

République algérienne démocratique populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université M'Hamed BOUGARA-Boumerdes



Faculté des Sciences

Département de Biologie

MEMOIRE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention de master académique

Domaine : SNV

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

: Thème

**Evaluation de l'activité antimicrobienne des deux plantes
médicinales *Marrubium vulgare* et *Rhamnus alaternus***

Réalisé par :

- **BOUKESSIRA Maroua**
- **MAZOUZ Soraya**

Présenté devant le jury composé de :

MmeY.Didouche

MCA(UMBB)

Encadreur

MmeF.Fazouane

Professeur(UMBB)

Présidente

MrK.Boudjema

MCA(UMBB)

Examineur

Année universitaire :2021/2022

Remerciement

On tient à remercier Dieu le tout puissant, pour l'aide apporté pour la réalisation de ce travail.

Nos vifs remerciements et gratitude vont à notre encadrant Mme Dr Didouche pour son soutien indéfectible et incomparable pour l'orientation soutenue et son guide infini pour la réalisation de ce travail et sa présence durant la manipulation avec explication.

Egalement nos remerciements vont à Mme Pr Fazouane et Mr Dr Boudjema les membres du jury pour leur présence, pour leur lecture attentive de notre mémoire ainsi que pour les remarques pertinentes pour la correction de notre travail.

Pour la contribution efficiente du personnel du laboratoire de biochimie nous adressons notre chaleureuse gratitude

Notre reconnaissance et dévouement à tous les enseignants pour l'honneur faite à notre formation durant nos années , ainsi que, les étudiants

Sans mise en reste Mme Ouarek et Mme Tata, ainsi que, le personnel de saidal CRD pour contribution infaible au cours de notre stage pratique

A toutes les personnes ayant prêté mains forte à ce travail, qu'il trouvent ici notre reconnaissance.

DEDICACE

Je dédie ce mémoire :

A mon cher père

A ma chère mère

Je dédie ce mémoire à mes parents, pour l'amour qu'ils m'ont toujours donné, leurs encouragements et toute l'aide qu'ils m'ont apportée durant mes études. Vous êtes toujours pour moi un exemple des parents respectueux, honnêtes. Vous étiez toujours à mes côtés me poussez pour le meilleur

Grâce à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité, Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi.

Maman La meilleur de toutes les mamans qui m'a aidé durant mes années d'études, qui m'a appris à aimer le travail et le bon comportement, pour son amour infini et sa bienveillance jour et nuit.

A mes chères sœurs

Je ne pourrais terminer sans évoquer la présence et le soutien à ma frangine Amina et ma petite sœur adorée Maria Merci de me suivre et de m'encourager dans mes projets et de réaliser mes rêves merci d'être capables à me brasser quand j'ai besoin d'être réveillée pour continuer d'avancer merci d'être là pour moi Et aussi sans oublier mes neveux

A mon frère

Une fois de plus je tiens à te remercier mon cher frère pour ton soutien et ta présence tu as su m'accompagner comme tu l'a fais à chaque étape de ma vie et je réalise vraiment ce que signifie avoir un frère

A HAMID

Mon frère que ma mère n'a pas mis au monde merci pour ton soutien et tout l'encouragement que tu me donne

A ma plus belle binôme Soraya et sa famille

MAROUA

DEDICACE

Dieu tout puissant merci d'être toujours près de moi

Je dédie ce travail aux êtres les plus chers à mon cœur

A mon père,

Tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux, honnête. Je tiens à honorer l'homme que tu es. Grace à toi PAPA j'ai appris le sens du travail. Je voudrais te remercier pour ton enseignement continu à m'inculquer les vraies valeurs de la vie et pour tes précieux conseils.

J'espère que cette thèse sera à la hauteur de tes attentes et qu'elle soit l'accomplissement de tous tes efforts.

A ma mère,

La meilleur de toutes les mamans qui m'a aidée durant mes années d'études, qui m'a appris à aimer le travail et le bon comportement, pour son amour infini et sa bienveillance jour et nuit. Son soutien sans égal dans les moments les plus difficiles de ma vie et son aide si précieuse qui a rendu possible la soutenance de ce mémoire.

A mon cher frère

Abderrahmane qui a su m'épauler et me pousser et m'encourage toujours à aller plus loin .

A mon homme Abderzak

Ton amour ne m'a procuré que confiance et stabilité .tu as partagé avec moi les meilleurs moments de ma vie, tu as été toujours à mes côtés aux moments les plus difficiles .Je te remercie de ne m'avoir jamais déçu.

*A ma binôme **Maroua** et sa **familles**.*

A tous mes amis A tous ce que j'aime.

Soraya

LISTE DES FIGURES

- Figure 01:** *Marrubium vulgare*
- Figure 02:** Aspect morphologique de *Marrubium vulgare*
- Figure 03:** Répartition des Rhamnacées dans le monde
- Figure 04:** *Rhamnus alaternus*
- Figure 05:** Structures chimiques des mono terpènes et sesquiterpènes de *M. vulgare*
- Figure 06:** Structure chimique de flavonoïdes de *M.vulgare*
- Figure 07:** Plantes séchées (**A** : *Rhamnus alaternus* , **B** : *Marrubium vulgare*
- Figure 08:** schéma d'un montage d'hydrodistillation
- Figure 09:** Hydrodistillation de *Marrubium vulgare*
- Figure 10:** : *Hydrodistillation de Rhamnus alaternus*
- Figure 11:** Protocole de préparation des extraits secs de *Marrubium vulgare* et *Rhamnus alaternus*
- Figure 12:** *Résultat de l'hydrodistillation de Rhamnus alaternus*
- Figure 13 :** *Résultat de l'hydrodistillation de Marrubium vulgare*
- Figure 14:** Effet antimicrobien de l'extrait *Marrubium vulgare* vis-à-vis de *S.aureus*
- Figure 15:** Effet antimicrobien de l'extrait de *Rhamnus alaternus* vis-à-vis de *S.aureus*
- Figure 16:** Effet antimicrobien de l'extrait de *Marrubium vulgare* vis-à-vis de *B.subtilis*
- Figure 17:** Effet antimicrobien de l'extrait de *Rhamnus alaternus* vis-à-vis de *B.subtilis*
- Figure 18:** Effet antimicrobien de l'extrait de *Marrubium vulgare* vis-à-vis de *P. aeruginosa*
- Figure 19:** Effet antimicrobien de l'extrait de *Rhamnus alaternus* vis-à-vis de *P. arguionsa*
- Figure 20:** Effet antimicrobien de l'extrait de *Marrubium vulgare* vis-à-vis de *E. coli*
- Figure 21:** Effet antimicrobien de l'extrait de *Rhamnus alaternus* vis-à-vis de *E.coli*
- Figure 22:** Effet antimicrobien de l'extrait de *Marrubium vulgare* vis-à-vis de *C.albican*
- Figure 23:** Effet antimicrobien de l'extrait de *Rhamnus alaternus* vis-à-vis de *C. albicans*
- Figure 24:** différents étapes de préparation de l'extrait sec
- Figure 25:** effet antibactérien d'une fraction vis-à-vis staphylococcus aureus à l'extrait de *rhamnus alaternus*

LISTE DES TABLEAUX

- **Tableau 01** : classification de *MarrubiumVulgare*
- **Tableau 02** : classification de *MarrubiumVulgare*
- **Tableau 03** : classification *Rhamnus alaternus*
- **Tableau 04** : nomenclature *Rhamnus alaternus*
- **Tableau 05** : Différentes structures des flavonoides.
- **Tableau 06** : Rendement d'extraction.
- **Tableau 07** : Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de *Marrubium vulgare* l'extrait éthanolique de *Rhamnus alaternus*.

Table des matières

Remercîment

Dédicace

Liste des figures

Liste des tableaux

Intduction..... 02

Marrube blanc (*marrubium vulgare*)

1. Famille des Lamiacées 04

2. Distribution..... 04

3. *Marrubium vulgare* 05

3.1. Classification botanique et taxonomie 06

3.2. Nomenclature 06

3.3. Aspect botanique 07

3.4. Répartition géographique 08

3.5. Aspect phytochimique..... 08

3.6. L'usage traditionnel..... 09

Nerprun alaterne (*rhamnus alaternus*)

1. Famille des Rhamnacées 11

2. Distribution..... 11

3. *Rhamnus alaternus* 12

3.1. Classification botanique et taxonomie 12

3.2. Nomenclature 12

3.3. Aspect botanique 13

3.4. Répartition géographique 13

3.5. Aspect phytochimique..... 14

3.6. L'usage traditionnel.....	15
--------------------------------	----

LES Activités biologiques

1. Activités biologiques de <i>Marrubium vulgare</i>	
Activité antioxydante	17
Activité antimicrobienne	17
2. Activités biologiques de <i>Rhamnus alaternus</i>	
Activité antioxydante	18
Activité antimicrobienne	18

MATERIEL ET METHODES

1. Matériel biologique	
Plantes	24
Souches microbiennes	24
2. Méthodes	
Séchage et broyage	25
Techniques d'extraction des huiles essentielles	26
Préparation des extraits des polyphenols	28
Test antimicrobien	30
Préparation des dilutions d'extraits de <i>Rhamnus alaternus et Marrubium vulgare</i>	30
Préparation de l'inoculum	30
Dépôts des disques	30
Expression des resultants	31

Résultats

1. Rendement pondérale d'extraction.....	33
2. Activités antimicrobienne.....	33
Antibiogramme à l'égard des souches étudiées.....	33
Antibiogramme à l'égard de Gram positif.....	34

Antibiogramme à l'égard de Gram négatif.....	36
Levure.....	37
Discussion.....	38
Conclusion.....	42
Références bibliographiques	44
Résumés	
Annexes	

Introduction

Introduction

Les plantes médicinales ont été une source inépuisable de médicaments pour les médecins traditionnelle pour ce rétablir certaines pathologies. Elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaire à la mise au point de future médicaments (**Maurice, 1997**).

Les propriétés biologiques qui caractérisent ces plantes médicinales sont dues au fait qu'elles contiennent de nombreux composés actifs spécifiques au règne végétal connu sous le nom de métabolites secondaires. Parmi les composés potentiellement intéressants les polyphénols, qui ont été d'un grand intérêt pour les scientifiques et les chercheurs car ils ont des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et autres antibactériennes. Ces composés distribués presque dans tous les parties de la plante(**Quezel et al., 1988**).

Rhamnus alaternus , en raison de sa distribution importante et sa représentation comme étant une espèce abondante et assez commune en Algérie, cette plante a été négligée par rapport aux autres plantes beaucoup moins fréquentes, ainsi donc ces effets sur les diverses pathologie nous ont poussé à valoriser cette espèce végétale en mettant en évidence ces composés photochimiques et en démontrant théoriquement ces activités biologiques (**ben Ammar et al. 2009**)

Marrubium vulgare , est parmi les plantes médicinales recensées auprès des populations et bénéficiant de bonnes renommées thérapeutiques qui devront être mises à l'épreuve d'investigations sérieuses de décryptages chimiques et biologiques. Cette espèce, très riche en tanins et flavonoïdes, est largement utilisée dans le bassin méditerranéen pour ses nombreuses vertus thérapeutiques. Elle est employée par les tradipraticiens contre le diabète, Introduction 2 les infections des voies respiratoires et les troubles de la sécrétion biliaire, les affections bronchiques aiguës bénignes et les rhumes (**Sijelmassi., 2000**).

C'est dans ce contexte, que s'inscrit la présente étude dont l'objectif principal est de faire l'extraction des différents métabolites secondaires de *Marrubium vulgare* et de *Rhamnus alaternus* afin d'évaluer les différentes activités biologiques (antimicrobienne).

Cette mémoire s'inscrit dans la continuité de la valorisation de l'activité antimicrobienne de ces deux plantes par une étude in vitro.

Le manuscrit est divisé en deux grandes parties:

La première est consacrée à une étude bibliographique qui est composé de

1-Le Marrube blanc (*Marrubium vulgare*).

2-Le Nerpen alaterne (*Rhamnus Alaternus*).

3- les activités biologiques

La deuxième aborde la partie expérimentale comportant la méthodologie appliquée.

Les résultats obtenus sont interprétés et discutés à la lumière de la littérature existante.

Enfin, une conclusion achèvera le travail ouvrant des perspectives vers l'approfondissement de ce travail.

Aperçu

bibliographique

Marrube blanc *(Marrubium vulgare)*

LE MARRUBE BLANC (*Marrubium vulgare*)

Le Marrube blanc (*Marrubium Vulgare*) faisant partie de la famille des Lamiacées, il serait opportun de leur passage en revue.

1. Famille des Lamiacées

La famille de Lamiacées connue également sous le nom des labiées, dérive du nom latin "labium" signifiant lèvre, en raison de la forme particulière des corolles (**Bouhaddouda, 2016**).

La famille des Lamiaceae est l'une des premières familles à être distinguées par les botanistes, les lamiacées sont des angiospermes dicotylédones appartenant à l'ordre des Lamiales (**Spichiger et al., 2004**). Elle est composée de près de 258 genres et 6970 espèces d'herbes, d'arbustes et d'arbres, à tige quadrangulaire et à inflorescences verticillées. Les feuilles sont généralement opposées ou verticillées, il n'y a pas de stipule. Les fleurs sont bisexuées et zygomorphes, les inflorescences sont en cymes bipares puis unipares. Le calice est synsépale, typiquement 5-mère, parfois bilabié et porte 5 à 15 nervures protubérantes. La corolle est sympétale et typiquement bilabiée, avec deux lobes formant une lèvre supérieure et trois lobes formant la lèvre inférieure. L'androcée peut consister soit en quatre étamines didynames, soit en seulement deux étamines soudées au tube de la corolle ou à la zone périgyne et alternant avec les lobes (**Quezel., 1963., Guignard., 2001**).

2. Distribution

Au monde

Selon (**Judd et al., 2002**), la distribution géographique des lamiacées est cosmopolite. Les lamiacées comprennent environ 3000 espèces dont l'aire de dispersion est extrêmement étendue, mais avec une prépondérance pour les régions méditerranées : Thymus, lavandes, Romarins, qui caractérisent la flore des garrigues. Les lamiacées sont rares, par contre, dans les régions arctiques et en haute montagne (**Guignard et al., 2004**). Les labiées sont surtout des plantes méditerranéennes qui au Sahara ne se rencontrent guère que dans la région présaharienne (**Ozanda, 1991/2004**).

Algérienne

Dans la flore de l'Algérie, les Lamiacées sont représentées par 28 genres et 146 espèces, Certains genres sont de détermination délicate en raison de la variabilité extrême des espèces (**Bendif,2017**).

3. *Marrubium vulgare*

Selon **Bonnier, (1909)** Le terme le marrube provient de deux mots hébreux « maretrob », signifiant " suc amer". Le nom « marrube » désigne une plante amère, utilisé par les juifs dans leurs fêtes.

Le genre *Marrubium*, communément appelé marronnier, appartient à la famille des Lamiacées. Ce genre comporte quelque 40 espèces, répandues principalement le long de la méditerranée, les zones tempérées du continent eurasien et quelques pays d'Amérique Latine. Il est utilisé comme source d'arômes alimentaires et à des fins médicinales (**Letchamo et al.,1997 ; Meyre, 2005 ; Rigano,2006**).



Figure 01 :*Marrubium vulgare* (A)

3.1. Classification botanique et taxonomie

Le marrube blanc, marrube commun (*Marrubium vulgare*), ou simplement marrube ou marube, est une plante herbacée du genre *Marrubium*, de la famille des Lamiaceae

Selon **Judd, (2002)** l'espèce *Marrubium vulgare* et classé comme suit.

Tableau 01 : classification de *MarrubiumVulgare*

Taxon	Nom
Règne	Végétale (Plantae).
Embranchement	Angiosperme.
Classe	Eudicotylédones(Magnoliopsida).
Ordre	Lamiales.
Famille	Lamiacées (menthes).
Genre	<i>Marrubium</i> (marrube).
Espèce	<i>MarrubiumVulgare</i>

3.2. Nomenclature

Cette plante est connue sous le nom latin du *Marrubium vulgare*, En Algérie et au Maroc cette plante connue par le nom Mariout (**Pierre Queze et Santa, 1963**) et en Tunisie on l'appelle Marroubia (**Boukef,1986**).

Tableau 02: Classification de *Marrubium Vulgare*

Désignation	Noms
Nom latin	<i>Marrubium vulgare</i>
Nom kabyle	Marouyeth
Nom arabe	Merriwa, Marryout
Nom français	Marrube blanc, herbe vierge
Nom anglais	White horehound ,hoarhound, andorn

3.3. Aspect botanique

Le marrube blanc est une plante herbacée vivace à racines épineuses, ligneuses ,blanchâtres. Les tiges quadrangulaire, cotonneuse, dressées, un peu rameuse, pouvant atteindre 80 cm de hauteur. Les feuilles duveteuses sont opposées, pétiolées, ovales-arrondies, inégales, ridées et blanchâtres) à limbe mesurant 1,5-4 cm de longueur et 1-3,5 cm de largeur ; elles présentent des bords dentés à crénelés et sont recouvertes de poils blancs, fins et d'aspect vert-gris foncé, les fleurs sont petites et forment des amas danses, axillaires, sessiles et réunies en glomérules à l'aisselle des feuilles , Le calice est velu à 10 dents courtes et crochues (**Bouzourene et Bourkache, 2016**).

Le fruit est un tétrakène. Toute la plante dégage une odeur forte, sa saveur est âcre (qui irrite les organes du goût et de l'odorat) et amère (**Aouadhi, 2010**).

En Algérie, on retrouve 6 espèces différentes au sein de ce même genre : *Marrubium vulgare* , *Marrubium supinum*, *Marrubium peregrinum*, *Marrubium alysson*, *Marrubium alysson de Pomelo* et *Marsupium deserti de Noé*.



Figure 02 :Aspect morphologique de *Marrubium vulgare* (**B**)

3.4. Répartition géographique

Le genre *Marrubium* appartient à la famille des Lamiacées et comprend environ 75 espèces répandues dans une grande partie du globe et notamment en Europe et en Asie.

On compte 50 espèces sur le pourtour méditerranéen. En Algérie, sept espèces sont répertoriées (**Zaabat et al.,2010**).

L'habitat naturel du Marrube blanc est associé aux bords de chemins, près et terrains vagues. Il est lié à des sols légers, peu humides, fortement calcaires (**Bouterfas et al.,2013**).

3.5. Aspect phytochimique

Les études phytochimiques antérieures effectuées sur le genre *Marrubium* (**Ashkenazy et al.,1983**) au regard des données bibliographiques ont permis ont montré la présence :

-Des diterpènes amers de la série des furanolabdanes, surtout des composés de lactones : marrubine principalement et son précurseur préfuranique, la prémarrubine, mais aussi du pérégrinol, du vulgareol, du marrubénol et du marrubiol.

- Des Hétérosides flavoniques du quercétol, de la lutéoline , de l'apigénine:
- Des lactoylflavones, et quelques dérivés de l'acide ursolique et la vitamine C.
- Des tanins spécifiques desLamiacées
- Des dérivés de l'acide hydroxycinnamique (juste à 7%):
 - Acide chlorogénique
 - Caféique,
 - Caféylquinique

-Faible quantité d'huiles essentielles comportant différents composés monoterpéniques (moins de 1% : α -pinène, camphène, lomonène) (**Wichtl et Anton, 2003**).

3.6. L'usage traditionnel

Dans la région méditerranéenne, *M. vulgare* est fréquemment utilisée en médecine traditionnelle pour soigner diverses maladies. La décoction est prescrite également comme anti-typhoïdique, anti-diarrhéique, fébrifuge, anti-ictérique, expectorant, tonique et stimulant (**Weel *et al.*, 1999**).

En Algérie, le marrube blanc est utilisé en médecine populaire pour traiter plusieurs maladies digestives, diarrhée, ainsi que le diabète, les rhumatismes, la bronchite aiguë ou chronique, la toux, l'asthme et d'autres infections respiratoires (**Belhattab *et al.*, 2006**).

Nerprun alaterne *(Rhamnus alaternus)*

Nerprun alaterne (*Rhamnus alaternus*)

Rhamnus alaternus faisant partie de la famille des Lamiacées, il serait opportun de leur passage en revue.

1. Famille des Rhamnacées

La famille des Rhamnacées est une famille de plantes dicotylédones ,environ 900 espèces réparties en 55 genres. Les principaux sont :*Rhamnus* , *Phylica* , *Ziziphus* , *Gouania* et *Ceanothus* . (Spichiger 2004) ,elles sont utilisées en médecine traditionnelle et en préparation culinaire

En Algérie, 9 espèces végétales appartenant à 3 genres sont répertoriées dans diverses régions et classées selon leurs caractéristiques morphologiques (Richardson J, et al ,2000)

2. Distribution

Les Rhamnacées sont présentes dans le monde entier, mais plus particulièrement dans les régions tropicales et subtropicales (l'Asie et le Nord Afrique) .

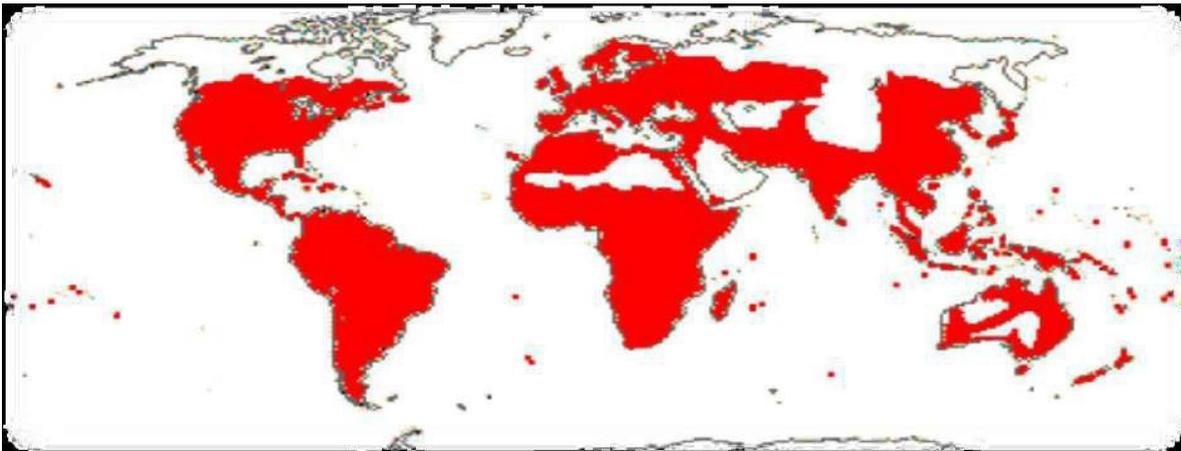


Figure 03: Répartition des Rhamnacées dans le monde (Judd et al.,2002)

3. *Rhamnus alaternus*

Rhamnus alaternus (*Rhamnaceae*) est un arbuste éternel et dioïque d'origine méditerranéenne, localement connue sous le nom de « Imlis » en Algérie, utilisée en phytothérapie, a une taille qui varie de 1 à 5m formant un buisson épais d'un vert assez brillant. Sa croissance est lente mais sa longévité peut atteindre 100 ans (**Bas et al., 2009**).

3.1. Classification botanique et taxonomie

Le Nerprun alaterne est un arbrisseau vivace de la famille des Rhamnacées, caractéristique des garrigues méditerranéennes.

La classification de l'espèce *Rhamnus alaternus* L (**Yi-ling et Pan-kai, 1982**) est la suivante

Tableau 03 :classification *Rhamnus alaternus*

Taxon	Nom
Règne	Plantae-Végétal
Division	Magnoliophyta- plantes à fleurs
Classe	Magnoliopsida-Dicotylédones
Sous classe	Rosidae
Ordre	Rhamnales
Famille	Rhamnaceae
Genre	Reynosia
Espèce	<i>Rhamnus alaternus</i>

3.2. Nomenclature

Le nom de genre *Rhamnus* provient du grec rhamnos, nom du Nerprun purgatif et l'épithète spécifique *alaternus* est l'ancien nom latin de la plante.

Le terme français « nerprun » dérive du latin populaire niger prunus, « prunier noir », qui a donné aussi noirprun synonyme de nerprun cathartique

Tableau 04 : nomenclature *Rhamnus alaternus* .

Designation	Norms (references)
Noms latins	<i>Rhamnus alaternus</i>
Noms kabyles	Ajroudj, Khalisn'imidekh, Amliles (Beloued, 2001).
Noms arabes	éliés, Qaced (Said et al.,2002); Oud el khir (Ben Ammar et al., 2009). Soit faïr ou bien Safir
Noms français	Alaterne (Beloued, 2001), Nerprun méditerranéen (Izhaki et al., 2002)
Noms anglais	Italian Buckthorn, Mediterranean Buckthorn (Akerreta, 2009).

3.3. Répartition géographique

Rhamnus alaternes est un arbuste qui est localisé le long du bassin méditerranéen, l'Asie et Europe (**Gulias et al., 2004**). Il se trouve dans les pays d'Afrique du nord : en Algérie, au Maroc et en Tunisie, et dans les forêts du littoral méditerranéen, en Algérie elle pousse dans les forêts, les rocailles et surtout dans les rochers des montagnes (**Ait Youssef, 2006**)

3.4. Aspect botanique

Rhamnus alaternus est un arbuste toujours vert, d'origine méditerranéenne (**Akerreta, 2009**). à feuilles alternes, ovoïdes-lancéolées, pétiolées et luisantes, longues de 6 cm sur 3 cm de large, dentées sur leurs bords, coriaces à nervures médianes épaisses, trinervées à la base; Stipules linéaires petites, caduques, fleurs dioïques et petites de 2-3 mm, d'un jaune verdâtre, en grappes axillaires, plus longues que le pétiole. Calice à 5 lobes lancéolés, pétales nuls, baies petites de 4-6mm, peu charnues, rouges puis noires à maturité. La croissance de *Rhamnus alaternus* .L est lente, cependant sa durée de vie peut aller jusqu'à 100 ans (**Beloued, 2001; Bas et al.,2002**). La tige est dressée et rameuse, les rameaux sont alternes, non épineux de 1-5m.

-Floraison : Mars-Avril (**Beloued, 2001**). Ses fruits charnus mûrissent à la fin du printemps et le début de l'été (**Gulias et al.,2004**).

-Récolte : la récolte des baies se fait en septembre et octobre que l'on récolte ses pour leurs propriétés thérapeutiques (**Bardin, 2004**).



Figure 04: *Rhamnus alaternus* (**Rameau et al., 2008**).

3.5. Aspect phytochimique

Rhamnus alaternus est caractérisé par une richesse de substances phénoliques qui est spécialement les tanins, les anthraquinones et des flavonoïdes, des coumarines, (**Izhaki et al., 2002**). Elle est aussi riche en flavones hétérosides (**Stocker et al., 2004**)

Les flavonoïdes glycosylés isolés à partir des feuilles de *Rhamnus alaternus* :

- le Kaempferol 3-O- β -isorhamninoside.
- le rhamnocitrin 3-O- β -isorhamninoside.
- le rhamnetin-3-O- β -isorhamninoside.

Trois flavonoïdes aglycones ont été identifiés:

- lekaempferol.

- laquercétine
- L'apigénine (**Ban Ammar et al.,2009**)

Quatre anthraquinones aglycones ont été isolées dans une autre étude.(**Izhaki et al., 2002**)

- Lémodine aglycone était le plus abondant dans la partie aérienne de la plante, il a été trouvé dans toutes les parties examinées de la plante, en même temps, c'est le seule aglycone détectée dans les graines et dans le péricarpe mûr(**Al-Habba et al.,1984**).
- Le Chrysophanol existe abondamment dans les parties les plus jeunes de la plante mais totalement absent dans lesfeuilles.
- Alaternin atteint sa concentration maximale dansl'écorce.
- le Physcion a été trouvé dans toutes les parties de la plante à l'exception des graines et du péricarpe mûr. Les drupes, les feuilles et l'écorce sont riches en dérivés anthracéniques et en flavonoïdes, glucosides, alcaloïdes, tanins (**Mecherara-Idjeriet al.,2008**)

La pulpe de *R. alaternus* est composée principalement d'eau (68%), de minéraux, de lipides, protéines et de fibres (cellulose, hémicellulose et lignine) (**Izhaki et al., 2002**)

3.6. L'usage traditionnel

En médecine traditionnelle *Rhamnus Alaternus* a été employé en tant que digestif, diurétique, laxatif, astringent, hypotensif et pour le traitement des complications hépatiques et dermatologiques (**Bhourri et al., 2012**). Ainsi que les problèmes cardiovasculaires (**Calvo et Caverro, 2014**). Des études antérieures ont montré que l'extrait brut de *Rhamnus alaternus*, est un puissant antioxydant, antimutagène, anti-génotoxique (**Ben Ammar et al .,2008 ;Bhourri et al., 2011**). Antimicrobien (**Kosalec et al., 2013**). Les tiges et les feuilles de *Rhamnus alaternus* sont utilisées en Algérie, contre l'ictère et les troubles hépatiques provoqué par le paludisme. Le fruit était utilisé en Algérie comme purgatif doux ; au Maroc- dans le Haut Atlas et le Moyen Atlas, il est toujours employé comme laxatif (**Ait Youssef, 2006**).

Les parties utilisées : le bois, le fruit, l'écorce ou les feuilles. Ces parties sont utilisées contre :

- l'anémie, la jaunisse (ictère) et autres maladies graves d'hémoglobine (écorce, feuilles)
- Maladies des voies respiratoires. (Baies)
- purificateur de sang (baies)
- Femme enceinte (baies)
- Douleurs d'articulations (feuilles)
- Inflammation de la bouche et l'aphte. (Feuilles)
- Traitement de la peau (feuilles)
- Utilisé en shampoing pour fortifier les cheveux et éliminer les pellicules.
- Pour laver les morts
- Apaise les douleurs dentaires et toniques. (Écorce)
- Traitement des pathologies du côlon et intestins (écorce)

III. Activités biologiques

1. Activités biologiques de *Marrubium vulgare*

1.1 Activité antioxydante

L'huile essentielle obtenu à partir des parties aériennes de *Marrubium vulgare* se sont avérés avoir de fortes activités antioxydantes.

Certaines études ont démontré que l'activité antioxydante considérable de *M. vulgare* est associée à la présence de marrubine ainsi que de composés phénoliques et de flavonoïdes exerçant un effet synergique, en plus un effet antioxydante, anticoagulant, antiplaquettaire et anti-inflammatoire important a été attribué à la marrubine(**Said-Al Ahl, et al., 2015**)

1.2 Activité antimicrobienne

Le pouvoir antimicrobien de *Marrubium vulgare* est dû essentiellement à ces principes actifs tels que les huiles essentielles, les flavonoïdes et les tanins (**Albuquerque , et al., 2018**).

Les propriétés antimicrobiennes de *Marrubium vulgare* sont soupçonnées d'être associées, en partie avec leur forte teneur en composés oxygénés.

Globalement, une telle activité antimicrobienne pourrait être principalement en raison de la présence de 1,8-cinéole, de camphre et de linalol, qui sont bien connus pour leurs activités antibactériennes, ou de la présence de β -caryophyllène pour lequel une activité antimicrobienne est décrite, et la présence des monoterpènes oxygénés, qui sont particulièrement actifs contre les cellules microbiennes. De plus, le germacrène-D est connu avoir un effet important sur le comportement des insectes et à l'activité antibactériennes et antifongiques importants. En fait, ces composés sont partiellement solubles dans les milieux aqueux et causer plusieurs dommages tels que troubles morphologiques de l'hypha mycélium et rupture de la membrane plasmique (**Zarai, et al., 2011**).

D'après l'étude (**Cushnie et Lamb, 2011**) a révélé que L'extrait méthanoïque de la plante possède une activité anti-*Helicobacter pylori* ATCC 43504 significative. Cela est dû au flavonoïde (la quercétine) qui a un effet inhibiteur sur l'uréase de la bactérie. Une autre étude réalisée par

(**Molina-Salinas et al., 2006**) a révélé que l'extrait méthanoïque, aqueux, l'extrait de l'acétone et de l'hexane de la plante ont un effet inhibiteur efficace contre *Mycobacterium tuberculosis* (agent causatif de la tuberculose) à une concentration supérieure à 200 µg/ml. Ce potentiel d'activités biologiques est dû à la richesse de *Marrubium vulgare* en principes actifs.

2. Activités biologiques de *Rhamnus alaternus*

2.1 Activité antioxydante

Certains extraits de *Rhamnus alaternus* ont un potentiel d'activité antioxydante liée à la composition de la plante en flavonoïdes et phénols (**Ben Ammar, et al., 2008. Bhouri et al., 2012**).

Le kaempferol 3-O-isorhamminoside possède des activités anti radicalaires contre l'ABTS et le O₂⁻, comme il induit l'activation de systèmes de réparation de l'ADN

Les chercheurs ont démontré encore que ce composé module non seulement l'expression des enzymes antioxydantes mais aussi celles des enzymes réparatrices de l'ADN. (**Hayder et al., 2008**)

Kooststra (1994) a proposé que les flavonoïdes neutralisent les radicaux libres, en se liant directement à ces derniers. **Edenharder et ses collaborateurs (1997)** ont montré que les flavonoïdes ne permettent pas la fixation des mono oxygénases au niveau des cytochromes p-450 membranaires et ainsi diminuent l'apparition du radical O₂⁻.

Les flavonoïdes de *Rhamnus alaternes* sont de bons chélateurs de métaux qui jouent un rôle important dans le métabolisme de l'oxygène et l'apparition des ERO et la réduction du H₂O₂ par la génération de quantités importantes de radicaux hydroxyles (**Ashoka, 2001**).

Les équipiers de **Kelly (2002) et Yen (1995)** ont démontré que les flavonoïdes sont de bons donneurs d'électrons et d'hydrogène ce qui leurs confère la capacité de terminer la chaîne de formation des radicaux en convertissant les radicaux libres et les ERO en produits stables.

2.2 Activité antimicrobienne

Cette méthode permet de mettre en évidence l'effet antibactérien des extraits testés sur les souches bactériennes, ainsi que la détermination de la résistance ou la sensibilité de ces souches vis-à-vis des différents extraits (**Essai et Sour, 2000**).

L'homme se trouve en contact avec des micro-organismes qui vont progressivement coloniser son revêtement cutané-muqueux. Pour résister à ces micro-organismes de nombreux moyens sont mis en jeu. On peut schématiquement en distinguer 3 groupes : les barrières anatomiques, les mécanismes de résistance naturelle (ou innés) et l'immunité acquise (**Kaufmann, 1997**).

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents peut entraîner la sélection de souches multirésistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments à base des plantes **(Billing et Sherman, 1998)**.

Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrolases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésines microbiennes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire **(Cowan, 1999)**.

Plusieurs études *in vitro* et *in vivo* ont été focalisées sur l'évaluation des propriétés antimicrobienne des polyphénols. Actuellement, cet effet certain a été démontré par de nombreuses recherches expérimentales; à savoir des études du pouvoir inhibiteur des flavonoïdes sur la croissance bactérienne ont démontré que de nombreux composés flavoniques (apigénine, kaempférol et d'autres) sont doués d'un effet important sur différentes souches bactériennes à Gram négatif (*Escherichia coli*) et Gram positif (*Staphylococcus aureus*) **(Ulanowska et al., 2007)**.

Des flavonoïdes isolés des fruits de *Terminalia bellerica* et de l'arbuste *Eysenhardtia texana* ont été avérés comme possédant l'activité contre le microbe pathogène opportuniste *Candida albicans* **(Wächter et al., 1999)**.

Deux autres flavones isolés de la plante *Artemisia giraldi* ont été rapportés exhibant une activité contre *Aspergillus flavus* une espèce de mycète causant la maladie envahissante chez les immunosuppresseurs **(Valsaraj et al., 1997)**.

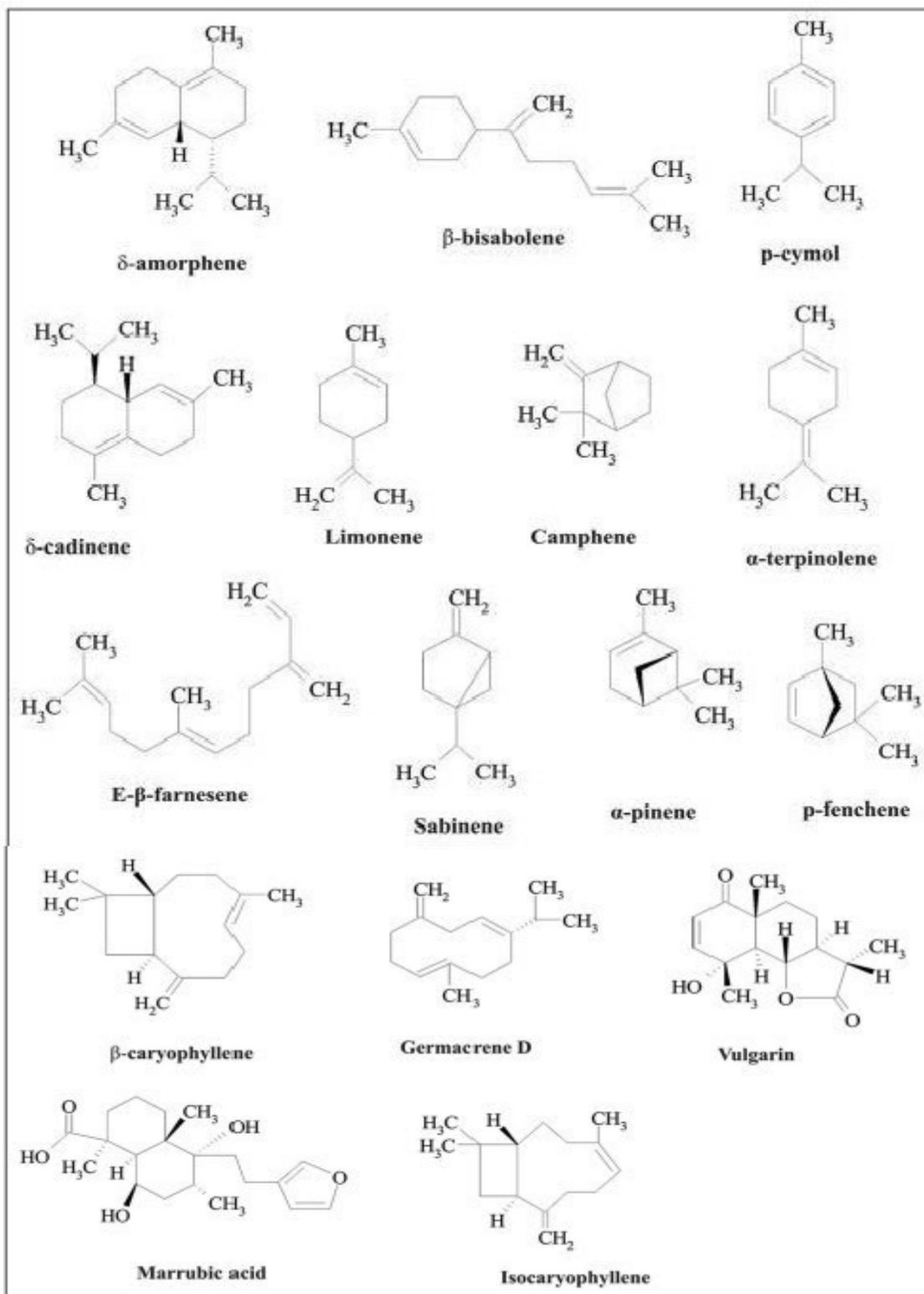


Figure 05 : Structures chimiques des mono terpènes et sesquiterpènes de *M. vulgare*(Lodhi et al.,2017).

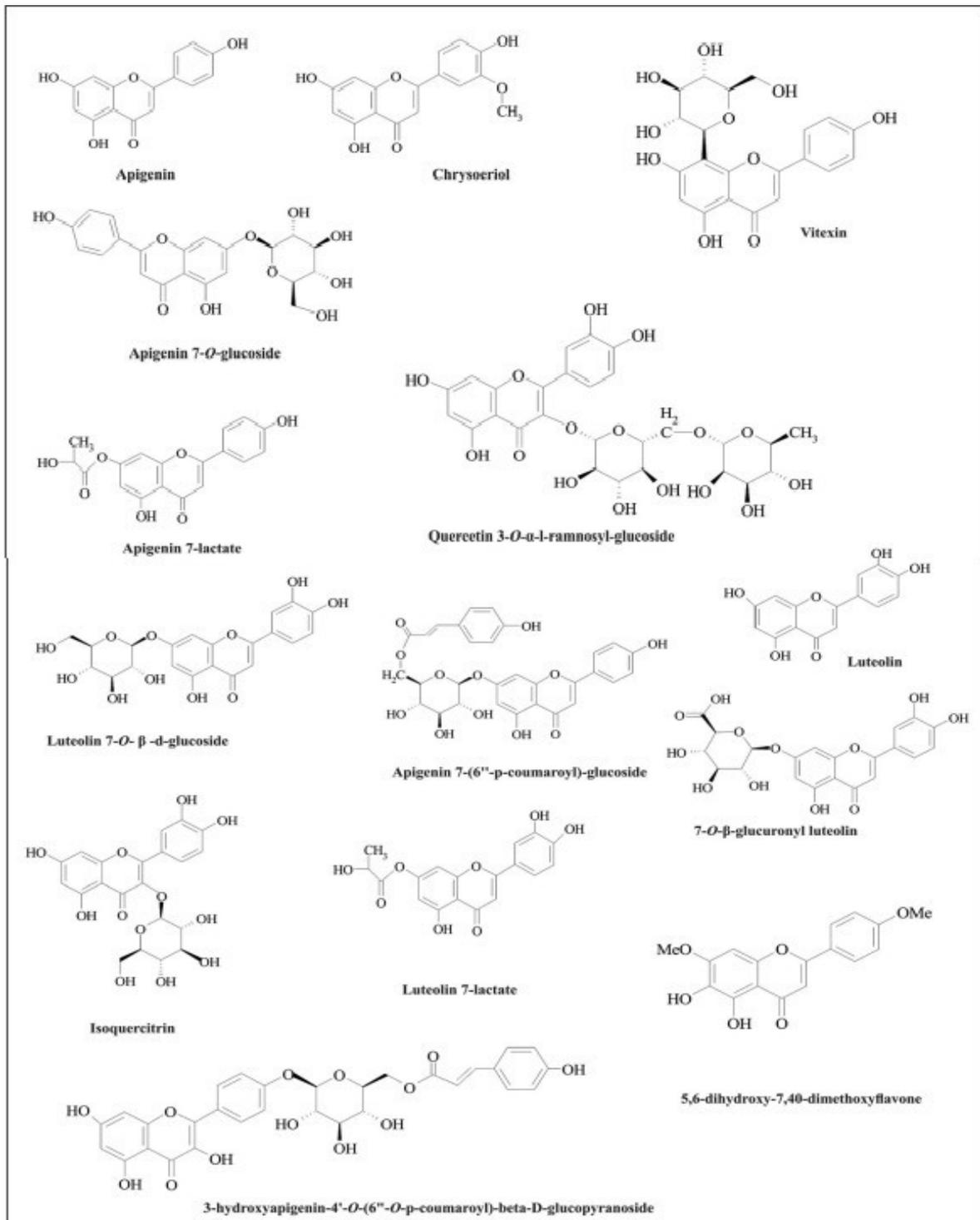


Figure06 : Structure chimique de flavonoïdes de *M.vulgare*(Lodhi et al.,2017).

MATERIEL et METHODES

Notre étude expérimentale a été réalisée au sein de laboratoires des analyses microbiologiques de Sidal biotech GDC et de laboratoire pédagogique de biochimie appliquée à la faculté de science de l'université Mohamed BougeraBoumerdes

L'objectif de notre étude est d'évaluer la propriété biologiques (activité antimicrobienne) de différents extraits éthanoliques, méthanoliques de la partie aérienne des deux plantes étudiés *Marrubium vulgare* et *Rhamnus alaternus* .

Le travail pratique est subdivisé en parties suivantes :

- Extraction méthanolique de *Marrubium vulgare*.
- Extraction éthanolique de *Rhamnus alaternus*.
- Détermination de l'activité antimicrobienne des différents extraits.

Le choix du solvant a été référencié (**Quettier et al.,2000**)

Les deux plantes sont solubles les une que les autres dans deux solvants connus a savoir le methanole et éthanole, resultant sur des rendment consequent.

1. Matériel biologique

1.1. Plantes

Le matériel végétal pour la réalisation de cette étude est essentiellement porté sur les tiges et feuilles puisque c'est à ce stade que se trouve la majorité des principales substances actives.

Les échantillons ont été récoltés pendant le mois de Mai 2022 , dans la région de Chabet El ameur commune d'Isser , situé à la Wilaya de Boumerdes pour *Marubbium vulgare* . La région est caractérisée par un climat méditerranéen, avec un hiver pluvieux et neigeux et un été relativement chaud ,ainsi que dans la région de hamamelouene située à la Wilaya de Blida pour le *Rhamnus alaternus* .

1.2. Souches microbiennes

Les souches utilisées sont référencés de l'American type culture collection (ATCC), sont pourvoyés du laboratoire de microbiologie de Sidal GDC. Ces souches sont pathogènes et responsables d'infections graves chez l'homme, dont la plupart sont résistantes aux antibiotiques .

1.2.1. Les bactéries à Gram–

- *Escherichia coli* ATCC 25922.
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

1.2.2. Les Bactéries à Gram+

- *Bacillus subtilis* ATCC 10876.
- *Staphylococcus aureus* ATCC25923.

1.3.3. Les levures

- *Candida albicans* .

2. Méthodes

2.1. Séchage et broyage

Après la récolte, les différentes parties de la plante sont soumises à un rinçage à l'eau ordinaire pour éliminer les impuretés, puis coupées en petits morceaux pour les mettre à l'abri de la lumière et de l'humidité, et placées sous aération afin, de préserver le maximum de l'intégrité des molécules actives, Durant trois semaines, reportées dans la figure 07.

À l'assèchement, les échantillons sont soumis à un broyage électrique afin, d'obtenir une poudre fine prête à l'emploi. Le substrat obtenu a été tamisé et conservé dans des flacons en verre ambré en vue de leur expérimentations.



Figure 07: Plantes séchées **A** : *Rhamnus alaternus*, **B** : *Marrubium vulgare* (original).

2.2. Techniques d'extraction des huiles essentielles

Hydrodistillation

L'hydrodistillation est le procédé le plus anciennement utilisé pour l'extraction des Huiles Essentielles (HE). Développé par les Arabes dès le moyen Age (Paul, 1991 ; Bakkali *et al.* 2008). Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un bain d'eau. L'ensemble est ensuite porté à ébullition généralement à pression atmosphérique. La chaleur permet la diffusion du principe actif des biomolécules.

Le mélange azéotropique est condensé sur une surface froide et l'HE séparée par différence de densité.

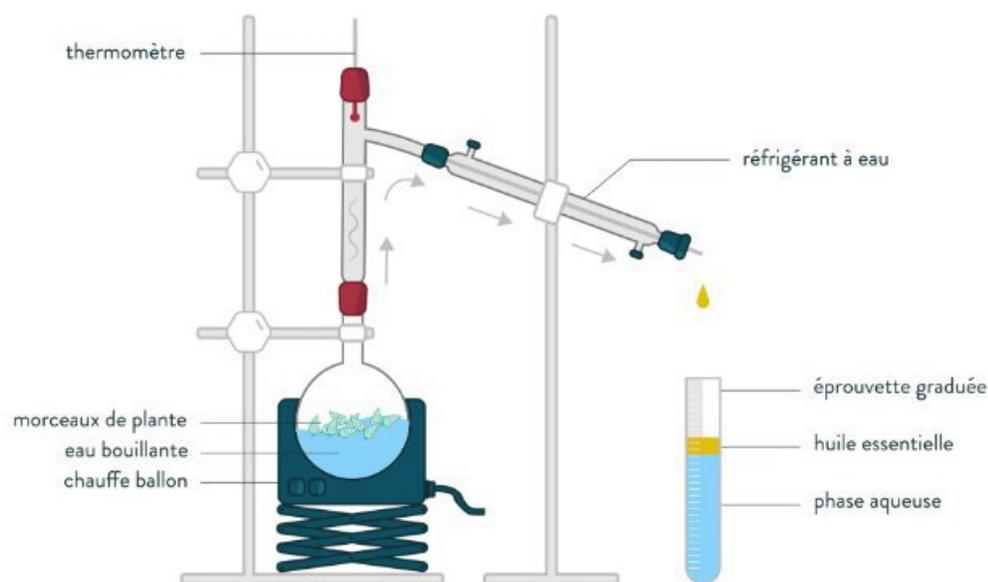


Figure 08 : Schéma d'un montage d'hydrodistillation. (C)

Extraction des huiles essentielles

L'extraction de l'HE des deux plantes ont été effectués par les memes étapes d'hydrodistillation. Dans un ballon de 1 litre d'eau distillée est introduit 90g de la plante sèche . L'ensemble est porté à ébullition / 2 -3 h .

Les vapeurs chargées d'HE se condensent en traversant un réfrigérant et chutent dans une ampoule à décanter, l'eau et l'huile se séparent par différence de densité (figure 09)



Figure 09: Hydrodistillation de *Marrubium vulgare* (original).



Figure 10: Hydrodistillation de *Rhamnus alaternus* (original).

2.3. Préparation des extraits des polyphénols

Les deux plantes ont été soumises à une extraction par solvant afin de réaliser un rendement conséquent. De l'usage de deux solvants fréquemment utilisés à savoir méthanol et éthanol à 85%.

Le substrat de *Marrubium Vulgare* (50g) préalablement nettoyées et broyées sont mises à macérer dans 250 ml de méthanol (85%) sous agitation douce pendant 24h à température ambiante.

Initialement, l'extrait alcoolique est récupéré après filtration du mélange sur coton, puis sur papier Wattman N°03, étant éliminé du filtrat par évaporation sous pression réduite dans un évaporateur rotatif à la température $T = 65^{\circ}\text{C}$ et à la vitesse de rotation de 3 tr/min, l'extrait obtenu a été mis à l'étuve à $T = 40^{\circ}\text{C}$ (Fig. 10) (Belhattab et al., 2004; Ben Ammar et al., 2008).

L'extrait brut de *Marrubium Vulgare* obtenu est d'une couleur verte foncée; pesé, étiqueté et conserve jusqu'à l'utilisation.

NB: L'extraction à l'éthanol (85%) de la plante *Rhamnus alaternus* a été soumise aux mêmes étapes de préparation. L'extrait brut obtenu est caractérisé d'une couleur verte foncée, pesé, étiqueté et conservé jusqu'à l'utilisation.

❖ Calcul de rendement d'extraction

Chaque extrait est pesé pour calculer le rendement de l'extraction, exprimé (g), suivant la formule .

$$\text{Rdt \%} = \frac{\text{PF}}{\text{MS}} \times 100$$

Rdt : rendement en %

PF : poids de produit final (g) .

MS : poids de matière sèche (g) .

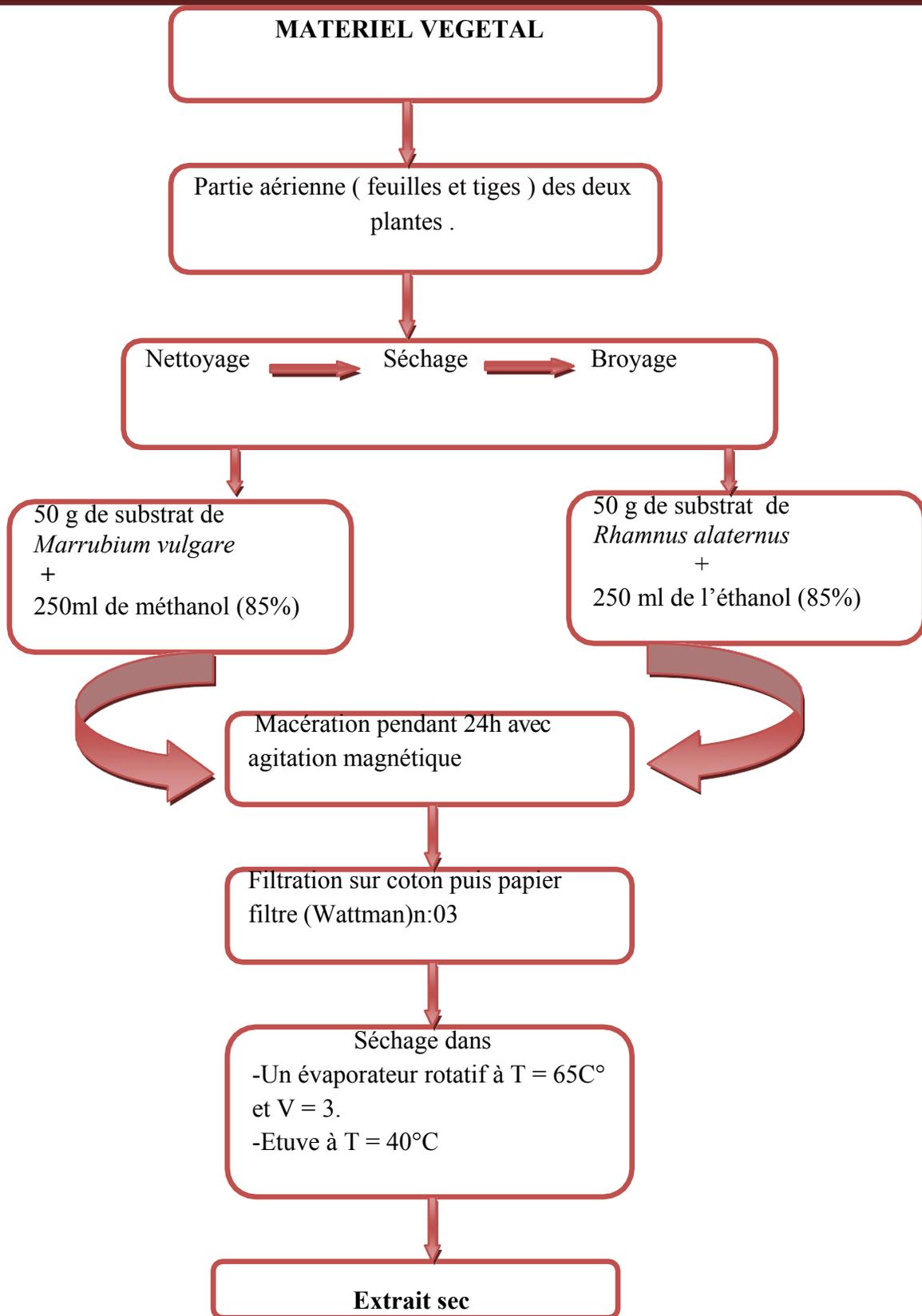


Figure 11: Protocole de préparation des extraits secs de *Marrubium vulgare* et *Rhamnus alaternus*

2.4. Test antimicrobien:

Le pouvoir antifongique et antibactérien des deux extraits de *Marrubium vulgare* et *Rhamnus alaternus* a été déterminé sur deux milieux : gélose de Muller Hinton et gélose de Sabouraud .

La technique de diffusion sur milieu solide a été utilisée (**Perez et al., 1990 ; Nair et Chanda, 2005**).

2.4.1. Préparation des dilutions d'extraits de *Rhamnus alaternus* et *Marrubium vulgare*

Les extraits ont été dissous dans le diméthyle sulfoxyde (D) afin, de préparer les différentes concentrations avec des dilutions successives au demi, relativement a la concentration de la solution mère de chaque extrait est de 200 mg/ml.

2.4.2. Préparation de l'inoculum

Les Souches Microbiennes (SM) sontensemencées dans la gélose et incubées à 37°C pendant 24h (pour les bactéries) et à 25°C pendant 48h (pour les levures) , afin d'optimiser leur croissance. On racle à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes à tester. Décharger l'anse dans 5 ml d'eau distillée stérile, La suspension bactérienne est emulsifiée, son opacité doit être équivalente à une Densité Optique (DO) de 10^7 à 10^8 à 620nm.

- **NB:** Le reajustement de l'inoculum se fait par l'ajout de l'Eau Physiologique (EP) en cas de forte concentration et au cas contraire les colonies , sachant que l'inoculum doit être utiliser dans les 15 minutes qui suivent sa préparation.

2.4.3. Dépôts des disques:

Méthode des puits :

• Préparation de la 1ere couche dumilieu

Initialement , le milieu gélosé Muller-Hinton et le sabouraud sont a fondre dans un bain-marie à 95°C ,pour etre verser aseptiquement une première couche dans les Boites de Pétri(BP) à raison de 15ml par boite en trilplicata par souche, puis refroidi et solidifier sur la paillasse.

• Préparation de la 2eme couche dumilieu

Suivi par une fonte d'un milieu gélosé Mueller-Hinton (MH) et le sabouraud au bain-marie à 95°C, avec une chute de température jusqu'à 45°C afin de pouvoir remplir des flacons en

verres stériles avec 50ml de MH pour les bactéries, et avec 50ml de sabouraud pour les levures pour chacune des souche.

Les MC ont été ensemencer avec 200 μ l de chaque suspension préparée (chaque SM a été ajustée dans l'EP), puis transvaser 4ml de chaque milieu inoculé en 2^{ème} couche sur la surface des BPs contenant déjà la 1^{ère} couche de gélose et les laisser solidifier sur la paillasse.

Après 15 min, des puits ont été découpés à l'aide de pipettes Pasteur. Et une goutte d'extrait a été ajoutée dans chaque puits . Ensuite, Les boîtes sont incubées dans une étuve à 37 °C pendant 24 heures pour les bactéries et 25 °C pendant 48 heures pour les levures .

2.4.4. Expression des résultats

L'action inhibitrice se manifeste par la formation d'un halo autour des puits. La lecture des résultats s'effectue par la mesure des diamètres des zones d'inhibitions. Un produit est considéré actif, si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 8 mm.

Les résultats sont exprimés selon quatre niveaux d'activité :

$D < 8$ mm : bactérie non sensible .

$9 < D < 14$ mm : bactérie sensible .

$15 < D < 19$ mm : bactérie très sensible

$D > 20$ mm : bactérie extrêmement sensible (**Bouharb et al., 2014**).

Résultats et Discussion

III.1. Hydrodistillation des huiles essentielles :

Rhamnus alaternus

On a fait l'extraction par hydrodistillation des huiles essentielles (HE), mais on n'a trouvés aucun extrait, cela prouve que *Rhamnus alaternus* est dépourvus en HE, par contre elle est riche en polyphénols dont les flavonoïdes glycosylés (Izhaki et al., 2002) .



Figure 12: Résultat de l'hydrodistillation de *Rhamnus alaternus* (original)

Marrubium vulgare

L'extraction des HE par hydrodistillation de *Marrubium vulgare* a donné une très faible quantité des huiles, pour cela on n'a pas réalisé d'autres extraction des HE , car on choisi d'orienté notre travail vers l'extraction des polyphénols malgré l'existence des HE (Rezazi, et al 2017).

On n'a pas calculer le rendement des HE de *Marrubium vulgare*, car il n'y'a pas de quantités suffisantes de HE.



Figure 13 : Résultat de l'hydrodistillation de *Marrubium vulgare* (original) .

III.2. Rendement pondérale d'extraction

Les rendements obtenus pour les différents extraits sont représentés dans le tableau N°05

Tableau N°05: Rendement d'extraction.

Extraits	Méthanol	Ethanol
Rendements (%)	18	11

III.3. Activités antimicrobienne

L'Activité Antimicrobienne (AA) est la capacité des extraits de neutraliser les développements des bactéries dans un MC.

Le pouvoir antimicrobien des fractions de *Rhamnus alaternus* et *Marrubium vulgare* a été étudié par la méthode des puits sur un milieu gélose solide, Mueller-Hinton pour les bactéries et le sabouraud pour les levures.

L'objectif de ce travail est d'évaluer la capacité fractions de *Rhamnus alaternus* et *Marrubium vulgare* des composés bioactifs pouvant avoir un effet thérapeutique antimicrobien.

III.3.1. Antibiogramme à l'égard des souches étudiées

Les activités des fractions étudiées de *Rhamnus alaternus* et *Marrubium vulgare* ont été évaluée par la présence ou l'absence d'inhibition de la croissance bactérienne. L'AA est traduite par l'apparition des zones claires autour des puits remplis des extraits des plantes.

Le diamètre d'halos varie en fonction de la souche testée, la nature et la dose de la substance active présente dans les extraits .Les extraits sont testés sur quatre SM.

Les résultats des différents tests de l'AA de l'extrait méhanolique de *Marrubium vulgare* et l'extrait éthanolique de *Rhamnus alaternus* sont repportés dans le tableau N°06.

Tableau N°06 : Résultats de l'AA de l'extrait méthanolique de *Marrubium vulgare* l'extrait éthanolique de *Rhamnus alaternus*

Diamètre d'inhibition (mm) Source Microbienne	<i>Marrubium vulgare L</i> (extrait méthanolique)	<i>Rhamnus alaternus</i> (extrait éthanolique)
- <i>Escherichia coli</i>	17	15
- <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-
- <i>Bacillus subtilis</i>	14	-
- <i>Staphylococcus aureus</i>	15	22
- <i>Candida albicans</i>	16	-

- : résultats négatif

III.3.1.1. Antibiogramme de Gram +

Les deux extraits des plantes *Rhamnus alaternus* et *Marrubium vulgare* ont inhibés la croissance de *Staphylococcus aureus* avec une Zone d'Inhibition (ZI) de 14 à 22 mm. La ZI la plus large 22mm de diamètre pour l'extrait de *Rhamnus alaternus* a montré une AA importante contre le *Staphylococcus aureus*, et une ZI accès importante de 16mm pour l'extrait de *Marrubium vulgare*.

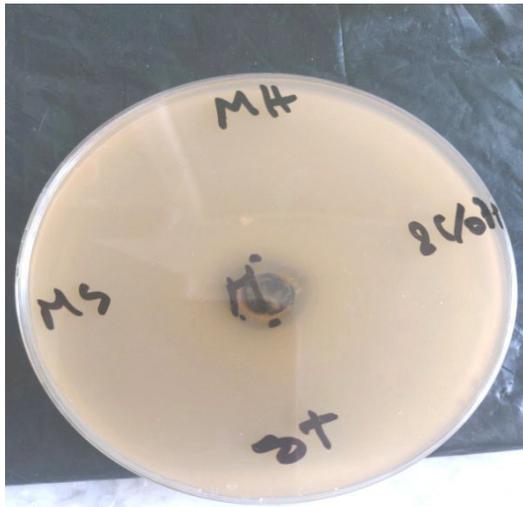
-Staphylococcus aureus

Figure 14: Effet antimicrobien de l'extrait *Marrubium vulgare* vis-à-vis de *S. aureus*

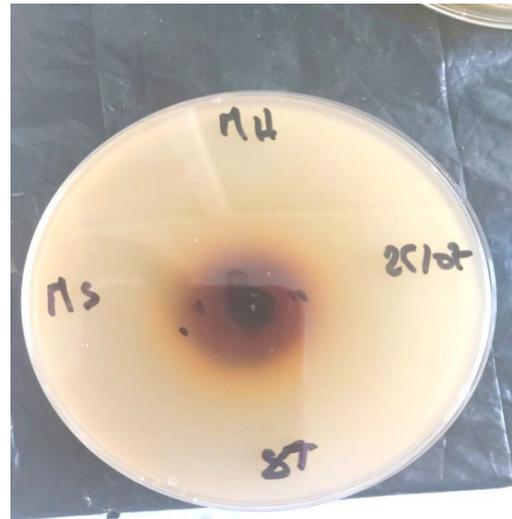


Figure 15: Effet antimicrobien de l'extrait de *Rhamnus alaternus* vis-à-vis de *S.aureus*

- Bacillus subtilis

L'extrait de plantes *Rhamnus alaternus* inhibe la croissance de *Bacillus subtilis* avec une ZI entre 13 et 15 mm et la plante *Marrubium vulgare* a inhibé la croissance de *Bacillus subtilis* de diamètre entre 11 et 13 mm, donc la *Bacillus subtilis* a montré une résistance contre les fractions des deux plates *Rhamnus aternus* et *Marrubium vulgare*.

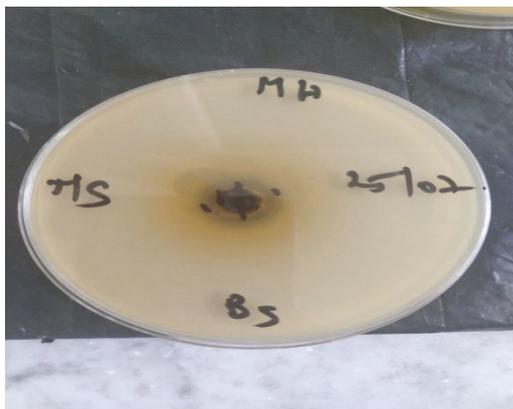


Figure 16: Effet antimicrobiendel'extrait de *Marrubium vulgare* vis-à-visde *B.subtilis*

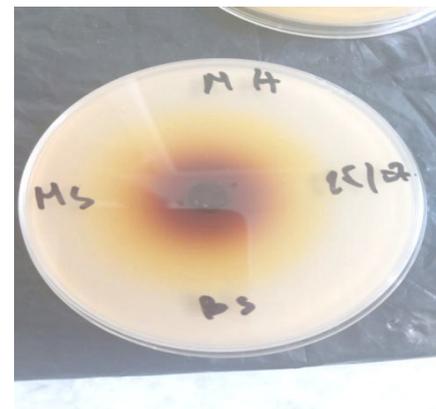


Figure 17: Effet antimicrobien de l'extrait de *Rhamnus alaternus* vis-à-vis de *B.subtilis*

III.3.1.2. Antibiogramme de Gram -

-*Pseudomonas aeruginosa*

Les résultats de la présente étude montre que la bacterie *Pseudomonas aeruginosa* ne présente aucune sensibilité vis-à-vis des fractions des deux extraits des plantes étudiées donc reduites a des bacteries bactériostatiques .

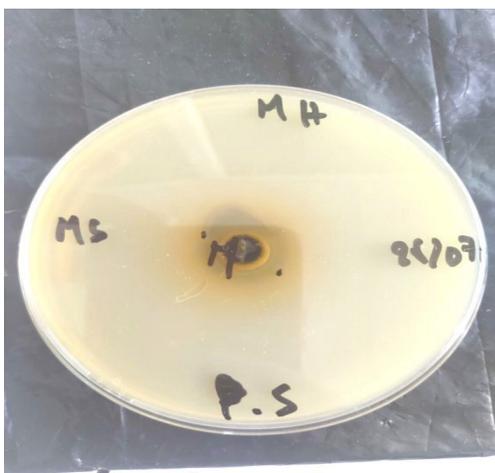


Figure 18: Effet antimicrobien de l'extrait

de *Marrubium vulgare* vis-à-vis de

P. arguionsa

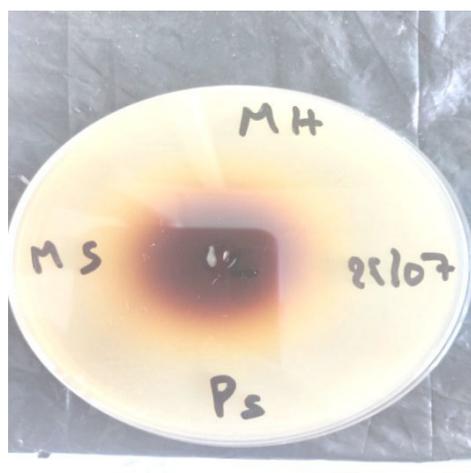


Figure 19: Effet antimicrobien de l'extrait

de *Rhamnus alaternus* vis-à-vis de *P. arguionsa*

-*Escherichia coli*

L'extrait de plante *Rhamnus alaternus* inhibe la croissance de *Escherichia coli* avec une ZI entre 13 et 15 mm et la plante *Marrubium vulgare* a inhibe la croissance de *Escherichia coli* de diamètre entre 15 et 17 mm, donc la *Escherichia coli* a montré une résistance contre les fractions des deux plates *Rhamnus laternus* et *Marrubium vulgare*.

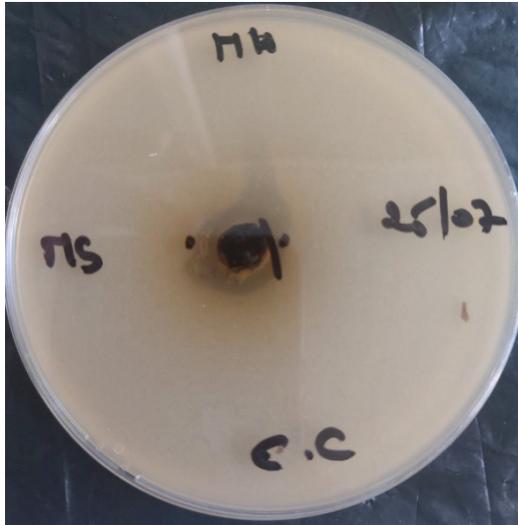


Figure 20: Effet antimicrobiendel'extract de *Marrubium vulgare* vis-à-vis de *E.coli*

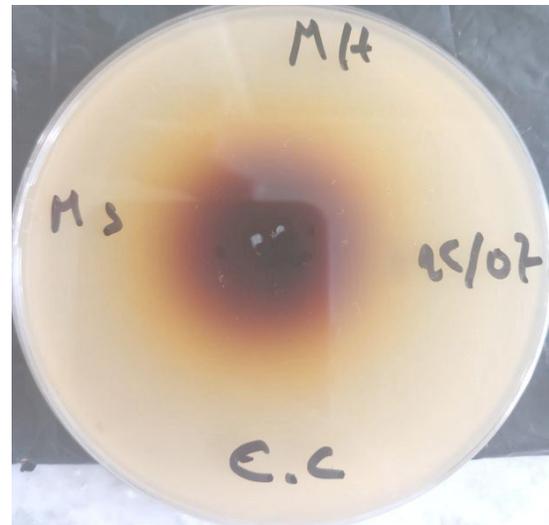


Figure 21: Effet antimicrobien de l'extract de *Rhamnus alaternus* vis-à-vis de *E.coli*

III.2.3 Levure

-La levure *Candida albicans*

L'extract de plante *Marrubium vulgare* inhibe la croissance de *Candida albicans* avec une ZI 16mm par contre le *Rhamnus alaternus* n'a pas montre une AA vis-à-vis de *Candida albicans*

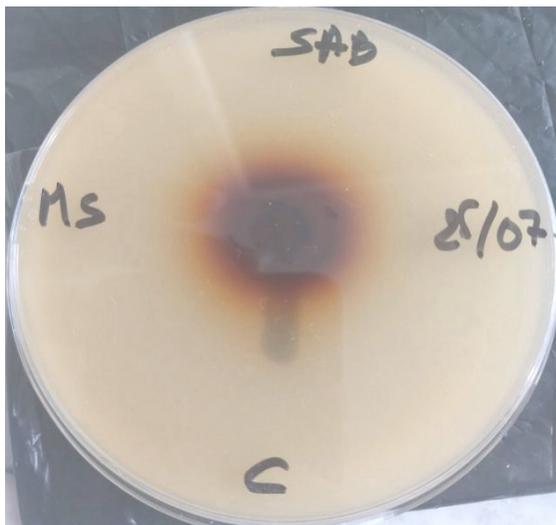


Figure 22: Effet antimicrobien del'extractde *Marrubium vulgare* vis-à-visde *C.albicans*



Figure 23: Effet antimicrobien del'extract de *Rhamnus alaternus* vis-à-vis de *C.albicans*

DISCUSSION

Les résultats consignés dans le tableau N°06 ont montré que les extraits de *Rhamnus alaternus* et de *Marrubium vulgare* ont une bonne activité inhibitrice contre la souche bactérienne à Gram + étudiée (*Staphylococcus aureus*), contrairement à la souche bactérienne à Gram - (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*).

L'extrait avait un effet dose-dépendant contre *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, et un effet modéré *Escherichia coli*. L'extrait était inefficace contre *Pseudomonas aeruginosa* (Dusser, 2017).

Les résultats de l'activité antifongique des feuilles du *Rhamnus alaternus* obtenus sont négatifs, aucun effet a été détecté contre la levure examinée. Contrairement à *Marrubium vulgare* possède un effet plus ou moins important contre *Candida albicans*.

Plusieurs études ont montré que l'AA des extraits de plante est attribuée à leurs composés phénoliques (Cowan, 1999).

Les composés phénoliques font actuellement l'objet de nombreuses études car ils sont reconnus pour leurs différentes activités biologiques (Trabelsi et al., 2010), ils ont été rapportés pour des propriétés pharmacologiques intéressantes et variées, à savoir leurs propriétés antioxydantes et anti-radicalaires (Ismail et al., 2010 ; Troszyńska et al., 2010), anti-inflammatoires (Narayana et al., 2001), anticancéreuse (Zhang et al., 2010), et antibactérienne (Dembitsky., 2005)

Cowan (1999) a rapporté que les différentes classes de poly phénols essentiellement les tanins et les flavonoïdes peuvent augmenter la toxicité des extraits envers les microorganismes. Cette toxicité est fonction du site et du nombre de groupements hydroxyles présents sur le composé phénolique. En outre, il est évident que l'augmentation de l'hydroxylation conduit à une augmentation de la toxicité. L'effet antimicrobien de ces phénols peut être expliqué par l'inhibition de la croissance bactérienne suite à leur adsorption sur les membranes cellulaires, l'interaction avec les enzymes et les effecteurs ou la privation en substrats et ions métalliques (Dhaouadi et al., 2010).

Les études d'**Oumaskour et al. (2012)** ont montré que les bactéries à Gram⁺ présentent une sensibilité supérieure à celle des bactéries à Gram⁻. **Masibo et son collaborateur (2009)** expliquent ce phénomène, considérant que la résistance d'*E. coli* Gram⁻ aux agents antimicrobiens est liée à la présence d'une enveloppe qui comprennent une membrane cellulaire riche en lipopolysaccharides et une paroi ce qui limite l'accès des agents antimicrobiens à leurs cibles dans les cellules bactériennes, car les agents antimicrobiens sont en contact avec l'enveloppe cellulaire. Contrairement aux bactéries Gram⁺ qui sont moins protégées contre les agents externes (détergents et antibiotiques).

Dans l'ensemble, les souches bactériennes testées à Gram⁺ étaient plus sensibles que les Gram⁻. En effet les résultats obtenus par tous ces auteurs concordent avec ce qui a été observés dans la présente étude. Généralement, les extraits de plantes sont habituellement plus actifs contre les bactéries Gram⁺ que les bactéries Gram⁻ (**Okoro et al., 2010**).

D'autres études ont montrés que l'AA est liée à la polarité des substances bioactives. Les composés les moins polaires comme les flavonoïdes n'ayant pas de groupement hydroxyle OH sur leur cycle (β) sont plus actifs vis-à-vis des agents microbiens que ceux portant le groupement hydroxyle (**Chabot et al., 1992**).

Par référence aux études de (**Moussaid et al. 2012**), l'activité des principes actifs serait liée aux conditions de séchage et de broyage de la plante. D'autre part, il semble que le broyage avec nitrogène liquide soit recommandé, car le broyage est aussi à l'origine de la génération de la chaleur responsable de la perte des molécules volatiles ainsi que la décomposition et l'oxydation des molécules thermolabiles (**Jones et Kinghorn, 2005**).

Ainsi, que l'efficacité optimale d'un extrait ne peut pas être due à un constituant actif majoritaire, mais plutôt à l'action combinée (synergie) de différents composés (**Essawi et Srour., 2000**). Le mécanisme des effets antimicrobiens des polyphénols est sans doute très complexe. Parmi les hypothèses avancées, l'inhibition de la synthèse de l'acide nucléique, l'altération des fonctions de la membrane cytoplasmique, la séquestration de substrats nécessaires à la croissance microbienne et l'inhibition du métabolisme énergétique microbien (**Jungkind., 1995**).

Les résultats obtenus ont indiqué que plusieurs paramètres peuvent influencer la détermination de l'AA tel que, le type des micro-organismes ciblés.

La méthode d'évaluation de l'AA, la concentration, le type de l'extrait et particulièrement la nature et la structure moléculaire des molécules bioactives des métabolites secondaires (**Cushnie et Lamb, 2011**).

CONCLUSION

Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Une étude des propriétés antimicrobienne deux plantes médicinales employées en Algérie, à savoir le *Marrubium vulgare L* et *Rhamnus alaternus L*.

Nos résultats ont montré que l'AA moyenne évaluée par des tests *in vitro* vis à vis des quatre souches bactériennes et une souche fongique étant des germes multi résistants responsables des maladies infectieuses donc on peu remplacé les médicaments qui contient beaucoup des effets secondaires avec des ressources naturelle tel que nos plantes.

L'étude de l'AA extraits de *Rhamnus alaternus* et *Marrubium vulgare* s'est avéré d'un moindre effet sur certaines souches testées. Notament, les souches à Gram ⁺ (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*), étant très sensible vis- à-vis des deux extraits avec des ZI de 18 et 22 mm respectivement. Par contre, la souche à Gram ⁻ (*Pseudomonas aeruginos*), s'est révélée non sensible et aucune ZI n'a été repérée, néanmoins, affichant une sensibilité modérée pour la souches (*Escherichia coli*) avec un ZI de 15 mm pour *Rhamnus alaternus* et de 17 mm pour *Marrubium vulgare*. Pour la levure *Candida albicans* a révélé une sensibilité moyenne contre *Marrubium vulgare* avec un ZI de 16mm et non sensible pour *Rhamnus alaternus*.

Il apparaît que l'inhibition de la croissance varie en fonction de l'espèce bactérienne, la concentration du produit testé et aussi du MC utilisé.

En perspective, il serait important :

- De confirmer l'effet antioxydant *in vivo* (chez les animaux).
- Compléter l'AA.
- Faire des études à l'échelle moléculaire pour déterminer, d'une part les composés des plantes (Notamment ce qui concerne l'identification et la purification des composés phénoliques et des flavonoïdes) qui peuvent être responsables de tels effets et d'autre par le mécanisme absolu par lequel ces composés accomplissent leurs effets biologiques.
- D'évaluer l'activité de la plante contre d'autres maladies telles que le diabète, l'hypertension et l'arthrite...etc.
- D'approfondir les recherches sur une large gamme de souches microbiennes et d'identifier les constituants actifs responsables de l'AA.

Références bibliographiques

REFERENCES

1. **AitYoussef M. (2006)**: Plantes médicinales de Kabylie. Edition Ibis Press. ISBN: 9789961-57-259-7 Paris. 18.
2. **Akerreta S. (2009)**. Etnobotánica farmacéutica en Navarra: del uso tradicional de las plantas medicinales a la evidencia científica (Ph.D. thesis). Faculty of Science, University of Navarra, p. 831, Pamplona, Spain.
3. **Al-Habbal, M.J., Al-Habbal, Z. and Huwez, F.U. (1984)** A Double-Blind Controlled Clinical Trial of Mastic and Placebo in the Treatment of Duodenal Ulcer. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 11, 541-544.
4. **Aouadhi S (2010)**. Mémoire Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle
5. **Ashkenazy D., Friedman J., Kashman Y., 1983**. The furocoumarin composition of aspects. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*. Volume 6.
6. **Ashoka U P. Martinez, D. W. Kurtz B. N., S. Chaubey, V. Girish, S. K. Gupta, S. Joshi, K. Kasturirangan, R. Sagar, and S. Seetha (2001)**. The Naini Tal – Cape survey for pulsations in chemically peculiar A-type stars.
7. **Albuquerque, U. Patil, et A. Máthé (2018)**. Plantes médicinales et aromatiques d'Amérique du Sud. Springer Pays-Bas.
8. **Bardin J.M. (2004)**. Dictionnaire illustré des plantes médicinales. Ed. Lodi, France.
9. **Barra, A., Coroneo, V., Dessi, S., Cabras, P. and Angioni, A. (2007)** Characterization of the Volatile Constituents in the Essential oil of *Pistacia lentiscus L.* from Different Origins and Its Antifungal and Antioxidant Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 7093-7098
10. **Bas J-M., Oliveras J. et Gomez C. (2009)**: Myrmecochory and short-term seed fate in *Rhamnus alaternus*: Antspecies and seed characteristics
11. **Belhattab R., Larous L., Figueiredo, A. C., Santos P.A.G., Costa M.M., Barroso J.G. & Pedro L.G., 2006**: Essential Oil Composition and Glandular Trichomes of *Marrubium vulgare L.* Growing Wild in Algeria. *Journal of Essential Oil Research* 18(4), 369–373.

12. **Beloued A. (2001)**. Les plantes médicinales d'Algérie. Ben Aknoun, Alger: Ed.OPU.
13. **Ben Ammar R., Bhourri W., Ben Sghaier M., Boubaker J., Skandrani I., Neffati A.,**
14. **Bouhlel I., Kilani, S., Mariotte A.M., Chekir-Ghedira L., Dijoux-Franca M.G. et Ghedira K. (2009)** Antioxidant and free radical-scavenging properties of three flavonoids isolated from the leaves of *Rhamnus alaternus L.* (Rhamnaceae): a structure-activity relationship study. *Journal of Food Chemical* 116,258–264.
15. **Bendif, H. (2017)**. Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques in vitro des extraits actifs de quelques Lamiaceae: *Ajugaiva (L.) Schreb., Teucrium polium L., Thymus munbyanus subsp. Coloratus (Boiss et Reut.) Greuter et Burdet et Rosmarinus eriocalyx Jord et Four.*, thèse de doctorat, l'école normale supérieure de KOUBA-Alger, département des sciences naturelles, biotechnologie végétale, P.26.
16. **Bhourri W., Ben Sghaier M., Kilani S., Bouhlel I., Dijoux-Franca M- G., Ghedira K. Chekir L (2011)**. Evaluation of antioxidant and antigenotoxic activity two flavonoids from *Rhamnus alaternus L.* (Rhamnaceae) Kaempferol 3-O-b-isorhamnnoside and rhamnocitrin 3-O- bisorhamnnoside. *Food and Chemical Toxicology* 49 :pp.1167-1173
17. **Bhourri W., Boubaker J., Kilani S., Ghedira K., Chekir-Ghedira L.(2012)**: Flavonoids from *Rhamnus alaternus L.* (Rhamnaceae): Kaempferol 3-O- β -isorhamnnoside and rhamnocitrin 3-O- β -isorhamnnoside protect against DNA damage in human lymphoblastoid cell and enhance antioxidant activity, *South African Journal of Botany*, 80 :57–62 .
18. **Billing J. and Sherman P. W. (1998)**. Antimicrobial Functions of Spices: Why Some Like it Hot. *Q. Rev. Biol*; 73:3-49
19. **Bonnier, G et Layens, D. (1909)**. "Flore complète portative de la France de la Suisse et de la Belgique, Librairie Générale de l'Enseignement, Paris.(1991): Claves para la determinación de plantas vasculares. Barcelona, Ed."Omega.
20. **Boudiaf, A., Bentayeb, D. (2017)**. pouvoir alléopathique et biologique des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus L.* et *Mentha aspicata L.* Mémoire pour l'obtention du diplôme master en BPV.univ. M'sila.

21. **Bouhaddouda, N. (2016).** Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local: *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*. Diplôme de Doctorat, Univ Badji Mokhtar, Annaba.
22. **Boukef M. K. (1986).** Médecine traditionnelle et pharmacopée. Les plantes dans la médecine traditionnelle tunisienne, 350p.
23. **Bouterfas Karim, Mehdadi Zoheir, Latrèche Ali, Cherifi Kouider (2013)** .Autoécologie du Marrube blanc (*Marrubium vulgare* L.) et caractérisation de la biodiversité végétale dans le Djebel de Tessala (Algérie nord-occidentale). In: Ecologia mediterranea, tome 39 n°2, pp. 39-57
24. **Bouterfas, K., Mehdadi, Z., Aouad, L., Elaoufi, M. M., Khaled, M. B., Latreche, A., & Benchiha, W. (2016).** La localité d'échantillonnage influence-t-elle l'activité antifongique des flavonoïdes de *Marrubium vulgare* vis-à-vis de *Aspergillus niger* et *Candida albicans*? Journal de Mycologie Médicale/Journal of Medical Mycology.
25. Bouzourene et Bourkache, (2016). Etude phytochimique du marrube blanc (*Marrubium vulgare* L.).
26. **BOUCHENAK Ouahiba; YAHIAOUI Karima ; BENHABYLES Narimen ; LAOUFI Razika ; TOUBAL Souheila ; EL HADDAD Djillali ; OUSSAID Sounia ; BLIZAK Djanette et ARAB Karim (2020)** CRIBLAGE PHYTOCHIMIQUE ET ÉVALUATION DU POUVOIR ANTIOXYDANT DES FEUILLES DE MYRTUS COMMUNIS L. ET RHAMNUS ALATERNUS L.
27. **Calvo M.I. et Cervero R.Y. (2014).** Medicinal plants used for cardiovascular diseases in Navarra and their validation from Official sources. Journal of Ethnopharmacology 157, 268- 273.
28. **Chabot S, Bel-Rhlid R, Chenevert R, Piche Y (1992).** Hyphal growth promotion in vitro of the VA mycorrhizal fungus, *Gigaspora margarita* Becker and Hall, by the activity of structurally specific flavonoid compounds under CO₂-enriched conditions. New Phytol ; 122:461–467.
29. **Cowan M. M. (1999).** Plant Products as Antimicrobial Agents. Clin. Microbiol. Rev; 12: 564-582.
30. **Cushnie. T. P. T., Lamb. A. J., (2011).** Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. International Journal of Antimicrob Agents. Vol (38). Pp: 99-107
31. **Dembitsky. V. M., (2005).** Astonishing diversity of natural surfactants: 6. biologically

- active marine and terrestrial alkaloid glycosides- a review. *Lipids*, Vol (40). Issue : 9. Pp : 869–900.
32. **Dey P.M., Harborne J.B.,(1991).**Methods in plantbiochemistry.Terpenoids.
33. **Dhaouadi. K., Raboudi. F., Estevan. C., Barrajon. E., Vilanova. E., Hamdaoui. M., Fattouch. S.,(2010).** Cell Viability Effects and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Tunisian Date Syrup (Rub El Tamer) Polyphenolic Extracts *J Agric. Food Chem.* Vol (59). Pp:402-406.
34. **Dusser Lauge N. (2017).** Etudes de plantes médicinales duMaghreb:usagestraditionnels et études phytochimiques. Thèse de diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie, Univ. Toulouse III Paul Sabatier, 119p
35. **El Bardai, S., Morel, N., Wibo, M., Fabre, N., Llabres, G., Lyoussi, B., &Quetin- Leclercq, J. (2003).** The vasorelaxant activity of marrubenol and marrubiin from*Marrubium vulgare*. *Planta Medica*, 69(1), 75–76. étude de 57 plantes recommandées par les herboristes. Grownin Lithuania, *Fett/Lipid* 101, 10:395-400p
36. **Edenharder et ses collaborateurs (1997).** Inhibition of the mutagenicity of 2- nitrofluorene, 3- nitrofluoranthene and 1-nitropyrene by vitamins, porphyrins and related compounds, and vegetable and fruit juices and solventextracts
37. **Essawi T. and Srour M (2000).** Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *J. Ethnopharmacol.* 70:343-349.
38. **Guignard J.L. (2001)** – Biochimie végétale. 2ème Ed. De l'abrégé Duodi,Paris,
39. **Guignard, J.-L., Dupont, F. (2004).** Botanique systématique moléculaire, 13ed MASSON, Belgique, p234-237.
40. **Gullies J., Travesty A., Rivera N. &Muss M. (2004).**Critical Stages in the Recruitment Process of *Rhamnus alaternus L.* *Journal of Annals of Botany* 93,723-731.
41. **Harder N. Bothell I. Sandrine I. Kari M. Steinman R. Giraud P. Mariette A. M. Hegira K. Bijoux-Franca M.G. Chekir-Ghedira L. (2008).** In vitro antioxidant and antigenotoxic potentials of myricetin-3-o-galactoside and myricetin-3-o-rhamnosidefrom *Myrtuscommunis*: Modulation of expression of genes involved in cell defense system using cDNA microarray.*Toxicol.in vitro.* 22:567–581.
42. **Ismail, H. I.; Chan, K. W.; Mariod, A. A. et Ismail, M. (2010).** Phenolic content and antioxidant activity of cantaloupe (*Cucumis melo*) methanolic extracts. *Food Chemistry*, 119: 643–647.

43. **Izhaki I., Tsahar E., Irena P. et Jacob F. (2002)** : Within population variation and inter relations between morphology, nutritional content, and secondary compounds of *Rhamnus alaternus* fruits .New Phytologist,156:217-223.
44. **Jones, & A. Kinghorn, (2006)**. Extraction of plant secondary metabolites. In Natural products isolation (pp. 323-351). HumanaPress.
45. **Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A. & Steven P., (2002)**: Botanique systématique: Une perspective phylogénétique. 1ere Ed : Paris et Bruxelles. pp.369-384.
46. **Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellogg, E.A., Stevens, P.E. et Donoghue M.J.(2002)**. Plant Systematics: aphylogenetic approach.Sinauer, Sunderland, Massachusetts, USA. 576p
47. **Jungkind. D. L., (1995)**. Antimicrobial resistance: a crisis in health care, [based on the proceedings of the Eastern Pennsylvania Branch of the American Society of Microbiology Symposium on Antimicrobial Resistance: A Crisis in Health Care Clinical Laboratory and Epidemiologic Considerations, held November 11 -12, 1993, in Philadelphia, Pennsylvania]. Edition Plenum Press, New York. Pp:248.
48. **Kaufmann SHE (1997)**. Host response to intracellular pathogens. Ed. Springer;R.G. Landes, New York; Austin, p.345.
49. **Kooststra, M. (1994)**. Protection from UV-Binduced DNA damage by flavonoids, Plant Mol Biol, 26,771±774.
50. **Kosalec I., Kremer D., Locatelli M., Epifano F., Genovese S., Carlucci G., Randic M et ZovkoKončič M.(2013)**. Anthraquinone profile, antioxidant and antimicrobial activity of bark extracts of *Rhamnus alaternus*, *R. fallax*, *R. intermedia* and *R. pumila*. Journal of Food Chemistry136,335–341.
51. **Kuete, V.; Metuno, R.; Ngameni, B.; Mbaveng Tsafack, A.; Ngandeu, F.; Fotso, G. W.; Bezabih, M.; Etoa, F.-X.; Ngadjui, B. T.; Abegaz, B. M. et Beng, V. P. (2007)**. Antimicrobial activity of the methanolic extracts and compounds from *Treculia obovoidea* (Moraceae). Journal of Ethnopharmacology, 112:531-536.
52. **Letchamo W. et Mukhopadhyay S.,(1997)**: Variability in chromosomes, herbyield, essential oil content and potentials of horehound for North American commercial production. J HortSci 72, 741-748.London Academic press. pp.7.

- 53. Lodhi Santram, Gautam Prakash Vadnere, Vimal Kant Sharma, Md. Rageeb Usman. (2017):** Marrubium vulgare L.: A review on phytochemical and pharmacological aspects. Journal of Intercultural Ethnopharmacology. DOI:10.5455/jice.20170713060840.
- 54. Masibo, M and He, Q. (2009).** In vitro antimicrobial activity and the major polyphenol in leaf extract of *Mangifera indica* L. Malaysian Journal of Microbiology, 5(2):73-80
- 55. Maurice N.(1997).** L'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXIe siècle. Ed. Lavoisier, Paris, p.12-14.
- 56. Mecherara-Idjeri, S., Hassani, A., Castola, V. and Casanova, J. (2008) .**Composition and Chemical Variability of the Essential Oil from Pistacialentiscus L. Growing Wild in Algeria Part 1: Leaf Oil. Journal of Essential Oil Research, 20,32-38.
- 57. Meyre S.C., Yunes R.A., Schlemper V., Campos-Buzzi F et Cechinel-Filho V., (2005):**Analgesic potential of marrubiin derivatives, a bioactive diterpene present in *Marrubium vulgare* (Lamiaceae). IIFarmacology, 60,321-326.
- 58. Moussaid M., Elamrani A.A., Berhal C., Moussaid H., Bourhim1 N., Benaissa M.,(2012).** Comparative evaluation of phytochemical and antimicrobial activity between two plants from the Lamiaceae family: *Marrubium vulgare*(L.) and *Origanum majorana*(L.). International Journal of Natural Products Research. 1 (1) :11-13.
- 59. Narayana, K. R.; Reddy, M. R.; Chaluvadi, M. R. et Krishna, D. R. (2001).** Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. Indian Journal of Pharmacology, 33:2-16.
- 60. Okoro, I.O., Osagie, A. and Asibor, E.O. (2010).** Antioxydant and antimicrobial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Nigeria. African Journal of Biotechnology, 9 (20):2989-2993.
- 61. Ozenda P.,(2004).** Flore et végétation des saharas. 3ème Ed : CNRS édition. Paris.
Pituranthostriradiatus. Journal of Medicinal Plant Research, 47: 218-220. pp.177-185. pp.399-402.
- 62. Quezel P. & Santa S., (1963) :** La nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II, Ed : CNRS. Paris. 360-361p.
- 63. Raynaud J.,(2007).** Prescription et conseil en phytothérapie. Ed. Tec & Doc.215p.

64. **Rezazi, S. Hanini, M. SI, & S. Abdelmalek,**(2017). Kinetic modeling and parameters identification based on metaheuristic optimization techniques for extraction process of marrubium vulgare L. essentialoil.
65. **Richardson J. E., Fay M. F., Cronk Q. C. B., Bowman D. and Chase M. W. (2000).** A phylogenetic analysis of Rhamnaceae using rbc L and trill-F plastid DNA sequences. *Am. J. Bot.*; 87:1309-1324.
66. **Rigano D., Apostolite A. N., Bruno M., Formosan C., Grassier A., Placenta S., Piozzi F. & Senator F., (2006):** Phenol compounds of *Marrubium globosum* ssp. *Libanoticum* from Lebanon. *Biochemical Systematics and Ecology* 34:256-260.
67. **Said-Al Ahl, H.A.H., Gendy, S.H., Mahmoud, A. and Mohamed, F.Y. (2015)** Essential Oil Composition of *Marrubium vulgare* L. Cultivated in Egypt. *International Journal of Plant Science and Ecology*, 1,138-141
68. **Spichiger, R.-E., Vincent, V.-S., Figeat M., et Jeanmonod D. (2004).** Botanique systématique des plantes à fleurs « une approche polygénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales. 3eme Ed. press polytechniques et universitaire romandes Lausanne, Suisse, p.328. systématique: Une perspective phylogénétique. 1ere Ed : Paris et Bruxelles. pp.369-384.
69. **Stocker, H., Oldham, S., Breuer, S., Sulzer, A., Rottig, C., Gluderer, S., Rintelen, F., Schindelholz, B., Daram, P., Vegh, M., Hafen, E. (2004).** Identification of novel growth-regulating genes. *A. Dros. Res. Conf.* 45 :473B.
70. **Trabelsi, N.; Megdiche, W.; Ksouri, R.; Falleh, H.; Oueslati, S.; Soumaya, B.; Hajlaoui, H. et Abdelly, C. (2010).** Solvent effects on phenolic contents and biological activities of the halophyte *Limoniastrum monopetalum* leaves *LWT-Food Science and Technology*,43:632-639.
71. **Troszyńska, A. ; Narolewska, O. ; Robredo, S. ; Estrella, I. ; Hernández, T. ; Lamparski, G. et Amarowicz, R. (2010).** The effect of polysaccharides on the astringency induced by phenolic compounds. *Food Quality and Preference*, 21:463–469.
72. **Ulanowska K., Majchrzyk A., Moskot M., Jakbkiewicz-Banecka J. andW_Âgrzyn G. (2007).** Assessment of antibacterial effects of flavonoids by estimation of generation times in liquid bacterial cultures. *Biologia*; 62: 132-135.
73. **Usman. (2017):** *Marrubium vulgare* L.: A review on photochemical and pharmacological

74. Valsaraj R., Pushpangadan P., Smitt U. W., Adersen A., Christensen S. r. B. g., Sittie A., Nyman U., Nielsen C. and Olsen C. E (1997) . New Anti-HIV-1, Antimalarial, and Antifungal Compounds from *Terminalia bellerica*. *J. Nat. Prod.*; 60:739-742.
75. Wächter G. A., Hoffmann J. J., Furbacher T., Blake M. E. and Timmermann B. N (1999). Antibacterial and antifungal flavanones from *Eysenhardtia texana*. *Phytochem.*; 52:1469-1471.
76. Weel K.G.C,(1999). Antioxydant activity of horehound (*Marrubium vulgare*L)
77. Wichtl, M., et Anton, R. (2003). Plantes thérapeutiques: tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Éditions Tec et Doc. EM Inter, 2e Édition,788p.
78. Yi-ling C et Pan-Kai C. (1982) : Rhamnaceae. In: Chen Yi-ling, ed., Fl. Reipubl. Popularis Sin.48(1):1-169
79. Zaabat N., Darbour N., Bayet C., Michalet S., Doléans-Jordhem A., Chelr-Ghedlra L., ... &Dijoux- Franca M. G., (2010) : Étude préliminaire de *Marrubium deserti* de Noé, une endémique algérienne. *Phytothérapie*, 8(6),353-358.
80. Zhao WH., Hu ZO., Okubo S., Hara Y., Shimamura T., (2001) : Mechanism of synergy between epigallocatechin gallate and β -lactams against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother*45,1737-1742.
81. Zarai, Z., Kadri, A., Ben Chobba, I. et al (2011). The in-vitro evaluation of antibacterial, antifungal and cytotoxic properties of *Marrubium vulgare* L. essential oil grown in Tunisia. *Lipids Health Dis* 10,161

(A):https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Marrubium_vulgare_002.JPG

(B) : <https://www.vitamedz.com/fr/Algerie/le-marrube-blanc-marrubium-vulgare-merruyet-220430-Photos-0-50375-1.html>

(C) : <https://www.schoolmouv.fr/eleves/savoir-faire/realiser-une-hydrodistillation/fiche-pratique>

(D): mémoire master en pharmacologie moléculaire université de Bejaia

Résumé

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. La présente étude a pour but d'évaluer l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de *Marrubium vulgare* et l'extrait éthanolique de *Rhamnus alaternus* qui sont des plante herbacées vivaces, spontanées très réponsus dans la région méditerranéenne, utilisée en médecine traditionnelle .L'étude a montré que l'activité antimicrobienne des extraits des de plantes est attribuées à leurs plusieurs composées phénoliques.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne a été déterminée en utilisant la méthode de diffusion en puits. Les extraits ont été testés sur quatre bactéries pathogènes pour l'être humain, et une levure. L'inhibition de la croissance varie en fonction de l'espèce bactérienne et la concentration du produit testé . Les résultats ont révélé une puissante activité pour les deux plantes, le résultat plus intéressant est celui de l'extrait aqueux contre la bactérie *Staphylococcus aureus* (22 mm).

Mots clés :

***Marrubium vulgare* L, activité antimicrobienne, composés phénoliques ,*Rhamnus alaternus* L, extrait méthanolique , extrait éthanolique**

abstract

Medicinal plants still remain the reliable source of active ingredients known for their therapeutic properties. The present study aimed to evaluate the antimicrobial activity of the methanolic extract of *Marrubium vulgare* and the ethanolic extract of *Rhamnus alaternus* which are perennial herbaceous plants, spontaneous and highly responsive in the Mediterranean region, used in traditional medicine. The study showed that the antimicrobial activity of the plant extracts is attributed to their several phenoliccompounds.

The evaluation of the antimicrobial activity was determined using the well diffusion method. The extracts were tested on four human pathogenic bacteria, and one yeast. Growth inhibition varied depending on the bacterial species and the concentration of the test material. The results showed potent activity for both plants, with the most interesting result being that of the aqueous extract against the bacterium *Staphylococcus aureus* (22 mm).

Key words :

***Marrubium vulgare* L, antimicrobial activity, Polyphenols, *Rhamnus alaternus* L, methanolic extract, ethanolic extract**

ملخص

لا تزال النباتات الطبية هي المصدر الموثوق للمكونات النشطة المعروفة بخصائصها العلاجية. تهدف الدراسة الحالية إلى تقييم النشاط المضاد للميكروبات للمستخلص الميثانولي من *Marrubium vulgare* والمستخلص الإيثانولي لنبات *Rhamnus alaternus* وهي نباتات عشبية معمرة وعفوية. شديدة الاستجابة في منطقة البحر الأبيض المتوسط ، وتستخدم في الطب التقليدي. تم تحديد تقييم النشاط المضاد للميكروبات باستخدام طريقة الثقوب . تم اختبار المستخلصات على أربعة أنواع من البكتيريا الممرضة للإنسان وخميرة واحدة. يختلف تثبيط النمو تبعاً لأنواع البكتيريا وتركيز المنتج الذي تم اختباره. كشفت النتائج عن نشاط قوي للنبتين ، والنتيجة الأكثر إثارة للاهتمام هي المستخلص المائي ضد بكتيريا *Staphylococcus aureus* (22ملم) .

الكلمات الدالة :

مستخلص ميثانولي ، مستخلص *Rhamnus alaternus* L ، نشاط مضاد للميكروبات ، بوليفينول ، *Marrubium vulgare* L ، إيثانولي

Annexes

ANNEXE 01

Matériel

Appareils et produits

Solvants utilisé et produit utilisé

- Méthanol (85%)
- Ethanol (85%)
- Eaudistillé
- MullerHinton
- Sabouraud(PDA)

Equipement

- Evaporateurrotatif
- Agitateurmagnétique
- Etuve
- Balance de précision (0,1mg)
- Bec bunsen

Verreries et autre Matériel

- Burette graduée de50ml
- Verrerie courante delaboratoire
- Pipettepasteur

Annexe 02

Préparation des extraits :



Figure 22: différents étapes de préparation de l'extrait sec (original)

Annexe 03 : Résultat d'un autre mémoire de master pour l'extrait de rhamnus alaternus

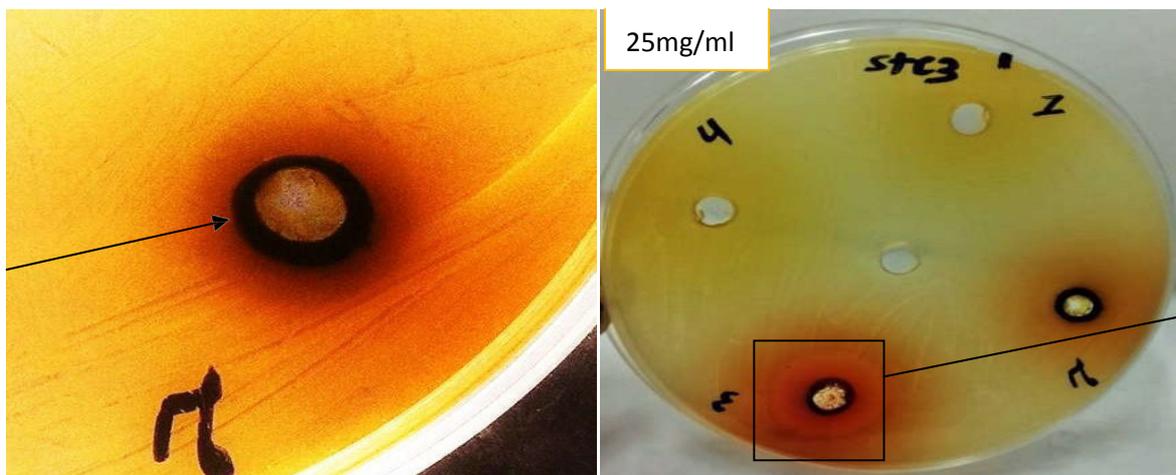


Figure 23 : effet antibactérien d'une fraction vis-à-vis *Staphylococcus aureus* à l'extrait de *Rhamnus alaternus* (D)