraits éthanoliques sont actif contre les deux souches bactériennes avec un degré différent dont la zone d'inhibition la plus grande obtenue envers le *Staphylococcus aureus* (25mm pour l'extrait des feuilles, 20mm pour l'extrait des tiges, dans le C/8). Par contre les extraits aqueux n'ont aucun effet remarquable contre la croissance microbienne. D'une manière globale, l'inhibition de la croissance bactérienne varie en fonction de souches testées, de la concentration et la nature de l'extrait utilisé.

Les mots clés : Plantes médicinales, *Marrubium vulgare*, criblage phytochimique, substances bioactives, extrait, activité antibactérienne.

ملخص

في إطار تثمين الغنى بالموارد النباتية وبصفة خاصة النباتات الطبية في منطقة ميلة. اهتمت دراستنا بالكشف عن المواد الفعالة وتقييم النشاط المضاد للبكتيريا لهذه المواد المعزولة من نوع نباتي، طبي ويرى النعناع الأبيض *Marrubium vulgare* من العائلة الشفوية، والذي يستخدم من أجل خصائصه العلاجية. المسح الكيميائي لأجزائه الثلاثة (الأوراق، السيقان والجذور) بين احتوائها على الصابونيات، التانينات، الجلوكوسيدات، الفلافونويدات، القلويدات، الزيوت الطيارة، التربينات الثلاثية والسترويدات، إلا أن الكاردينوليدات لم تظهر إلا في الجزء الهوائي للنبات. الكشف عن القدرة ضد بكتيرية أجري على المستخلصات الكحولية و المستخلصات المائية للجزء الهوائي لنبات النعناع الأبيض بتركيز مختلفة، اتجاه سلالتين بكتيريتين، أظهر فعالية المستخلصات الكحولية ضد السلالتين البكتيريتين، بدرجة مختلفة، وأكبر منطقة تثبيط تم الحصول عليها اتجاه البكتيريا موجبة الجرام (25مم لمستخلصات الاوراق، 20مم لمستخلصات السيقان، في C / 8). على عكس المستخلصات المائية التي لم تبد أي تأثير ملحوظ على نمو البكتيريا. على العموم تثبيط النمو الميكروبي يختلف بفعل السلالات المختبرة، تركيز وطبيعة المستخلص المستخدم.

الكلمات المفتاحية : النباتات الطبية، النعناع الأبيض، المسح الكيميائي، المواد الفعالة، المستخلص، النشاط المضاد للبكتيريا.

Summary

In the context of assessing the richness of plant natural resources and especially medicinal species in the region of Mila. Our study is interested in detecting bioactive substances and evaluating the antimicrobial activity of extracts of these substances which are isolated from a medicinal species spontaneously grows *Marrubium vulgare* of the family lamiaceae, which is used for its therapeutic virtues.

The preliminary phytochemical screening of the three organs (leaves, stems and roots) of this plant showed that they contain saponins, tannins, glycosides, essential oils, flavonoids, alkaloids, sterols and triterpenes when cardinolides are revealed only in the aerial part. The antimicrobial activity test was carried out on the ethanolic extracts and the aqueous extracts of the aerial part of *Marrubium vulgare* at the different concentrations with respect to two bacterial strains showed that the ethanolic extracts are active against the two bacterial strains (25 mm for leaf extract, 20 mm for stems extract, in the C / 8), with a different degree with the greatest inhibition zone towards *Staphylococcus aureus*. On the other hand, aqueous extracts have no remarkable effect against microbial growth. Overall, the inhibition of bacterial growth varies depending on the strains tested, the concentration and the nature of the extract used.

Keywords: Medicinal plants, *Marrubium vulgare*, phytochemical screening, bioactive substances, extract, antibacterial activity.