

الجمهورية الديمقراطية الشعبية الجزائرية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة أبو بكر بلقايد- تلمسان
Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEN
كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de l'Univers
Département de BIOLOGIE



Laboratoire Antibiotiques Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique

MÉMOIRE

Présenté par

**Miloudi Nour El houda
Mouffok Meriem**

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER en Sciences biologiques

Option : **Biochimie appliquée**

Thème :

**Évaluation du pouvoir antioxydant de quelques
extraits de *Marrubium vulgare L***

Soutenu le 21 / 06 / 2023, devant le jury composé de :

Président	Mr AZZI Rachid	Pr	Université de Tlemcen
Examineur	Mr CHAUCHE Mohammed Tarik	MCA	Université de Tlemcen
Encadrant	M ^{elle} MEZOUAR Dounia	MCA	Université de Tlemcen

Année universitaire 2022/2023

Remerciements

Avant tout propos, nous remercions ALLAH le tout Puissant de nous avoir donnée la capacité et la volonté, la force, le courage, d'entamer et de terminer ce mémoire.

Nos remerciements s'adressent en particulier à notre encadrant, Dr **MEZOUAR Dounia**, Maître de conférences classe A, au département de biologie à l'Université Abou Bekr Belkaïd – Tlemcen, d'avoir accepté de nous encadrer et de nous diriger, pour son soutien, ses encouragements ainsi que pour la confiance qu'elle nous a accordée pour la réalisation de ce travail.

Nous remercions également les membres de jury : le Président, Pr **AZZI Rachid** et l'Examineur, Dr **CHAOUCHE Mohammed Tarik**, enseignants au département de biologie à l'Université Abou Bekr Belkaïd – Tlemcen, pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Nous tenons à remercier Dr **BENARIBA Nabila** et Dr **MEDJDOUB Houria**, enseignantes, au département de biologie à l'Université Abou Bekr Belkaïd – Tlemcen. Merci de nous accompagner sur ce chemin pédagogique.

Enfin, nous remercions toute personne qui a participé à la réussite de ce travail, pour lequel nous avons tant consacré en y mettant tout notre cœur.

Dédicace

Avant tout, je remercie **Dieu le** Tout-Puissant, qui m'a accordé le don de la raison et de la religion qui m'a donnée la volonté de continuer mes études et faire ce modeste travail.

je le dédie à :

À mes très chères parents, source de tendresse et d'amour qui m'ont tout donné et pour les sacrifices qu'ils ont consenti pour mon instruction, que Dieu les gardes et les entoure de sa bénédiction.

À mon chère amie Bourouis Khaoula, qui m'a soutenu dans mes jours difficiles et a été une source de force pour moi. Merci d'être dans ma vie et de toujours m'encourager et de me donner de l'espoir, surtout dans ces moments où je me sentais presque désespérée et découragée. Peu importe à quel point je te remercie, mes paroles ne rempliront pas ton droit, mon amour.

À ma soeur Zahira, je lui souhaite beaucoup de succès dans son parcours académique.

À mes frères Mohammed, Abed EL illah et Riyad.

À ma binôme Meriem, j'ai été honoré de travailler avec toi. Je te remercie pour votre patience et votre diligence au travail et louange à Dieu qui nous a réunis dans ce travail.

Et à tous ceux me connaissent de près ou loin, je dis merci pour votre amour et votre soutien.

Nour EL Houda

Dédicace

Je dédie ce modeste travail en signe de respect, de reconnaissance et de Gratitude :

À Dieu de tout puissant, de m'avoir donné le courage, la santé et m'accordé son soutien durant les périodes les plus difficiles.

À mes chers parents, pour être restés à mes côtés et avoir été patients avec moi dans mes moments difficiles, que Dieu vous protège pour moi.

*À mon cher et unique frère, **Mohammed**, pour avoir fait partie de ma vie, je le remercie pour ses conseils et son aide.*

À ma modeste petite famille, pour leur soutien et leurs encouragements. Sans oublier mes amis et camarades de classe, merci.

*À mon binôme **Nour El Houda** qui a partagé avec moi les moments difficiles pour réaliser ce travail.*

Je remercie toutes les personnes que je n'ai pas pu citer leurs noms ici, et qui ont participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

Meriem

المخلص

يحدث الإجهاد التأكسدي عندما لا يستطيع الجسم التحكم في الجذور الحرة الزائدة بسبب نقص مضادات الأكسدة. لهذا السبب، حظي البحث عن مضادات الأكسدة الطبيعية باهتمام كبير نظرا لقدرتها على محاربة الاضطرابات الناتجة عن الإجهاد التأكسدي، كما انها تعتبر بديل لمضادات الأكسدة الصناعية التي تشكل خطرا على الصحة. تحتوي النباتات الطبية على مجموعة متنوعة من مضادات الأكسدة، بما في ذلك المركبات الفينولية المصنفة من بين أفضل مضادات الأكسدة الطبيعية. في هذا السياق، يركز عملنا على دراسة كيميائية نباتية وبيولوجية لمستخلصين خامين تم تحضيرهما بواسطة النقع، مستخلص هيدروأسيون ومستخلص هيدروإيثانول لأوراق المربوة (*L. Marrubium vulgare*). كشفت الدراسة الكيميائية النباتية عن وجود العفص والتربينويدات والمركبات المختزلة. أظهرت قيمة المركبات الفينولية أن مستخلص الهيدروأسيون يحتوي على محتوى أعلى من إجمالي المركبات الفينولية (8.4 ± 90.06 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك/ملغ مستخلص) ومن الفلافونويدات (1.55 ± 24.14 ميكروغرام مكافئ الكاتيشين/ملغ مستخلص)، مقارنة بمستخلص الهيدروإيثانول (2.8 ± 62.13 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك/ملغ مستخلص) و (0.38 ± 17.07 ميكروغرام مكافئ الكاتيشين/ملغ مستخلص)، على التوالي.

أظهرت دراسة النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات الخامة، أن مستخلص الهيدروأسيون له أفضل فعالية مقارنة بمستخلص الهيدروإيثانول، حيث أن قيمة IC_{50} تساوي $3,20 \pm 0.02$ ملغ/مل لاختبار تثبيط الجذر الحر DPPH، وأظهر نفس المستخلص قيمة جيدة لإرجاع الحديد بقيمة EC_{50} تعادل 2.34 ± 0.02 ملغ/مل. تظل هذه القيم أقل من تلك التي تم الحصول عليها لحمض الأسكوربيك (IC_{50} تساوي 0.098 ± 0.03 ملغ/مل، EC_{50} تعادل 0.14 ± 0.02 ملغ/مل). تظهر مستخلصات مربوة خصائص مضادة للأكسدة مثيرة للاهتمام والتي يمكن ان تحد من الإجهاد التأكسدي، مما يبرر استخدام النبات في سياق الوقاية من أمراض التمثيل الغذائي وعلاجها.

الكلمات المفتاحية: مربوة *Marrubium vulgare*، مستخلص الهيدروأسيون، مستخلص الهيدروإيثانول، المركبات الفينولية، نشاط مضاد للأكسدة.

Résumé

Le stress oxydatif se produit lorsque l'organisme ne peut pas contrôler l'excès des radicaux libres, en raison d'un déficit aux antioxydants. Pour cette raison, la recherche d'antioxydants naturels a fait l'objet d'une grande attention en raison de leur capacité à lutter contre les troubles issus de stress oxydatif, et ils sont considérés comme une alternative aux antioxydants synthétiques qui présentent un risque pour la santé. Les plantes médicinales contiennent une variété des antioxydants notamment les composés phénoliques qui sont classés parmi les meilleurs antioxydants naturels. Dans ce cadre, notre travail est porté sur une étude phytochimique et biologique de deux extraits bruts préparés par macération, les extraits hydroacétonique et hydroéthanolique des feuilles de *Marrubium vulgare* L.

L'étude phytochimique a permis de mettre en évidence la présence des tanins, des terpénoïdes et des composés réducteurs. Le dosage des composés phénoliques a montré que l'extrait hydroacétonique a une teneur plus élevée en composés phénoliques totaux ($90,06 \pm 8,4 \mu\text{g EAG/mg E}$) et en flavonoïdes ($24,14 \pm 1,55 \mu\text{g EC/mg E}$), par rapport à l'extrait hydroéthanolique ($62,13 \pm 2,8 \mu\text{g EAG/mg E}$) et ($17,07 \pm 0,38 \mu\text{g EC/mg E}$), respectivement.

L'étude de l'activité antioxydante des extraits bruts de *Marrubium vulgare* a montré que l'extrait hydroacétonique possède la meilleure activité par rapport à l'extrait hydroéthanolique, exhibant une CI_{50} de l'ordre de $3,20 \pm 0,02 \text{ mg/ml}$ pour le test de piégeage de radical libre DPPH, et une CE_{50} de l'ordre de $2,34 \pm 0,02 \text{ mg/ml}$ pour le test de réduction de fer (FRAP). Ces valeurs restent inférieures à ceux obtenues pour l'acide ascorbique ($CI_{50} = 0,098 \pm 0,03 \text{ mg/ml}$ et $EC_{50} = 0,14 \pm 0,02 \text{ mg/ml}$).

Les extraits de *Marrubium vulgare* L présentent des propriétés antioxydantes intéressantes qui peuvent limiter le stress oxydatif, ce qui justifie l'utilisation de la plante dans le contexte de la prévention et du traitement des maladies métaboliques.

Mots clés : *Marrubium vulgare* L, extrait hydroacétonique, extrait hydroéthanolique, composés phénoliques, activité antioxydante.

Abstract

Oxidative stress occurs when the body is unable to control excess free radicals, due to a deficiency in antioxidants. For this reason, research into natural antioxidants has received a great deal of attention for their ability to combat disorders resulting from oxidative stress, and they are seen as an alternative to synthetic antioxidants which present a health risk. Medicinal plants contain a variety of antioxidants, particularly, phenolic compounds, which are classified among the best natural antioxidants. In this context, our work focuses on a phytochemical and biological study of two crude extracts prepared by maceration, hydroacetic and hydroethanolic extracts of *Marrubium vulgare* L. leaves.

The phytochemical study revealed the presence of tannins, terpenoids and reducing compounds. The determination of phenolic compounds showed that the hydroacetic extract had a higher content of total phenolic compounds ($90.0 \pm 8,4 \mu\text{g GAE/mg E}$) and flavonoids ($24.14 \pm 1,55 \mu\text{g CE/mg E}$), compared to the hydroethanolic extract ($62.13 \pm 2,8 \mu\text{g GAE/mg E}$) and ($17.07 \pm 0,38 \mu\text{g EC/mg E}$), respectively.

The study of the antioxidant activity of crude extracts of *Marrubium vulgare* showed that the hydroacetic extract possessed the better activity compared to the hydroethanolic extract, exhibiting an IC_{50} equal to $3.20 \pm 0,02 \text{ mg/ml}$ for the DPPH free radical scavenging test, and an EC_{50} equal to $2.34 \pm 0,02 \text{ mg/ml}$ for the iron reduction test (FRAP). These values remain lower than those obtained for ascorbic acid ($\text{IC}_{50} = 0.098 \pm 0,03 \text{ mg/ml}$ and $\text{EC}_{50} = 0.14 \pm 0,02 \text{ mg/ml}$) in our study.

Extracts of *Marrubium vulgare* L. have an interesting antioxidant property that can limit oxidative stress, which explains why the plant is used in the prevention and treatment of metabolic diseases.

Key words: *Marrubium vulgare* L., hydroacetic extract, hydroethanolic extract, phenolic compounds, antioxidant activity.

Liste des abréviations

$^1\text{O}_2$: Oxygène singulet

Api : Apiose

Ara : Arabinose

Xyl : Xylose

4-HNE : 4-hydroxynonéal

AGPI : Acides gras polyinsaturés

AlCl_3 : Chlorure d'aluminium

CAT : Catalase

DPPH $^{\bullet}$: 2,2diphényl- 1-picryl-hydrazyl

DPPH-H : 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazine

ERN : Espèces réactives de l'azote

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

Fe^{+2} : Fer ferreux

FRAP : Ferric reducing/antioxidant power

GPx : Glutathion peroxydase

H_2O_2 : Peroxyde D'hydrogène

$\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_4$: Acide phosphomolybdique

$\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$: Acide phosphotungstique

HOCL : Acide hypochloreux

$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$: Ferricyanure de potassium

MDA : Malondialdéhyde

MO_8O_{23} : Molybdènes

N_2O_3 : Trioxyde diazote

Na_2CO_3 : Carbonate de sodium

NADH : Nicotinamide-adénine-dinucléotide d'hydrogène

NADPH : Nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate

NaNO₂ : Nitrite de sodium

NH₄OH : Hydroxyde d'ammonium

NO : Monoxyde d'azote

NO[•] : Oxyde nitrique

NO₂[•] : Dioxyde d'azote NO₂[•]

NOS : Oxyde nitrique synthase

NOX : Oxyde nitrique Oxydases

O₂^{•-} : Radical superoxyde

OH[•] : Radical hydroxyle

ONOO[•] : Peroxynitrite

QH : Semiquinone

QH₂ : Ubiquinone

R[•] : Radicaux Alkyles

RL : Radicaux libres

ROO[•] : Peroxydes

ROOH : Hydro-peroxydes organiques

-SH : Groupe thiol

SOD : Superoxyde dismutase

-SOH : Acide sulfénique

-SS- : Liaisons disulfure

TCA : Acide trichloracétique

UAE : Ultrasound-assisted extraction

W₈O₂₃ : Tungstène

Liste des figures

Figure N° 01 : Feuilles de <i>Marrubium vulgare</i> L	5
Figure N° 02 : Aspect morphologique de la plante <i>Marrubium vulgare</i> L	6
Figure N° 03 : Déséquilibre antioxydant/ oxydant	16
Figure N° 04: Formation de l'oxygène singulet	19
Figure N° 05 : Structure de la 8-oxo-7,8-dihydrodésoxyguanosine	22
Figure N° 06 : Les Dommages de l'ADN mitochondrial dus au stress oxydatif	22
Figure N° 07 : La Réduction de H ₂ O ₂ en H ₂ O par le GPx	24
Figure N° 08: Structure chimique de la vitamine C	25
Figure N° 09 : Structure de β-carotène	25
Figure N° 10: Structure générale des flavonoïdes	26
Figure N° 11 : Feuilles séchées <i>Marrubium vulgare</i> L (photo personnelle)	28
Figure N° 12: Préparation d'extrait hydroacétonique et extrait hydroéthanolique des feuilles de <i>marrubium vulgare</i> L.....	29
Figure N° 13 : Forme oxydée et réduite du DPPH.....	33
Figure N° 14 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	39
Figure N° 15: Courbe d'étalonnage de la catéchine.....	40
Figure N° 16 : Piégeage du radical DPPH par l'acide ascorbique.....	42

Figure N° 17	:	Piégeage du radical DPPH par l'extrait hydroacétonique.....	42
Figure N° 18	:	Piégeage du radical DPPH par l'extrait hydroéthanolique.....	42
Figure N° 19	:	Pouvoir réducteur du fer de l'acide ascorbique.....	43
Figure N° 20	:	Pouvoir réducteur du fer de l'extrait hydroacétonique et hydroéthanolique....	44

Liste des Tableaux

Tableau N°01	:	Quelques composés chimiques de <i>Marrubium vulgare</i> L avec leurs structures.....	8
Tableau N° 02	:	Utilisation traditionnelle en Algérie de la plante <i>Marrubium vulgare</i> L.....	12
Tableau N° 03	:	Espèces réactives de l'oxygène (ERO)	17
Tableau N° 04	:	Espèces réactives de l'azote (ERN)	19
Tableau N° 05	:	Rendement de l'extrait hydroacétonique et hydroéthanolique.....	36
Tableau N° 06	:	Résultats des tests phytochimiques réalisés sur les extraits bruts des feuilles du <i>Marrubium vulgare</i> L	37

Remerciements
Dédicaces
Liste des abréviations
Table des matières
Liste des figures
Liste des tableaux

Table des matières

Introduction.....1
Partie Bibliographique
Chapitre I :*Marrubium vulgare* L
1-Généralité sur les plantes
médicinales.....4
2- Plante étudiée : *Marrubium vulgare* L.....4

2-1-Classification			
botanique.....			4
2-2-Description botanique			5
2-3-		Répartition	
géographique.....			6
2-4-Composition	chimique		...
.....			6
2-5-Utilisations traditionnelles			11
2-6-Activités	biologiques	
.....			12
2-6-1-	Activité	antioxydante.....	
.....			12
2-6-2-Activité	antibactérienne	
.....			13
2-6-3-Activité	anti-inflammatoire	
.....			13
2-6-4-	Activité	hémostatique
.....			14
2-6-5-Activité	antidiabétique	(anti	hyperglycémiante)
.....			14

Chapitre II : Stress oxydatif

1- Définition			
.....			16
2-Radicaux	libres.....		
.....			16
2-1-Principales espèces réactives.....			16
2-1-1-Espèces réactives de l'oxygène (ERO).....			17
2-1-2-Espèces réactives de l'azote (ERN)			19
3- Sources des espèces réactives de l'oxygène (ERO			20

3-1-NAD(P) H oxydases (NOX)	20
3-2-Xanthine oxydase.....	20
3-3-Mitochondrie	21
4- Cibles biologique des ERO.....	21
4-1-Oxydation de l'ADN.....	21
4-2- Oxydation des protéines.....	22
4-3-Oxydation des lipides.....	23
5-Antioxydants.....	23
5-1- Types des antioxydants	23
5-1-1- Antioxydants endogène	23
A- Superoxyde dismutase (SOD)	23
B-Catalase (CAT)	24
C-Glutathion peroxydases (GPxs)	24
5-1-2- Antioxydants exogène	24
A- Vitamine E.....	24
B- Vitamine C.....	24
C- Caroténoïdes	25
D- Flavonoïdes	25

Matériel et Méthodes

1-Etude phytochimique

1-1-Matériel Végétal	28
1-2-Préparation des extraits.....	28
1-2-1-L'extrait hydroacétonique	29
1-2-2-L'extrait hydroéthanolique	29
1-3- Rendement.....	29
1-4- Les tests phytochimiques.....	30
1-4-1-Les alcaloïdes	30
1-4-2- Les tanins.....	30
1-4-3- Les flavonoïdes.....	30
1-4-4-Les quinones libres.....	30
1-4-5-Les anthraquinones	30
1-4-6- Les saponines	31
1-4-7-Les terpénoïdes (test de slakowski).....	31
1-4-8-Les composés réducteurs.....	31
1-5-Dosage des composés phénoliques et flavonoïdes.....	31
1-5-1-Dosage des composés phénoliques totaux.....	31
1-5-2-Dosage des Flavonoïdes.....	32
2-Etude de l'activité antioxydante des extraits de <i>Marrubium vulgare</i> L.....	32
2-1-Piégeage du radical libre DPPH.....	32
2-2- Test de pouvoir réducteur (Ferric Reducing Antioxydant Power, FRAP)	34

Résultats et discussion

1-Rendement des extractions	36
2-Etude phytochimique qualitative.....	36
3-Dosage des composés phénoliques de <i>M. vulgare</i> L	38
3-1-Teneur en composés phénoliques totaux.....	38
3-2-Teneur en Flavonoïdes.....	39
4-Evaluation de l'activité antioxydant des extraits de <i>M.vulgare</i> L	40
4-1-Résultats de l'activité antioxydante par piégeage du radical libre DPPH (2.2-diphényl-1-picrylhydrazyl)	40
4-2-Test de pouvoir réducteur (Ferric Reducing Antioxydant Power, FRAP)	43
Conclusion	46
Références Bibliographique.....	48

INTRODUCTION

Introduction :

Le stress oxydatif est une situation anormale que traverse l'organisme lorsqu'il est exposé à une surproduction des radicaux libres qui dépassent ses capacités antioxydantes. L'excès des radicaux libres non neutralisés par les antioxydants a un effet nuisible sur les macromolécules de l'organisme entraînant plusieurs maladies telles que le cancer, les pathologies oculaires et les maladies neurodégénératives (**Favier., 2006**). De nombreuses études montrent que les antioxydants jouent un rôle essentiel dans le maintien de la santé humaine, la prévention et le traitement des maladies, en raison de leur capacité à réduire le stress oxydatif (**Munteanu et Apetrei., 2021**). Les antioxydants proviennent de différentes sources, certains sont produits par l'organisme (antioxydants endogènes), et d'autres proviennent de l'alimentation, appelés antioxydants exogènes comme les composés phénoliques (**Favier., 2006**).

Les antioxydants qui proviennent des plantes médicinales, comme les composés phénoliques, sont capables de piéger les radicaux libres. A cet effet, ces antioxydants naturels ont attiré beaucoup d'attention récemment, et de nombreuses études épidémiologiques ont montrés que les antioxydants d'origine végétale peuvent réduire l'incidence de certaines maladies. Les composés phénoliques ayant un impact positif sur la santé humaine, représenté par leur propriété antioxydante, est due à leur structure chimique. De plus, les antioxydants naturels sont des alternatives aux antioxydants synthétiques qui présentent un risque pour la santé (**Chroho et al., 2021 ; Madhvi et al., 2020**).

La médecine moderne, s'est récemment intéressée de plus en plus à synthétiser des médicaments extraits des plantes médicinales (**Chedia et al., 2014**). De plus, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a souligné la nécessité et l'importance de rechercher des médicaments à base des drogues végétales pour traiter diverses maladies (**Mittal et Nanda., 2016**).

La famille des Lamiacées, qui comprend un grand nombre de plantes à usage médicinale, environ 7100 espèces dans le monde, est l'une des familles de plantes les plus couramment utilisées (**Menaiaia et al., 2021 ; Khaled-khodja et al., 2014**). Le *Marrubium vulgare* L, est une espèce qui appartient à la famille des lamiacées. Elle est très utilisée en médecine traditionnelle pour ses diverses propriétés antifongiques, antidiabétiques, antispasmodiques, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, et antioxydantes (**Menaiaia et al., 2021 ; Ghedadba et al., 2014a**).

C'est dans ce contexte que la présente étude a été menée, et a pour objectif d'évaluer *in vitro* l'activité antioxydante de l'extrait hydroacétonique et de l'extrait hydroéthanolique des feuilles de *Marrubium vulgare* L., au moyen de deux tests : la réduction du fer (Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)) et le piégeage de radical libre DPPH (2,2diphényl- 1-picryl-hydrazyl).

Voici comment nous présenterons notre mémoire :

- ✓ La première partie comporte une partie bibliographique composée de deux chapitres. Le premier, traite la plante *Marrubium vulgare* L (de sa classification botanique à ses activités biologiques). Ensuite, nous passerons au deuxième chapitre, qui combine à la fois, le stress oxydatif et les antioxydants ;
- ✓ La deuxième partie, est la partie expérimentale qui inclut le matériel et les méthodes utilisés dans notre travail ;
- ✓ La troisième partie inclut les résultats obtenus et la discussion. Elle comprend les résultats de l'étude phytochimique qualitative, l'étude quantitative des composés phénoliques et des flavonoïdes et l'étude de l'activité antioxydante de la plante par mesure du pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH, et le pouvoir réducteur du fer (FRAP).

Chapitre I : *Marrubium vulgare* L

Chapitre I : *Marrubium vulgare* L**1. Généralité sur les plantes médicinales :**

Pendant longtemps, les plantes médicinales ont été utilisées dans le monde pour améliorer la santé humaine et soigner plusieurs maladies (Akther et al., 2013). Selon l'organisation mondiale de la Santé (OMS), environ 80% de la population mondiale dans les pays en développement profite des apports de la médecine traditionnelle à base des plantes, et ceci, en raison de la pauvreté ainsi que du manque d'accès à la médecine moderne (Amri et al., 2017 ; Laouissi et Boumezough., 2020).

La plante médicinale, est toute plante contenant une ou plusieurs molécules actives capable de prévenir ou de guérir des maladies. Les plantes médicinales sont importantes dans l'arsenal thérapeutique de l'humanité, elles sont utilisées en médecine traditionnelle pour leurs propriétés particulières bénéfiques pour la santé humaine. Ce sont des médicaments végétaux, dont au moins une partie a des effets médicamenteux en raison de leurs principes actifs. (Tayeb bey et Mouissi., 2022). La plante entière ou une partie de la plante utilisée dont, les racines, les feuilles, les fleurs, les tiges ...etc, sont utilisées de différentes manières, comme infusion, décoction, macération et autres préparations (Amroune., 2018).

2. Plante étudiée : *Marrubium vulgare* L:**2.1 Classification botanique :**

La classification botanique de l'espèce *Marrubium vulgare* L (Al-Snafi et al., 2021), est comme suit :

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Embranchement : Spermatophytae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous classe : Asteranae

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre espèce : *Marrubium vulgare* L.

Les Noms vernaculaires de la plante étudiée (**Attabi et Bouzekri., 2013**), sont comme suit :

Arabe (en Algérie) : Timeriout, Marriout.

Français : Marrube Blanc, Marrube commun.

Anglais : White Horehound.

2.2 Description botanique:

Marrubium vulgare L, connue en Algérie par le nom de « Marriout » (**Hameg et Taleb., 2018**), est une plante herbacée vivace très rameuse, à odeur de thym (**Djahra et al., 2012 ; Damerdji et Chekrouni., 2015**). Les feuilles sont de couleur verte blanchâtre, disposées par paires, la face supérieure est ridée, tandis que la face inférieure est fortement nervurée. Elles sont opposées l'une en face de l'autre sur la tige (**figure N° 01**). Les fleurs sont blanches et en verticilles axillaires serrées, et un calice qui se termine par dix dents recourbées vers l'intérieur (**Tayeb bey et Mouissi., 2022**). Les racines sont ligneuses, pivotantes, ramifiée avec plusieurs racines latérales fibreuses (**figure N° 02**). De nombreuses tiges ramifiées avec une hauteur de 20 à 100 cm (**Acimović et al., 2020**).



Figure N° 01 : Feuilles de *Marrubium vulgare* L (photo personnelle).

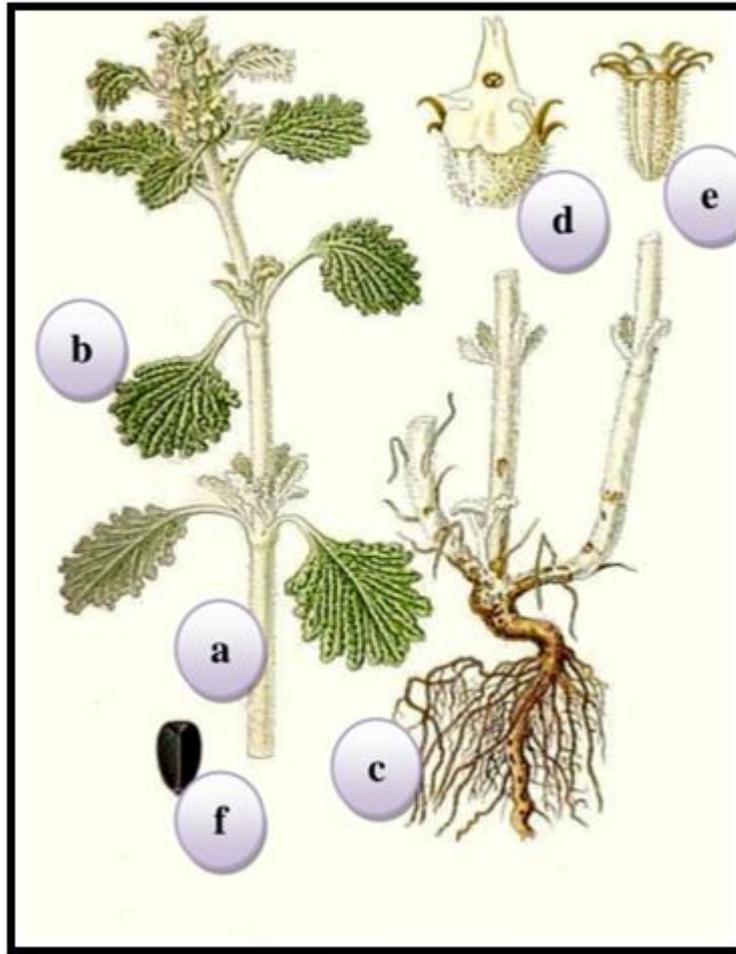


Figure N° 02 : Aspect morphologique de la plante *Marrubium vulgare* L (Ghedadba., 2018).

a. Tige ; b. Feuilles ; c. Racine ; d. Fleur ; e. Calice ; f. Graine.

2.3 Répartition géographique :

Le genre de *Marrubium* comporte environ 40 espèces (Pipinis et al., 2022), répandues principalement tout le long de la Méditerranée (Mkaddem et al., 2022).

Le marrube blanc est une plante d'origine de l'Europe, de l'Afrique du nord et de l'Asie du Sud-Ouest et Centrale (Mssillou et al., 2021). Le marrube blanc est retrouvé dans les endroits ensoleillés et pousse sur les champs secs, arénacés, et les bords des routes. Cette espèce pousse dans, les djebels et les landes sur sol sec (Damerdji et Chekrouni., 2015).

2.4 Composition chimique :

La plante *Marrubium vulgare* L contient des métabolites secondaires très variés sur le plan structural et représente donc, une source importante de composés bioactifs et de préparations ayant des effets bénéfiques sur la santé humaine (Aćimović et al., 2020).

L'analyse de l'huile essentielle des parties aériennes de *Marrubium vulgare* L récoltée en Algérie, a montré la présence de cinquante composés dont : 1-Octen-3-ol, Phytol, Germacrène D-4-ol, α -pinène Pipéritone, δ -Cadinène, et Benzaldéhyde (**Abadi et Hassani., 2013**).

L'étude de **Belhattab (2007)** menée sur deux huiles essentielles de *M. vulgare* L (récoltée en phase de floraison et en phase végétative) a montré une ressemblance dans leur composition chimique. Les deux huiles contiennent des phénylpropanoïdes, des monoterpènes, des sesquiterpènes et une fraction non-terpénique. En plus, l'eugénol et le β -bisabolène sont les constituants majoritaires dans les deux huiles analysées.

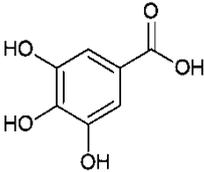
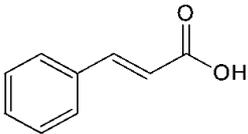
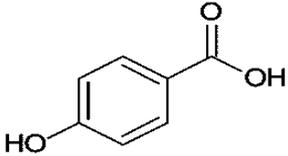
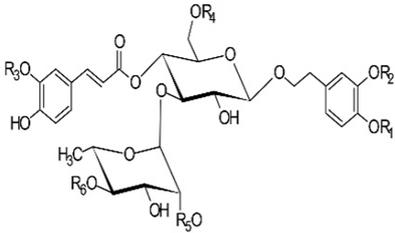
Une étude récente a été menée par **Mkaddem et al (2022)** sur l'analyse de l'huile essentielle des feuilles récoltées à partir de huit populations de *M. vulgare* L à partir de huit localisations géographiques différentes provenant de différentes stations en Tunisie. L'étude de la composition chimique des huiles essentielles a montré que les sesquiterpènes hydrocarbonés représentent la fraction principale de toutes les populations étudiées, dont le β -bisabolène est le constituant majoritaire. En outre, d'autres composants sont présents, comme le bornéole, l' α -terpinéole, terpinène et le camphore.

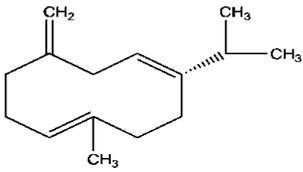
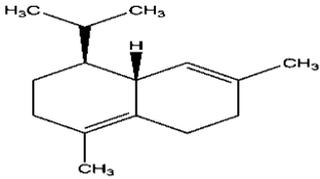
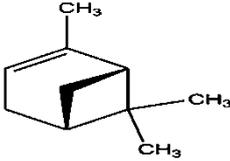
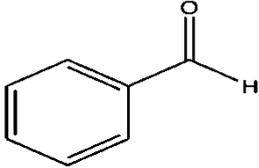
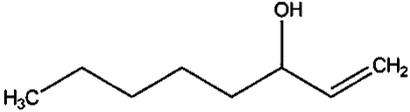
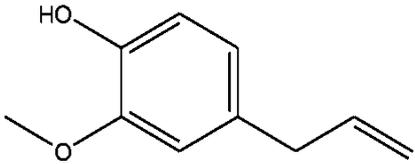
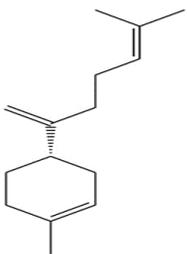
L'analyse qualitative par chromatographie liquide à haute performance HPLC (high performance liquide chromatography) de l'extrait méthanolique des feuilles et des sommités fleuries de *M. vulgare* L, montre la présence de l'acide gallique, de la quercétine, et de quatre molécules de phénylpropanoïdes glycosides : l'arénarioside, le ballotétroside, le forsythoside B et le verbascoside (**Ghedadba et al., 2014 a**). La même espèce de la plante a également produit de la rutine, l'acide trans-cinnamique, l'acide 4-hydroxybenzoïque et le kaempférol 3-O-glucoside (**Ghedadba et al., 2014 b**).

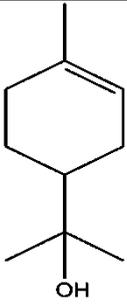
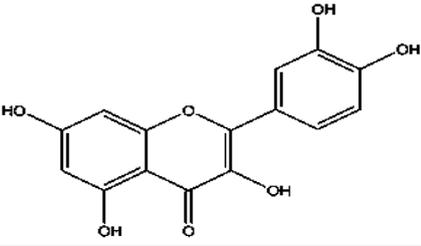
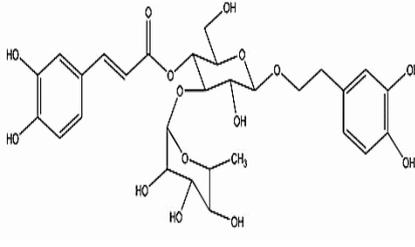
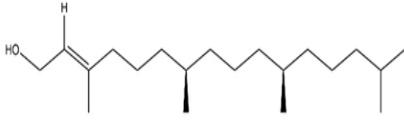
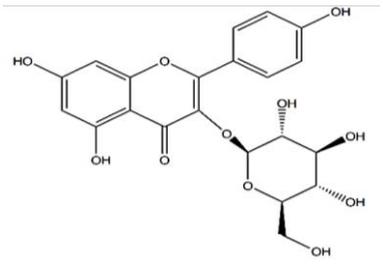
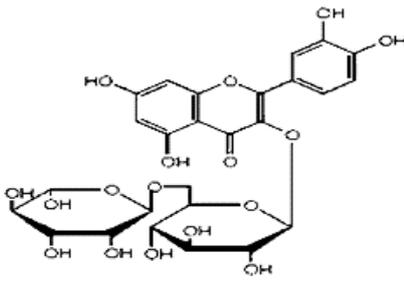
L'étude menée par **Mssillou et al (2021)**, a démontré la présence de treize composés dans les extraits hydroacétonique et hydroéthanolique des feuilles de *M. vulgare* L, dont l'acide malique est la molécule majoritaire.

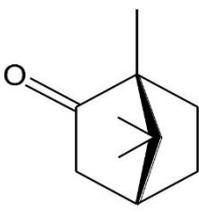
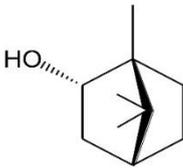
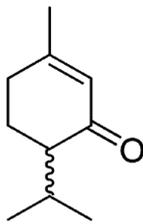
Le tableaux N° 01 présente quelques composés identifiés à partir de différentes parties de la *Marrubium vulgare* L, avec leurs structures.

Tableau N° 01 : Quelques composés chimiques de *Marrubium vulgare* L avec leurs structures

Composés	Structures	Références																											
Acide gallique		(Aćimović et al., 2020)																											
Acide <i>trans</i> -cinnamique																													
Acide 4-Hydroxybenzoïque																													
Forsythoside B (1)																													
Ballotétroside (2)																													
Arénarioside (3)	<table style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <thead> <tr> <th></th> <th>R1</th> <th>R2</th> <th>R3</th> <th>R4</th> <th>R5</th> <th>R6</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>(1)</td> <td>H</td> <td>H</td> <td>H</td> <td>Api</td> <td>H</td> <td>H</td> </tr> <tr> <td>(2)</td> <td>H</td> <td>H</td> <td>H</td> <td>Api</td> <td>Ara</td> <td>H</td> </tr> <tr> <td>(3)</td> <td>H</td> <td>H</td> <td>H</td> <td>Xyl</td> <td>H</td> <td>H</td> </tr> </tbody> </table> <p style="text-align: center;">Api : Apiose ; Ara :Arabinose Xyl : Xylose</p>		R1	R2	R3	R4	R5	R6	(1)	H	H	H	Api	H	H	(2)	H	H	H	Api	Ara	H	(3)	H	H	H	Xyl	H	H
	R1	R2	R3	R4	R5	R6																							
(1)	H	H	H	Api	H	H																							
(2)	H	H	H	Api	Ara	H																							
(3)	H	H	H	Xyl	H	H																							

Germacrène D		(Ibrahim et al., 2023)
δ -Cadinène		(Ibrahim et al., 2023)
α -Pinène		(Ibrahim et al., 2023)
Benzaldéhyde		(Ibrahim et al., 2023)
1-Octen-3-ol		(Ibrahim et al., 2023)
Eugénol		(Ibrahim et al., 2023)
β -Bisabolène		(Ibrahim et al., 2023)

α -Terpinéol		(Ibrahim et al., 2023)
Quercétine		(Ibrahim et al., 2023)
Verbascoside		(Ibrahim et al., 2023)
Phytol		(Ibrahim et al., 2023)
Kaempférol 3-O-glucoside		(Ibrahim et al., 2023)
Rutine		(Achat., 2013)

Bornéol		(Chen et al., 2019)
Camphore		
Pipéritone		(Grudniewska et al., 2013)

2.5 Utilisations traditionnelles :

Marrubium vulgare L. était largement employé en phytothérapie dans l'antiquité pour traiter les affections respiratoires. Il a été recommandé en décoction par le médecin grec Dioscoride pour traiter la tuberculose, l'asthme et la toux.

Les huiles volatiles des feuilles de marrube blanc possèdent une vertu expectorante, il fluidifie les mucosités dans les poumons et est prescrit dans le traitement de la toux ainsi que la coqueluche, des bronchites, des bronchites asthmatiformes.

En plus, l'infusion des feuilles de marrube blanc sont employées dans le traitement des obstructions des organes du bas-ventre et du foie ainsi que la jaunisse. L'utilisation par voie topique de jus de la plante fraîche avec l'huile traite les douleurs des oreilles. En outre, cette drogue végétale améliore le fonctionnement de l'estomac et régule le rythme cardiaque (Chevallier., 2001 ; Wolf., 1906). Elle est utilisée aussi comme antidiarrhéique et antidiabétique (Bouzabata et Yavuz., 2019).

Par voie externe, le marrube blanc est également utilisé sous forme de cataplasmes pour soigner les abcès et les furoncles (Lahsissene et al., 2009).

En Algérie, le marrube blanc est utilisé pour traiter diverses maladies. Son utilisation et son mode de préparation diffère d'un endroit à l'autre. **Le tableau N° 02** reprend quelques-unes des utilisations courantes de *M. vulgare* L dans différentes Wilayas de l'Algérie.

Tableau N° 02 : Utilisations traditionnelles en Algérie de la plante *Marrubium vulgare* L.

Partie utilisée	Mode de préparation	Maladies traitées	Wilaya	Références
Feuilles ; Parie aérienne ; Tiges ; Fleurs	Infusion (usage interne) Décoction (usage externe)	Traitement du diabète et l'hypertension artérielle ; Maladies respiratoires ; Traitement des piqûres d'insectes et désinfection des plaies.	Souk Ahras	(Boutabia et al., 2020)
Feuilles	Décoction Infusion Inhalation Cataplasme	Poussée dentaire ; Manque d'appétit ; Diarrhées ; Fièvre ; Rhume ; Ballonnement.	Boumerdes et Tizi- Ouzou	(Boumerdassi et al., 2022)
Fleurs	Décoction	Maladies digestives	Adrar	(Kadri et al., 2018)
Plante entière ; Fleurs	Décoction	<ul style="list-style-type: none"> Vomissement ; les nausées ; le diabète ; affections respiratoires et infection urinaires. 	M'sila	(Guechi., 2022)

2.6 Activités biologiques :

2.6.1 Activité antioxydante :

L'étude entreprise par **Ghedadba et al (2014 a)** constate que l'extrait méthanolique des feuilles et de sommités fleuries de *Marrubium vulgare* L a une activité antioxydante très important, cela revient à la composition chimique de la plante qui contiennent des puissants

antioxydants qui sont des phénylpropanoïdes glycosylés, dont quatre ont été identifiés : l'arénarioside, le ballotétroside, le forsythoside B, et le verbascoside.

Dans une récente étude menée par **Rached et al (2022)**, sur les composés chimiques et les activités biologiques de l'huile essentielle de *Marrubium vulgare* L, l'huile essentielle (HE) des feuilles de marrube blanc a montré une activité antioxydante très intéressante avec des valeurs de $CI_{50} = 2,998$ mg/ml et $CI_{50} = 1,136$ mg/ml, pour les deux tests réalisés, la réduction du fer (Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)) et le piégeage de radical libre DPPH (Diphényl-picrylhydrazyl), respectivement, par rapport à l'acide ascorbique ($CI_{50} = 0,086$ mg/ml).

2.6.2 Activité antibactérienne :

Les résultats obtenus de l'étude menée par **Djahra et al (2012)** ont montré que les flavonoïdes isolés des feuilles des *Marrubium vulgare* L sont paraissent efficaces vis-à-vis des souches testées suivantes : *Escherichia coli* 12, *Escherichia coli* 1554, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus mirabilis* et *Staphylococcus aureus*. De plus, ils ont confirmé que la plante de *M. vulgare* L possède un pouvoir antiseptique qui est comparable à celui des molécules antibiotiques.

Dans une autre étude réalisée par **Bemmansour et al (2022)**, les auteurs ont montré que les flavonoïdes du marrube blanc présentent une activité antibactérienne. Leurs résultats obtenus ont démontré que *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Escherichia coli* ATCC 25922 sont très sensibles aux anthocyanes et les C-glycosides de l'extrait méthanolique des feuilles et des fleurs de *M. vulgare* L.

2.6.3 Activité anti-inflammatoire :

L'extrait méthanolique des feuilles de *M. vulgare* L a exhibé une activité anti-inflammatoire remarquable, sur l'infarctus du myocarde aigu induit chez les rats, il inhibe la réponse inflammatoire en diminuant les marqueurs pro-inflammatoire. En outre, l'extrait permet de maintenir la structure des cardiomyocytes en diminuant les lésions du tissu cardiaque (**Yousefi et al., 2014**). Cette activité biologique a une vertu proche à ceux du diclofénac et de l'aspirine. Ceci pourrait être dû à la présence des polyphénols, des flavonoïdes et des phénylpropanoïdes glycosylés (**Ghedadba et al., 2016**).

2.6.4 Activité hémostatique :

L'envie de découvrir des nouvelles molécules capables de coaguler le sang dans le but de prévenir et d'arrêter les saignements, a poussé les chercheurs à s'intéresser aux propriétés hémostatiques des plantes médicinales.

Dans ce contexte, **Ghedadba et al (2014 b)** ont montré que *M. vulgare* L représente une source d'intérêt de composés hémostatique. Les auteurs de cette étude montrent que l'extrait aqueux des feuilles de cette plante présente une activité hémostatique et astringente. Cette dernière favorise la vasoconstriction grâce à la présence des tanins.

2.6.5 Activité antidiabétique :

L'extrait éthanolique obtenu par extraction assistée par ultrasons (Ultrasound-assisted extraction (UAE)) de la partie aérienne de la plante, a montré un potentiel d'inhibition élevé, à la fois vis-à-vis de l' α -amylase (81,37 μ g/ml) et de l' α -glucosidase (26,10 μ g/ml) avec un pouvoir inhibiteur similaire à celui de l'acarbose (80 μ g/ml) et (27 μ g/ml), respectivement (**Gavarić et al., 2022**).

Chapitre II :

Stress oxydatif

1. Définition :

Le stress oxydatif résulte d'un déséquilibre entre la production de radicaux libres et la capacité de l'organisme à les neutraliser, ce qui finit par altérer les cellules (**Figure N° 03**). Les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (ERO/ ERN), sont généralement considérées comme les radicaux libres les plus importants, et induisent un endommagement de la plupart des biomolécules, y compris les lipides, les protéines, les acides nucléiques et les hydrates de carbone (**Dasgupta et Klein., 2014 ; Pisoschi et Pop., 2015 ; Laouissi et Boumezough., 2020 ; Sangeetha et al., 2020 ; Anik et al., 2022**).

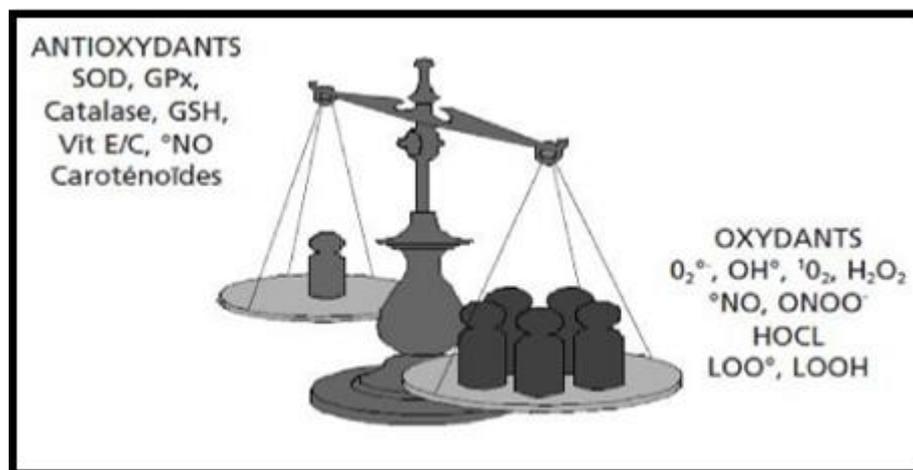


Figure N° 03 : Déséquilibre antioxydant/ oxydant (**Laraba et al., 2016**)

2. Radicaux libres :

Les radicaux libres (RL) sont des molécules qui contiennent un ou plusieurs électrons non appariés. Il peut s'agir de molécules chargées négativement ou positivement ou sans charge électrique. Bien qu'ils aient une courte durée de vie, ils ont un effet grave, car ils sont très actifs dans l'organisme (**Taysi et al., 2019**). Les RL représentent la cause la plus importante du stress oxydatif. De plus, ils provoquent certaines maladies nocives comme les troubles neurologiques...etc (**Unsal et al., 2021**).

2.1. Principales espèces réactives :

Elles sont de deux types : les espèces réactives de l'oxygène et les espèces réactives de l'azote.

2.1.1. Espèces réactives de l'oxygène (ERO) :

L'oxygène est indispensable à la production d'énergie par l'intermédiaire des chaînes de transport d'électrons. Au cours des réactions impliquant l'oxygène, certains métabolites se forment appelés : les espèces réactives de l'oxygène (ERO) (**Tableau N° 03**).

Tableau N° 03 : Espèces réactives de l'oxygène (ERO)

	Espèces réactives de l'oxygène	Propriétés
Espèces radicalaires	Radical superoxyde $O_2^{\bullet-}$	<p>C'est un radical libre chargé négativement. Il est produit à cause de la réaction électronique au niveau du complexe I/III de la chaîne de transport d'électrons mitochondriale.</p> <p>Il joue un rôle très important car il induit à la production d'autres intermédiaires réactifs. Il est dismuté en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) par l'enzyme superoxyde dismutase (SOD) (Taysi et al., 2019 ; Harris et DeNicola., 2020).</p>
	Radical hydroxyle OH^\bullet	<p>C'est un oxydant puissants hautement réactive. Il a des effets nuisibles sur les matériaux biologiques tels que l'ADN, les protéines et les lipides.</p> <p>Il peut être produit de différents manière, parmi eux :</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Réaction de Fenton : Le radical hydroxyle OH^\bullet généré à partir du peroxyde d'hydrogène H_2O_2 en présence d'un cation métallique comme le Fe^{2+} (réaction 1) ou le Cu^{2+}. $H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow OH^\bullet + Fe^{3+} + OH^- \text{ Réaction (1)}$ ○ Réaction de Haber Weiss : Selon la réaction (2), l'interaction de H_2O_2 avec $O_2^{\bullet-}$ donne naissance au radicale hydroxyle (réaction 2). $O_2^{\bullet-} + H_2O_2 \rightarrow OH^\bullet + O_2 + OH^- \text{ Réaction (2)}$ <p style="text-align: center;">(Gardès-Albert et al., 2003)</p>

	Radicaux Alkyles R• et peroxydes ROO•	Se sont de forts agents oxydants qui résultent de l'action oxydante de OH• sur les chaînes d'acides gras polyinsaturés. Ils sont à l'origine de la peroxydation lipidique (Taysi et al., 2019 ; St-Louis., 2011).
Espèces non radicalaires	Oxygène Singulet ¹ O ₂	L'oxygène singulet représente l'état excité de l'oxygène. Il est instable et plus réactif que l'O ₂ , et a des sources nombreuses (Figure N° 04). Il se forme fréquemment en présence d'un photosensibilisateur, qui absorbe les photons et passe à l'état excité, il transmet son excitation à l'oxygène qui devient excité à son tour pour générer l'oxygène singulet (Cillard et Cillard, 2006).
	Peroxyde d'hydrogène H ₂ O ₂	C'est un produit de réaction de la neutralisation de l'O ₂ ^{-•} , catalysé par l'enzyme superoxyde dismutase (SOD), selon la réaction suivante : $O_2^{\bullet-} + O_2^{\bullet-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$ Il a la capacité de diffuser à travers les membranes cellulaires. Le H ₂ O ₂ est métabolisé par l'action de la catalase ou la glutathion peroxydases GPx (Afonso et al., 2007).
	Acide hypochloreux HOCl	C'est un oxydant très fort, produit par les neutrophiles. Il est généré à partir le peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂) et le chlore (Cl) par la myéloperoxydase. Particulièrement abondant dans les phagocytes immunologiquement actifs selon la réaction suivante (Taysi et al., 2019 ; Hamma et al., 2015) : $H_2O_2 + Cl^- \rightarrow HOCl + OH^-$

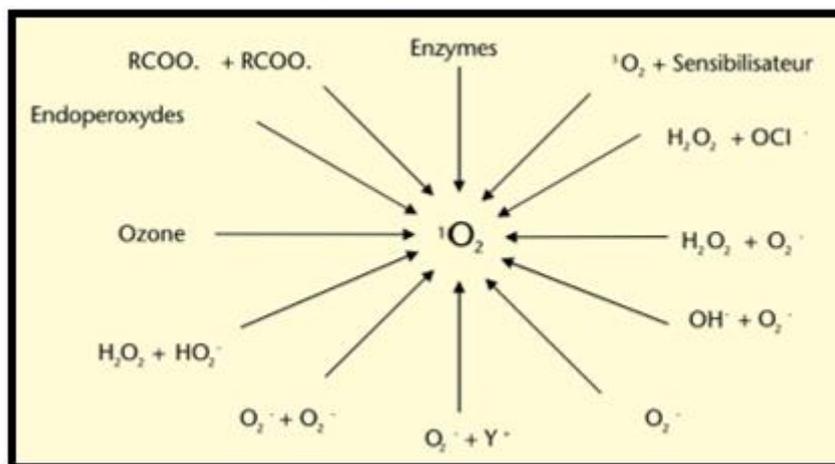


Figure N° 04 : Formation de l'oxygène singulet (Cillard et Cillard., 2006).

2.1.2. Espèces réactives de l'azote (ERN) :

Les espèces azotées réactives (ERN) sont une famille de groupements azotés associés à l'oxygène. Elles sont générées lorsque le monoxyde d'azote (NO) produit de manière exogène ou endogène interagit avec des espèces réactives de l'oxygène comme le superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Le **tableau N°04** regroupe les espèces réactives de l'azote (Auger et al., 2011).

Tableau N° 04 : Espèces réactives de l'azote (ERN)

	Espèces réactives azotés	Propriétés
Espèces radicalaires	Monoxyde d'azote NO^{\cdot}	Le monoxyde d'azote (NO^{\cdot}) est un radical gazeux formé dans l'organisme par l'intermédiaire des NO synthases (NOS) au cours de la conversion de l'arginine en citrulline, libérant simultanément le NO^{\cdot} . Il résulte également de la réduction des nitrites absorbés par l'organisme. Le NO^{\cdot} est responsable de former le trioxydiazoté (N_2O_3) et le peroxydinitrite ($ONOO^{\cdot}$) qui sont les ERN les plus réactifs, en réagissant avec l' O_2 ou $1O_2^{\cdot-}$, respectivement (Ouznadji., 2020).
	Dioxyde d'azote (NO_2^{\cdot})	Il se forme lors de l'oxydation spontanée de l'oxyde d'azote NO dans des conditions aérobies. Parmi les processus d'élimination de NO_2^{\cdot} sont les réactions avec le thiol et les vitamines (Peyrot., 2004).

Espèces non radicalaires	Peroxynitrite (ONOO⁻)	<p>Il est issu de la réaction entre le NO[•] et le O₂^{-•} (Massion et al., 2002).</p> <p>Le ONOO⁻ a deux isomères, les formes <i>cis</i> et <i>trans</i>, dont la deuxième est plus réactive que la première.</p> <p>On peut trouver le ONOO⁻ sous la forme protoné, ONOOH, qui peut se décomposer en OH[•] et NO₂[•] (Chirino et al., 2006).</p>
	Trioxyde diazote (N₂O₃)	<p>Le Trioxyde diazote (N₂O₃) est un agent nitrosant, responsable de la nitrosation des protéines. Il donne des nitrosamines (potentiellement cancérigène) via la N-nitrosation, ou des S-nitrosothiols via la S-nitrosation (Ouznadji., 2020).</p>

3. Sources des espèces réactives de l'oxygène (ERO) :

3.1. NAD(P)H oxydases (NOX):

Ce sont des oxydoréductases qui catalysent la réduction mono-électronique de l'oxygène O₂ radical superoxyde (O₂^{-•}) en utilisant un donneur d'électrons qui est le NADPH ou le NADH selon la réaction suivante :



La NOX se trouvent essentiellement dans les cellules phagocytaires dont elle joue un rôle important dans la réponse immunitaire, principalement dans la protection contre les infections. Il existe également dans d'autres cellules non phagocytaires, où il a un rôle dans la signalisation cellulaire (**Beaudeau et al., 2006 ; Farhat., 2015**).

3.2. Xanthine oxydase :

La xanthine oxydase est un enzyme cytoplasmique localisé principalement dans le foie et l'intestin chez les mammifères. Elle catalyse la dégradation de xanthine en acide urique produisant ainsi le radical superoxyde (O₂^{-•}) selon la réaction ci-dessous (**Farhat., 2015**).



3.3. Mitochondrie :

Toutes les cellules du corps humain dépendent de l'adénosine triphosphate (ATP) pour stocker et transporter l'énergie chimique. L'organisme utilise l'oxygène moléculaire pour produire de l'énergie par phosphorylation oxydative dans les mitochondries. La majeure partie de l'oxygène est réduite en eau et une petite partie (1 à 3 %) est convertie en radicaux libres (**Zorova et al., 2018**).

Les espèces réactives de l'oxygène générées en tant que sous-produits du transfert d'électrons mitochondrial comprennent principalement l'anion radical superoxyde et le peroxyde d'hydrogène. Une réduction multi-électronique de l'O₂ est effectuée par des complexes protéiques dans la chaîne de transfert d'électrons. En raison de sa configuration électronique (deux électrons non appariés dans la couche externe), la molécule d'oxygène n'est pas très réactive (**Malanga et Puntarulo., 2011**), et a donc tendance à accepter les électrons un par un. Si l'O₂ accepte un seul électron, celui-ci doit entrer dans une orbitale antiliante, ce qui produit le radical superoxyde O₂^{•-}. Une réduction à deux électrons de l'O₂, avec l'ajout de deux protons (2 H⁺), génère du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (**Martemucci et al., 2022**).

4- Cibles biologiques des ERO :

Les ERO générés par l'organisme sont considérés comme des produits toxiques du métabolisme, et qui peuvent endommager les macromolécules comme l'ADN, les protéines, les lipides ... (**Beaudeau et al., 2006**).

Dans le cas d'une surproduction de ces ERO ou l'inefficacité de systèmes antioxydants, une cascade radicalaire se produit, induisant ainsi, un endommagement des tissus environnants (**Farhat., 2015**).

4.1- Oxydation de l'ADN :

Les bases azotées purine et/ou pyrimidine de l'ADN nucléaire et/ou mitochondriale, sont les principales cibles de l'oxydation médiée, principalement par le radical hydroxyle. Ce dernier, interagit avec les bases puriques en se liant avec les doubles liaisons des pyrimidines en position 5,6 ou 7,8 pour former des pyrimidines glycols ou le 8-oxo-7,8-dihydrodésoxyguanosine (8-oxo-dG) respectivement (**figure N° 05**). Diverses maladies et anomalies de l'organisme sont causées par cette oxydation, tels que, la production des mutations, l'inflammation, le vieillissement et le cancer. La (**figure N° 06**) montre un groupe des dommages de l'ADN mitochondrial causés par le stress oxydatif (**Farhat., 2015**).

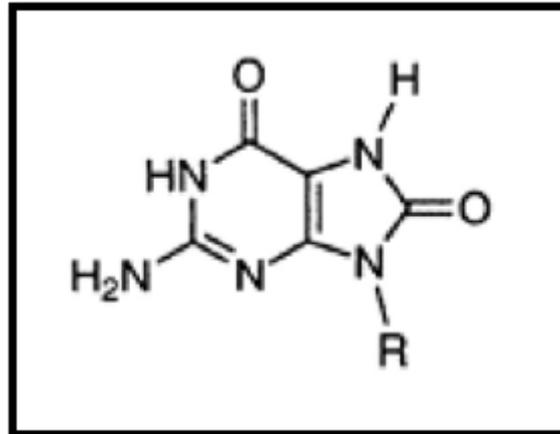


Figure N° 05 : Structure de la 8-oxo-7,8-dihydrodésoxyguanosine (Servais., 2004).

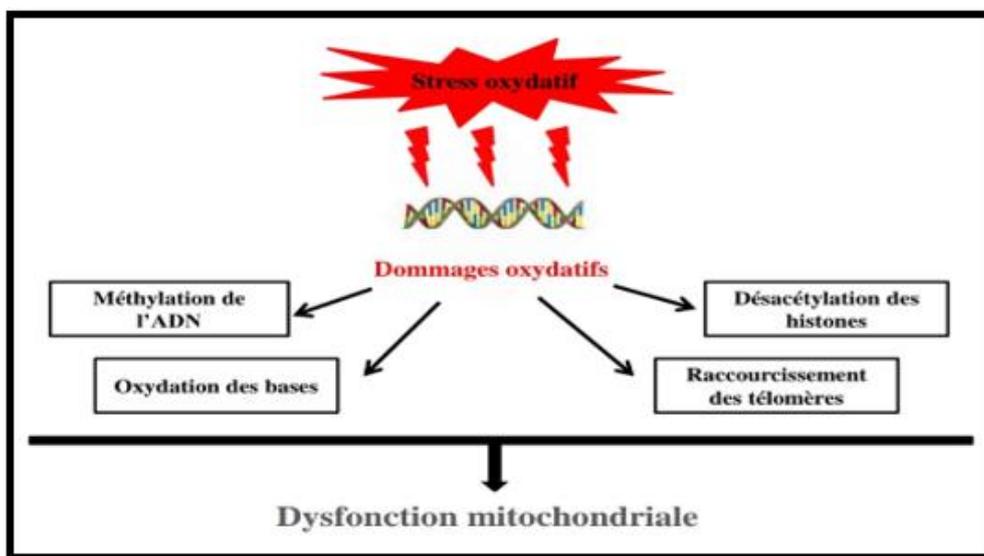


Figure N° 06 : Les dommages de l'ADN mitochondrial dus au stress oxydatif (Farhat., 2015).

4.2- Oxydation des protéines :

Tous les acides aminés sont soumis à l'attaque des ERO. Le radical hydroxyle cible principalement les résidus Cys, His, Met, Phe, Trp et Tyr. Le groupe thiol (-SH) de la cystéine peut être oxydé par H_2O_2 pour produire l'acide sulfénique (-SOH), qui peut par la suite, créer un sulfénylamide, ou former des liaisons disulfure (-SS-) en interagissant avec des amides ou des groupes thiols voisins, respectivement. L'oxydation des protéines par les ERO conduit à la diminution de l'activité enzymatique et à une susceptibilité plus forte à la dégradation protéolytique, ainsi que d'autres maladies comme l'Alzheimer, le diabète, et autres maladies (Farhat., 2015).

4-3-Oxydation des lipides :

Les acides gras polyinsaturés (AGPI), sont les cibles principales des ERO. Ils créent des espèces très réactifs issus de la peroxydation lipidique, dont certains peuvent interagir avec l'ADN et les protéines, tels que, le malendialdéhyde (MDA), qui est considéré comme mutagène et le 4-hydroxynonéol (4-HNE) qui est toxique pour la cellule (Servais., 2004).

5. Antioxydants :

Ce sont des substances capables de retarder ou bien empêcher l'oxydation de substrats, ils se présentent à une concentration très faible dans le milieu dans lequel ils interviennent (Hamma et al., 2015). De ce fait, ils protègent les cellules de la toxicité des radicaux libres en les neutralisant (Rao et al., 2011).

Les antioxydants agissent comme des molécules inhibitrices du processus d'oxydation et de donneurs d'hydrogène ou accepteur de RL, générant ainsi, des radicaux plus stables (Akbarirad et al., 2016 ; Munteanu et Apetrei., 2021). Ils sont aussi, responsable des mécanismes de défense de l'organisme contre les pathologies associées à l'attaque des RL (Moharram et Youssef., 2014).

5.1 Types des antioxydants :

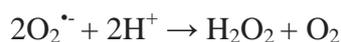
Les antioxydants sont classés selon leur origine, en antioxydants endogènes et antioxydants exogènes.

5.1.1 Antioxydants endogène :

Les antioxydants endogènes sont des enzymes qui produit dans le corps humain ayant une action antioxydante.

A. Superoxyde dismutase (SOD) :

Ce sont des métalloprotéines, qui assurent l'élimination de l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$ par une réaction de dismutation, en le transformant en peroxyde d'hydrogène H_2O_2 et oxygène selon la réaction suivante.



Le SOD des mammifères a trois isoformes : La forme mitochondriale associée au manganèse (SOD Mn), une forme cytosolique et nucléaire associée aux ions cuivre et zinc (SOD Cyto) et une forme extracellulaire (SOD-EC) (Haleng et al., 2007 ; Servais., 2004).

B. Catalase (CAT) :

C'est une enzyme héminique, qui convertit le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et en oxygène et complète le processus de détoxification que la SOD a entamé (Gupta., 2015 ; Hamma et al., 2015).

C. Glutathion peroxydases (GPxs) :

La GPx est une sélénoprotéine (contient le sélénium) qui réduit les peroxydes d'hydrogène en molécule d'eau (figure N° 07). D'autre part, réduit les hydro-péroxydes organiques (ROOH) en alcools. Elle élimine les peroxydes lipidiques causés par l'effet de stress oxydatif sur les acides gras polyinsaturés (Hamma et al., 2015).

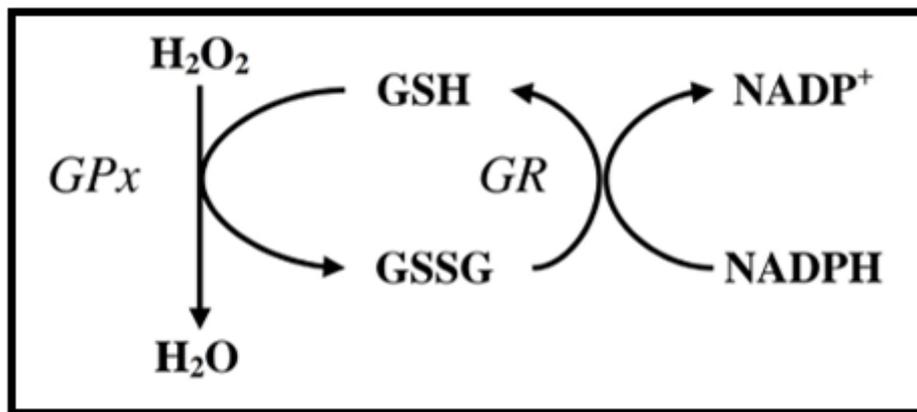


Figure N° 07 : La réduction de H_2O_2 en H_2O par le GPx (Servais., 2004).

5.1.2 Antioxydants exogène :

Les antioxydants exogènes sont des antioxydants qui produit naturellement. Ils sont apportés par des sources alimentaires.

A. Vitamine E :

La vitamine E est un antioxydant liposoluble important qui arrête l'oxydation des acides gras polyinsaturés (AGPI) et élimine les radicaux peroxydes, l'activité antioxydante de la vitamine E peut réguler plusieurs enzymes impliquées dans la transduction du signal (Lee et Han., 2018)

B. Vitamine C :

C'est une vitamine hydrosoluble et un bon piègeur d'espèces réactives de l'oxygène (HO^\bullet ou $O_2^{\bullet-}$). Elle inhibe la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E sous forme de radicaux libres après réaction avec les radicaux libres lipidiques La structure chimique de la vitamine C est montré dans la (figureN° 08) (Haleng et al 2007 ; Rao et al., 2011).

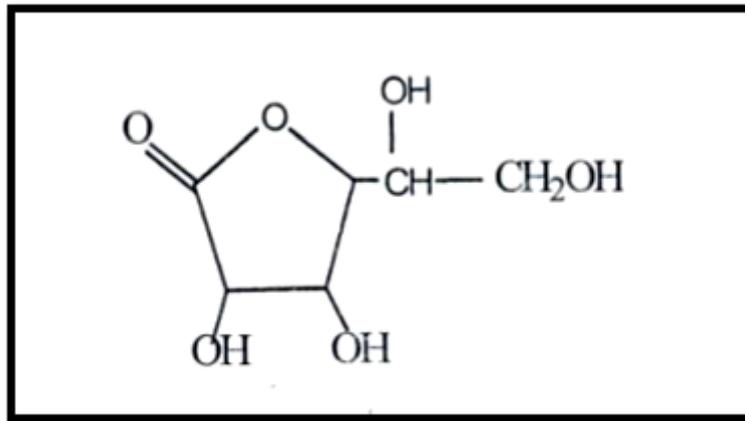


Figure N° 08 : Structure chimique de la vitamine C (Attabi et Bouzekri., 2013)

C. Caroténoïdes :

Ce sont des molécules liposolubles et colorées, produites par les plantes, et caractérisées par une structure douée d'une activité antioxydante.

Les caroténoïdes jouent un rôle très important, en raison de leur activité de piégeage des radicaux peroxydes, par laquelle ils protègent les membranes cellulaires et les lipoprotéines des réactions d'oxydation des radicaux libres. Le β -carotène (famille des caroténoïdes) peut interagir avec l'oxygène singulet, il a la capacité d'empêcher l'oxydation des acides gras polyinsaturés (AGPI) (Figure N° 09) (Raza et al., 2020 ; Farhat., 2015).

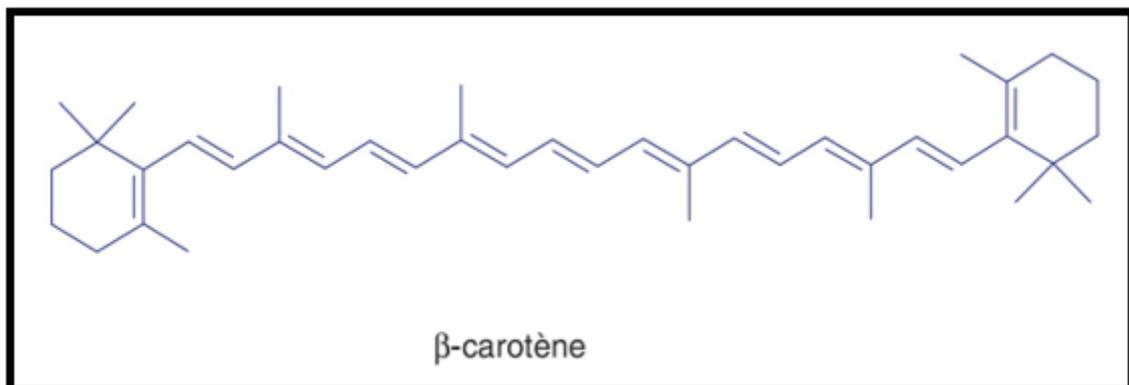


Figure N° 09 : Structure de β -carotène (Gardes-Albert et al., 2003)

D. Flavonoïdes :

Ce sont des métabolites secondaires fabriqués par les plantes. Ils fonctionnent comme des piègeurs de radicaux superoxydes, des agents réducteurs, des extincteurs d'oxygène singulet et des donneurs d'hydrogène, La présence de plusieurs groupes hydroxyle (-OH) augmente leur potentiel antioxydant par rapport à ces composés avec un seul groupe (figure N° 10) (Raza et al., 2020).

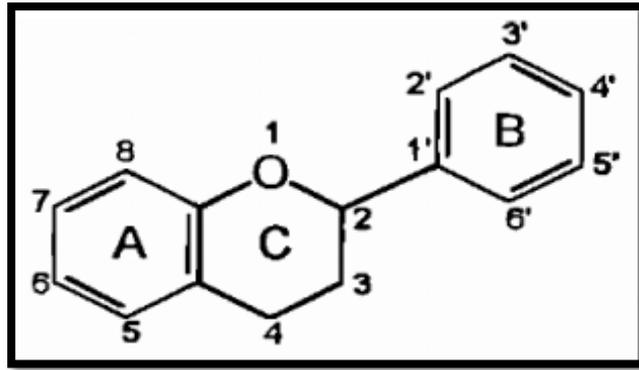


Figure N° 10 : Structure générale des flavonoïdes (Zahaf et Bahloul., 2019)

Matériel et méthodes

Partie expérimentale : Matériel et méthodes

L'étude expérimentale entreprise dans ce mémoire a été effectuée au sein du laboratoire de recherche Antibiotiques, Antifongiques : Physico-Chimie, Synthèse et Activités Biologiques (LAPSAB), Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université de Tlemcen.

1. Etude phytochimique

1.1 Matériel végétal :

Les feuilles de *Marrubium vulgare* L (**Figure N° 11**), ont été récoltées dans la commune de Tient, wilaya de Tlemcen, en fin du mois de Janvier 2023.

Les feuilles récoltées ont été séchées dans un endroit aéré à une température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 10 jours.



Figure N° 11 : Feuilles séchés de *Marrubium vulgare* L (photo personnelle)

1.2. Préparation des extraits :

Deux extraits bruts des feuilles de *Marrubium vulgare* L ont été préparés par une extraction solide-liquide (macération) : extrait hydroacétonique et extrait hydroéthanolique (**Figure N° 12**).



Figure N° 12 : Préparation de l'extrait hydroacétonique et de l'extrait hydroéthanolique des feuilles de *Marrubium vulgare* L.

1.2.1 L'extrait hydroacétonique :

L'extrait a été préparé en utilisant un système de solvant eau/acétone avec les proportions (30/70) (v/v). Les feuilles (20 g) de *M. vulgare* L ont été extraites par macération à une température ambiante pendant 72 heures et à l'abri de la lumière.

Ensuite, après filtration, la phase organique de l'extrait a été évaporée par un rotavapeur et la phase aqueuse a été séchée dans une étuve à une température de 35 ± 2 °C.

Le résidu obtenu a été conservé jusqu'à son utilisation en expérimentation.

1.2.2. L'extrait hydro-éthanolique :

L'extrait hydroéthanolique a été préparé selon la même procédure du premier extrait, en utilisant un système composé d'eau/éthanol aux proportions (30/70) (v/v).

Après évaporation des deux phases de l'extrait hydroéthanolique, le résidu obtenu a été conservé jusqu'à son utilisation pour les différents tests expérimentaux.

1.3. Rendement :

Le rendement de chaque extrait a été exprimé en pourcentage, par rapport au poids sec de la plante, et est calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = (M_1 / M_0) \times 100$$

R (%) : Rendement exprimé en pourcentage.

M₁ : Masse en gramme « g » de l'extrait sec obtenu.

M_0 : Masse en gramme « g » du matériel végétal.

1.4. Les tests phytochimiques :

Les tests phytochimiques s'agit d'une analyse qualitative, qui sont réalisés afin de mettre en évidence la présence ou l'absence de quelques composés chimiques dans les extraits des feuilles de *M. vulgare L.* Le principe est soit basé sur la formation des précipités, soit la formation de complexe colorés en utilisant des réactions de coloration. Cette analyse été réalisée selon les techniques décrites par **Bruneton (1999) et Harbone (1998).**

1.4.1. Les alcaloïdes :

Dans deux tubes à hémolyse, introduire 0,5 ml de l'extrait à analyser et ajouter 0,5 ml de l'acide chlorhydrique (HCl) à 1% pour acidifier l'extrait. Trois gouttes de réactif de Mayer sont ajoutés dans le premier tube et trois gouttes de réactif de Wagner sont ajoutés dans le deuxième tube. La présence des alcaloïdes est confirmée par l'apparition d'un précipité blanc ou brun, respectivement.

1.4.2. Les tanins :

Dans un tube à hémolyse, mettre un volume de 1 ml des extraits bruts à analyser et ajouter 0,25 ml d'une solution aqueuse de chlorure de fer ($FeCl_3$) à 1%. Incuber le mélange pendant 15 minutes à la température ambiante. La présence des tanins est confirmée par l'apparition d'une couleur verdâtre ou bleu noirâtre dans les tubes.

1.4.3. Les flavonoïdes :

Dans un tube à hémolyse, un volume de 1 ml des extraits à analyser est additionné par un volume de 1 ml de l'acide chlorhydrique concentré et quelques copeaux de magnésium. La présence des flavonoïdes est indiquée par l'apparition d'une coloration rose ou rouge ou jaune.

1.4.4. Les quinones libres :

Dans un tube à hémolyse, un volume de 1 ml des extraits bruts à analyser est additionné par un volume de 0,1 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 1%. La présence des quinones libres est indiquée par l'apparition d'une couleur jaune, rouge ou violette.

1.4.5. Les anthraquinones :

Dans un tube à hémolyse, 1 ml des extraits à analyser est mélangé avec 1 ml d'hydroxyde d'ammonium (NH₄OH) à 1%. La présence des anthraquinones est confirmée par l'apparition d'une couleur violette.

1.4.6. Les saponines :

Un volume de 10 ml des extraits bruts à analyser est introduit dans un tube à essai. Après une agitation vigoureuse pendant 15 secondes, le mélange est laissé au repos pendant 15 minutes. La présence de saponines est indiquée par la présence d'une mousse avec une hauteur supérieure à 1 cm.

1.4.7. Les terpénoïdes (test de slakowski) :

Dans un tube à hémolyse, un volume de 1 ml des extraits à analyser est additionné par un volume de 0,4 ml de chloroforme et un volume de 0,6 ml d'acide sulfurique concentré. L'apparition de deux phases et une interphase de couleur marron confirme la présence des terpénoïdes.

1.4.8. Les composés réducteurs :

Dans un tube à hémolyse, additionner un volume de 1 ml de liqueur de Fehling (0,5 ml de liqueur de Fehling A et 0,5 ml de liqueur de Fehling B) à 1 ml des extraits bruts à analyser. Les deux solutions sont incubées pendant 08 minutes dans un bain marie bouillant.

La présence des composés réducteurs est indiquée par l'apparition d'un précipité rouge brique.

1.5. Dosage des composés phénoliques et des flavonoïdes :

1.5.1 Dosage des composés phénoliques totaux :

La quantification des composés phénoliques totaux des deux extraits bruts de *M. vulgare* L, a été effectuée en suivant le protocole décrit par **Vermerrius et Nicholson** en **2006**. Le principe de cette technique est basé sur une réaction de coloration avec le réactif de « Folin-Ciocalteu », d'une couleur jaune et composé de l'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et de l'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄). Ce réactif induit l'oxydation des composés phénoliques et la formation d'un complexe bleu « tungstène (W₈O₂₃) - molybdène (Mo₈O₂₃) ». L'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 700 nm.

Un volume de 0,1 ml d'extrait à une concentration de 1mg/ml est mélangé avec 2 ml de la solution de carbonate de sodium Na₂CO₃ à 2%. Après agitation et incubation pendant 5

minutes, 0,1 ml de réactif Folin-Ciocalteu à 1N sont ajouté. Ensuite, les tubes sont incubés pendant 30 minutes à l'abri de la lumière et à une température ambiante. Les mesure des absorbances est effectuée contre un blanc à 700 nm.

En parallèle, une gamme d'étalonnage a été préparée, avec des concentrations croissantes de l'acide gallique, en suivant les mêmes étapes réalisées pour nos extraits.

Les résultats de la quantification des composés phénoliques des deux extraits bruts sont exprimés en microgramme équivalent acide gallique par milligramme d'extrait (μg EAG/mg E).

1.5.2 Dosage des flavonoïdes :

La quantification des flavonoïdes des extraits bruts de *M. vulgare L*, a été effectuée en suivant le protocole de dosage colorimétrique décrit par **Zhishen et al., (1999)**. Le principe de cette technique est basé sur l'oxydation des flavonoïdes, dans un milieu alcalin, par le nitrite de sodium (NaNO_2) et le chlorure d'aluminium (AlCl_3), pour former à la fin de la réaction, un complexe de couleur rose absorbant à 510 nm.

Un volume de 250 μl de l'extrait à la concentration de 1mg/ml est mélangé avec 1 ml d'eau distillée et 75 μl du réactif de nitrite de sodium (NaNO_2) à 15 %. Après une incubation de 6 minutes à température ambiante, 75 μl du réactif de chlorure d'aluminium (AlCl_3) à 10% sont ajoutés et les tubes sont incubés pendant 6 minutes.

Un volume de 1 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 4% est ajouté et le volume total des tubes complété à 2,5 ml par l'eau distillée. Après agitation et incubation pendant 30 minutes à température ambiante et à l'abri de la lumière, les absorbances sont mesurées contre un blanc à une longueur d'onde de 510 nm.

En parallèle, une gamme d'étalonnage a été préparée, avec des concentrations croissantes de la catéchine, en suivant les mêmes étapes réalisées pour nos deux extraits bruts.

Les résultats de la quantification des flavonoïdes des deux extraits hydroalcooliques sont exprimés en microgramme équivalent catéchine par milligramme d'extrait (μg EC/mg E).

2. Etude de l'activité antioxydante des extraits de *Marrubium vulgare L* :

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits bruts de *Marrubium vulgare L* a été réalisée en effectuant deux tests : le piégeage du radical libre (DPPH) et la réduction du fer (FRAP).

2.1 Piégeage du radical libre DPPH :

➤ Principe :

Le test de piégeage du radical libre DPPH consiste à mesurer la capacité des antioxydants à réduire le radical libre DPPH[•] (2,2diphényl-1-picryl-hydrazyl) à sa forme non radicalaire DPPH-H (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) par un donneur d'atome d'hydrogène (**Figure N° 13**). La réduction de DPPH se traduit par un changement de couleur violet au jaune de l'échantillon, et la mesure de l'absorbance s'effectue à 517 nm (**Zahaf et Bahloul., 2019**).

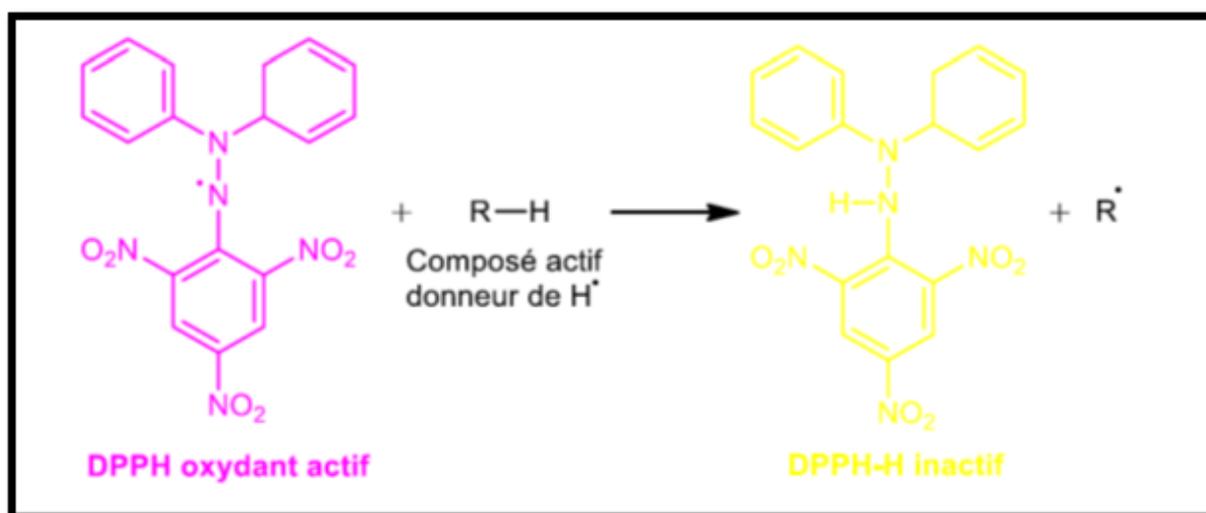


Figure N° 13 : Formes oxydée et réduite du radical DPPH (**Zahaf et Bahloul., 2019**).

➤ Mode opératoire :

À un volume de 975 µl d'une solution méthanolique de DPPH d'une concentration de $6,34 \times 10^{-5} \text{M}$, est ajouté un volume de 25 µl des extraits bruts de *Marrubium vulgare L* ou de l'acide ascorbique (contrôle positif), à différentes concentrations. En parallèle, un tube blanc est préparé pour chaque concentration de l'échantillon à tester, par addition de 25 µl de l'échantillon testé et de 975 µl de méthanol.

Un volume de 25 µl de méthanol est combiné avec un volume de 975µl de la solution méthanolique de DPPH pour préparer le control négatif. Après incubation des différents tubes, à l'abri de la lumière et à température ambiante pendant 30 minutes, l'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 517 nm.

Ce test est réalisé en triplicate pour les extraits de *M. vulgare L*, ainsi que pour l'acide ascorbique.

➤ Calcul des pourcentages d'inhibition

Les pourcentages d'inhibition du radical DPPH par les échantillons testés (extraits bruts et acide ascorbique), sont calculés comme suit :

$$I (\%) = [(Abs_{cont} - Abs_{éch}) / A_{cont}] \times 100$$

I (%) : Pourcentage d'inhibition (%).

A_{cont} : Absorbance du contrôle négatif.

A_{éch} : Absorbance de l'échantillon testé.

➤ **Calcul des CI₅₀**

La CI₅₀ est définie comme étant la concentration de l'extrait qui induit l'inhibition de 50 % du radical libre DPPH. L'estimation de l'inhibition se fait par la régression linéaire de la courbe de pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations des extraits étudiés. L'extrait le plus efficace est celui qui a la CI₅₀ la plus faible.

2.2. Test de pouvoir réducteur (ferric reducing antioxidant power ,FRAP) :

Principe :

L'activité antioxydante d'un extrait est liée à son pouvoir réducteur. Cette technique permet de mesurer la capacité des extraits à convertir le fer ferrique (Fe³⁺) présent dans le complexe de ferricyanure de potassium K₃Fe(CN)₆ en fer ferreux (Fe²⁺) (Attabi et Bouzekri., 2013).

➤ **Mode opératoire :**

Un volume de 100 µl des extraits bruts de *Marrubium vulgare L* à différentes concentrations, est mélangés avec 250 µl du tampon phosphate à une concentration de 0,2 M et à un pH de 6,6, ainsi qu'un volume de 250 µl de ferricyanure de potassium à 1 %. Le mélange est incubé à une température de 50° C pendant 20 minutes.

Ensuite, après cette incubation, un volume de 250 µl de l'acide trichloroacétique (TCA) à 10 % est ajouté pour stopper la réaction. Les solutions sont, par la suite, centrifugées pendant 10 minutes à 3000 rpm. Après cette étape, 500 µl des surnageants sont prélevés et additionnés à 500 µl d'eau distillée et 100 µl d'une solution fraîchement préparée de chlorure de fer (FeCl₃) à 0,1 %.

Dans cette expérience, différentes concentrations d'acide ascorbique ont été utilisées comme témoins positifs, et l'expérience a été réalisée dans les mêmes conditions expérimentales.

Ce test est effectué en triplicate et les absorbances sont mesurées par spectrophotométrie à 700 nm. Le pouvoir réducteur des extraits testés augmente avec l'absorbance.

Résultats et Discussion

Résultats et Discussion :

1. Rendement des extractions :

Nous avons préparé deux extraits bruts : hydroéthanolique et hydroacétonique (30/70 ; v/v), par une macération de 72 heures des feuilles de *M. vulgare* L. Ensuite, nous avons calculé le rendement pour les deux extraits bruts (**tableau N° 05**).

Tableau N° 05 : Rendement de l'extrait hydroacétonique et hydroéthanolique de *M. vulgare* L

Extraits	Rendement (%)
Hydro-acétonique	8,46
Hydro-éthanolique	8,135

Selon les résultats présentés dans le tableau ci-dessus, les rendements obtenus pour les deux extraits sont similaires. L'extrait hydro-acétonique a montré un rendement légèrement supérieur à celui de l'extrait hydro-éthanolique.

Ces valeurs restent inférieures à ceux mentionnées par **Mssillou et al (2021)**, qui ont obtenu un rendement de 13 % pour les deux extraits hydroacétonique et hydroéthanolique (avec les proportions de (30/70) (v/v)) des feuilles de *M. vulgare* L dans la région de Fez au Maroc.

Un rendement de (21%) pour l'extrait hydrométhanolique et (12%) pour l'extrait éthanolique ont été obtenus à partir de la partie aérienne de *M. vulgare* L, lors d'une étude entreprise par **Hameg et Taleb en (2018)**. Ces pourcentages sont supérieurs à ceux obtenus dans notre expérimentation.

Cependant, un rendement de 1,84% pour l'extrait d'hexane et 3,36% pour l'extrait d'acétone ont été obtenus par **Bahri et al (2022)**. Ces pourcentages sont inférieurs à ceux que nous avons obtenus.

La nature du solvant, la durée de macération, la période de récolte, la région de la récolte et la durée de séchage, sont tous des facteurs qui affectent le rendement de l'extraction (**Bahri et al., 2022**).

2. Etude phytochimique qualitative :

Les résultats des tests phytochimiques qualitatifs réalisés sur les deux extraits bruts des feuilles de *Marrubium vulgare* L, et préparés par macération, sont résumés dans le **tableau N° 06**.

Tableau N° 06 : Résultats des tests phytochimiques réalisés sur les extraits bruts des feuilles de *Marrubium vulgare* L.

Tests phytochimiques		Observations	
Composés chimiques	Réactifs	Extraits hydro-acétonique	Extrait hydro-éthanolique
Alcaloïdes	Mayer	-	-
	Wagner	-	-
Tanins	FeCl ₃	+ + +	+ +
Flavonoïdes	HCl + Mg ²⁺	-	-
Quinones libres	NaOH	-	-
Anthraquinones	NH ₄ OH	-	-
Saponines	Test de mousse	-	-
Terpénoïdes	Test de Slakowski	-	+ + +
Composés réducteurs	Liqueur de Fehling	+ + +	-

(+++): Fortement présent ; (++) : Moyennement présent ; (+) : Faiblement présent ; (-) : Test négatif.

Le screening phytochimique nous permet de détecter la présence ou l'absence de métabolites secondaires et même d'autres composants dans la plante étudiée. Cette détection des métabolites secondaires est basée sur le changement de couleur ou l'apparition d'un précipité.

D'après les résultats des tests phytochimiques obtenus, nous avons noté la présence des tanins dans les deux extraits hydroalcooliques des feuilles de *M. vulgare* L. De plus, les terpénoïdes ont été présents dans l'extrait hydro-éthanolique, mais absents dans l'extrait hydro-acétonique. Alors que les composés réducteurs ont été présents dans l'extrait hydro-acétonique et absents dans le deuxième extrait.

Les tests de recherche des alcaloïdes, des flavonoïdes, des quinones libres, des anthraquinones et des saponines ont été négatifs dans les deux extraits bruts.

Selon les résultats de **Fadel et al (2016)**, les auteurs notent la présence de saponines, de flavonoïdes et des alcaloïdes dans l'extrait hydroéthanolique (30/70 : v/v) des parties aériennes de *M. vulgare* L. Ces résultats sont différents par rapport à ceux obtenus pour ce même extrait dans notre étude.

Dans l'étude de **Bahri et al (2022)**, ils ont utilisé la poudre de *M. vulgare* L macérée dans 500 ml de l'acétone. Leurs résultats étaient les suivants : la présence de flavonoïdes, de tanins, de terpénoïdes et des quinones, à l'exception de saponine qui étaient absents dans l'extrait acétonique. Cependant, nos résultats de l'extrait hydroacétonique, nous montre l'absence de ces composés, sauf les tanins qui étaient présents.

En comparant nos résultats avec les résultats des études précédentes, nous avons remarqué la présence et l'absence de certains composés chimiques, bien que nous ayons utilisés la même méthode d'extraction. Ces quelques différences peuvent être liés aux temps d'extraction, la polarité du solvant utilisé et le moment de la récolte de la plante.

3. Dosage des composés phénoliques de *M. vulgare* L :

3.1. Teneur en composés phénoliques totaux :

Le dosage des composés phénoliques dans les extraits hydroacétonique et hydroéthanolique, a été réalisé par la méthode colorimétrique décrite par **Vermerrius et Nicholson** en **2006**, qui est basée sur l'oxydation des composés phénoliques par le réactif de Folin-Ciocalteu de couleur jaune, un complexe bleu « tungstène (W_8O_{23}) - molybdènes (Mo_8O_{23}) » est produit, et mesuré à une longueur d'onde de 700 nm.

Une courbe d'étalonnage ($R^2 = 0,9906$) a été tracée avec différentes concentrations de l'acide gallique (**Figure N°14**). Les résultats sont exprimés en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme de l'extrait ($\mu\text{g EAG}/\text{mg E}$).

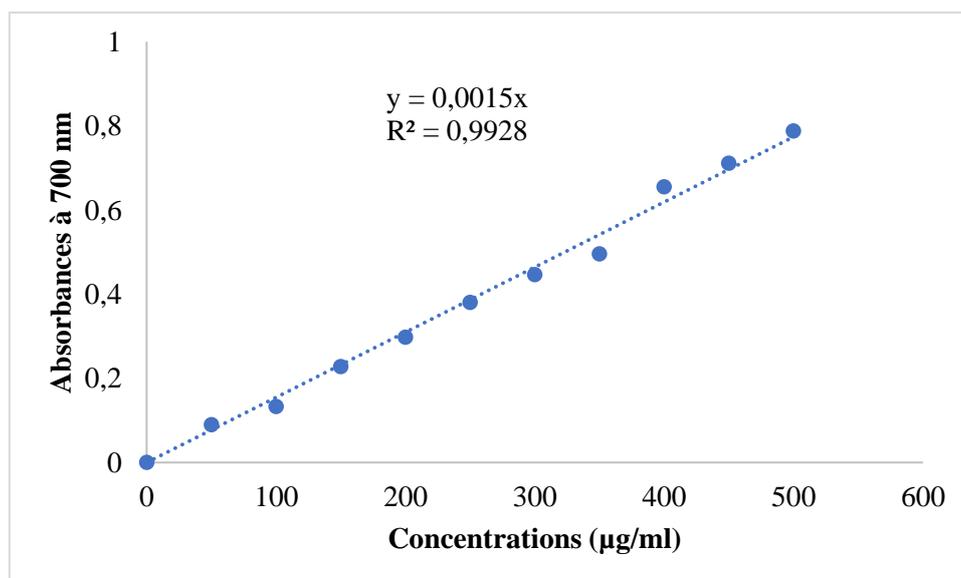


Figure N°14 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Le taux des composés phénoliques totaux dans les extraits hydroacétonique et hydroéthanolique des feuilles de *M. vulgare* L, est de l'ordre de $90,06 \pm 8,4 \mu\text{g EAG/mg E}$ et de $62,13 \pm 2,8 \mu\text{g EAG/mg E}$, respectivement.

Dans une étude réalisée sur la même partie de la plante dans la région de Fès au Maroc. Les auteurs ont utilisé les mêmes solvants d'extractions, et ont obtenu des taux élevés en composés phénoliques, de l'ordre de $112,09 \pm 4,77 \text{ mg EAG/g ES}$ pour l'extrait hydroacétonique et $98,77 \pm 1,68 \text{ mg EAG/g ES}$ pour l'extrait hydroéthanolique (Mssillou et al., 2021).

L'utilisation d'un autre solvant d'extraction hydroalcoolique a donné des résultats différents pour la partie des feuilles de *M. vulgare* L. de la région de Meknès au Maroc. Un taux de composés phénoliques totaux de l'ordre de $106,55 \mu\text{g EAG/mg d'extrait}$, a été observé pour l'extrait hydrométhanolique macéré (70/30 ; v/v) (El Anachi et al., 2021).

Une autre étude menée par Abidi et al., (2022), a révélé un taux des composés phénoliques totaux de l'ordre de $73,619 \text{ mg EAG/g d'extrait}$ pour l'infusion aqueuse de la partie aérienne de *M. vulgare* L de la région de Djebba Beja (Tunisie).

3.2. Teneur en flavonoïdes :

La quantification des flavonoïdes des extraits bruts hydroacétonique et hydroéthanolique, a été réalisée par une méthode de dosage colorimétrique selon Zhishen et al., (1999), qui repose sur l'oxydation des flavonoïdes en milieu alcalin par le chlorure d'aluminium (AlCl_3) et du nitrite de sodium (NaNO_2).

Une courbe d'étalonnage ($R^2 = 0,9967$) a été réalisée avec des concentrations différentes de la catéchine (**Figure N° 15**). La teneur en flavonoïdes est exprimée en microgramme équivalent de catéchine par milligramme d'extrait $\mu\text{g EC} / \text{mg E}$.

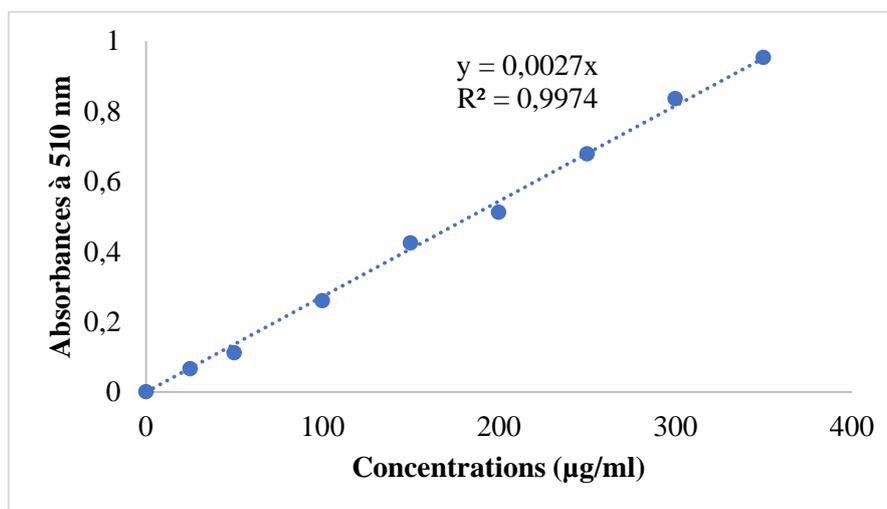


Figure N° 15 : Courbe d'étalonnage de la catéchine

Le taux de flavonoïdes dans les deux extraits hydroacétonique et hydroéthanolique des feuilles de *Marrubium vulgare L* est de l'ordre de $24,148 \pm 1,55 \mu\text{g EC} / \text{mg E}$ et de $17,074 \pm 0,38 \mu\text{g EC} / \text{mg E}$, respectivement.

Selon l'étude réalisée par **Mssillou et al., (2021)** sur la même partie de la plante dans la région de Fès au Maroc, en utilisant les mêmes solvants d'extractions. Les extraits ont présenté un taux bas en flavonoïdes, de l'ordre de $21,08 \pm 0,38 \text{ mg EQ/g ES}$ pour l'extrait hydroacétonique, et un taux similaire pour l'extrait hydroéthanolique de l'ordre de $17,65 \pm 0,73 \text{ mg EQ/g ES}$.

Cependant, un taux de flavonoïdes de l'ordre de $49 \pm 1,18 \mu\text{g EQ/mg d'extrait}$, a été observé pour l'extrait hydrométhanolique des feuilles macérées (70/30 ; v/v) (**El Aanachi et al., 2021**).

Dans une autre étude, la macération des feuilles de *M. vulgare L* dans l'acétone et le méthanol a donné une teneur plus élevée en flavonoïdes par rapport à nos extraits. Les taux de flavonoïdes étaient de l'ordre de $26,30 \pm 0,31 \text{ mg ER/ g ES}$ et de $81,21 \pm 0,69 \text{ mg ER/ g ES}$ pour les extraits acétoniques et méthanoliques, respectivement (**Amessis-Ouchemoukh et al., 2014**).

4. Evaluation de l'activité antioxydante :

4.1 Résultats du piégeage du radical libre DPPH (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl) :

Les résultats de l'activité antiradicalaire des extraits hydroacétonique et hydroéthanolique des feuilles de *M. vulgare* L, ainsi que de l'acide ascorbique sont exprimées en pourcentage d'inhibition de DPPH et en CI_{50} (concentration inhibitrice de 50 % du radical DPPH).

Les courbes suivantes représentent le piégeage de DPPH par l'acide ascorbique (**Figure N°16**), par l'extrait hydroacétonique (**Figure N°17**) et l'extrait hydroéthanolique (**Figure N°18**).

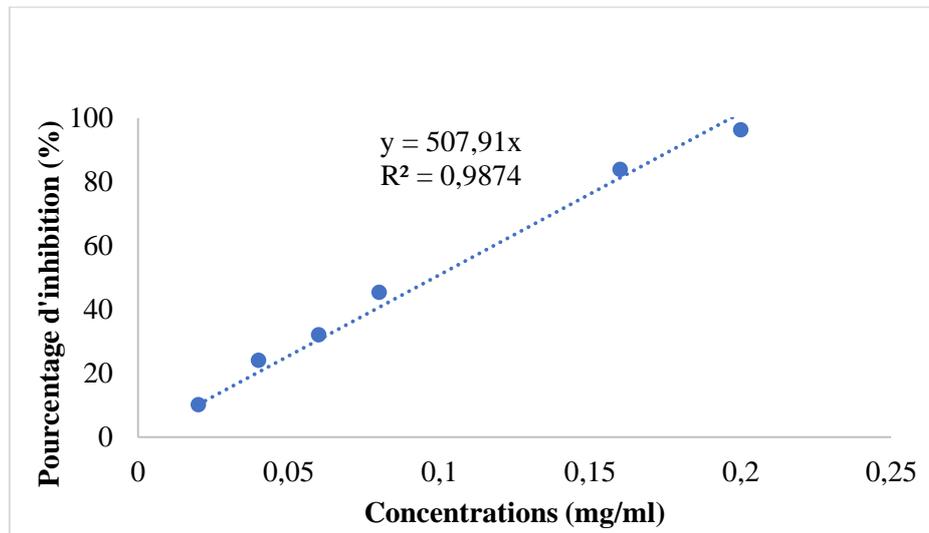


Figure N°16 : Piégeage du radical DPPH par l'acide ascorbique

L'acide ascorbique, molécule de référence dans notre expérimentation, a présenté un pourcentage d'inhibition de DPPH croissant allant de 10,18 % à la concentration de 0,02 mg/ml, jusqu'à atteindre un pourcentage de 83,95 % à une concentration de 0,16 mg/ml.

Les pourcentages d'inhibition du radical DPPH par les extraits hydroacétonique et hydroéthanolique des feuilles de *M. vulgare* L, augmentent avec l'augmentation des concentrations des extraits.

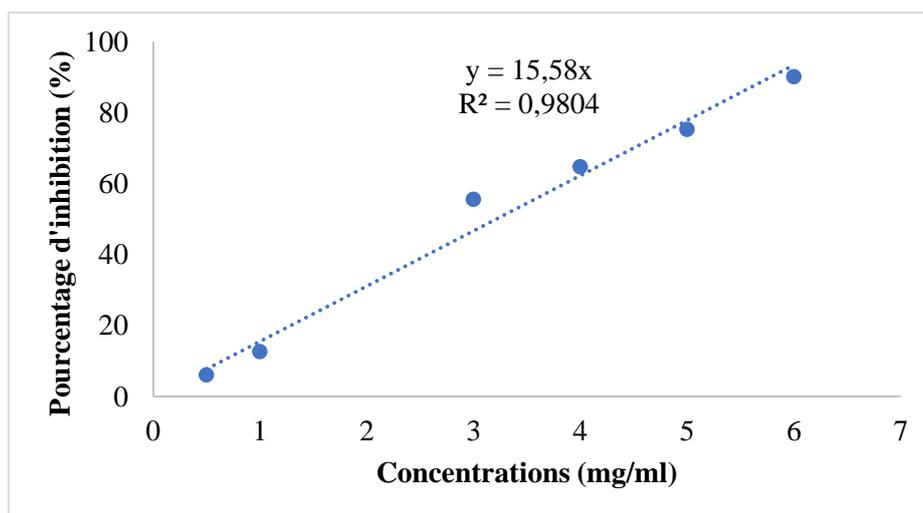


Figure N°17 : Piégeage du radical DPPH par l'extrait hydroacétonique

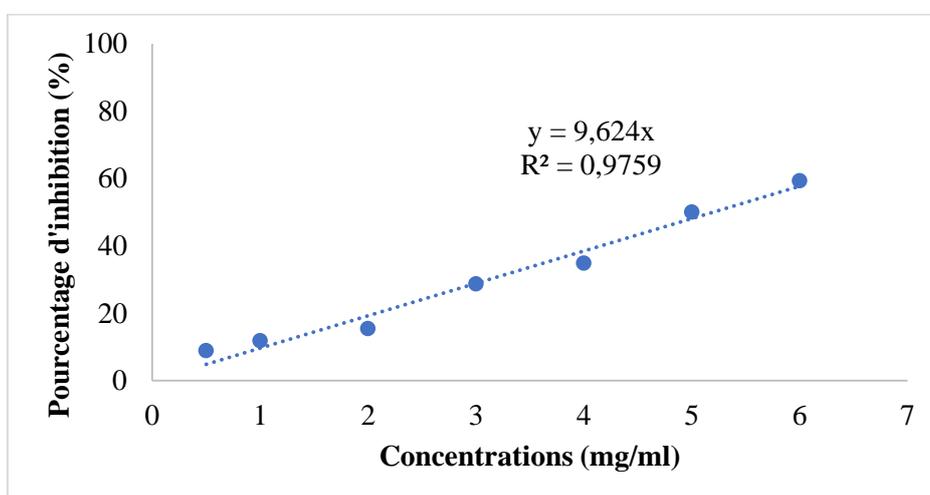


Figure N°18 : Piégeage du radical DPPH par l'extrait hydroéthanolique

L'extrait hydroacétonique, a exhibé des pourcentages allant de 6,10 % à la concentration de 0,5 mg/ml, jusqu'à un pourcentage de 90,14 % à concentration 6 mg/ml. Par contre, l'extrait hydroéthanolique a présenté des pourcentages d'inhibition plus faible par rapport au premier extrait, allant de 8,82 % à la concentration de 0,5 mg/ml, pour atteindre 59,31 % à la concentration de 6 mg/ml.

La concentration inhibitrice 50 % (CI_{50}), est la concentration d'un échantillon contenant un antioxydant nécessaire pour piéger 50 % des radicaux DPPH initiaux. Plus la valeur de la CI_{50} est faible, plus la molécule bioactive est capable de piéger les radicaux DPPH, ce qui implique une activité antioxydante plus élevée (Olugbami et al., 2014).

Nous avons calculé les CI_{50} de nos échantillons, en utilisant les courbes de régressions linéaires précédentes. Selon les résultats obtenus, l'extrait hydroacétonique des feuilles de *M.*

vulgare L montre une forte activité antioxydante ($CI_{50} = 3,20 \pm 0,02$ mg/ml), par rapport à l'extrait hydroéthanolique ($CI_{50} = 5,19 \pm 0,03$ mg/ml). Ces valeurs restent inférieures à celle de l'acide ascorbique qui a présenté la meilleure activité antiradicalaire, avec une $CI_{50} = 0,098 \pm 0,03$ mg/ml.

Une étude réalisée sur les feuilles de *M. vulgare* L, en utilisant les mêmes solvants d'extractions, a montré des CI_{50} inférieures par rapport à celles obtenues dans notre expérimentation, de l'ordre de $60,57 \pm 0,6$ µg/ml pour l'extrait hydroacétonique, et de l'ordre de $52,04 \pm 0,2$ µg/ml pour l'extrait hydroéthanolique (Mssillou et al., 2021). De même, El Anachi et al (2021), ont obtenu une CI_{50} de $0,012 \pm 1,06$ mg/ml pour l'extrait hydrométhanolique (70 : 30 ; v : v) des feuilles de *M. vulgare* L.

Ghedadba et al (2014 a), ont obtenu de petites valeurs de CI_{50} , en utilisant des solvants d'extraction différents. Les auteurs ont testé l'activité des extraits méthanolique, aqueux, dichlorométhane et l'éther de pétrole, obtenant des valeurs de CI_{50} de 0,0015 ; 0,125 ; 0,5 et 0,720 mg/ml, respectivement.

L'huile essentielle de *M. vulgare* L a donné une CI_{50} de l'ordre de $2,998 \pm 0,0004$ mg/ml (Rached et al., 2022). Les feuilles de *M. vulgare* L récoltées de deux localités différentes au Maroc (Oulad Daoud zkhanine et le Cap des Trois Fourches), préparées en infusion dans l'eau et en macération dans l'éthanol. Les résultats obtenus des CI_{50} pour les extraits de *M. vulgare* L de la première localité sont de l'ordre de $623,15 \pm 0,32$ (infusion aqueuse) et $752,43 \pm 0,45$ µg/ml (éthanol macéré) et la plante de la deuxième région, les CI_{50} sont de l'ordre de $324,55 \pm 0,66$ (infusion aqueuse) et $431,81 \pm 0,51$ µg/ml (éthanol macéré) (Hayat et al., 2020).

D'après nos résultats et ceux obtenus des auteurs cités précédemment, nous remarquons que l'activité antioxydante varie selon la méthode d'extraction et le type de solvant utilisé, aussi, le lieu de la récolte peut influencer sur les résultats.

4.2. Pouvoir réducteur de fer (FRAP) :

Les résultats de l'activité antioxydante de l'acide ascorbique et les deux extraits : hydroacétonique et hydroéthanolique des feuilles de *M. vulgare* L en utilisant le test de FRAP, sont représenté dans les courbes ci-dessous (Figure N°19) (Figure N°20).

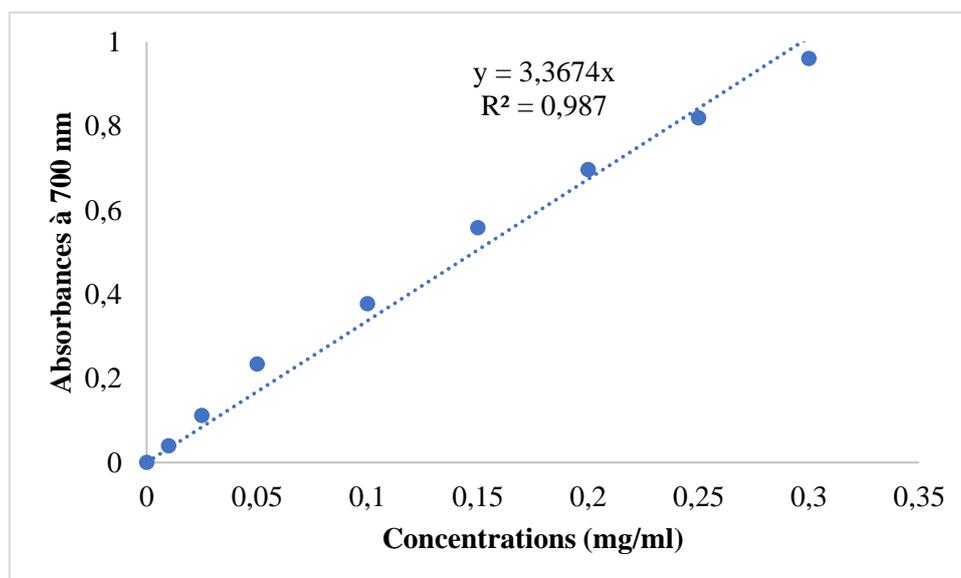


Figure N°19 : Pouvoir réducteur du fer de l'acide ascorbique

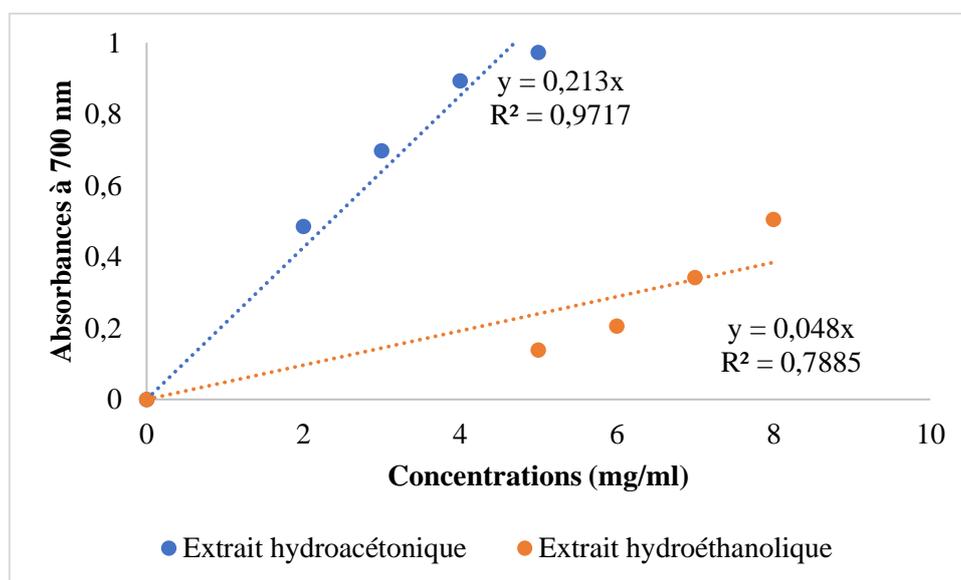


Figure N°20 : Pouvoir réducteur du fer de l'extrait hydroacétonique et hydroéthanolique.

Selon les résultats obtenus, l'extrait hydroacétonique des feuilles de *M. vulgare* L montre une bonne activité antioxydante ($CE_{50} = 2,34 \pm 0,02$ mg/ml), par rapport à l'extrait hydroéthanolique ($CE_{50} > 8$ mg/ml), mais ils restent inférieurs à celle de l'acide ascorbique ($CE_{50} = 0,14 \pm 0,02$ mg/ml).

L'étude de **Mssillou et al** en **2021** sur les feuilles de *Marrubium vulgare* L, a obtenu des résultats différents. L'extrait hydroéthanolique a enregistré une forte activité antioxydante ($CE_{50} = 4,51 \pm 0,5$ mg/ml), par rapport à l'extrait hydroacétonique ($CE_{50} = 6,43 \pm 0,0411$ mg/ml). Selon les résultats obtenus, notre extrait hydroacétonique présente la plus forte activité antioxydante, par contre l'extrait hydroéthanolique est plus faible.

Une étude sur l'huile essentielle réalisée par **Rached et al., 2022** a obtenu une $CE_{50} = 2,998 \pm 0,0004$ mg/ml.

La macération de la partie aérienne de *M. vulgare* L dans deux solvants (méthanol 70 % et acétone 70 %), a donné les résultats suivants : $0,08 \pm 0,003$ mg/ml et $0,06 \pm 0,008$ mg/ml, respectivement (**Tili et al., 2019**).

Après avoir observé les résultats que nous avons obtenus et ceux obtenus dans la première étude par **Mssillou et al., 2021**, nous pouvons dire que le changement du lieu de récolte a un impact sur les résultats par rapport à toutes les solutions utilisées, donc la polarité influence sur l'activité antioxydante.

Conclusion

Conclusion :

Les plantes médicinales représentent une importante source de principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. C'est dans cette optique que notre étude a été réalisée pour rechercher de nouvelles molécules bioactives. Nous avons effectué une analyse phytochimique et évalué les propriétés antioxydantes des extraits bruts des feuilles de *Marrubium vulgare L.*

L'étude phytochimique de cette plante a montré la présence des tanins (présents dans les deux extraits), les terpénoïdes (présents dans l'extrait hydro-éthanolique et les composés réducteurs présents dans l'extrait hydro-acétonique). Les alcaloïdes, les flavonoïdes, les quinones libres, les anthraquinones et les saponines ont été absents dans les deux extraits.

L'étude quantitative des composés phénoliques totaux a révélé des quantités importantes dans les deux extraits hydroalcooliques des feuilles de marrube blanc.

La capacité antioxydante a été évaluée par deux tests : piégeage du radical libre DPPH et réduction du fer (FRAP). Dans les deux tests réalisés, l'extrait hydroacétonique des feuilles de *M. vulgare L* a présenté le pouvoir antioxydant le plus élevé par rapport à l'extrait hydroéthanolique.

Notre étude montre que l'espèce *Marrubium vulgare L* de la région de Tlemcen en Algérie, est importante pour son utilisation en pharmacie et en phytothérapie. Nous pouvons conclure que cette plante est l'une des sources naturelles de substances antioxydantes d'une importance élevée, en l'utilisant pour la prévention des maladies, telles que les maladies cardiovasculaires et le cancer.

Dans les années à venir, des études plus approfondies *in vivo* seraient nécessaires pour mieux comprendre le (s) mécanisme (s) d'action des molécules bioactives, leur dose thérapeutique et leur site d'action au niveau cellulaire. Cela permettrait la production de produits pharmaceutiques qui présentent un grand intérêt thérapeutique.

Références bibliographiques

Références bibliographiques :

- Abadi, A., & Hassani, A. (2013). Chemical composition of *Marrubium vulgare* L. essential oil from Algeria. *International Letters of Chemistry, Physics and Astronomy*, 8(3), 210-214.
- Abidi, A., Dhaouafi, J., Brinsi, C., Tounsi, H., & Sebai, H. (2022). Tunisian Horehound (*Marrubium vulgare*) Aqueous Extract Improves Treatment of Bleomycin-Induced Lung Fibrosis in Rat. *Dose-Response*, 20(3), 1-12. <https://doi.org/10.1177/15593258221119300>.
- Achat, S. (2013). Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. (Thèse de doctorat, Université A. Mira-Bejaia) <https://www.theses.fr/2013AVIG0248.pdf>
- Aćimović, M., Jeremic, K., Salaj, N., Gavarić, N., Kiproviski, B., Sikora, V., & Zeremski, T. (2020). *Marrubium vulgare* L. : A Phytochemical and Pharmacological Overview. *Molecules*, 25(12), 2898. <https://doi.org/10.3390/molecules25122898>
- Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., & Lomri, A. (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases : rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue Du Rhumatisme*, 74(7), 636–643. <https://doi.org/10.1016/j.rhum.2006.12.009>
- Akbarirad, H., Ardabili, A. G., Kazemeini, S. M., & Khaneghah, A. M. (2016). An overview on some of important sources of natural antioxidants. *International food research journal*, 23(3), 928-933.
- Akther, N., Shawl, A. S., Sultana, S., Chandan, B. K., & Akhter, M. (2013). Hepatoprotective activity of *Marrubium vulgare* against paracetamol induced toxicity. *Journal of Pharmacy Research*, 7(7), 565-570.
- Al-Snafi, A. E., Al-Saedy, H. A., Talab, T. A., Majid, W. J., El-Saber Batiha, G., & Jafari-Sales, A. (2021). The bioactive ingredients and therapeutic effects of *Marrubium vulgare*-A review. *International Journal of Biological and Pharmaceutical Sciences Archive*, 1(2), 9-21.
- Amessis-Ouchemoukh, N., Abu-Reidah, I. M., Quirantes-Piné, R., Madani, K., & Segura-Carretero, A. (2014). Phytochemical profiling, *in vitro* evaluation of total phenolic contents and antioxidant properties of *Marrubium vulgare* (horehound)

- leaves of plants growing in Algeria. *Industrial Crops and Products*, 61, 120–129. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.06.049>
- Amri, B., Martino, E., Vitulo, F., Corana, F., Ben-Kaâb, L. B., Rui, M., ... & Collina, S. (2017). *Marrubium vulgare* L. leave extract: Phytochemical composition, antioxidant and wound healing properties. *Molecules*, 22(11), 1851.
 - Amroune, S. E. (2018). Phytothérapie et plantes médicinales (Mémoire de master, Université des Frères Mentouri Constantine).
 - Anik, M. I., Mahmud, N., Masud, A. A., Khan, M. I., Islam, M. N., Uddin, S., & Hossain, M. K. (2022). Role of reactive oxygen species in aging and age-related diseases: a review. *ACS Applied Bio Materials*, 5(9), 4028-4054.
 - Attabi, B., & Bouzekri, H. (2013). Etude comparative de l'activité antioxydante de cinq plantes médicinales (Mémoire de fin de cycle, Université Abderrahmane MIRA de Bejaia)
 - Auger, C., Lemire, J., Cecchini, D., Bignucolo, A., & Appanna, V. D. (2011). The metabolic reprogramming evoked by nitrosative stress triggers the anaerobic utilization of citrate in *Pseudomonas fluorescens*. *PLoS One*, 6(12), e28469.
 - Bahri, R., Boussag, C., & Djezare, R. (2022). Etude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits de *Marrubium vulgare* (mémoire de fin d'étude). Université Mohaled Boudiaf- M'Sila.
 - Beaudeau, J. L., Peynet, J., Bonnefont-Rousselot, D., Therond, P., Delattre, J., & Legrand, A. (2006). Sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 64(6), 373–381. [https://doi.org/10.1016/s0003-4509\(06\)75332-9](https://doi.org/10.1016/s0003-4509(06)75332-9)
 - Belhattab, R. (2007). Composition chimique et propriétés antioxydantes, antifongiques et antiaflatoxinogènes d'extraits de *Origanum glandulosum* Desf. et *Marrubium vulgare* L. (famille des Lamiaceae) (Thèse de doctorat d'état). Université Farhat Abbas-Setif. <http://dspace.univ-setif.dz:8888/jspui/handle/123456789/1338>
 - Bemmansour, N., Bemmansour, E. H., & Samira, M. (2022). Chemical Composition and Biological Activities of *Marrubium vulgare* L. *Indian Journal of Ecology*, 615–621. <https://doi.org/10.55362/ije/2022/3569>
 - Boumerdassi, S., Chouh, S., Chabour, R., & Groni, A. (2022). Enquête ethnobotanique sur les plantes médicinales traditionnellement utilisées chez l'enfant (Mémoire de fin d'études). Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

- Boutabia, L., Telailia, S., & Menea, M. (2020). Utilisations thérapeutiques traditionnelles du *Marrubium vulgare* L. par les populations locales de la région de Haddada (Souk Ahras, Algérie) Traditional therapeutic uses of *Marrubium vulgare* L. by local populations in the Haddada region (Souk Ahras, Algeria). *Ethnobotany Research and Applications*, 19(44), 1-11. <https://doi.org/10.32859/era.19.44.1-11>
- Bouzabata, A., & Yavuz, M. (2019). Médecine traditionnelle et ethnopharmacologie en Algérie : de l'histoire à la modernité. *Ethnopharmacologia*, (62), 86-92.
- Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} édition. France : Technique et Documentation – *Lavoisier*.
- Chedia, A., Ghazghazi, H., Brahim, H., & Abderrazak, M. (2014). Total phenolic content, antioxidant and antibacterial activities of *Marrubium vulgare* methanolic extract. *Tunisian Journal of Medicinal Plants and Natural Products*, 11(1), 1-8.
- Chen, J., He, J., Li, N., Zheng, H., & Zhao, S. (2019). Determination and Correlation of Solubility of Borneol, Camphor, and Isoborneol in Different Solvents. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 64(4), 1826-1833. <https://doi.org/10.1021/acs.jced.9b00045>
- Chevallier, A. (2001). Encyclopedia of Medicinal Plants. 2nd edition. London : Larousse.
- Chirino, Y. I., Orozco-Ibarra, M., & Pedraza-Chaverri, J. (2006). Evidencias de la participación del peroxinitrito en diversas enfermedades. *Revista de investigación clínica*, 58(4), 350-358.
- Chroho, M., Drioiche, A., Saidi, S., Zair, T., & Bouissane, L. (2021). Total phenolic and flavonoids contents and *in vitro* evaluation of antioxidant activity of several *Calendula officinalis* (Marigold) extracts. *Journal of biological research*, 94(1). <https://doi.org/10.4081/jbr.2021.9680>
- Cillard, J., & Cillard, P. (2006). Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations. *Oilseeds and fats, crops and lipids*, 13(1), 24-29. <https://doi.org/10.1051/ocl.2006.6666>.
- Damerdji, A., & Chekrouni, I. (2015). Composition et structure des Gastéropodes dans les stations à *Marrubium vulgare* L.(Labiatae) dans les monts de Tlemcen, Algérie. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 11(2), 85-96.

- Dasgupta, A., & Klein, K. (2014). *Antioxidants in Food, Vitamins and Supplements: Prevention and Treatment of Disease*. Academic Press.
- Djahra, A. B., Bordjiba, O., & Benkherara, S. (2012). Activité antibactérienne des flavonoïdes d'une plante médicinale spontanée *Marrubium vulgare* L. de la région d'El Tarf (Nord-Est Algérien). *Synthèse: Revue des Sciences et de la Technologie*, 24, 29-37.
- El Aanachi, S., Gali, L., Rammali, S., Bensouici, C., Aassila, H., & Dari, K. (2021). *In vitro* study of the antioxidant, photoprotective, anti-tyrosinase, and anti-urease effects of methanolic extracts from leaves of six Moroccan Lamiaceae. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(2), 1785–1795. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00759-9>
- Fadel, H., Benayache, F., & Benayache, S. (2016). Antioxidant properties of four Algerian medicinal and aromatic plants *Juniperus oxycedrus* L., *Juniperus phoenicea* L., *Marrubium vulgare* L. and *Cedrus atlantica* (Manetti ex Endl). *Der Pharmacia Lettre*, 8(3), 72.
- Farhat, F. (2015). Fonction mitochondriale et espèces réactives dérivées de l'oxygène: effets du genre et de l'entraînement en endurance chez le rat Wistar et l'anguille européenne (Doctoral dissertation, Brest).
- Favier, A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales pharmaceutiques françaises*, 64(6), 390-396. [https://doi.org/10.1016/s0003-4509\(06\)75334-2](https://doi.org/10.1016/s0003-4509(06)75334-2)
- Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., & Jore, D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène. *L'actualité chimique*, 91-96.
- Gavarić, A., Vladić, J., Vujetić, J., Radnović, D., Volarić, A., Živković, J., ...& Vidović, S. (2022). The Application of Ultrasonic Waves and Microwaves to Improve Antihyperglycaemic and Antimicrobial Activities of *Marrubium vulgare* Extracts. *Antibiotics*, 11(11), 1475. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11111475>
- Ghedadba, N. (2018). Contribution à l'étude de l'activité biologique des deux espèces de *Marrubium vulgare* L et *Marrubium deserti* de Noé *in vitro* et *in vivo* (Doctoral dissertation, Université de Batna 2).
- Ghedadba, N., Bousselsela, H., Hambaba, L., Benbia, S., & Mouloud, Y. (2014). Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuries de *Marrubium vulgare* L. *Phytothérapie*, 12(1), 15-24.

- Ghedadba, N., Hambaba, L., Aberkane, M. C., Oueld-Mokhtar, S. M., Fercha, N., & Bousselsela, H. (2014). Évaluation de l'activité hémostatique *in vitro* de l'extrait aqueux des feuilles de *Marrubium vulgare* L. *Algerian Journal of Natural Products*, 2(2), 64-74.
- Ghedadba, N., Hambaba, L., Bousselsela, H., Hachemi, M., Drid, A., Abd-Essmad, A., & Oueld-Mokhtar, S. M. (2016). Evaluation of *in vitro* antioxidant and *in vivo* anti-inflammatory potential of white horehound (*Marrubium vulgare* L.) leaves. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review Research*, 41(1), 252-259.
- Grudniewska, A., Danciewicz, K., Białońska, A., & Wawrzęńczyk, C. (2013). Piperitone-Derived Saturated Lactones : Synthesis and Aphid Behavior-Modifying Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(14), 3364-3372. <https://doi.org/10.1021/jf3052219>
- Guechi, N. O. (2022). Etudes floristique et ethnobotanique du massif de Maadid (M'sila, Algérie) (Doctoral dissertation, Université de M'Sila (Algérie)).
- Gupta, D. (2015). Methods for determination of antioxidant capacity: A review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 6(2), 546.
- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10).
- Hameg, T., & Taleb, D. (2018). Evaluation de l'activité antimicrobienne, et antioxydante des composés phénoliques du Marrube blanc «*Marrubium vulgare*» . (Mémoire de fin d'étude). Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.
- Hamma, S. A., Nouri, N., Fergani, I., Lekhal, A., Cheriet, S., Abadi, N., ...& Benlatreche, C. (2015). Biologie des espèces réactives et Stress oxydant . *Journal algérien de médecine*, 23(2), 48-53. <https://www.asjp.cerist.dz/en/article/102400>
- Harborne, J. B .(1998). Textbook of Phytochemical Methods. A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis. 3rd. Edition, Chapman and Hall Ltd, London.
- Harris, I. S., & DeNicola, G. M. (2020). The complex interplay between antioxidants and ROS in cancer. *Trends in cell biology*, 30(6), 440-451
- Hayat, J., Akodad, M., Moumen, A., Baghour, M., Skalli, A., Ezrari, S., & Belmalha, S. (2020). Phytochemical screening, polyphenols, flavonoids and tannin content, antioxidant activities and FTIR characterization of *Marrubium vulgare* L. from 2 different localities of Northeast of Morocco. *Heliyon*, 6(11), e05609.

- Ibrahim, S., Ali, A., Abdelhameed, R., & Badr, J. (2023). Chemical Review on Genus *Marrubium*. *Records of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 7(2), 23–47. <https://doi.org/10.21608/rpbs.2022.181087.1197>
- Kadri, Y., Moussaoui, A., & Benmebarek, A. (2018). Étude ethnobotanique de quelques plantes médicinales dans une région hyper aride du Sud-ouest Algérien «Cas du Touat dans la wilaya d’Adrar». *Journal of Animal & Plant Sciences*, 36(2), 5844-5857.
- Khaled-Khodja, N., Casal, S., & Madani, K. (2014). Phytochemical screening of antioxidant and antibacterial activities of methanolic extracts of some Lamiaceae. *Industrial Crops and Products*, 61, 41-48. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.06.037>
- Lahsissene, H., Kahouadji, A., & Hseini, S. (2009). Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër (Maroc Occidental). *Lejeunia, revue de botanique*.(186), 2-26.
- Laouissi, F., & Boumerzough, S. (2020). Caractérisation phytochimique et activités biologiques de la plante médicinale *Marrubium vulgare* L. Caractérisation Phytochimique Et Activités Biologiques De La Plante Médicinale *Marrubium Vulgare* L (Mémoire de master, Université Bordj Bou Arreridj).
- Laraba, M., Serrat, A., & Ouassaa, G. (2016). Etude *in vitro* de l’activité antioxydante des polyphénols isolés à partir d’une plante médicinale. (Mémoire de Master, Université des Frères Mentouri, Constantine).
- Lee, G. Y., & Han, S. N. (2018). The role of vitamin E in immunity. *Nutrients*, 10(11), 1614.
- Madhvi, S. K., Sharma, M., Iqbal, J., Younis, M., & Sheikh, R. (2020). Phytochemical analysis, Total Flavonoid, Phenolic contents and Antioxidant activity of extracts from the Leaves of *Rhododendron arboreum*. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 13(4), 1701. <https://doi.org/10.5958/0974-360x.2020.00307.8>
- Malanga, G., & Puntarulo, S. (2011). The use of electron paramagnetic resonance in studies of oxidative damage to lipids in aquatic systems. *Oxidative stress in aquatic ecosystems*, 448-457.

- Martemucci, G., Costagliola, C., Mariano, M., D'andrea, L., Napolitano, P., & D'Alessandro, A. G. (2022). Free radical properties, source and targets, antioxidant consumption and health. *Oxygen*, 2(2), 48-78.
- Massion, P., Preiser, J., & Balligand, J. (2002). Les espèces réactives de l'azote : bénéfiques ou délétères ? *Nutrition clinique et métabolisme*, 16(4), 248- 252. [https://doi.org/10.1016/s0985-0562\(02\)00167-x](https://doi.org/10.1016/s0985-0562(02)00167-x)
- Menaiaia, K., Khaldi, F., Ouahab, A., & Bensouici, C. (2021). Determination of the bioactive compounds, antioxidant and antifungal activities of different extracts of *Marrubium vulgare* L. *Analele Universitatii din Oradea, Fascicula Biologie*, 28(1), 59-66.
- Mittal, V., & Nanda, A. (2016). The pharmacognostical evaluation of the *Marrubium vulgare* Linn collected from the Pulwama district of Jammu and Kashmir state in India. *Journal of chemical and pharmaceutical research*, 8(10), 7-15. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20173024227>
- Mkaddem, M. G., Zrig, A., Abdallah, M. B., Romdhane, M., Okla, M. K., Al-Hashimi, A., ... & Abd El gawad, H. (2022). Variation of the Chemical Composition of Essential Oils and Total Phenols Content in Natural Populations of *Marrubium vulgare* L. *Plants*, 11(5), 612. <https://doi.org/10.3390/plants11050612>
- Moharram, H. A., & Youssef, M. M. (2014). Methods for determining the antioxidant activity: a review. *Alexandria Journal of Food Science and Technology*, 11(1), 31-42.
- Mssillou, I., Agour, A., Hamamouch, N., Lyoussi, B., & Derwich, E. (2021). Chemical Composition and *in Vitro* Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Marrubium vulgare* L. *The Scientific World Journal*, 2021, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2021/7011493>
- Munteanu, I. G., & Apetrei, C. (2021). Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), 3380.
- Olugbami, J. O., Gbadegesin, M. A., & Odunola, O. A. (2014). *In vitro* evaluation of the antioxidant potential, phenolic and flavonoid contents of the stem bark ethanol extract of *Anogeissus leiocarpus*. *African journal of medicine and medical sciences*, 43(Suppl 1), 101-109
- Ouznadji, A. (2020). Stress nitrosant et pathologies. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2020(522), 39–46. [https://doi.org/10.1016/s1773-035x\(20\)30161-1](https://doi.org/10.1016/s1773-035x(20)30161-1)

- Peyrot, F. (2004). Réactions des espèces réactives de l'azote dérivées du monoxyde d'azote avec la mélatonine et quelques indoles apparentés. Implications biologiques (Doctoral dissertation, Université Paris XI).
- Pipinis, E., Hatzilazarou, S., Kostas, S., Bourgou, S., Megdiche-Ksouri, W., Ghrabi-Gammar, Z., ... & Krigas, N. (2022). Facilitating conservation and bridging gaps for the sustainable exploitation of the Tunisian local endemic plant *Marrubium aschersonii* (Lamiaceae). *Sustainability*, 14(3), 1637.
- Pisoschi, A. M., & Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European journal of medicinal chemistry*, 97, 55-74.
- Rached, S., Imatara, H., Habsaoui, A., Mzioud, K., Haida, S., Saleh, A., ... & El Fartah, S. (2022). Characterization, Chemical Compounds and Biological Activities of *Marrubium vulgare* L. Essential Oil. *Processes*, 10(10), 2110.
- Rao, P. S., Kalva, S., Yerramilli, A., & Mamidi, S. (2011). Free radicals and tissue damage: Role of antioxidants. *Free radicals and antioxidants*, 1(4), 2-7.
- Raza, M. A., Malik, M. S., & Azam, M. (2020). Impact of natural antioxidants on biological systems. *Lahore Garrison University Journal of Life Sciences*, 4(02), 139-162
- Sangeetha, T., Chen, Y., & Sasidharan, S. (2020). Oxidative stress and aging and medicinal plants as antiaging agents. *Journal of Complementary Medicine Research*, 11(3), 01-01
- Servais, S. (2004). Altérations mitochondriales et stress oxydant pulmonaire en réponse à l'ozone: effets de l'âge et d'une supplémentation en oméga-3 (Doctoral dissertation, Université Claude Bernard-Lyon I).
- St-Louis, R. (2011). Implication des espèces réactives de l'oxygène dans le contrôle central de l'osmorégulation (Doctoral dissertation, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI).
- Tayeb bey, S., & Mouissi, M. (2022). Etude bibliographique des activités antidiabétique, anticancéreuse, anti-inflammatoire de *Marrubium vulgare*.(mémoire de master, Université Mohamed Khider de Biskra,Biskra).
- Taysi, S., Tascan, A., Ugur, M. G., & Demir, M. (2019). Radicals, Oxidative/Nitrosative Stress and Preeclampsia. *Mini-reviews in Medicinal Chemistry*, 19(3), 178-193. <https://doi.org/10.2174/1389557518666181015151350>

- Tlili, H., Hanen, N., Ben Arfa, A., Neffati, M., Boubakri, A., Buonocore, D., ...& Doria, E. (2019). Biochemical profile and *in vitro* biological activities of extracts from seven folk medicinal plants growing wild in southern Tunisia. *PLOS ONE*, *14*(9), e0213049. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213049>.
- Unsal, V., Cicek, M., & Sabancilar, I. (2021). Toxicity of carbon tetrachloride, free radicals and role of antioxidants. *Environmental Health Journals*. *36*(2): 279–295. <https://doi.org/10.1515/reveh-2020-0048>.
- Vermerris, W., & Nicholson, R. (2006). Isolation and identification of phenolic compounds, phenolic compound biochemistry. Dordrecht : Springer. Science & Business Media.
- Wolf, F. O. (1906). Plantes médicinales indigènes ou cultivées en Valais leurs propriétés et emplois en médecine populaire.
- Yousefi, K., Fathiazad, F., Soraya, H., Rameshrad, M., Maleki-Dizaji, N., & Garjani, A. (2014). *Marrubium vulgare* L. methanolic extract inhibits inflammatory response and prevents cardiomyocyte fibrosis in isoproterenol-induced acute myocardial infarction in rats. *BioImpacts: BI*, *4*(1), 21-27.
- Zahaf, K., & Bahloul, M. (2019). Etude phytochimique et évaluation de l'activité anticorrosion des extraits des plantes *Thapsia garganica* L et *Marrubium vulgare*. (Mémoire de master, Université Larbi Ben M'hidi Oum El Bouaghi).
- Zhishen, J., Mengcheng, T., & JianMing, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, *64*(4), 555-559. [https://doi.org/10.1016/s0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/s0308-8146(98)00102-2)
- Zorova, L. D., Popkov, V. A., Plotnikov, E. Y., Silachev, D. N., Pevzner, I. B., Jankauskas, S. S.,... & Zorov, D. B. (2018). Mitochondrial membrane potential. *Analytical Biochemistry*, *552*, 50–59. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2017.07.009>