

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة 8 ماي 1945 قالمة

Université 8 Mai 1945 Guelma

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité/Option: Biochimie appliquée

Département : Biologie

Thème

**Evaluation de l'effet antioxydant du *Marrubium vulgare*
chez le rat *in vitro*.**

Présenté par :

BOURENEB Souad

MADAOUI Hayette

MOUAMENIA Faiza

Devant le jury composé de :

Président :	Dr. OUMEDDOUR A	MCA	Université de Guelma
Examineur :	Dr. MOKHTARI A	ACB	Université de Guelma
Encadrant :	Dr. BOUSSENANE H N	MCB	Université de Guelma

Juin 2023

ROMERCIEMENT

En premier lieu, nous remercions, Allah le tout puissant qui nous a donné la volonté, la santé et le courage pour réaliser ce travail.

Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements et notre vive reconnaissance à

Dr. OUMEDDOUR A d'avoir accepté de présider le jury de soutenance.

Nous adressons un grand merci à monsieur **Dr. MOKHTARI A** pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant d'examiner ce mémoire.

Nous désirons exprimer notre profonde et vive reconnaissance à **Dr. BOUSSENANE H N** qui encadré et dirigé ce travail depuis les premiers instants.

Nous adressons un grand merci à tous les membres du laboratoire de Biochimie à l'université 08 Mai 1945.

Enfin, nous remercions gracieusement toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



Dédicace

Je dédie ce travail qui n'aura jamais pu voir le jour sans les soutiens indéfectibles et sans limite de mes chers parents (Ahmed et Halima) et mon beau-père et Ma belle-mère (fatiha -kadour) qui ne cessent de me donner avec amour le nécessaire pour que je puisse arriver à ce que je suis aujourd'hui.

Que dieux vous protège et que la réussite soit toujours à ma portée pour que je puisse vous combler de bonheur.

Je dédie aussi ce travail à

Mon Mari (Salim) ma fille et ma princesse Roaya

Mes grands-parents

Mes frères, mes sœurs et leurs familles.

Mes oncles, mes tantes et leurs familles.

Cous mes cousins et cousines, Mon amie zainab

mes collègues et tous ceuse qui m'estiment. A mon trinômes Hayette et Faiza.

Souad





Dédicace

Avant tout, je dois remercier Dieu Tout-Puissant de m'avoir donné l'envie et la force de mener à bien ce travail.

A l'homme de courage et de force, à celui qui a toujours été présent, qui m'a appris les vraies valeurs de la vie à celui qui m'a soutenu en toutes circonstances, mon très chère papa HACENE que j'aime trop.

A la femme la plus courageuse, sensible, généreuse, à celle qui a su me donner amour et joie de vivre, à celle qui a toujours montrée affection et compréhension à mon égard, ma très chère maman MALIKA que j'aime trop.

A mes chères sœurs NORA et DJAZIA et A mon frère KARIM, pour leurs encouragements constants et leur soutien moral.

A mes amis MANEL et BOUTHEYNA pour tous les souvenirs, vous avez une place dans mon cœur, vous êtes plus que mes sœurs.

A mes amie SOUAD et FAIZA pour ses encouragements constants et tous les souvenirs durant ses années .

A tous ceux que j'aime, à tous ceux qui m'aiment.

HAYETTE



Dédicace

Je dédie ce travail qui n'aura jamais pu voir le jour sans les soutiens indéfectibles et sans limite de mes chers parents (Mohammed et wenassa) qui ne cessent de me donner avec amour le nécessaire pour que je puisse arriver à ce que je suis aujourd'hui.

Que dieux vous protège et que la réussite soit toujours à ma portée pour que je puisse vous combler de bonheur.

*Je dédie aussi ce travail à
mon bras droit Fateh et Akrem
mes sœurs Wissal , zouzou et Hana*

ASMA, Ferial , kholoud

Mes oncles, mes tantes (Hada et Hasina) et leurs familles.

mes collègues et tous ceuse qui m'estiment. A mon trinômes Souad et Hayette .

Faiza



Résumé

Le *Marrubium vulgare* est une espèce très répandue dans la flore d'Algérie. Elle est utilisée traditionnellement grâce à ses vertus thérapeutiques. Dans la présente étude, nous avons évalué l'effet antioxydant de la plante *Marrubium vulgare* de la région de Guelma en Algérie chez le rat wistar *in vitro*.

L'extrait a été obtenu par macération de la poudre des feuilles de *Marrubium vulgare* séchées, dans un mélange hydrométhanolique (100g de poudre sur 700ml de méthanol et 300ml de l'eau désilée) pendant 15 jour suivie par l'évaporation. L'extrait récupéré (rendement 10.04%) a été soumis à un screening phytochimique pour mettre en évidence la composition qualitative de la plante en métabolites secondaires. Cette analyse montre la présence d'alcaloïdes, de flavonoïdes, de saponosides, de tanins et de polyphénols.

L'évaluation *in vitro* de l'activité anti-oxydante a été réalisé par la mesure des variations du marqueur de la peroxydation lipidique, le Malon dialdéhyde cytosolique (MDA), du glutathion (GSH) et de l'activité enzymatique de la catalase vis-à-vis des différentes concentrations de l'extrait hydro-méthanolique du *Marrubium*. Nos résultats sont encourageants, on a noté une augmentation du taux de GSH accompagné d'une augmentation de l'activité catalytique et une diminution du taux du MDA.

Mot clés : *Marrubium vulgare*, Activité antioxydant, L'extrait hydro-méthanolique.

Abstract

The *Marrubium vulgare* is a very popular species in the flora of Algeria which is widely used thanks to its therapeutic virtues. In the present study, we evaluated the antioxidant effect of the plant *Marrubium vulgare* from the Guelma region in Algeria in the wistar rat in vitro.

Hydro –metabolic extract was obtained by maceration of 100 g of powdered *Marrubium* leaves *vulgare* dried in 700 ml methanol and 300 ml distilled water for 15 days followed by evaporation of this solvent. The hydro methanolic extraction made it possible to obtain a yield equal to 10.04%.

Has been subjected to a phytochemical screening to highlight the composite on quality of the plant in terms of secondary metabolites. This analysis shows the presence of alkaloids, flavonoids , saponins, tannins, mucilage.

The in vitro evaluation of the antioxidant activity was carried out by measuring the variations in the lipid peroxidation marker the decrease in cytosolic Malon dialdehyde (MDA), and increased glutathione (GSH) and catalase against different concentrations of the hydro-methanolic extract of *Marrubium* Our results confirm that extract is endowed with biological activities which justify its use as an alternative to certain antioxidant substances.

Keywords: Antioxidant activity, hydro-methanolic extract of *Marrubium*, *Marrubium vulgare*.

ملخص

يعتبر *Marrubium vulgare* نوعًا شائعًا جدًا في نباتات الجزائر ويستخدم على نطاق واسع بفضل فضائله العلاجية. في الدراسة الحالية ، قمنا بتقييم التأثير المضاد للأكسدة للنبات *Marrubium vulgare* من منطقة قالمة في الجزائر في جرد ويستار ، في المختبر.

تم الحصول على المستخلص عن طريق النقع 100 جم من أوراق *Marrubium* المجففة في 700 مل ميثانول و 300 مل ماء مقطر لمدة 15 يومًا متبوعًا بتبخير هذا المذيب. أتاح استخراج الميثانول المائي الحصول على عائد يساوي 10.04٪.

تم إخضاعها لفحص كيميائي نباتي لإبراز التركيبة جودة النبات من حيث المستقلبات الثانوية. يوضح هذا التحليل وجود فلويدات ، مركبات الفلافونويد ، الصابونين ، العفص ، الصمغ

. تم إجراء التقييم في المختبر للنشاط المضاد للأكسدة عن طريق قياس الاختلافات في علامة بيروكسيد الدهون انخفاض في العصارة الخلوية مالون ديالديهايد (MDA) ، وزيادة الجلوتاثيون (GSH) والكتلاز مقابل تركيزات مختلفة من المستخلص المائي الميثانولي للماروبيوم تؤكد نتائجنا أن المستخلص يتمتع بأنشطة بيولوجية تبرر استخدامه كبديل لبعض المواد المضادة للأكسدة .

الكلمات الرئيسية: نشاط مضاد للأكسدة ، مريوة ، المستخلص المائي الميثانولي للماروبيوم .

Liste des abréviations et acronymes

%	Pourcentage
$1O_2\cdot$	L'oxygène singulet
ACh	L'acétylcholine
ADN	Acide désoxyribonucléique
ARN	Acide ribonucléique
AGPI	Acides gras polyinsaturé
Arg	Arginine
ATP	adénosine triphosphate
AA	l'acide ascorbique
AOX	alternative oxydase
BSA	Bovine sérume albumine
CAT	Catalase
Cl^-	anion chlorure
CO Q10	2.3diméthoxy-5-méthyle-6-décaprenyl-1.4-benzoquinone
Cu	Cuivre
Cu , Zn – SOD	super oxyde dismutase a cuivre et à zinc
DTNB	5 ,5'Dithiobis (2-acide nitrobenzoïque)
EOA	les espèces oxygéné activité
ER	les espèces réactifs
ERO	Espèces réactif d'oxygène
ETC	la chaîne de transport d'électrons
FAD	flavine adénine dinucléotide
Fe	Fer
Fe – SOD	super oxyde dismutase a fer

FeCl ₃	Chlorure de fer (3)
G250	Le bleu d'albumine
GPx	Glutathion peroxydase
GR	Glutathion réductase
GSH	Glutathion
GSSG	Glutathion oxydé
H ₂ O ₂	Peroxyde d'hydrogène. ou l'eau oxygène
H ₂ SO ₄	L'acide sulfurique
HCl	chlorure d'hydrogène
H ⁺	Protons
K	Potassium
Kcl	Chlorure de potassium
KH ₂ PO ₄	Phosphate monopotassuim
K ₂ HPO ₄	Phosphates dipotassuim
LH	acide gras polyinsaturé
L•	radical lipidique
LOO•	radical peroxyde
LOOH	Hydroperoxyde
LO•	radical alkoxyde
LOOL	produit stable
MDA	Malondialdéhyde
Mn	Manganèse
Mn SOD	super oxyde dismutase a manganèse
NADPH	Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
Na ₂ HPO ₄	Phosphate di-sodium
NaH ₂ PO ₄	Phosphate sodium monobasique

NaOH	Hydroxyde de sodium
NH ₄ OH	Solution aqueuse d'ammoniac
O ₂ ⁻	Anion superoxyde
O ₂	l'oxygène
OH [•]	Radical hydroxyle
ONOO	Peroxynitrite
R [•]	Radical carboné
R [•] O ₂	Radical peroxyde
RL	radicaux libre
ROL	radicaux libres oxygéné.
ROS	dérivés réactifs de l'oxygène (Réactive oxygéné species)
Se	Sélénium
Se-GPx	glutathion peroxydase séléno-dépendante
SOD	Superoxyde dismutase
TBA	Thiobarbituric acide
TCA	Trichloracétique acide
TNB	Thionitrobenzoïque
PN	Polynucléaires neutrophiles
TRX	Thiorédoxines
TRXR	Thiorédoxine réductase
UV	Rayonnement ultra violet
UA	Acide urique
XO	xanthine oxydase
Zn	Zinc

Liste des figures

Figure N°	Le titre des figures	N° page
Chapitre I : Généralité sur la plante		
Figure 01	<i>Marrubium vulgare.</i>	03
Figure 02	La Répartition géographique du <i>Marrubium vulgare.</i>	04
Figure 03	La structure chimique de marrubine.	06
Figure 04	Les parties utilisées de plante <i>Marrubium vulgare.</i>	07
Figure 05	L'utilisation des plantes médicinales selon le mode de préparation.	08
Figure 06	les maladies traites par le <i>Marrubium.</i>	09
Figure 07	La structure chimique de flavonoïde .	10
Figure 08	Les principaux acides phénoliques .	10
Figure 09	La structure chimique de choline .	11
Figure 10	La structure chimique de saponine .	12
Chapitre II : stress oxydatif		
Figure 11	La balance entre les antioxydants et les radicaux libre.	13
Figure 12	La différence entre la molécule stable et le radical libre.	13
Figure 13	La voie métabolique d'oxygène et des ERO (les espèces réactifs de l'oxygène).	14
Figure 14	les sources exogènes de ROS .	17
Figure 15	les sources endogènes de ROS.	17
Figure 16	Les composants de la chaîne de transport des électrons	19
Figure 17	Les conséquences de stress oxydatif ..	20
Figure 18	Phases d'initiation, de propagation et de terminaison de la peroxydation lipidique.	21
Figure 19	Attaque radicalaire des protéines.	22

Figure 20	lésions de l'ADN formés par L'attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules.	23
Figure 21	Spectre de différentes pathologies touchant divers organes dans lesquelles le stress oxydant est impliqué.	25
Figure 22	Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) par les systèmes de défenses antioxydant.	26
Figure 23	la structure chimique de SOD.	26
Figure 24	Le glutathion, système antioxydant endogène cellulaire	28
Figure 25	La structure de glutathion.	30
Figure 26	la structure chimique de caroténoïde.	31
Figure 27	la structure chimique de vit C.	32
Figure 28	La structure de vit E.	33
Chapitre III : Matériel et méthode		
Figure 29	<i>Marrubium vulgare</i> prise à partir du site d'étude.	35
Figure 30	rat Wi star.	45
Figure 31	broyage de <i>Marrubium vulgare</i> .	46
Figure 32	la macération de <i>Marrubium vulgare</i> dans les flacons opaques.	46
Figure 33	filtration de l'extrait de marrube blanc après la macération..	37
Figure 34	l'évaporation du solvant à l'aide de rotavapeur	37
Figure 35	extraction du foie des rats.	39
Figure 36	déférentes étapes de la préparation de cytosol.	40
Chapitre IV : Résultats et Discussion		
Figure 37	L'extrait hydrométhanolique de <i>M. vulgare</i> .	43
Figure 38	Le rendement de <i>Marrubium vulgare</i> .	43

Figure 39	dosages de protéines totales dans la fraction cytosolique des hépatocytes.	45
Figure 40	taux de la dosage de protéines totales dans la fraction cytosolique des hépatocytes.	45
Figure 41	taux de l'activité enzymatique de la catalase dans la fraction cytosolique des hépatocytes.	46
Figure 42	variations du taux de MDA dans le cytosol des hépatocytes.	47
Figure 43	variations du taux de GSH dans la fraction cytosolique des hépatocytes.	48

Liste des tableaux

N° de tableau	Titre de tableau	N° de page
Chapitre I : Généralité sur la plante		
Tableau 1	Classification botanique de <i>Marrubium vulgare</i> .	03
Tableau 2	Information générale sur la plante de <i>Marrubium</i> .	09
Chapitre IV : Résultats et Discussion		
Tableau 3	Résultats de screening phytochimique de poudre de <i>Marrubium vulgare</i> .	44
Tableau 4	Comparaison entre les travaux personnelle et autre travaux.	49

Table des matières

Résume	I
Abstract.....	II
ملخص.....	III
Liste des abréviations et acronymes.....	IV
Liste des figures.....	VII
Liste des tableaux.....	X
Introduction.....	1

Chapitre I : généralité sur la plante

I. Généralité sur la plante	3
I.1. Description de la plante	3
I.2. La position systématique de la plante	3
I.3. La Répartition géographique	4
I.4. La plantation	5
I.5. La récolte	5
I.6. Le Séchage.....	5
I.7. Conservation.....	5
I.8. Toxicité.....	5
I.9. L'utilisation traditionnelle du <i>Marrubium vulgare</i>	6
I.9.1. Les douleurs respiratoires	7
I.9.2.L'activité anti inflammatoire	7
I.10. Les Formes d'usages du <i>Marrubium vulgare</i>	8
I.10.1. Usage Interne.....	8
I.10.2.Usage Externe.....	8
I.11. La composition	8
I.11.1. la Marrubine (diterpène lactone)	9

I.11.2. Les flavonoïdes.....	9
I.11.3. Les acides phénoliques	10
I.11.4. Les polyphénols.....	11
I.11.5. tanin	11
I.11.6. La choline	11
I.11.7. Les huiles essentielles.....	11
I.11.8. Le mucilage	12
I.11.9. Les saponines.....	12

Chapitre II : stress oxydatif

II. Stress oxydatif.....	13
II.1. Définition	13
II.2. les radicaux libres.....	13
II.3. la formation de l'espèce réactive d'oxygène.....	13
II.3.1. Les espèces radicalaire.....	14
II.3.1.1. L'ion superoxyde (O_2^-).....	14
II.3.1.2. Les radicaux hydroxyles ($\bullet OH$).....	15
II.3.1.3. Le monoxyde d'azote (NO)	15
II .3.2. Les espèces non radicalaires	15
II .3.2.1. Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2	15
II .3.2.2. L'oxygène singulet.....	16
II .3.2.3. Le peroxydinitrite	16
II.4. Principale source de ROS.....	16
II.4.1. Les Sources exogènes de ROS	16
II.4.2. Les sources endogènes de ROS.....	17
II.4.2.1. La NADPH oxydase.....	18

II.4.2.2. La chaîne respiratoire	18
II.4.2.3. La xanthine oxydase.....	19
II.4.2.4. NO synthase	20
II.5. conséquence de stress oxydatif	20
II.5.1. La peroxydation lipidique	21
II.5.2. Oxydation des protéines	22
II.5.3. Oxydation de la l'acide nucléique.....	23
II.6. Les maladies liées au stress oxydatif.....	24
II.6.1. Vieillessement.....	24
II.6.2. Le Diabète	24
II.6.3. L'inflammation.....	24
II.6.4. Le Cancer	24
II.7. Système de défense antioxydant	25
II.7.1. Définition d'antioxydant	25
II.7.2. Le système enzymatique	26
II.7.2.1.superoxyde dismutase (SOD).....	26
II.7.2.2.la catalase	27
II.7.2.3.Glutathion peroxydase.....	27
II.7.2.4.La glutathion réductase	28
II.7.2.5. la glutathion transférase	28
II.7.2.6. Les thiorédoxine (TP x) et la thiorédoxine réductase	28
II.7.3. Le systèmes non enzymatiques	29
II.7.3.1. Le glutathion	29
II.7.3.2. Le protéine thiol	30
II.7.3.3. L'acide urique	30
II.7.3.4. Coenzyme Q10.....	30
II.7.3.5. Caroténoïdes.....	31

II.7.3.6. L'acide ascorbique	31
II.7.3.7. le vitamine E.....	32
II.7.3.8. Les oligo-éléments	33
II.7.3.8.1. Le sélénium.....	33
II.7.3.8.2. Le zinc	33
II.7.3.8.3. Le cuivre	33
II.7.3.9. Les poly phénols.....	34

Chapitre III : Matériel & méthodes

III. Matériel et méthode	35
III.1. Matériel	35
III.1.1. Matériel végétale.....	35
III.1.2. Matériel animale	35
III.2. Méthodes.....	36
III.2.1. Préparation des extraits hydro- méthanoïques	36
III.2.1.1. Broyage	36
III.2.1.2. Macération	36
III.2.1.3. Filtrations	36
III.2.1.4. Evaporation	37
III.2.1.5. Détermination du rendement.....	37
III.2.2. Screening photochimique.....	37
III.2.2.1. Test Alcaloïdes.....	38
III.2.2.2. Test Tanin	38
III.2.2.3. Test Flavonoïdes	38
III.2.2.4. Test Saponosides.....	38
III.2.2.5. Test Composés réducteurs	38
III.2.2.6. Test Oses et holosides	39
III.2.2.7. Test Mucilages	39

III.2.3. Extraction du foie des rats.....	39
III.2.3.1. Le mode opératoire	39
III.2.3.2. Préparation de la fraction cytosolique des cellules hépatique	40
III.2.4. Dosage des protéines cytosolique par la méthode de Bradford	40
III.2.5. Mesure du taux du Malon dialdéhyde hépatique (MDA)	40
III.2.6. Mesure de la concentration du Glutathion réduit cytosolique(GSH).....	41
III.2.7. Dosage de l'activité enzymatique de la catalase	42

Chapitre IV : Resultats &Discussion

IV. Résultats et discusion	43
IV.1. Résultats	43
IV.1.1. Rendement d'extraction.....	43
IV.1.2. Screening phyto- chimique des feuilles de <i>Marrubium vulgare</i>	43
IV.1.3. Dosage des protéines cytosoliques	45
IV.1.4. Dosage de l'activité enzymatique de la catalase.....	45
IV.1.5. Mesure du taux de Malon dialdéhyde hépatique (MDA)	46
IV.1.6. Mesure de la concentration du glutathion réduit cytosolique (GSH)	47
IV.2 Discussion.....	48
IV.2.1. Rendement d'extraction.....	48
IV.2.2. le screening phytochimique des feuilles du <i>Marrubium vulgare</i>	48
IV.2.3. .Dosage de l'activité de la catalase	49
IV.2.4. Mesure du taux de Malon dialdéhyde hépatique (MDA)	50
IV.2.5. Mesure de la concentration de glutathion réduit cytosoliques.....	51
conclusion.....	53
Les références bibliographiques	54

INTRODUCTION

Le stress oxydant est une circonstance anormale que traversent parfois nos cellules ou un de nos tissus lorsqu'ils sont soumis à une production, endogène ou exogène, de radicaux libres oxygénés qui dépasse leurs capacités Antioxydants.

Les radicaux libres endommagent les cellules, les protéines et L'ADN. Ce qui engendre certains symptômes qui sont communs à de nombreuses pathologies telles que le cancer, les pathologies oculaires et les maladies neurodégénératives (La sclérose latérale, maladie d'Alzheimer). Dans de nombreuses autres maladies, le stress oxydant participe à ses complications immunitaires ou vasculaires C'est le cas de maladies infectieuses comme le sida ou le choc septique, le diabète, la maladie de Parkinson ou l'insuffisance rénale (**Favier., 2006**).

En effet, les antioxydants aident à protéger nos cellules, tissus et organes du dommage oxydatif. On peut privilégier certains nutriments essentiels pour lutter contre le stress oxydatif. Donc la nature reste le meilleur remède pour soulager le stress.

Depuis des milliers d'années, l'Homme utilisait les plantes trouvées dans la nature, pour traiter et soigner des maladies (**Sanago., 2006**). Les plantes médicinales sont exploitées grâce à leurs propriétés particulières bénéfiques pour la santé humaine, En effet, elles sont utilisées de différentes manières, décoction, macération et infusion. Une ou plusieurs de leurs parties peuvent être utilisées, racine ; feuille, fleur (**Dutertre ., 2011**).

Ce sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents (**Sanago., 2006**).

C'est dans cette optique que nous sommes intéressés aux feuilles du *Marrubium vulgare*, une plante très répandue poussant à l'état sauvage et ayant prouvé plusieurs activités pharmacologiques, pour tester son effet antioxydant. Nous avons ciblé le cytosol du tissu hépatique pour préciser le rôle qu'elle devrait jouer dans l'irradiation d'un stress oxydatif. Notre recherche est réalisée sur le rat Wistar albinos *in vitro*.

Dans la première partie, nous aborderons les différentes connaissances bibliographiques sur le *Marrubium vulgare* et le stress oxydant. Dans la partie expérimentale, nous développerons d'abord le matériel et les méthodes analytiques utilisées pour l'extraction, le rendement, le dosage colorimétrique de polyphénols et flavonoïdes, l'activité antioxydante et finalement l'activité des enzymes, puis nous présenterons les résultats obtenus dans notre étude.

A la lumière des résultats obtenus, différentes perspectives de recherche seront évoquées en évaluant l'activité antioxydante de *Marrubium vulgare* .

Synthèse bibliographiques

CHAPITRE

1

Généralité sur la plante

I. Généralité sur la plante

I.1. Description de la plante

Le *Marrubium Vulgare* est une espèce de la famille des lamiacée, Plante herbacée annuelle ou vivace ligneuse de 30 à 80 cm ; tige érigée et rigide, des Feuilles arrondies, faiblement dentées, tomenteuses, vert blanchie des fleurs blanches, en verticilles denses disposés le long des tiges (Aćimović et al., 2020).Le racine est pivotante coriace, ligneuse, ramifiée ou à nombreuses racines latérales fibreuses La plante dégage une odeur de thym(Schauenberg et Paris., 2013).

Le *Marrubium vulgare* est une plante sauvage en Algérie a montré un indument un laineux dense de trichomes étoilés, non glandulaires, ainsi que les surfaces de la tige et de la fleur portant les trichomes glandulaires (Belhattab et al., 2004).



Figure 1 *Marrubium vulgare* .

I.2. La position systématique de la plante

Le marrube préfère les endroits ensoleillés, croissant sur les champs secs et arénacés, et les bords des routes. Cette plante pousse naturellement dans les garrigues, les djebels et les friches sur des sols secs et alcalins. Depuis l'antiquité, *Marrubium vulgare* était déjà reconnu pour ses propriétés thérapeutiques (Damerdji et Hekrouni., 2015).La systématique du *Marrubium vulgare* représente dans le tableau 1.

Tableau 1 la systématique du *Marrubium vulgare* (Damerdji et Hekrouni., 2015).

Règne	Végétal
Sous règne	Plantes vasculaires
Embranchement	Spermaphytes
Sous Embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicots
Sous Classe	Eunastéridés I
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées
Genre	<i>Marrubium</i>
Espèce	<i>Vulgare</i>
Nom scientifique	<i>Marrubium vulgare</i>
Nom anglais	White Horehound, Hoarhound, andorn
Noms communs	Marrube blanc, marrube commun, marrube vulgaire, marrube des champs, marrube officinal, bonhomme, grand bonhomme, bouenriblé, mariblé
Nom en Algérie	Mariout

I.3. La Répartition géographique

Marrubium vulgare L. (*M. vulgare*), originaire de la région située entre la mer Méditerranée et L'Asie centrale est devenue une espèce répandue, habitant actuellement tous les continents (Chebrouk et al., 2011).

Marrubium vulgare est lié à des sols légers, moyennement à fortement riches en matière organique, peu humides, à pH légèrement alcalin, fortement calcaires (Bouterfas et al., 2013).

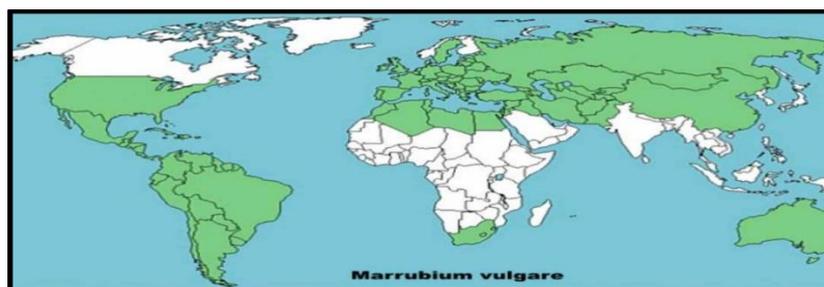


Figure 2 La Répartition géographique du *Marrubium vulgare* (Bonnier., 1990).

I.4. La plantation

M. vulgare se reproduit exclusivement par graines, par semis direct ou production de jeunes plants. Cependant, après la récolte des graines matures, Après un mois de stockage, la germination augmente. Les graines semées à l'automne germent au printemps suivant, tandis que celles semées au printemps germent au bout de trois semaines.

La bio fertilisation des plantes *M. vulgare* avec bio fertilisant azoté (Biofert), bio fertilisant potassique (K disponible), ou avec une combinaison des deux ont montré que lorsqu'ils sont appliqués abondamment, les engrais permettent à la plante *M. vulgare* d'atteindre sa hauteur maximale et améliorent également le poids des herbes fraîches et sèches et la production d'huiles essentielles (Aćimović *et al.*, 2020).

I.5. La récolte

Récolte des feuilles : les feuilles doivent être cueillies à leur pleine croissance lorsqu'elles sont épanouies, mais jamais après la pluie. Il existe des exceptions et certaines plantes sont cueillies au milieu de l'automne, après avoir subi les premières gelées blanches (Kumar *et al.*, 1999).

I.6. Le Séchage

Les conditions optimales d'un séchage réussi : aération, chaleur et obscurité. Les plantes ne seront séchées ni en plein soleil ni au four car elles perdent alors une grande partie de leurs principes actifs. Idéalement, une plante doit sécher rapidement, elle garde ainsi sa couleur, ses arômes, et ses principes actifs (Arun *et al.*, 1995).

I.7. Conservation

Dès le séchage, les plantes sont conditionnées (le concassage 'effectuera juste au moment de l'utilisation). Prenez au choix des boîtes en ver blanc, des bocaux en verre, ou des poches en papier kraft, mais jamais de sacs plastiques (Kumar *et al.*, 1999).

I.8. Toxicité

Cette plante peut contenir des agents toxiques (tels que le psoralène, le 8-méthoxy-psoralène ou le 5-méthoxy-psoralène) responsables de réactions indésirables. L'utilisation à but antalgique de cette plante a causé des lésions similaires à des brûlures chimiques, induisant un clivage dermo-épidermique et la formation de vésicule-bulles. Il s'agit de phytodermatoses jusque-là jamais décrites à notre connaissance (El Morabite *et al.*, 2012).

I.9. L'utilisation traditionnelle du *Marrubium vulgare*

L'utilisation de plantes médicinales a trouvé application dans plusieurs maladies et états de santé, dans le système traditionnel de la médecine, les préparations de plantes sous forme de macérations, de teintures, de décoction ou d'infusions sont utilisées pour un large éventail de maladies (Bafor., 2017).

L'utilisation des plantes médicinales et aromatiques pour l'industrie cosmétique et pharmaceutique, ainsi que pour la production alimentaire, reste un domaine vierge en Algérie (Miara et al., 2013).

Le *Marrubium vulgare* est une plante médicinale utilisée dans la médecine traditionnelle de plusieurs pays pour le traitement de diverses maladies, notamment les troubles inflammatoires, gastro-entériques et respiratoires cette plante exerce un effet antispasmodique significatif et non spécifique sur le muscle lisse isolé et utiliser comme anti oxydantes; hypotensives et insecticides (Hellen et al., 2006). La figure suivante mentionner plusieurs maladies traites par le *Marrubium* :

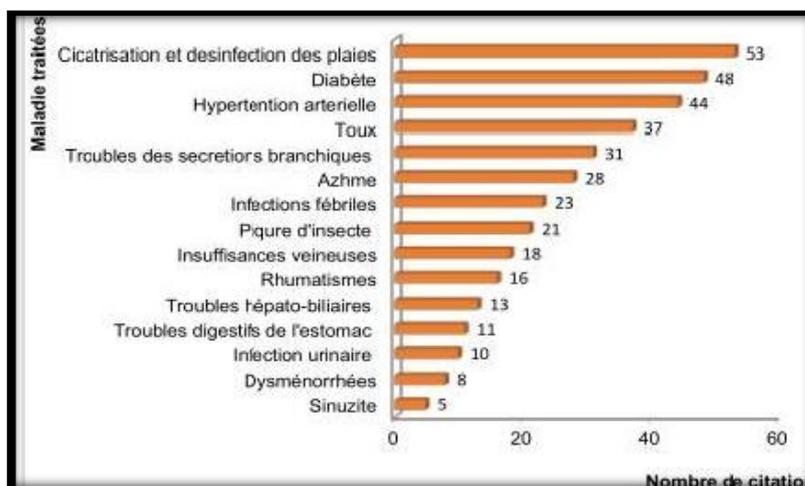


Figure 3 les maladies traites par le *Marrubium* (Boutabia et al., 2020).

En Algérie, il est utilisé en médecine traditionnelle pour soigner plusieurs maladies du tube digestif, telles que la diarrhée, ainsi que le diabète, les rhumatismes, le rhume et les douleurs respiratoires (Benalia., 2019).

Les parties utilisées de la plante par les populations locales sont consignées dans la figure suivante :

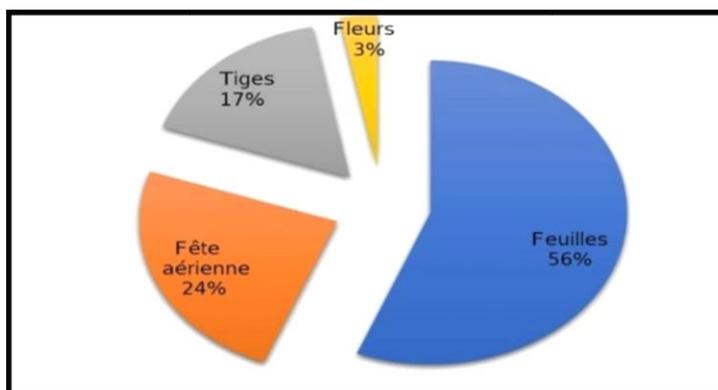


Figure 4 les Parties utilisées de la plante *Marrubium* (Boutabia et al., 2020).

Le marrube est une panacée, combiné avec du miel, le marrube déterge les blessures, et cicatrise les ulcères rongeurs. Pris en boisson, il apaise les douleurs de côté. Le jus desséché de cette plante est efficacement employé dans tous les cas que nous venons d'énumérer. Mêlé avec du vin et du miel, ce jus éclaircit la vue ; injecté dans les narines, il dissipe la jaunisse. Il remédie aussi aux douleurs d'oreille les plus violentes ; mais il faut pour cela le mélanger avec de l'huile de rose (Marty-Dufaut., 2012).

Tisane *Marrubium vulgare* est utilisée comme antitussif et expulse le catarrhe. 'Matériel Médical Vegetabilis' a donné des instructions pour la préparation de la décoction de *M. vulgare* avec du miel contre la bronchite (Aćimović et al., 2020).

I.9.1. Les douleurs respiratoires

Le marrube est aujourd'hui apprécié pour ses propriétés expectorantes contre la toux. Ses fleurs qui renferment des lactones qui agissent sur le système respiratoire, Hildegarde de Bingen recommande : «< si on tousse, prendre du marrube, faire cuire dans du vin, passer dans un linge et boire >> (Marty-Dufaut., 2012).

I.9.2.L'activité anti inflammatoire

Marrubium vulgare L ont été largement utilisées par la population locale pour la cicatrisation et la désinfection des plaies. Les parties aériennes soulagent la douleur et l'inflammation. Cependant, très grande d'études confirment l'utilisation traditionnelle de ces espèces (Bouselsela et al., 2022).

I.9.3. Activité anti hypertensive

L'extrait aqueux de *M. vulgare* est largement utilisé comme traitement antihypertenseur en médecine populaire. Il a eu un effet anti hypertrophique significatif dans l'aorte et a amélioré l'acétylcholine (ACh) relaxation induite de l'artère mésentérique (Bouselsela et al., 2022).

I.10. Les Formes d'usages du *Marrubium vulgare*

On a 2 formes d'usages

I.10.1. Usage Interne

Troubles digestifs légers, toux rebelle, inflammation des voies respiratoires

Teinture : 10 à 20 gouttes dans un verre d'eau, 2 ou 3 fois par jour, avant les repas.

Sirop : 3 g d'extrait hydro alcoolique à mélanger dans 200 g de sirop simple. 2 à 3 cuill à soupe par jour entre les repas.

Troubles de la sécrétion biliaire

Infusion : 1 Cuill. À soupe de plante séchée pour 1 tasse d'eau bouillante. Laisser infuser 10 min. 4 à 5 tasses par jour.

I.10.2. Usage Externe

Ulcérations, plaies suppurantes

Compresses : 30 à 60 g de plante séchée pour 1 litre d'eau bouillante. Faire bouillir 3 min, laisser infuser 10 min. Imbibé un linge de cette décoction et appliquer 1 ou 2 fois par jour.

Selon L'administration orale (figure 5) qui regroupe la majorité des modes de préparation : infusion, macération, décoction, tisane, poudre (**Schnebelen et al., 2001**).

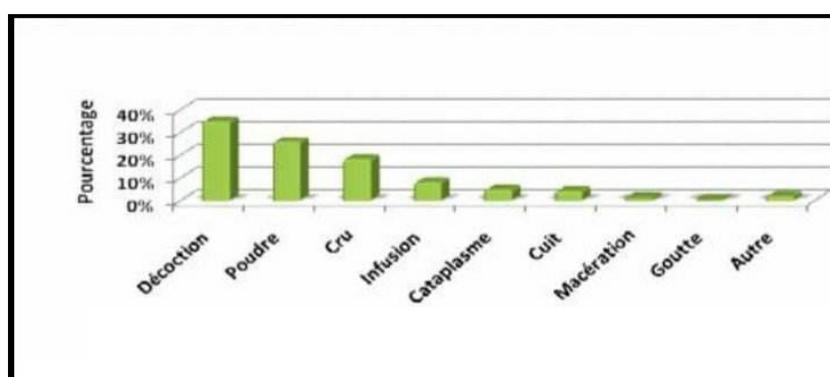


Figure 5 L'utilisation des plantes médicinales selon le mode de préparation (**Bouayyadi et al., 2015**).

I.11. La composition

Le Genre *Marrubium* est riche en polyphénols, en particulier les flavonoïdes et tanins. Il convient aussi de signaler la présence d'acides phénoliques des dérivés d'acide cinnamique et de certains

polymères comme les lignines (Mssillou et al., 2021). Elle contient aussi choline ; les saponosides ; les Minéraux (sels de potassium, fer) ; les mucilages ; et les huiles essentielles (Chebrouk et al., 2011). (tableau 2)

Tableau 2 information principale sur la plante du *Marrubium*. (Zahilka., 2009).
(Schauenberg et Paris., 2013).

Origine	Europe (région méditerranéenne surtout).
Principes actifs	La plante contient un principe amer: la marrubine ; les huiles essentielles et du tanin.
Propriétés	Mucolytique, expectorant, antitussif, stimulant digestif.
Parties utilisées	La plante fleurie.
Indications	Bronchite, asthme, toux.

I.11.1. la Marrubine (diterpène lactone)

la marrubine, un diterpène lactone, peut être considérée comme un marqueur chimio taxonomique pour cette espèce, car sa présence est pratiquement omniprésente le long des différentes variétés de plantes ; La marrubine est également considérée comme la molécule responsable de la majorité des propriétés biologiques attribuées au *Marrubium* et particulièrement à *M. vulgare* (Boudjelal et al., 2012).

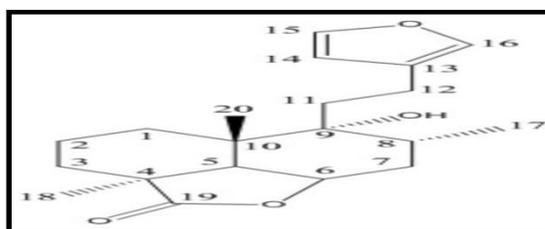


Figure 6 la structure chimique de la marrubine (Amri et al., 2017)

I.11.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes ont évolué dans les plantes depuis que les plantes ont colonisé la terre et jouent un rôle dans divers processus physiologiques. Ils sont synthétisés dans le cytosol et transportés dans la vacuole pour être stockés ou vers d'autres destinations, où ils peuvent fonctionner comme des molécules bioactives (Zhao., 2015). (voir la figure 7)

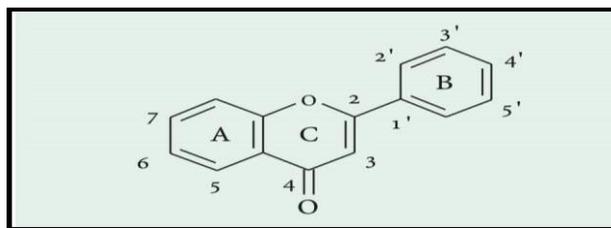


Figure 7 la structure de flavonoïde (Ghedira., 2005).

I.11.3. Les acides phénoliques

Ces substances organiques sont les formes les plus simples des composés phénoliques. Ils possèdent au moins une fonction hydroxyle et une fonction carboxyle. Ce sont des dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque (C6-C1) ou de l'acide cinnamique (C6-C3). (voir le figure 8)

I.11.3.1. Acides phénols dérivés de l'acide benzoïque : acides hydroxybenzoïques (C6-C1) : très présent dans le règne végétal soit sous forme libre ou sous forme combinée à l'état d'ester ou d'hétéroside. Les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique (Macheix et al., 2005).

I.11.3.2. Acides phénols dérivés de l'acide cinnamique : acides hydroxycinnamiques (phénylpropanoïdes) (C6-C3) : ils présentent une distribution très large dans le règne végétal, le plus souvent estérifiés. C'est une classe très importante qui dérive de l'acide cinnamique. La réactivité de ces acides est liée au degré d'hydroxylation du cycle benzénique et sa modification aléatoire par des réactions secondaires. Les plus abondants sont l'acide caféique et l'acide férulique (Macheix et al., 2005).

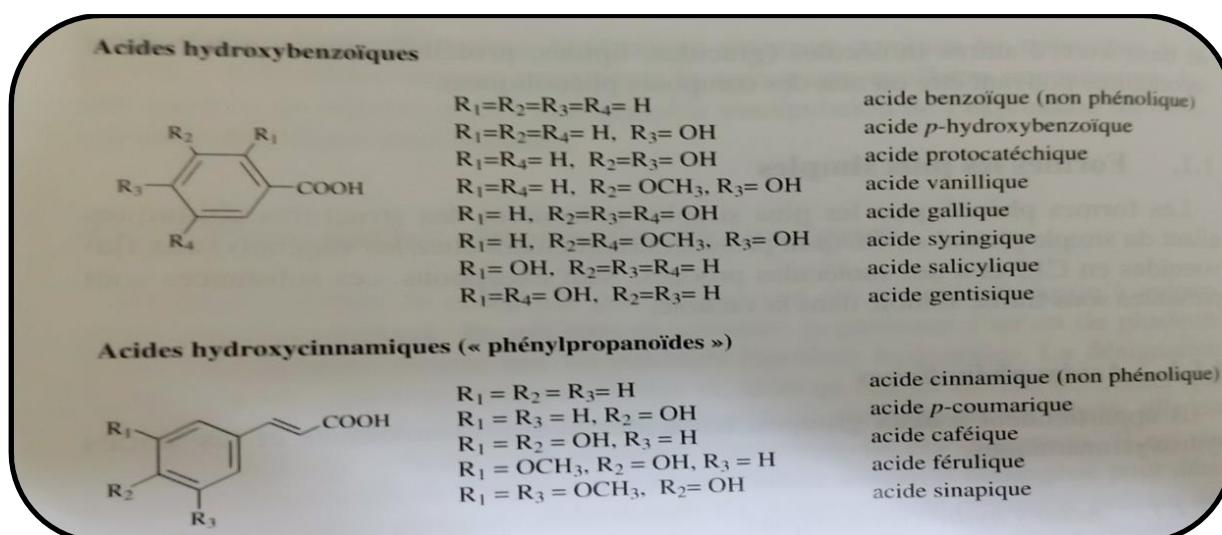


Figure8 les principaux acides phénoliques (Sarni-manchado et Cheynier., 2006).

I.11.4. Les polyphénols

Les composés phénoliques, ou polyphénols, constituent l'un des groupes de substances les plus nombreux et les plus répandus du règne végétal, avec plus de 8 000 structures phénoliques actuellement connues. Les poly phénols sont des produits du métabolisme secondaire des plantes. L'expression "composés phénoliques" englobe une gamme considérable de substances qui possèdent un cycle aromatique portant un ou plusieurs substituants hydroxyle. La structure des poly phénols naturels varie de molécules simples, telles que les acides phénoliques, à des composés hautement polymérisés, tels que les tanins condensés (Urquiaga et Leighton., 2000).

I.11.5. tanin

Les tanins sont des substances poly phénoliques de structure variée, de saveur astringente, ayant en commun la propriété de tanner la peau, c'est-à-dire de la rendre imputrescible ; cette aptitude est liée à leur propriété de se combiner aux protéines, gélatine, polysaccharides. Leur poids moléculaire est compris entre 500 et 3 000. Le terme tanin est largement appliqué à un complexe de grandes biomolécules de nature poly phénolique ayant suffisamment d'hydroxyles et d'autres groupes appropriés tels que les carboxyles pour former des complexes solides avec diverses macromolécules (Das et al., 2020).

I.11.6. La choline

La choline a plusieurs fonctions importantes. C'est une source de groupes méthyle nécessaires pour fabriquer le principal donneur de méthyle, la S -adénosyl méthionine ; une partie du neurotransmetteur acétylcholine ; et un composant des phospholipides prédominants dans les membranes (phosphatidylcholine et sphingomyéline)(Zeisel et Caudill.,2010). La structure représente dans la figure 9.

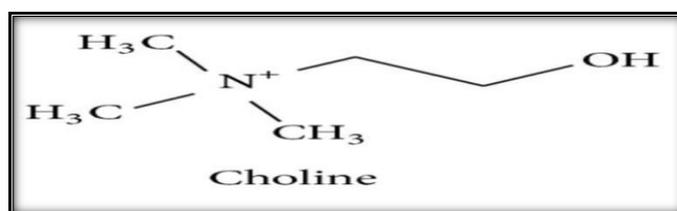


Figure 9 Structure chimique de la choline (Mimmi et al., 2014).

I.11.7. Les huiles essentielles

L'huile essentielle est une « substance odorante, généralement de composition complexe, obtenue à partir d'une matière première. (Bourrain., 2013). Le *M. vulgare* produit des traces d'huile essentielle, généralement entre 0,03% et 0,06%. (Aćimović et al., 2020). L'huile essentielle des

parties aériennes de *Marrubium vulgare* est obtenue par hydro distillation (Abadie et Aïcha., 2013).

I.11.8. Le mucilage

Le mucilage est déposé comme couche de paroi supplémentaire par l'appareil de Golgi. À l'exception du mucilage associé aux cristaux de raphide, les enregistrements de mucilages vacuolaires sont rares chez les dicotylédones. Les fonctions attribuées aux cellules de mucilage dans les parties végétatives comprennent le stockage des glucides, le stockage de l'eau, la réduction de la transpiration, la protection contre les rayonnements intenses par diffusion ou réflexion de la lumière et la protection contre l'herbivorie (Gregoire et Baas., 2013).

I.11.9. Les saponines

Sont un groupe diversifié de composés largement répandus dans le règne végétal, qui se caractérisent par leur structure contenant un aglycone tri -terpène ou stéroïde et une ou plusieurs chaînes de sucre (figure 10). La demande des consommateurs pour des produits naturels associée à leurs propriétés physicochimiques (tensioactifs) et aux preuves croissantes de leur activité biologique (telle que l'activité anticancéreuse et anti cholestérol) a conduit à l'émergence des saponines en tant que composés commercialement importants avec des applications en expansion dans les secteurs alimentaire, cosmétique et pharmaceutique (Güçlü-Üstündag et Mazza., 2007).

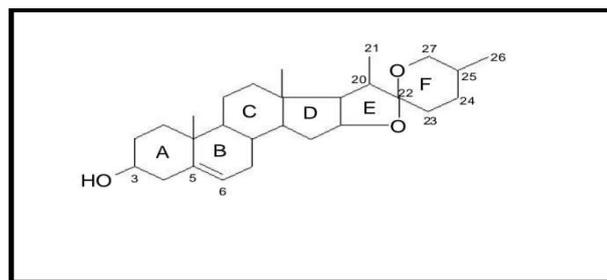


Figure 10 structures chimiques de saponines (Voutquenne-Nazabadioko., 2010).

CHAPITRE

2

Stress oxydatif

II. Stress oxydatif

II.1. Définition

Le stress oxydant se définit comme Un déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants (figure 11), résultant de l'augmentation de la production d'oxydants et/ou la réduction des antioxydants, génère un état de stress dans la cellule, appelée stress oxydant (Hamma., 2016).

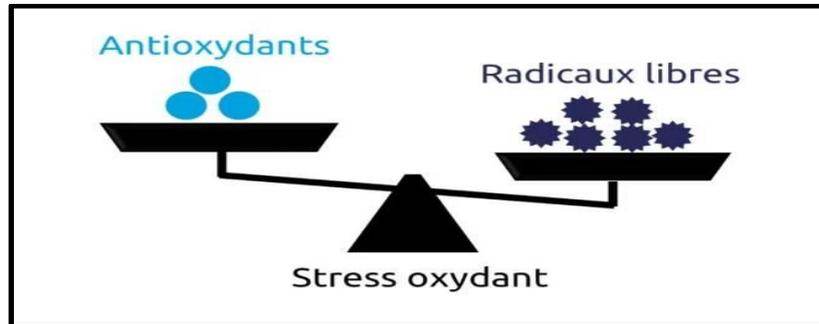


Figure 11 la balance entre les antioxydants et les radicaux libres (Nimse et Pal., 2015).

II.2. Les radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule) possédant un électron non apparié. Ce déséquilibre n'est que transitoire et est combiné par l'acceptation d'un autre électron ou par le transfert de cet électron libre sur une autre molécule (Afonso et al., 2007).

Un tel système pouvant se poursuivre atteignant d'autres molécules qui à leur tour produisent d'autres radicaux libres. Réaction en chaîne conduisant à la dégradation des molécules et à leur fractionnement en molécules plus petites (Morelle., 2003).

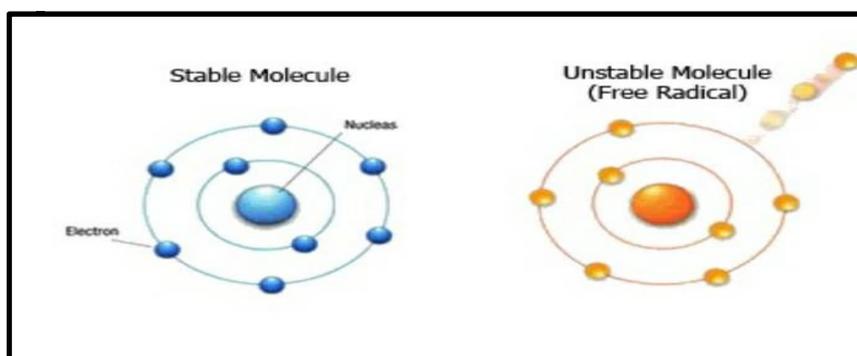


Figure 12 La différence entre la molécule stable et le radical libre (Dinota ., 2012).

II.3. La formation de l'espèce réactive d'oxygène

En présence de métaux, de molécules organiques ou d'enzymes (oxydases ou complexes de la chaîne respiratoire), il est capable de capter un électron pour donner le radical superoxyde O_2^- . Ce

radical est le substrat d'enzymes essentielles, les superoxydes dismutases (SOD) qui le transforment en eau oxygénée H_2O_2 . L'eau oxygénée peut avoir plusieurs destinées. En présence de métaux, en particulier le fer Fe^{2+} , elle est transformée en radical hydroxyle $^{\circ}OH$ par la réaction de Fenton. Ce dernier est extrêmement réactif et va oxyder très rapidement les molécules voisines formant parfois d'autres radicaux libres. L'eau oxygénée peut aussi subir des réactions de détoxification catalysées par la catalase, la glutathion peroxydase ou les peroxyrédoxines. De même, plusieurs composés, notamment les vitamines E et C et le glutathion, peuvent interagir avec les radicaux et les détoxifier. Sous l'influence de rayonnements UV, l'oxygène peut être transformé en oxygène singulet. Le métabolisme de l'oxygène croise celui de l'azote puisque O_2 -interagit avec un autre radical, le monoxyde d'azote NO et conduit au composé toxique, le peroxydinitrite $ONOO^{\cdot}$. Arg arginine ; NOS : NO synthase (Barouki., 2006).

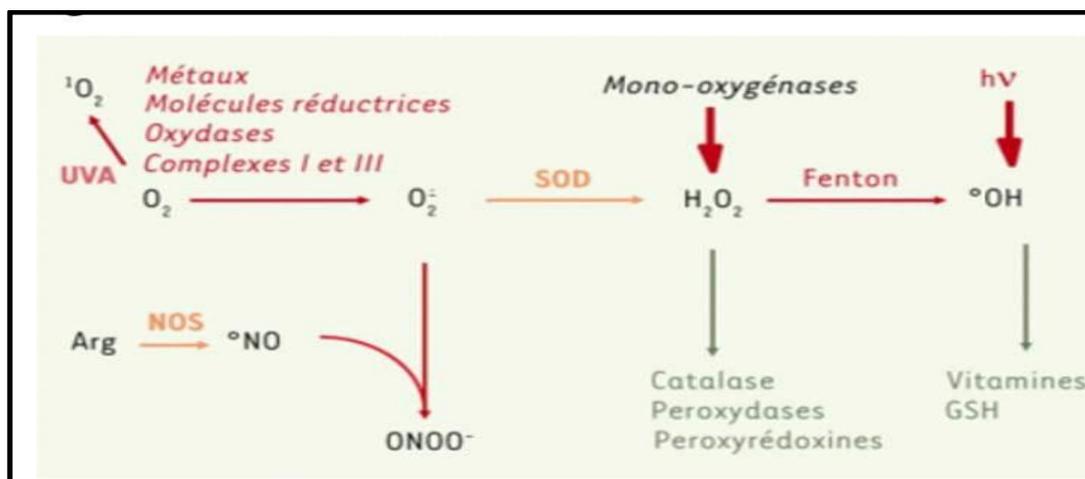


Figure 13 Voie métabolique de l'oxygène et des ERO (espèces réactives de l'oxygène).

L'oxygène peut subir des étapes successives de réduction conduisant à la formation d'ERO

(D'après Barouki., 2006).

II.2.1. Les espèces radicalaire

II.2.1.1. L'ion superoxyde

Les anions superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) sont formés par la capture d'un électron par la molécule d'oxygène (Intyre et al., 1999). Ils ont une faible réactivité avec les composés biologiques et ne réagissent ni avec les acides nucléiques et leurs constituants, ni avec les protéines et leurs acides aminés, ni avec les lipides et leurs acides gras. Par contre, ils ont une demi-vie relativement longue (supérieure à quelques dizaines de secondes) ; ils peuvent donc diffuser vers leurs cibles, en particulier les superoxydes dismutases, les ions Fe^{2+} , ou encore la vitamine C. Toutefois, la présence de la charge électrique négative sur cette molécule bloque leur diffusion au travers des

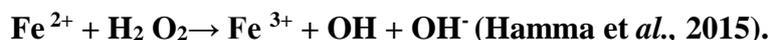
membranes biologiques. En fait, ils sont indirectement toxiques en réagissant avec le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et le monoxyde d'azote (NO), produisant respectivement des radicaux hydroxyles (•OH) et des peroxynitrite (ONOO⁻). Inversement la dismutation spontanée des anions superoxyde aboutit à la formation de peroxyde d'hydrogène(Démarchez.,2012).

II.3.1.2. Les radicaux hydroxyles (•OH)

Sont les radicaux les plus délétères. Ils présentent une extrême réactivité, une demi-vie limitée (10-10 s dans les systèmes biologiques), diffusent donc peu et sont les plus toxiques lors d'un stress oxydant. Ils agissent selon trois mécanismes : en arrachant soit un électron soit un atome d'hydrogène ou encore en s'additionnant sur les doubles liaisons (Démarchez., 2012). Leurs cibles biologiques sont la plupart des molécules organiques et inorganiques des cellules, en particulier, l'ADN, les protéines, les lipides, les acide-aminés, les sucres et les métaux(Gardés – albert.,2006) Le radical •OH est produit au sein des cellules, suite soit à la réaction de Haber-Weiss :

$$O_2^{\bullet -} + H_2 O_2 \rightarrow OH + O_2 + OH^-$$

Soit à la réaction de Fenton qui nécessite des catalyseurs métalliques :



II.3.1.3. Le monoxyde d'azote (NO)

Est un radical libre dérivé de l'oxygène et un facteur paracrine jouant un rôle fondamental dans les mécanismes provoquant la relaxation des cellules musculaires lisses(Xuan et al., 1998), en faible concentration, NO est un neurotransmetteur et un agent vasodilatateur ; les fortes concentrations l'impliquent dans la réponse immunitaire, comme agent cytostatique et cytotoxique, mais aussi dans nombre de maladies(Sennequier et al., 1998).

II.3.2. Les espèces non radicalaires

II.3.2.1. Le peroxyde d'hydrogène H₂O₂

Le H₂O₂ est un oxydant très puissant, potentiellement toxique pour la cellule. C'est une ROS stable (en l'absence de métaux de transition mais hautement diffusible dans le cytoplasme et à travers les membranes (Hamma et al.,2015)., La principale production de H₂O₂ résulte de la dismutation de l'O₂•-par la superoxyde dismutase.Selon la réaction :



Il possède des propriétés oxydantes et réductrices au même temps, peu réactif en l'absence de métaux de transition(**Bensakhria., 2018**).

II.3.2.2. L'oxygène singulet

Il représente l'état excité de l'oxygène moléculaire par des électrons périphériques à spins antiparallèles. Il est très instable et extrêmement réactif face à des molécules riches en électrons. L'oxygène singulet est généré par transfert d'énergie entre un photo sensibilisateur dans un état excité triplet et l'oxygène. Il se forme principalement lors des processus physicochimiques (par exemple les réactions impliquant les rayonnements UVA) (**Bensakhria., 2018**).

II.3.2.3. Le peroxy-nitrite

Est un oxydant biologique puissant formé par la réaction de deux radicaux libres, le superoxyde et le monoxyde d'azote (**Radier., 2013**), Il causée des dommages sévères à la plupart des biomolécules – protéines, lipides et acides nucléiques par des mécanismes d'oxydation directe ou par la production secondaire de radicaux libres très réactifs. Lorsque ces dommages atteignent un seuil critique, ils entraînent la mort cellulaire par nécrose ou apoptose. Une production excessive de peroxy-nitrite joue un rôle important dans les lésions et dysfonctions d'organes associées au choc circulatoire et à l'ischémie-reperfusion (**Szabo et al., 2007**), Dans ces conditions, diverses métallo porphyrines de synthèse capables de dégrader le peroxy-nitrite ont d'importants effets bénéfiques chez l'animal, et pourraient ainsi représenter de nouveaux facteurs pharmacologiques dans le futur(**Liaudet., 2007**).

II.4. Principale source de ROS

Les sources de production de radicaux libres sont dans les figures. Elles représentées sont classées en deux catégories.

II.4.1. Les Sources exogènes de ROS

Les sources exogènes sont majoritairement des pro-oxydants environnementaux tels que les pesticides, les métaux lourds, la fumée de cigarettes, les polluants, la poussière (d'amiante, de silice), et les composés induits par la prise de certains médicaments, par le rayonnement électromagnétique (radiation ionisante, lumière ultraviolette), ou lors d'un coup de chaleur. (voir le figure 14).

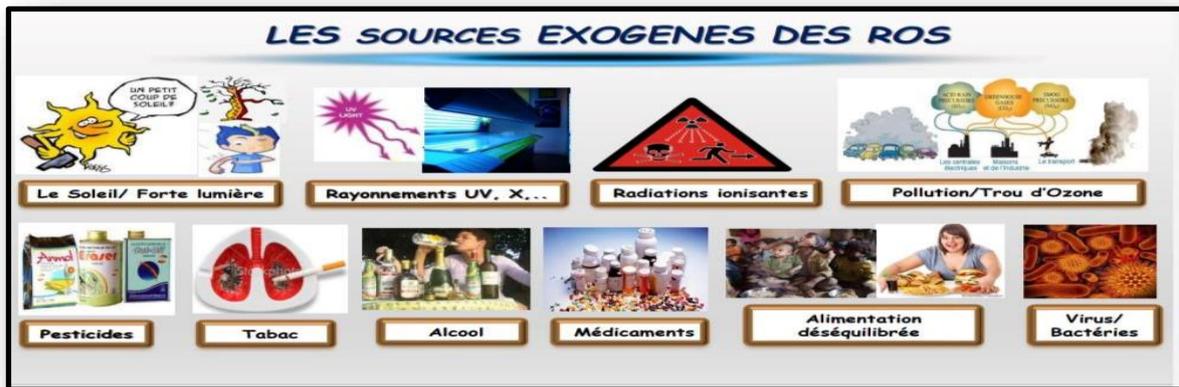


Figure14 les Sources exogènes de ROS (Boucelha et Djebbar., 2014).

II.4.2. Les sources endogènes de ROS

Les dérivés réactifs de l'oxygène (ROS), sont essentiellement d'origine enzymatique et découlent de plusieurs sources ; ils sont produits :

- Dans des conditions physiologiques normales, au sein des cellules.
- Par la chaîne respiratoire.
- Lors d'activités enzymatiques, telles que celle de la NADPH oxydase.
- Par des mono oxygénases à fonction mixtes.
- Par les peroxysomes.

Au cours des réactions de défense dans les cellules phagocytaires.

Par le système de la NADPH oxydase.

par la myeloperoxydase.

- par la NO synthase inductible (démarchez., 2012)

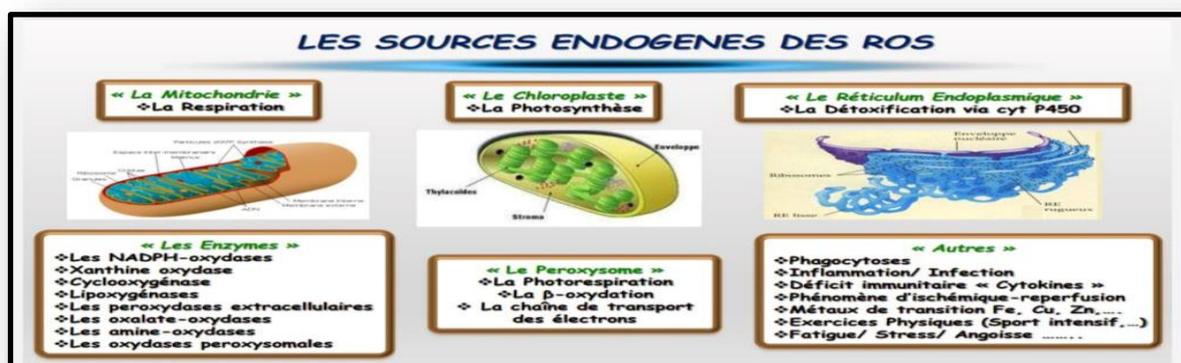


Figure 15 les sources endogènes des ROS (Boucelha et Djebbar., 2014).

II.4.2.1. La NADPH oxydase

Est une enzyme présente dans les cellules ayant une origine embryonnaire mésodermique (leucocytes, cellules de la paroi vasculaire, chondrocytes, synoviocytes, podocytes, etc.). Cette enzyme, activée normalement par la phagocytose, peut être aussi stimulée par des agents pro-inflammatoires insolubles, les cytokines, des agents peptidiques, ou des agents lipidiques. L'absence de cette enzyme dans les cellules phagocytaires est à l'origine de la granulomatose chronique, maladie caractérisée par des infections récurrentes (**Delbose et al., 2001**).

La NADPH oxydase est un composant de l'immunité innée entraînant dans la lutte contre les agents infectieux. La réaction d'oxydation du NADPH selon la réaction suivante :



Premièrement l'anion superoxyde (2O_2^-). Ce dernier réagit avec un proton (H^+) pour donner du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), lequel réagira avec un proton et un chlorure (Cl^-) pour donner l'acide hypochloreux (HOCl) et une molécule d'eau (**Dupont et al., 2016**).

II.4.2.2. La chaîne respiratoire

Est localisée dans la membrane interne mitochondriale. Cette chaîne de transport d'électrons est constituée de quatre complexes protéiques :

Complexe I : NADH-coenzyme Q oxydoréductase,

Complexe II : succinate-coenzyme Q oxydoréductase,

Complexe III : coenzyme Q-cytochrome c oxydoréductase,

Complexe IV : cytochrome c oxydase.

Le coenzyme Q (ubiquinone) et le cytochrome c sont des transporteurs mobiles de la chaîne respiratoire (**Rosenthal et Glew., 2009**). Les mitochondries génèrent de l'énergie à partir de la dégradation des aliments. Les coenzymes NAD^+ et FAD sont convertis en leurs formes réduites NADH et FADH_2 . Ces coenzymes réduits réagissent avec l'oxygène à travers des complexes protéiques pour créer un gradient de protons. Ce gradient est utilisé par l'ATP synthase pour produire de l'ATP, qui est la principale source d'énergie pour les cellules (**Mazat et Ransac., 2010**).

Environ 2 % de l'oxygène consommé au niveau mitochondrial sont convertis en radicaux superoxyde $\text{O}_2^{\bullet-}$ lors de la première réduction électronique de l'oxygène. Le catabolisme de ces radicaux est contrôlé par des systèmes de défense, les antioxydants, qui s'adaptent au taux de radicaux présents (**Migdal et Senes., 2011**), avec l'identification de l'alternative oxydase (AOX), la mitochondrie pourrait devenir un acteur important dans la régulation du stress oxydatif chez les

plantes. En effet, cette enzyme agit comme une « soupape de sécurité », contrôlant la réduction du pool d'ubiquinone, source importante de ROS. Pour cette raison, la mitochondrie a été proposée comme médiateur entre les changements métaboliques, la production de ROS et l'induction de gènes. Cependant, la contribution de la mitochondrie à la production de ROS lors de la réponse au stress reste encore mal définie (Morat *et al.*, 2008).

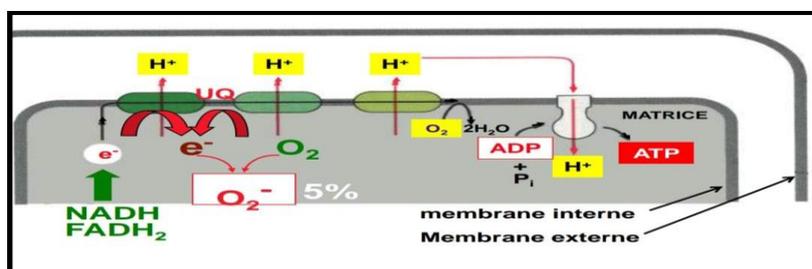
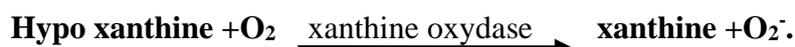


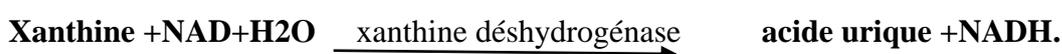
Figure 16 les composant de la chaîne de transport des électrons (Rosenthal et Glew., 2009).

II.4.2.3. La xanthine oxydase

(EC 1.1.3.22), également nommée hypo xanthine oxydase ou xanthine : oxygène oxydoréductase, est l'une des enzymes lactiques indigènes les plus étudiées (Farkye., 2002). C'est une oxydoréductase non spécifique qui joue un rôle métabolique dans le catabolisme des purines et pyrimidines (Hille et Takeshi., 1995). Catalysant l'oxydation de l'hypo xanthine en xanthine selon la réaction :



Et de la xanthine en acide urique selon la réaction :



Avec la réduction concomitante d'O en H₂O₂. A pH alcalin et forte concentration en O₂, une oxydation limitée de la xanthine conduit à la production d'un anion superoxyde très réactif, O₂⁻, qui est un substrat pour la superoxyde dismutases (Farkye., 2002).

Il catalyse oxydation d'une large gamme de substrats peut transmettre des électrons à l'oxygène moléculaire, générant des espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Roger., 2004).

L'enzyme xanthine oxydase (XO) s'exprime abondamment dans le foie et l'intestin du corps humain. Structuellement, XO est une enzyme homodimère de 290 KDa, dont chaque sous-unité contient deux centres spectroscopiquement distincts avec un cofacteur de molybdoptérine et un cofacteur de flavine adénine di nucléotide (Nguyen *et al.*, 2021).

II.4.2.4. NO synthase

Les synthases d'oxyde nitrique (NOS, E.C. 1.14.13.39) sont une famille d'oxydoréductases qui produisent l'oxyde nitrique (NO)(Billiar *et al.*, 2019).

Ces enzymes catalysent l'oxydation de l'acide aminé L-arginine pour produire de la L-citrulline et du NO. Les différents types de cellules constituant le tissu myocardique expriment une ou plus des trois isoformes (neuronale, inductible, endothéliale) des NO synthases. Récemment une NO synthase mitochondriale a été isolé. Il existe une complexité des NO synthases avec des domaines distincts et de multiples cofacteurs. Les NO synthases sont capables de former non seulement du NO mais aussi du superoxyde O₂-(découplage). Ces deux composés sont capables de réagir ensemble très rapidement pour former du peroxynitrite : agent possédant un pouvoir oxydant majeur. La formation de peroxynitrite est suspectée en pathologie dans de plusieurs situations impliquant un stress oxydatif telles que l'athérosclérose et l'insuffisance cardiaque(Vergely *et Rochette.*, 2002).

II.5. Conséquence de stress oxydatif

Le stress oxydant provoque une toxicité cellulaire impliquant les différents constituants biochimiques de la cellule : ADN-ARN, protéines, lipides... Comme tout phénomène perturbant l'équilibre cellulaire, il met en jeu une adaptation et un système de défense(Barouki *et Morel.*, 2001).

Les conséquences induites par les ROS sont : une peroxydation des lipides, une oxydation des protéines, des mutations de l'ADN (figure17). Ces altérations peuvent fournir à des pertes de fonction et d'intégrité, voire à la mort cellulaire. Cette Figure résumé les dommages qui provoqué par le stress oxydatif

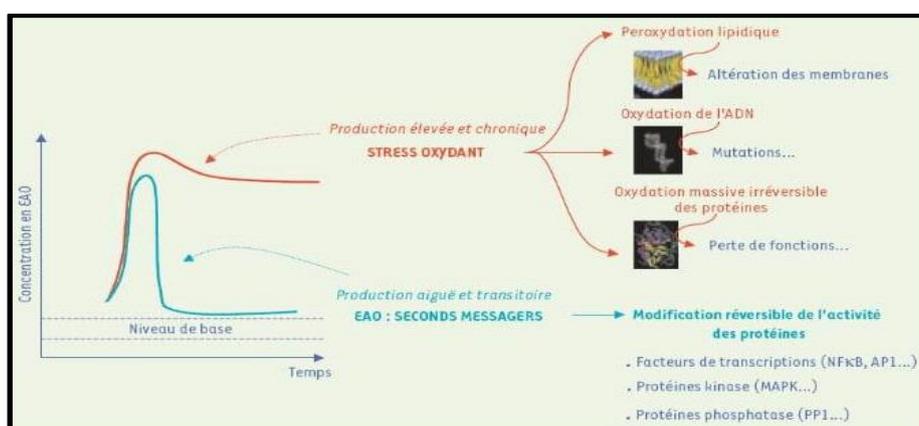


Figure 17 les conséquences de stress oxydatif (d'après Carrière *et al.*,2006).

II.5.1. La peroxydation lipidique

La peroxydation lipidique est un mécanisme en chaîne de dégradation des acides gras membranaires conduisant à la formation d'hydro peroxydes instables, responsables néanmoins de la diminution de la fluidité membranaire (Remita., 2001).

Aussi a été définie comme la détérioration oxydative des acides gras polyinsaturés (≥ 2 doubles liaisons) tels que les acides linoléique (C18 :2), linoléiques (C18 :3), arachidonique (C20:4). Elle comporte trois étapes : l'initiation, la propagation, la terminaison, (figure 18) (Delattre et al., 2003).

a) l'initiation l'attaque par un radical $\text{OH}\cdot$ du groupement méthylène présent entre deux doubles liaisons d'acide gras polyinsaturés produit un radical carboné $\text{R}\cdot(\text{OH}\cdot)$ enlève un atome d'hydrogène du CH_2 puis les doubles liaisons subissent un réarrangement moléculaire conduisant à la formation de diènes conjugués), en présence d' O_2 le radical carboné est transformé en radical $\text{RO}\cdot$.

b) la propagation le radical $\text{RO}\cdot$ enlève un hydrogène à un nouvel AGPI voisin qui à son tour produira un radical $\text{R}\cdot$ puis un radical $\text{RO}\cdot$, une réaction en chaîne s'installe. En présence de métaux de transitions, les hydroperoxydes formés peuvent subir un clivage au niveau des liaisons C-C pour donner naissance à divers produits de décompositions ; le Malon dialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonéal représentant les produits les plus toxiques de la peroxydation lipidique.

c) la terminaison cette phase consiste à former des composés stables issus de la rencontre entre deux espèces radicalaires ou le plus souvent par la réaction d'un radical avec une molécule antioxydant dite 'briseur de chaîne' (Delattre et al., 2003).

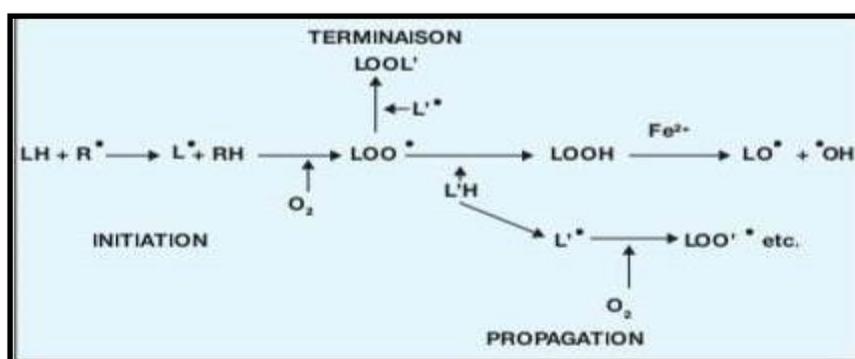


Figure 18 Phases d'initiation, de propagation et de terminaison de la peroxydation lipidique (D'après Michel et al., 2008).

R• : radical initiateur (ERO) ; LH : acide gras polyinsaturé ; L• : radical lipidique ; LOO• : radical peroxy ; LOOH : hydro peroxydes ; LO• : radical alkoxy ; •OH : radical hydroxyle ; O₂ : oxygène ; LOOL : produit stable (D'après Michel *et al.*, 2008).

II.5.2. Oxydation des protéines

Tous les acides aminés sont des cibles potentielles pour les ERO ; néanmoins les cibles majeures sont les acides aminés soufrés (cystéine, méthionine), basiques (arginine, histidine, lysine) et aromatiques (phénylalanine, tyrosine, tryptophane). Citons par exemple la cystéine dont les oxydations réversibles jouent un rôle important Mireille dans la régulation de la fonction de nombreuses protéines (Migdal *et Serres.*, 2011).

L'oxydation des protéines est définie comme la modification covalente d'une protéine obtenue soit par des réactions directes avec des espèces réactives de l'oxygène (ROS), soit par des réactions indirectes avec des sous-produits secondaires du stress oxydatif. Les ROS peuvent provoquer une oxydation des chaînes latérales des acides aminés et des squelettes protéiques, intervenant une fragmentation des protéines ou des liaisons croisées protéine-protéine. (figure 19) Bien que tous les acides aminés puissent être modifiés par les ROS, la cystéine et la méthionine sont les très sensibles aux changements oxydatifs en raison de la forte sensibilité de réaction du groupe soufre dans ces acides aminés. Les modifications oxydatives des protéines peuvent modifier leurs caractéristiques physiques et chimiques, y compris la conformation, la structure, la solubilité, la sensibilité à la protéolyse et les activités enzymatiques (Zhang *et al.*, 2013)

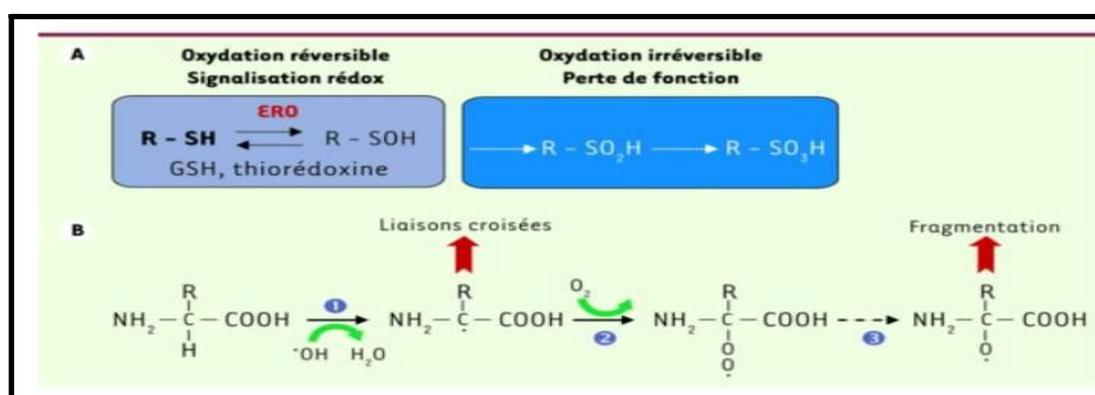


Figure 19 Attaque radicalaire des protéines. (D'après Migdal *et Serres.*, 2011).

A. Oxydation des fonctions thiols de la cystéine.

Les résidus cystéines peuvent être oxydés en acide sulfénique (R-SOH), puis en acide sulfonique (R-SO₂H) et sulfonique (R-SO₃H). Alors que les acides sulféniques et sulfoniques sont stables et

que leur oxydation est irréversible, la formation d'acide sulféniques est réversible sous l'action du glutathion et/ou de la thiorédoxine(Migdal et Serres., 2011).

B. Oxydation de la chaîne polypeptidique.

1. L'oxydation est initiée par le radical hydroxyle qui enlève un atome d'hydrogène sur le carbone alpha d'une liaison peptidique en donnant naissance à un radical centré sur le carbone. En l'absence d'oxygène, deux radicaux centrés sur le carbone peuvent réagir ensemble pour former des liaisons croisées intra ou inter chaînes.

2. En présence d'oxygène, une réaction d'addition a lieu pour former un radical pyroxylo.

3. Après une série de réactions complètes, un radical alkoxylo est formé, étape nécessaire à la fragmentation de la chaîne polypeptidique(Migdal et Serres., 2011).

II.5.3. Oxydation de la l'acide nucléique

ADN soit la mémoire de toute la composition biochimique des êtres vivants, il s'agit d'une molécule très sensible à l'attaque par les radicaux de l'oxygène. Au bas mot, cinq classes principales de dommages oxydatifs médiés par $\text{OH}\cdot$ peuvent être générées. Parmi elles, les bases oxydées, les sites abasiques, des adduits intra-caténares, des cassures de brins et des pontages ADN-protéines. Les bases qui composent l'ADN, et particulièrement la guanine, sont sensibles à l'oxydation. L'attaque radicalaire peut être directe et entraîner l'oxydation des bases, engendrant un grand nombre de bases modifiées : 8 oxo guanine, 8 nitroguanine, formamidopyrimidine, 8 oxo adénine, formimidouracile, 5 hydroxy cytosine, 5 hydroxyméthyle uracile, thymine diol, oxazolone. Un très grand nombre de ces composés et de leurs mécanismes de formation. Mais le stress oxydant peut aussi attaquer la liaison entre la base et le désoxyribose, créant un site abasique, ou attaquer le sucre lui-même, créant une coupure de chaîne simple brin.(Favier.,2003).

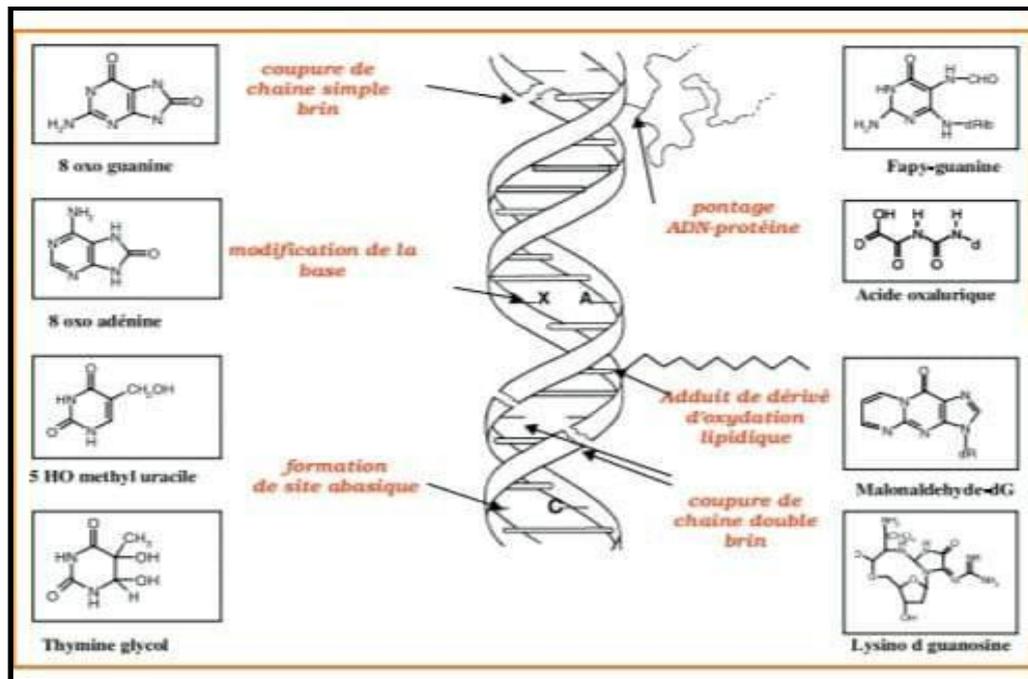


Figure 20 lésions de l'ADN formés par L'attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules(D'après Favier., 2003).

II.6. Les maladies liées au stress oxydatif

II.6.1. Vieillesse

Il existe de nombreuses preuves impliquant le RLO dans de nombreuses maladies liées à l'âge. La relation inséparable entre le vieillissement et la maladie d'Alzheimer, dont l'incidence augmente de façon exponentielle avec l'âge ; est représentatif. Il est donc très difficile de ne pas associer ces RL au vieillissement. Les radicaux libres et leur omniprésence dans l'organisme, le processus de vieillissement n'est que la somme des changements aléatoires induits par ces réactions Accumulation de métabolites toxiques entraînant des dommages à long terme Macromolécules (protéine - acide nucléique) qui conduisent à la mort cellulaire(Amar., 2010).

II.6.2. Le Diabète

L'activité des enzymes du métabolisme peroxydique (SOD en particulier) est diminuée dans le sang des sujets diabétiques, ce qui se traduit par une augmentation de la peroxydation lipidique pouvant expliquer les lésions tardives rencontrées. En effet, l'augmentation de la teneur en peroxydes lipidiques est considérée comme une cause de dégénérescence des organes et tissus. Or des études récentes montrent que, dans le diabète, le taux de peroxydation lipidique plasmatique est significativement plus élevé que chez les témoins et que ce taux est plus élevé chez les diabétiques porteurs d'une micro angiopathie que chez les diabétiques indemnes(Amar., 2010).

II.6.3. L'inflammation

Au cours de l'inflammation, les radicaux superoxydes jouent un rôle à plusieurs niveaux. L'activation des polynucléaires neutrophiles (PN) lors de la phagocytose entraîne une flambée oxydative responsable d'une importante production d'ion superoxyde qui participe à la destruction des bactéries. Lors de l'inflammation, les radicaux superoxydes produits par les PN sortent du milieu intracellulaire et peuvent détruire des cellules saines conduisant à l'auto-entretien de l'inflammation. L'ion superoxyde active également un facteur plasmatique chimiotactique qui attire les neutrophiles. La SOD, empêchant l'activation de ce facteur superoxyde dépendant, exerce une action anti-inflammatoire (Amar., 2010).

II.6.4. Le Cancer

Les RL jouent un rôle dans les modifications malignes et sont un facteur étiologique du cancer. Les radiations ionisantes produisent des RL qui agissent comme des initiateurs et des promoteurs du cancer. Des études ont montré une corrélation entre la consommation de matières grasses et d'huiles et le taux de mortalité dans certains cancers, en raison de la peroxydation lipidique et de la corrélation entre l'obésité et le cancer. Dans les régions où la consommation de sélénium est composant de la GPx élevée, on observe une réduction de l'incidence de certaines formes de cancer a tendance à diminuer. Cet effet est dû à la réduction des réactions radicalaires. Des études plus récentes confirment les effets positifs de la prise d'antioxydants (bêta-carotène, vitamine E) sur certains cancers. L'augmentation de l'incidence des cancers avec l'âge. Elle reflète probablement l'élévation croissante du niveau endogène des réactions (Amar., 2010).

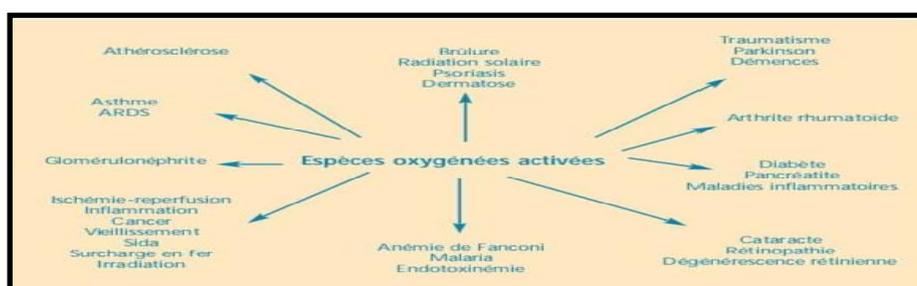


Figure 21 Spectre de différentes pathologies touchant divers organes dans lesquelles le stress oxydant est impliqué (Pincemail et al., 2001).

II.7. Système de défense antioxydant

Afin de maintenir, en conditions physiologiques, un équilibre cellulaire vital entre formation et destruction des radicaux libres, la cellule dispose de systèmes de défense anti-radicalaires. Ces

antioxydants biologiques. définis comme étant des substances qui protègent les systèmes biologiques contre les effets délétères potentiels des processus ou réactions qui engendrent une oxydation excessive(Grandjean., 2001).

II.7.1. Définition d'antioxydant

Les antioxydants sont définis comme des substances capables de concurrencer d'autres substrats oxydables à des concentrations relativement basses et donc de retarder ou d'empêcher l'oxydation de ces substrats (Hamma et al.,2015),antioxydants sont des molécules qui présentent des propriétés allant bien au-delà de leur capacité à piéger les ERO (Pincemail et al., 2002).

Les antioxydants peuvent stopper Les réactions d'oxydoréduction en se combinant aux radicaux libres et en inhibant ainsi leur action (Tanguy et Béguë-Simon ., 2009).

L'organisme dispose d'une large gamme d'antioxydants endogènes sous forme de systèmes enzymatiques, non enzymatiques(Pincemail et al., 2002).

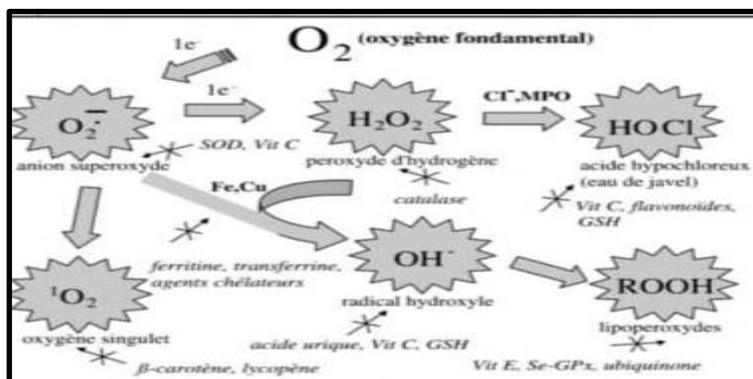


Figure22 Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) par les systèmes de défenses antioxydants (D'après Hamma et al., 2015).

II.7.2. Système enzymatique

II.7.2.1. Superoxyde dismutase (SOD)

Sont des métalloprotéines (morelle., 2003). Les SOD catalysent la dismutation mono - électronique de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène et en oxygène. Il existe plusieurs types de SOD qui diffèrent par leur structure et leur localisation cellulaire : la SOD à cuivre et à zinc (Cu, Zn - SOD) essentiellement présente dans le cytoplasme des cellules eucaryotes ; la SOD à manganèse (Mn SOD) chez les procaryotes et dans les mitochondries des eucaryotes ; la SOD à fer (Fe - SOD) chez les procaryotes uniquement (Delattre et al., 2003).



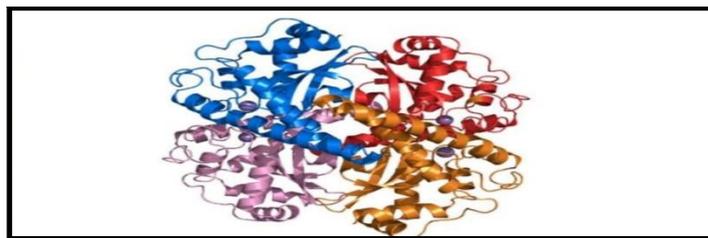


Figure23 la structure chimique de SOD (Phillips ., 2016).

II.7.2.2. La catalase

La catalase est une enzyme hémique essentiellement présente dans les peroxysomes et dans les hématies (Hamma *et al.*, 2015).

La catalase est une enzyme antioxydant, Il est présent dans les tissus vivants et est une enzyme clinique clé impliquée dans la dégradation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire selon la réaction : $2 \text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$.

La catalase est un biomarqueur important du stress oxydatif et de la pathogenèse de nombreuses maladies et infections. Il aide à prévenir l'apparition de maladies neurologiques et inflammatoires, la carcinogenèse et le syndrome métabolique. Il a également été rapporté qu'il était utilisé comme thérapie pour le cancer, la rétinopathie diabétique et les patients cardiaques (Mohamodally *et al.*, 2022). De plus, les catalases sont également impliquées dans processus cellulaires multiples, tels que le développement et la différenciation cellulaire, ainsi que production de métabolites (yuan *et al.*, 2021).

II.7.2.3. Glutathion peroxydase

Les GPx sont des sélénoprotéines qui permettent d'éliminer le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou les hydro peroxydes (LOOH) par oxydation du glutathion en glutathion oxydé (GSSG). Le GSSG est réduit à nouveau en GSH par la glutathion réductase en utilisant le NADPH (nicotinamide adénine dinucléotide phosphate ; figure 24) (Berbak *et al.*, 2018).



types de GPx dont les GPx-1 (cytosolique), GPx-2 (gastro-intestinale), GPx-3 (plasmatique), GPx-4 (cytosolique, mitochondriale et membranaire) et GPx- 5 ou snGPx (intervenant durant la spermatogénèse) . Les quatre premières contiennent une séléno-cystéine au niveau de leur site

actif (l'atome de soufre de la cystéine est remplacé par un atome de sélénium). Un déficit en sélénium conduit à une baisse de l'activité GPx (**Hamma et al., 2015**).

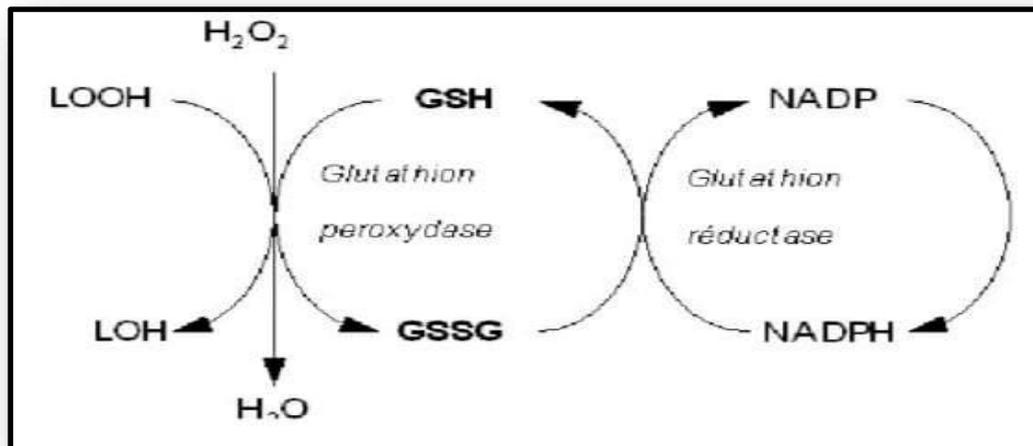


Figure24 Le glutathion, système antioxydant endogène cellulaire (**Berbak et al., 2018**).

II.7.2.4. La glutathion réductase

La glutathion réductase est une enzyme essentielle qui recycle le glutathion oxydé sous sa forme réduite (**Couto et al., 2016**). Glutathion réductase (GR) a été décrit pour la première fois dans les chloroplastes, mais a maintenant été largement caractérisé dans tous les compartiments cellulaires. Dans ce système, le NADPH/NADH est considéré comme fournissant le pouvoir réducteur pour régénérer le glutathion réduit (GSH) à partir de sa forme oxydée, le disulfure de glutathion (GSSG) (**Kunert et Foyer., 2023**).



II.7.2.5. La glutathion transférase

La glutathion transférase est l'une des enzymes importantes pour le métabolisme des xénobiotiques. Les glutathion transférases catalysent la conjugaison de divers xénobiotiques électrophiles endogènes et exogènes avec la glutathion (**Aksoy et Küfreviöglu., 2017**).

glutathion-transférase, qui ne contient pas de sélénium. Elle joue un rôle important dans la protection de l'ADN contre l'action des peroxydes et des radiations ionisantes. La plus grande activité de cette enzyme se situe dans les reins, l'intestin et les testicules (**Morelle., 2003**).

II.7.2.6. Les thiorédoxine (Trx) et la thiorédoxine réductase

Le système thiorédoxine (Trx), qui est composé de NADPH, de thiorédoxine réductase (TrxR) et de thiorédoxine, est un système antioxydant clé dans la défense contre le stress oxydatif (**Arner et Holmgren., 2001**) grâce à son activité disulfure réductase régulant l'équilibre protéine dithiol/disulfure. Le système Trx fournit les électrons aux peroxydases thiol-dépendantes (peroxyrédoxines) pour éliminer les espèces réactives d'oxygène et d'azote avec une vitesse de réaction rapide. Les fonctions antioxydants de Trx sont également démontrées par leur implication dans la réparation de l'ADN et des protéines en réduisant la ribonucléotide réductase, la méthioninesulfoxyde réductases et en régulant l'activité de nombreux facteurs de transcription sensibles à l'oxydoréduction. De plus, les systèmes Trx jouent un rôle essentiel dans la réponse immunitaire, l'infection virale et la mort cellulaire via l'interaction avec la protéine interagissant avec la thiorédoxine (**Jun et al., 2014**), la Trx réductase (TrxR) et la Trx, est essentiel au maintien de l'équilibre redox cellulaire et de la fonction antioxydant, y compris le contrôle du stress oxydatif et de la mort cellulaire (**Jun et al., 2012**).

II.7.3. Systèmes non enzymatiques

Les antioxydants non enzymatiques peuvent être des Antioxydants naturels ou des Antioxydant synthétiques (artificiels). Les antioxydants non enzymatiques appartenant aux familles des phénols et des thiols.

II.7.3.1. Le glutathion

Est un tripeptide (acide glutamique-cystéine-glycine). Il est le thiol (-SH) majoritaire au niveau intracellulaire (l'albumine étant son équivalent plasmatique) où il est présent sous forme essentiellement réduite (GSH) (**Migdal et Serres ., 2011**) Dans des conditions physiologiques, sa forme oxydée (GSSG) est en concentration très faible. Le rapport GSH/GSSG est considéré comme un excellent marqueur de la peroxydation lipidique et permet d'objectiver l'importance du stress. Au cours du vieillissement et lors d'un exercice intense, ce rapport tend à diminuer. Les autres propriétés antioxydants du GSH sont nombreuses : cofacteur de la GPx, chélateur des métaux de transition, régénérateur final des vitamines E et C, à partir de leur forme radicalaire. (**Chiang et al., 2019**).

Le glutathion joue un rôle important dans la détoxification des substances xénobiotiques et dans l'anti oxydation des radicaux libres et des espèces à oxygène réactif. Compte tenu de ses multiples

fonctions dans divers tissus et de son rôle dans plusieurs maladies et dans la malnutrition (Bray et Taylor., 1993).

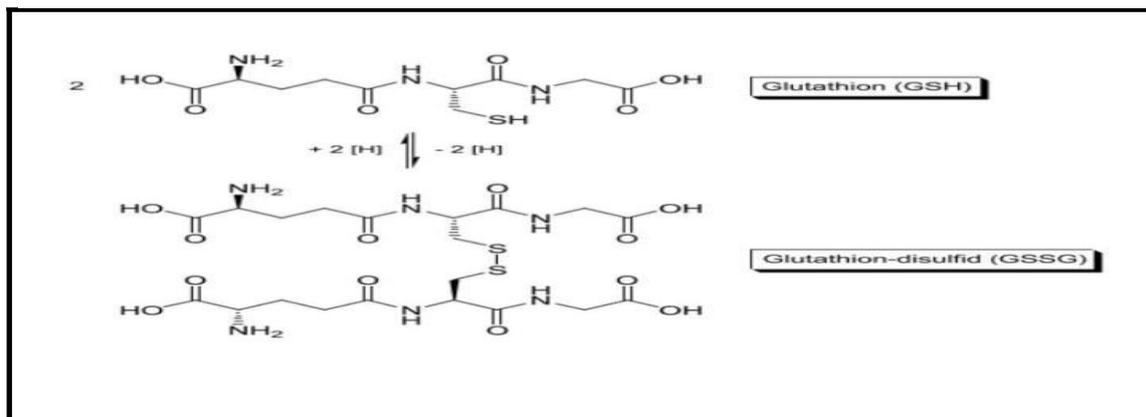


Figure 25 La structure de glutathion (Diallo ., 2019).

II.7.3.2. Le protéine thiol

La majorité des protéines Ils contiennent des groupes "thiol" qui ont des propriétés réductrices et retiennent+ facilement les espèces oxygénées activées (Haleng et al., 2007).

II.7.3.3. L'acide urique

Est le résultat final de la dégradation des bases puriques chez l'homme qui sont des composants majeurs de l'ADN, de l'ARN et des réserves d'énergie cellulaire telles que l'adénosine triphosphate. Chez la plupart des autres mammifères, l'acide urique subit une oxydation supplémentaire catalysée par l'urate oxydase, qui permet la formation d'allantoïne, un produit relativement plus polaire. . il est difficilement soluble dans l'eau (Descamps et al., 2006) .Les propriétés importantes de l'UA comprennent le piégeage des radicaux hydroxyles , des anions superoxydes , du peroxyde d'hydrogène et du peroxydinitrite , faisant de ce composé l'antioxydant le plus puissant du plasma humain (Amaro et al., 2019).

II.7.3.4. Coenzyme Q10

Coenzyme Q10, CoQ 10 ou ubiquinone (2,3 diméthoxy-5-méthyle-6-décaprenyl-1,4-benzoquinone) est une petite structure lipophile, composée d'un cycle benzoquinone et d'une chaîne latérale isoprénoïde et on la trouve universellement dans membranes cellulaires. La coenzyme Q10 (CoQ10) est naturellement omniprésente dans le corps humain. (Peixoto et Haas., 2019).coenzyme Q10 (CoQ10) est un cofacteur opérant dans la membrane mitochondriale interne, où elle joue un rôle vital dans la génération d'adénosine triphosphate (ATP) à travers la

chaîne de transport d'électrons (ETC). En plus de cela, la CoQ10 sert d'antioxydant, protégeant la cellule du stress oxydatif par les espèces réactives de l'oxygène (ROS) ainsi que le maintien d'un proton (H^+) gradient à travers les membranes des lysosomes pour faciliter la dégradation des déchets cellulaires (Manzar et al., 2020). L'ubiquinone peut interagir avec un certain nombre d'espèces oxydantes, et cette activité antioxydant lui permet d'agir comme "terminateur" de la peroxydation lipidique, comme le fait la vitamine E. Mais, à l'inverse de cette dernière, l'ubiquinone peut aussi agir comme inhibiteur de l'initiation de la peroxydation lipidique. De plus, l'ubiquinone assure un rôle protecteur vis-à-vis des lésions oxydatives des protéines et de l'ADN. Elle a été employée avec succès dans différents modèles animaux et est utilisée chez l'homme, non seulement dans le cadre de cytopathies mitochondriales (comme transporteur d'électrons), mais aussi dans le cadre de la thérapie antioxydant ou comme facteur de supplémentation antioxydant préconisé contre la fatigue et le vieillissement (Descanps et al., 2006).

II.7.3.5. Caroténoïdes

La famille des pigments caroténoïdes est omniprésente dans la nature et plus de 600 caroténoïdes différents ont été cartographiés et caractérisés (Yong et Lowe., 2018) pigmentés qui sont synthétisés par les plantes et les micro-organismes mais pas par les animaux. Chez les plantes, ils contribuent à la machinerie photosynthétique et les protègent contre les photo-dommages. Les fruits et légumes constituent les principales sources de caroténoïdes dans l'alimentation humaine. Ils sont présents sous forme de microcomposants dans les fruits et légumes et sont responsables de leurs couleurs jaune, orange et rouge. On pense que les caroténoïdes sont responsables des effets bénéfiques (Rao et Rao., 2007), ces composés à interagir avec les radicaux libres et l'oxygène unique et à agir ainsi comme des antioxydants efficaces (Yong et Lowe., 2018).

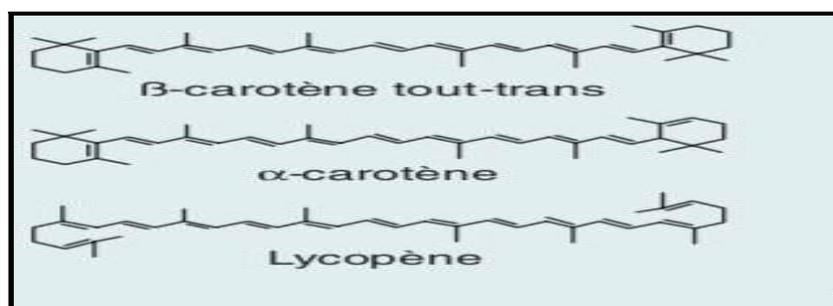


Figure 26 la structure chimique de caroténoïde (Borel et al., 2005)

II.7.3.6. L'acide ascorbique

La vitamine C ou acide ascorbique (AA) est une vitamine hydrosoluble qui ne peut être synthétisée par l'homme (Schlienger., 2020) vitamine C est l'antioxydant hydrosoluble le plus abondant et peut détruire de nombreux radicaux libres tels que les radicaux libres peroxydes, les thiols, les hydroxyles, les superoxydes et l'oxygène singulet. Remplissant sa fonction oxydative, il intervient directement pour régénérer la vitamine E intracellulaire. La présence de métaux de transition libres (fer, cuivre), la vitamine C a des métaux de transition chélates (Grandjean., 2001).

L'ascorbate s'est avéré être un antioxydant efficace. Elle peut agir à la fois directement, par réaction avec les radicaux peroxydes aqueux, et indirectement, en restaurant les propriétés antioxydantes de la vitamine E liposoluble. La conséquence globale de ces activités antioxydantes est le contrôle bénéfique de la peroxydation lipidique des membranes cellulaires y compris celles qui l'entourent. Comme dans les organites intracellulaires. L'attaque des radicaux libres intracellulaires sur le matériel nucléaire non lipidique peut également être diminuée (Bendich et al., 1986). La figure suivante représente la structure de l'acide ascorbique :

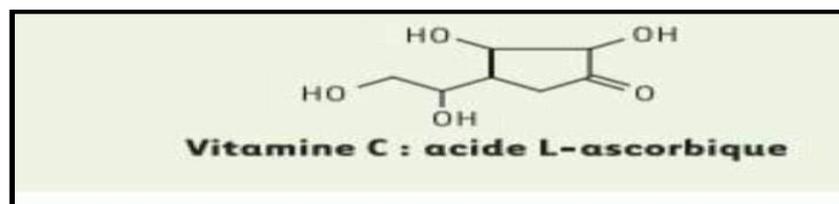


Figure 27 la structure chimique de vit C (Marc et al., 2004).

II.7.3.7. La vitamine E

La vitamine E est la substance liposoluble la plus importante. Des antioxydants qui peuvent jouer un rôle important. En piégeant les radicaux libres d'oxygène et en stabilisant les cellules. Membrane qui maintient la perméabilité. Aussi de la vitamine E affecte les changements oxydatifs qui se produisent dans d'autres cellules organites (Ognjanovic et al., 2003). La vitamine E est un composant majeur du système antioxydant du sperme et est considérée comme l'un des protecteurs membranaires les plus importants contre les ROS et la peroxydation lipidique. Il a été démontré qu'une supplémentation en vitamine E augmente la production et la concentration totales de spermatozoïdes (MI Youssef et al., 2003), C'est un piègeur important et inhibe la peroxydation des lipides en scindant les chaînes de radicaux peroxydes ou en piégeant les atomes d'oxygène singulet, (Kitagawa et al., 2004). De nombreuses études tant chez l'homme que chez l'animal, et plus récemment chez le chien, ont clairement démontré leurs effets sur la réduction

de la sensibilité des membranes cellulaires au stress oxydatif, au vieillissement, à l'effort, ou au développement de cancers et de cataractes (Grandjean.,2001).

les tocophérols (vitamine E) existent naturellement sous forme de quatre isomères : α , β , δ , γ (Delattre et al.,2003).

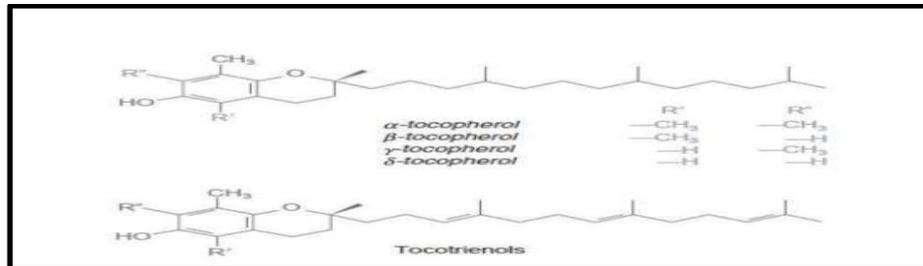


Figure28 La structure de vit E (Delattre et al., 2003).

II.7.3.8. Les oligo-éléments

II.7.3.8.1. Le sélénium

Le sélénium est un oligo-élément essentiel impliqué dans plusieurs activités métaboliques clés via les sélénoprotéines, des enzymes essentielles pour protéger contre les dommages oxydatifs et réguler la fonction immunitaire. Le sélénium peut également avoir d'autres avantages pour la santé sans rapport avec ses fonctions enzymatiques. Il peut apporter des avantages importants pour la santé aux personnes dont les charges de stress oxydatif sont élevées (Ryan-Harshman et al., 2005). Cependant, l'épissage alternatif de l'ARN entraîne un nombre plus élevé d'isoformes de sélénoprotéines. La fonction antioxydant du sélénium est conférée par certaines de ces sélénoprotéines qui protègent directement du stress oxydatif. Il régénère et active également les antioxydants de bas poids moléculaire (Q10, vitamines C, E...). Est médiée par la sélénoenzyme essentielle thioredoxine réductase, grâce à laquelle le sélénium est un facteur clé de défense contre le stress oxydatif (Wallenberg et al., 2014).

II.7.3.8.2. Le zinc

Le zinc inerte redox (Zn) est le métal le plus abondant dans le cerveau et un composant essentiel de nombreuses protéines impliquées dans les mécanismes de défense biologique contre le stress oxydatif. L'épuisement du zinc peut augmenter les dommages à l'ADN en altérant les mécanismes de réparation de l'ADN. L'intoxication d'un organisme par l'arsenic et le cadmium peut entraîner des perturbations métaboliques du cuivre et du fer redox-actifs, avec l'apparition d'un stress oxydatif induit par la formation accrue de ROS/RNS (Valko et al., 2016).

II.7.3.8.3. Le cuivre

A concentration physiologique, le cuivre est le cofacteur d'enzymes comme la SOD, la cytochrome C oxydase, la dopamine β -hydroxylase. Cependant, en tant que métal de transition, il joue un rôle important dans le déclenchement de réactions de production d'EOA (réactions de Fenton) et peut – lorsque sa concentration est élevée devenir pro-oxydant. Les apports journaliers recommandés sont de l'ordre de 2,5 mg. Il est présent dans le son, l'avoine, le seigle, le foie de veau(**Haleng et al ., 2007**)

II.7.3.9. Les polyphénols

Les polyphénols sont des métabolites secondaires de plantes cette molécule dont la structure contient un ou plusieurs cycles benzéniques auxquels sont attachés au moins deux groupes hydroxyle. .et se divisent en plusieurs familles (les acides phénoliques, les flavonoïdes, les anthocyanes, etc...). Dans le cas d'une réponse adaptative face au stress oxydant, les polyphénols n'utilisent plus comme de simple piègeur de radicaux libres mais stimulent les défenses endogènes via la synthèse d'enzymes antioxydants (Glutathion-S-transférase, Superoxyde dismutase (SOD), hème oxygénase ...)(**Bayrasy et Romari .,2016**). On dit qu'ils ont une activité pro-oxydante, c'est-à-dire que par auto-oxydation, ils produisent des ROS en quantités petite qui vont aller catalyser la synthèse des enzymes .Les polyphénols ont de plusieurs points positifs potentiels pour la santé humaine. Il a été prouvé que les polyphénols ont des effets antioxydants et anti-inflammatoires remarquables qui sont importants pour le système cardiovasculaire, le système digestif et la prévention des tumeurs(**Sandoval-Acuna et al., 2014**).

CHAPITRE

3

Matériel et Méthodes

III. Matériel et méthode

Notre travail a été réalisé dans le laboratoire pédagogique de biochimie à l'université 8 mai 1945 de Guelma. L'objectif principal de la présente étude est basé sur l'évaluation des propriétés antioxydantes de l'extrait des feuilles du *Marrubium vulgare*.

III.1. Matériel

III.1.1. Matériel végétale

Notre étude est portée sur une espèce de plantes de la famille des lamiacées qui est le *Marrubium vulgare*. Les feuilles de *Marrubium vulgare* ont été récoltées en février 2023 dans la commune d'Ain Sandel, qui se situe au sud de la wilaya de Guelma.

On a choisi les feuilles de *Marrubium vulgare* puisque c'est à leur niveau que se trouve la majorité des principales substances actives. Après la récolte, les feuilles de la plante ont été lavées à l'eau courante afin de les débarrasser des poussières et autres particules.



Figure 29 *Marrubium vulgare* prise à partir du site d'étude.

III.1.2. Matériel animale

L'étude a été réalisée sur des rats mâles de souche Wistar albinos. Pesant environ 100 à 20g.

Dès leur réception, les rats subissent une période d'adaptation, Ils ont été placés aléatoirement dans des cages métaboliques, tapissés de litière, renouvelée tous les 2 jours et maintenus dans des conditions standard à température constante de $22 \pm 24^{\circ}\text{C}$ et soumis à un cycle de lumière/obscurité de 12/12h pour le respect de leur horloge Biologique, avec accès libre à l'eau et à la nourriture. (fig.30).



Figure 30 rat Wistar .

III.2. Méthodes

III.2.1. Préparation des extraits hydro- méthanoïques

III.2.1.1. Broyage

Après séchage les feuilles ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique pour obtenir une poudre fine qui a servi pour la préparation des extraits (figure 31),Après broyage, la poudre de plante a été conservée dans des flacons en verre afin de garder leur couleur et principalement leur effet thérapeutique, elle a été stockée soigneusement dans un endroit sec jusqu'à leur utilisation.



Figure 31 broyage de *marrubium vulgare*

III.2.1.2. Macération

La macération est une opération qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact avec un solvant pour en extraire les principes actifs, elle se fait dans des bocaux opaques à température ambiante. Des extraits hydro-méthanoïques sont préparés par macération de 1 g de la poudre végétale dans 10 ml de méthanol (7 : 3) pendant 15 jours.



Figure32 la macération de *Marrubium vulgare* dans les flacons opaques.

III.2.1.3. Filtrations

Après la macération, les macéras sont récupérés dans un premier temps puis filtré dans un erlenmeyer à l'aide d'un entonnoir à travers le papier filtre Wattman.



Figure33 la filtration de l'extrait de marrube blanc après la macération.

III.2.1.4. Evaporation

Les filtrats sont réunis et concentrés sous pression réduite dans un rotavapeur de marque Buchiswitzerland à 52°C (figure 34). Après l'évaporation du méthanol, l'extrait obtenu a été conservé au congélateur à 4°C pour le congeler.



Figure 34 l'évaporation du solvant à l'aide de rotavapeur.

III.2.1.5. Détermination du rendement

Le rendement désigne la masse de l'extrait obtenu, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction.

$$\mathbf{R\ (\%) = PEB/PMVS \times 100}$$

PEB : poids de l'extrait brut hydro-méthanolique (g).

PMVS : poids de la matière végétale séché (g).

III.2.2. Screening phytochimique

Ce sont des techniques ayant pour but de déterminer les différents groupes chimiques contenus dans une plante et aussi d'identifier les différents métabolites secondaires (saponines, tanins, flavonoïdes ...). Cette méthode on peut l'effectuer soit sur la poudre de la plante ou sur son infusé (**Hamidi., 2013**).

III.2.2.1. Test Alcaloïdes

Introduire 10 g de poudre végétale séchée dans un erlenmeyer de 250 ml, ajouter 100 ml de H₂SO₄ à 10 %. Après agitation pendant 30 minutes, laisser macérer 24 heures à la température du laboratoire, puis filtré sur papier filtre. Ensuite, compléter le filtrat à 50 ml avec de l'eau distillée. Introduire 2 ml de filtrat dans un tube à essais puis ajouter 5 gouttes de réactif de Mayer. La présence d'alcaloïdes est indiquée par la formation d'un précipité blanc jaunâtre (**Edeogal et al., 2005**).

III.2.2.2. Test Tanin

Dans un Erlenmeyer, disperser 5 g de poudre dans 100 ml d'eau bouillante. Après infusion pendant 15 min, filtrer et compléter le filtrat à 100 ml avec de l'eau distillée. Introduire 5 ml d'infusé à 5 % dans un tube à essais, puis ajouter 1 ml de solution aqueuse de FeCl₃ à 1 %. En présence de tanin, il se développe une coloration verdâtre ou bleu noir (**Edeogal et al., 2005**).

III.2.2.3. Test Flavonoïdes

Macérer 10g de la poudre sèche dans 150 ml d'HCl dilué à 1 % pendant 24h, filtrer et procéder au test suivant : prendre 10 ml du filtrat, rendu basique par l'ajout du NH₄OH à (10 %) en utilisant le pH mètre . Un test positif est révélé par l'apparition d'une couleur jaune dans la partie supérieure de tube à essai (**Edeogal et al., 2005**).

III.2.2.4. Test Saponosides

Porter à ébullition 100 ml d'eau distillée dans un erlenmeyer de 250 ml puis ajouter 1g de la poudre ensuite maintenir une ébullition modérée pendant 15 mn. Après filtration, ajuster le filtrat à 100 ml. Remplir 1ml du décocté à 1 % préparé dans un tube à essais et ajuster le volume à 10ml avec de l'eau distillée. Ensuite, agiter le tube. Pour confirmer la présence de Saponosides, il faut qu'une mousse apparaît après avoir laisser au repos pendant 15 minute le tube à essais (**Karumi et al., 2004**).

III.2.2.5. Test Composés réducteurs

Mettre 5 ml de décocté aqueux à 10 % dans un bécher de 100ml, et évaporer à sec au bain - marie, puis ajouter 1 ml de réactif de Fehling (0,5 ml de réactif A et 0,5 ml de réactif B) la présence de composés réducteurs est indiquée par la formation d'un précipité rouge brique (Karumi et al., 2004) .

III.2.2.6. Test Oses et holosides

Introduire les 5 ml de décocté aqueux à 10 % au résidu obtenu dans un bécher de 100ml et évaporer à sec au bain - marie, 2 à 3 gouttes de H₂SO₄ (> 99 %) concentré et après 5 minutes, additionner 03 à 04 gouttes d'éthanal. Le développement d'une coloration rouge révèle la présence d'oses et holosides (Karumi et al., 2004) .

III.2.2.7. Test Mucilages

Introduire 1 ml du décocté à 10 % dans un tube à essai et ajouté 5 ml d'éthanol absolu. Après une dizaine de minutes, l'obtention d'un précipité floconneux par mélange, indique la présence de mucilages (Karumi et al., 2004) .

III.2.3. Extraction du foie des rats

Après sacrifice des rats et le prélèvement des organes réaliser au niveau de l'animalerie de l'université 8 mai 1945 de Guelma.

III.2.3.1. le mode opératoire

Place le rat sous le dessiccateur où est macler un bout de coton imbibé de chloroforme. Après avoir anesthésié le rat, il est placé sur le dos, A l'aide d'épingles, accrocher le rat au bac de dissection au niveau des pattes, puis A l'aide d'une pince et du scalpel, dégager la peau de la paroi musculaire en retirant les adhérences.

Pour éviter d'endommager les organes, garder la lame du scalpel vers la peau et non vers l'intérieur de l'animal.

Une fois les adhérences complètement retirées, accrocher la peau au bac de dissection à l'aide des aiguilles, puis Ensuite, nous sortons le foie à l'aide de ciseaux, puis nous le lavons à l'aide d'un tampon et le mettons dans une boîte de Pétri avec des étiquettes dessus et le stockons au congélateur jusqu'à son utilisation pour différent dosage biochimique.



Figure 35 extraction du foie des rats.

III.2.3.2. Préparation de la fraction cytosolique des cellules hépatique

Quand les foies sont prélevés, on les jette rapidement dans le tampon phosphate contenant du kcl, ils sont pesés, puis coupé en petits morceaux, avant d'être postérisé dans 9 ml du tampon phosphate (0,1M, PH=7,4). La postérisations est faite par un homogénéiseur de Dounce. L'homogénat obtenu est ensuite centrifugé à 4000 t/mn pendant 10 minutes à 4°C, le surnageant ainsi obtenu est centrifugé à 10000 t/mn pendant 45 minutes à 4°C. Le surnageant issu de cette dernière centrifugation est le cytosol qui est utilisé pour les différents dosages (**Bruneton., 1993**).

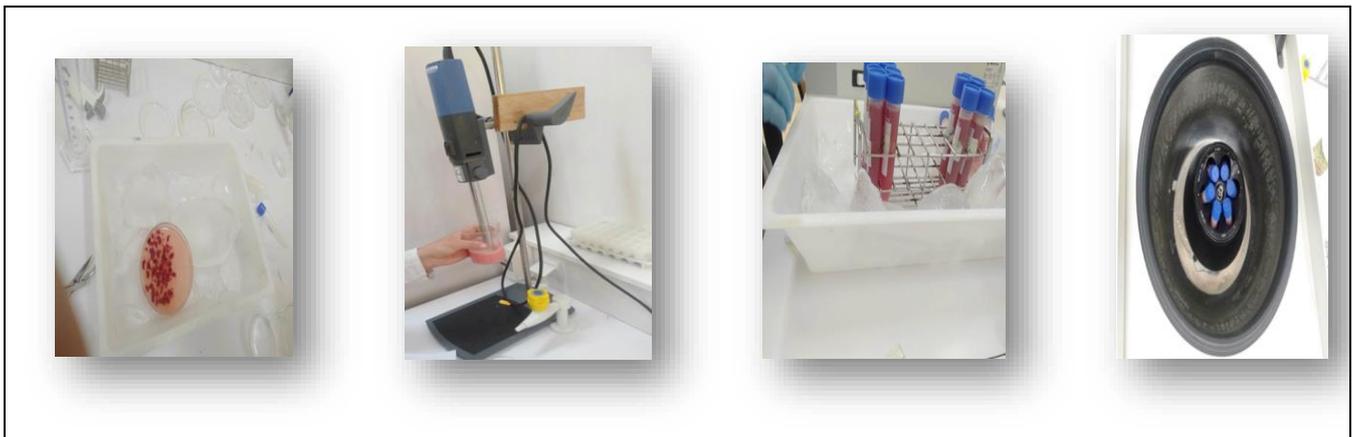


Figure 36 différentes étapes de la préparation de cytosol.

III.2.4. Dosage des protéines cytosolique par la méthode de Bradford

Le bleu de Commassie G250 se complexe avec les chaînes latérales des acides aminés Basiques (lysine, arginine, histidine) et sur les fonctions amines libres de la chaîne Polypeptidique en formant un complexe chromogène présentant un maximum d'absorption à 595nm. Il y a donc une corrélation entre la quantité de colorant formé dans une Solution et la concentration en protéine. Cette méthode est une méthode relative c'est à dire que l'on réalise d'abord une gamme (ou étalon) à partir de quelques tubes de concentrations connues. On utilise généralement de La BSA (Bovine

Sérum Albumine) comme protéine standard. Cette gamme permet d'établir Une courbe étalon de la concentration en fonction de l'absorbance mesurée (**Bradford., 1976**).

III.2.5. Mesure du taux du Malon dialdéhyde hépatique (MDA)

Le MDA est l'un des produits terminaux formés lors de la décomposition des acides gras polyinsaturés médié par les radicaux libres. Le dosage repose sur la formation en milieu acide et à chaud (100°C) entre le MDA et deux molécules de l'acide thiobarbiturique (TBA) d'un pigment coloré absorbant à 530 nm, extractible par les solvants organiques comme le butanol.

Le MDA est l'un des biomarqueurs fiable de l'oxydation des membranes cellulaire et mitochondriale car c'est l'un des produits terminaux de la lipoperoxydation.

Le principe de la méthode repose sur la formation en milieu acide et à chaud (100 °C) entre le MDA et deux molécules d'acide thiobarbiturique (TBA) d'un complexe chromogène de couleur rose absorbant la lumière à 530 nm et extractible par les solvants organiques comme le n-butanol. (**Ohkawa et al., 1979**).

À 0,5 ml de la fraction cytosolique du foie, 0,5 ml d'acide trichloracétique (TCA) 20% et 1 ml d'acide thiobarbiturique (TBA) 0,67% sont additionnés. Le mélange est chauffé à 100 °C pendant 15 minutes, refroidi puis additionné de 4 ml de n-butanol et 25µl de l'extrait. Après centrifugation de 15 minutes à 3000 tpm, la densité optique est déterminée sur le surnageant au spectrophotomètre à 532 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec de l'eau distillée.

Le taux de MDA est déduit à partir d'une courbe d'étalonnage réalisé à partir du 1, 1, 3,3-S étraéthoxypropane qui lors de son hydrolyse acide libère du MDA.

Activité du MDA est exprimée en nmole/gramme de tissu hépatique.

III.2.6. Mesure de la concentration du Glutathion réduit cytosolique(GSH)

Le niveau de glutathion a été estimé dans le cytosol des foies spectrophotométriquement par le 5,5'-DiThiobis(2-nitrobenzoïque) (DTNB) réduit par les groupements -SH en libérant l'acide thionitrobenzoïque (TNB), un composé jaunâtre ayant une densité optique maximale à $\lambda = 412 \text{ nm}$ (**Ellman., 1959**).

50 µl du cytosol sont additionnés à 10 ml de tampon phosphate 0,1 M, pH-8. Prélever 3 ml du mélange à qui on a ajouté 20 µl d'une solution de DTNB 0,01 M (dissoudre dans le méthanol absolu) et 25µl d l'extrait. Après 15 min d'incubation à la température ambiante, l'absorbance du

mélange réactionnel a été lue contre un blanc de réactif à 412 nm dans un spectrophotomètre. Les concentrations du GSH sont exprimées en nmole/g du foie. Elles sont déduites à partir d'une gamme étalon de GSH préparée dans les mêmes conditions que le dosage.

III.2.7. Dosage de l'activité enzymatique de la catalase

Le cytosol (sources enzymatiques) est récupéré afin de doses l'activité enzymatique de la catalase. L'activité de la catalase est déterminée par la méthode de « **Clairbone., 1985** ».Le dosage spectrophotométrique est basé sur la disparition de l'H₂O₂ à 240 nm pendant 2 min.



La quantité d'H₂O₂, décomposé est directement proportionnelle à la concentration en substrat et la concentration en enzyme.

1ml de tampon phosphate KH₂PO₄ / K₂HPO₄ 0,1 M, pH = 7,2 est additionné à 0,95 ml de peroxyde d'hydrogène 0,019 M et 25 µl de la source enzymatique et 25 µl de l'extrait, puis l'absorbance a été mesurée par le spectrophotomètre.

Cinétique de la catalase n'obéissant pas au model Michaelien, on n'a pas utilisé la loi de Beer Lambert. La constante de vitesse de la catalase est définie par la relation :

$$K = 2.3 / At \times \log_{10} (DO / DO_0)$$

L'activité enzymatique est exprimée en en unités UI / g de protéines.

DO : absorbance à 0 min

DO : absorbance au moment " t "

At: intervalle de temps

K : UI

Résultats et discussion

IV. Résultats et discussion

IV.1. Résultats

IV.1.1. Rendement d'extraction

L'extraction hydro-méthanolique du *Marrubium vulgare* par macération permet de déterminer le Rendement qui est calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = \text{PEB/PMVS} \times 100. \text{ (Boutlelis., 2014)}$$

PEB : poids de l'extrait brut hydro -méthanolique (g)

PMVS : poids de la matière végétale séché (g)

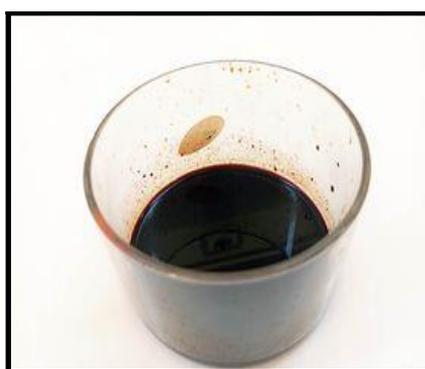


Figure 37 Extrait hydrométhanolique du *Marrubium vulgare*.

L'extrait hydrométhanolique de *Marrubium vulgare* nous a permis d'obtenir un rendement de l'ordre de 10.04%.(figure 38)

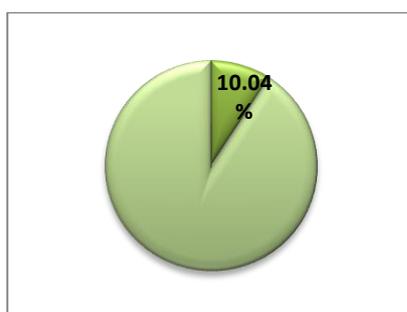


Figure 38 Le rendement de *Marrubium vulgare*

IV.1.2. Screening phytochimique des feuilles du *Marrubium vulgare*

Le screening phyto- chimique est une technique qui permet de mettre en évidence la présence ou l'absence des métabolites secondaires dans le matériel végétal présenté par le *Marrubium vulgare* dans notre étude. La détection de ces composés chimiques est basée sur des réactions de précipitation, apparition de mousse ou un changement de couleur spécifique. Les résultats sont mentionnés dans le tableau 3 :

Tableau 3 Résultats du screening phytochimique du *Marrubium vulgare*

Les composés Recherchés	Les réactifs	Présence / Absence	Les résultats Observent
-Tanin	FeCl ₃	+	Couleur verdâtre 
-Flavonoïdes	NH ₄ OH	+	l'apparition de couleur jaune 
-Saponosides		+	L'apparition un mouse 
- Composés Réducteurs	Réactif de Fehling (A+B)	-	N'observe pas d'un précipite rouge brique. 
-Oses et holosides	H ₂ SO ₄ +éthanol	-	N'observe pas d'un précipite rouge. 
-Mucilage	Ethanol	+	l'obtention d'u précipité floconneux 
-Alcaloïdes	réactif de Mayer	+	Précipité blanc jaunâtre 

D'après les résultats obtenus, nous avons noté que l'extrait hydrométhanolique du *Marrubium vulgare* est riche en flavonoïdes, tanins, saponosides, mucilage et alcaloïdes et pauvre en composés réducteurs en oses et en holosides.

IV.1.3. Dosage des protéines cytosolique

L'évaluation du taux des protéines totales a été réalisée à l'aide d'une gamme étalon Selon la méthode de Bradford en utilisant le sérum Bovin Albumine (BSA) comme standard.

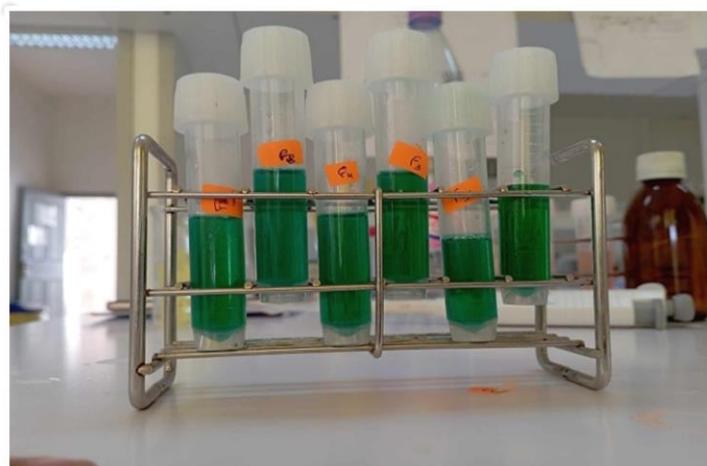


Figure 39 dosages des protéines totales dans les fractions cytosolique des hépatocytes.

Les résultats du dosage de protéines totales dans la fraction cytosolique des hépatocytes du rat sont représentés dans la figure 40 :

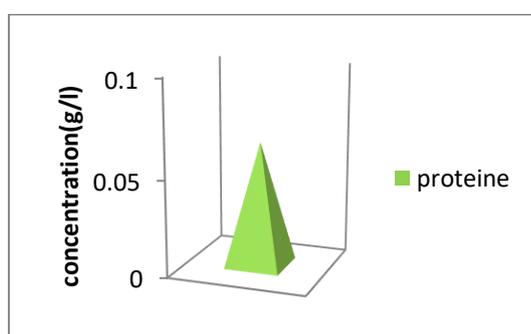


Figure 40 la concentration de protéines totales dans la fraction cytosolique des hépatocytes.

IV.1.4. Dosage de l'activité enzymatique de la catalase

La catalase est une enzyme antioxydant importante responsable de la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène selon l'équation suivante:



Les résultats de la mesure de l'activité enzymatique de la catalase dans le cytosol des hépatocytes du rat en présence de l'extrait brut du *Marrubium vulgare* sont représentés dans la figure41 :

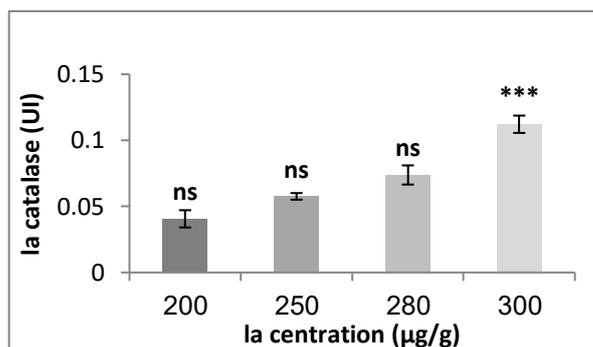


Figure 41 taux de l'activité enzymatique de la catalase dans la fraction cytosolique des hépatocytes

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type (n=5).test Dunnett's:(ns) désigne un effet non significatif ($p>0.005$).(*)désigne un effet significatif ($p<0.005$),(**)désigne un effet très significatif ($p<0.001$), (***)désigne un effet hautement significatif ($p<0.001$).

L'ajout de différentes concentrations de l'extrait hydrométhanolique du *Marrubium vulgare* (200, 250, 280,300) µg/g a été accompagné d'une augmentation de L'activité enzymatique de la catalase. Nous avons noté que la plus grande activité de la catalase était avec la concentration 300 µg/ g de l'extrait.

On constate que l'augmentation de l'activité de la catalase s'accompagne avec l'augmentation de la concentration de notre extrait.(Elle est dose dépendante)

IV.1.5. Mesure du taux de malondialdéhyde cytosolique

Le Malondialdéhyde (MDA) est l'un des produits finaux de la peroxydation des acides gras polyinsaturés dans les cellules.

Les résultats obtenus après la mesure du taux de MDA sont représentés dans la figure42 :

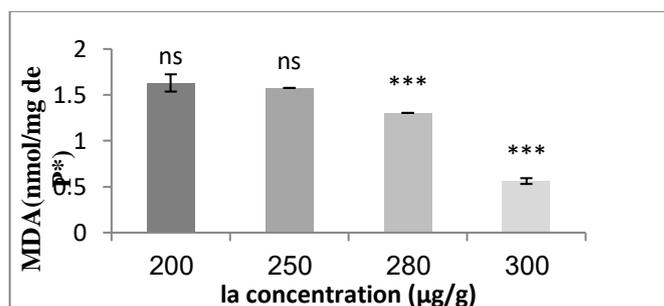


Figure 42 variations du taux de MDA dans le cytosol des hépatocytes.

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type (n=5).test de Dunnett's:(ns)désigne un effet non significatif ($p>0.005$). (*) désigne un effet significatif ($p<0.005$),(**)désigne un effet très significatif ($p<0.001$), (***) désigne un effet hautement significatif ($p<0.001$).

L'ajout de différentes concentrations de l'extrait hydrométhanolique de *Marrubium vulgare* (200, 250, 280,300) $\mu\text{g/g}$ a été accompagné d'une diminution de la peroxydation lipidique qui est exprimé par la diminution du taux de produit de peroxydation lipidique qui est le Malon dialdéhyde cytosolique (MDA).

Nous avons noté que la plus petite concentration du MDA était avec la concentration 300 $\mu\text{g/g}$ de l'extrait.

IV.1.6. Mesure de la concentration du glutathion réduit cytosolique (GSH)

La mesure de la concentration du GSH a été réalisée à partir d'une gamme étalon Préparé dans les mêmes conditions que le dosage du GSH dans le cytosol.

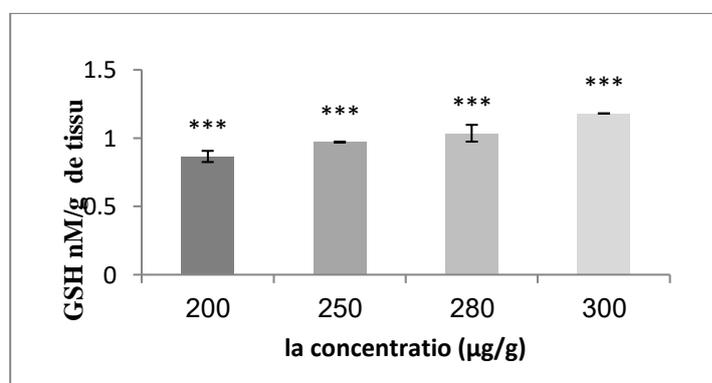


Figure 43 variations du taux de GSH dans la fraction cytosolique des hépatocytes.

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type (n=5).test de Dunnett's :(ns) désigne un effet non significatif ($p>0.005$). (*) désigne un effet significatif ($p<0.005$),(**)désigne un effet très significatif ($p<0.001$),(***) désigne un effet hautement significatif ($p<0.001$).

L'ajout de différentes concentrations de l'extrait hydrométhanolique de *Marrubium vulgare* (200, 250, 280,300) $\mu\text{g/g}$ a été accompagné d'une augmentation du taux de GSH. Nous avons noté que le taux de GSH le plus élevé était avec la concentration de 300 $\mu\text{g/g}$ de l'extrait.

On constate que cette augmentation est dose dépendante.

IV. 2. Discussion

La présente étude est fondée sur l'étude phytochimique (mise en évidence de métabolites secondaires) et l'évaluation de l'activité Anti oxydante de l'extrait hydro-méthanolique des

feuilles de la plante médicinale Algérienne *Marrubium vulgare* qui est beaucoup utilisée en médecine traditionnelle.

IV.2.1. Rendement d'extraction

Le calcul des rendements par rapport au poids sec de la poudre végétale a montré que L'extrait de *M. vulgare* représente un rendement de 10.04%. En effet, ce rendement n'est pas relatif et dépend de la localité d'échantillonnage et de la saison (**Boutefas et al .,2016**).

Notre résultat est satisfaisant on le comparant avec celui de **Namjonayan et al., 2015** ; le rendement du *Marrubium* dans leur étude était de 8.63%.

Par contre notre rendement est inférieur à celui de **Zahaf et al., 2019** ;qui est de **17.82%** et de **Boudehane et al.,2018**,qui ont noté **17.97%** de rendement de leur *Marrubium* ,ainsi que (**Hameg et al., 2018**)qui ont enregistré un rendement d'extraction dans le solvant hydrométhanolique de **21%** .

Notre résultat est proche à celui de **Dr.Ghedadba., 2018** ;son rendement est de**10.9%**et **Dr. Ghedadba et al ., 2014**qui ont noté un rendement de **10.9%**.

IV.2.2. Le screening phytochimique des feuilles du *Marrubium vulgare*

Les analyses phytochimiques effectuées sur notre extrait sont une étape préliminaire et d'une grande importance puisqu'elle révèle la présence ou l'absence des molécules bioactive.

Nos résultats montrent que *M. vulgare* contient des flavonoïdes, des tanins, des saponosides, le Mucilage et des alcaloïdes mais pas les oses et holosides et les composés réducteurs. Ces résultats sont en accord avec les travaux de (**Jaadan et al ., 2020**)et (**Ghedadba et al., 2014**) qui confirme la présence des flavonoïdes, des saponosides et des tanins(**Alqahtani et al., 2022**) qui révèle la présence des flavonoïdes, des saponosides, des tanins et des alcaloïdes

Le tableau suivant résume petit comparaison avec d'autres travaux :

(++) : test positif la présence de composé rechercher

(--) :test négatif l'absence de composé rechercher

(/) : Non déterminé

Tableau4 comparaison entre les travaux personnelle et autre travaux

Les composés chimiques	Les Travaux personnelle	Amiri et <i>al.</i> , 2016	Bourahla et <i>al.</i> , 2018	Boudehane et <i>al.</i> , 2018
Flavonoïdes	+	+	+	+
Alcaloïdes	+	/	-	+
Saponosides	+	/	+	+
Mucilage	+	+	+	/
Tanin	+	+	+	+
Les ose et holosides	-	/	/	+
Les composés réducteurs	-	/	-	/

IV.2.3. Dosage de l'activité de la catalase

L'antioxydant est un agent qui empêche ou ralentit l'oxydation en neutralisant des radicaux libres. Les principales antioxydant enzymatique sont la superoxyde dismutase(SOD), la catalase..etc.

La catalase (CAT) est un antioxydant enzymatique largement distribué dans tous les tissus animaux, et le plus élevé l'activité se trouve dans les globules rouges et le foie. La catalase décompose le peroxyde d'hydrogène et protège les tissus des radicaux hydroxyles hautement réactifs.

Par conséquent, la réduction de l'activité catalytique peut entraîner un certain nombre d'effets délétères en raison de l'assimilation du radical superoxyde et du peroxyde d'hydrogène (**Ibrahim et al., 2014**).

La catalase (CAT) joue un rôle central dans la protection de différents types cellulaires contre les effets délétères du peroxyde d'hydrogène (**Boussenane et al., 2017**).

Possède deux activités enzymatiques selon la concentration de H₂O₂. Si la concentration de H₂O₂ est élevée, la catalase agit de manière catalytique, c'est-à-dire élimine H₂O₂ en formant H₂O et O₂ (réaction catalytique). Cependant, à faible concentration de H₂O₂ et en présence d'un donneur d'hydrogène approprié, par ex. éthanol, méthanol, phénol...etc.la catalase agit de manière peroxydique, éliminant H₂O₂, mais oxydant son substrat (réaction peroxydatique) (**Scibioret Czczot., 2006**).

Notre résultat illustré par la figure 41 montre une augmentation de l'activité de la catalase en fonction des différentes concentrations de l'extrait hydro-méthanolique de *Marrubium vulgare*. La concentration de 300 µg/g de l'extrait brute montre un Effet remarquable, on note une augmentation hautement significative de l'activité enzymatique de la catalase.

Nos résultats sont en accord avec ceux d'**Akther et al., 2013** qui ont prouvé une augmentation de l'activité enzymatique de la catalase après un traitement par l'extrait de *Marrubium vulgare*. Ainsi qu'avec (**Ibrahim et al., 2014**) qui ont étudié les propriétés antioxydantes et thérapeutiques de *Marrubium*.

Cette action est due à Propriétés antioxydantes du *Marrubium vulgare*, dues à ce phénomène flavonoïdes, terpènes et phénols .Il a une activité anti-oxydante peut être dû à la présence de flavonoïdes (**Ibrahim et al., 2014**).

Les flavonoïdes en raison de leur richesse en groupes phénoliques sont capables de se fixer Sur certaines protéines et enzymes modifiant ainsi les équilibres enzymatiques (**El –Hallous et al., 2018**).

IV.2.4. Mesure du taux de Malon dialdéhyde cytosolique (MDA)

Le MDA ou Malondialdéhyde est un marqueur de l'oxydation des lipides.

Il est considéré comme un des produits terminaux de l'oxydation des acides gras polyinsaturés.

Les taux élevés de MDA signent donc un stress oxydatif (**Mélanie et al., 2019**).

La Figure 42 montre une diminution hautement significatif du taux de MDA à des concentrations de 280,300 µg/ g.

La diminution du MDA lors de l'ajout de différentes concentrations d'extrait de *Marrubium vulgare* est due à ses composants riches en métabolites secondaires, qui sont des antioxydants très efficace (**Yousefi et al., 2012**).

Ces résultats sont en accord avec les travaux de (**Elberry et al., 2015**) L'administration de streptozotocine a entraîné une augmentation significative du MDA.L'extrait de *M. vulgare* a normalisé le niveau de MDA.

Les niveaux de MDA en tant qu'indicateur de la peroxydation lipidique dans les tissus hépatique (**Akther et al., 2013**).

Ces résultat sont accord avec l'étude de (**Yousefi et al., 2012**), qui réalise un traitement par la isoprotérénole, ce dernier cause une augmentation hautement significatif de taux de MDA mais après un traitement par l'extrait de *Marrubium vulgare* le taux de MDA a diminué.

IV.2.5. Mesure de la concentration de glutathion réduit cytosoliques

Le glutathion est un Tripeptide composé de glycine, de cystéine et d'acide glutamique. Il est normalement présent dans le foie à une concentration de 10 mmol. Il fait partie intégrante de la biotransformation des substances xénobiotiques et sert à protéger l'organisme des agents réducteurs. La conjugaison du glutathion (facilitée par une famille d'enzymes glutathion transférase) aide à contribuer à la détoxification en liant les électrophiles qui pourraient autrement se lier aux protéines ou aux acides nucléiques, entraînant des dommages cellulaires et des mutations génétiques (Gad., 2014).

Notre résultat montre une augmentation de la taux du GSH avec l'ajout dans L'ordre croissant de différentes concentrations de l'extrait du *Marrubium* de 200 µg/g ; 250µg/g de 280µg/g jusqu'à 300 µg/g, 300 µg /g on observe une augmentation hautement significatif de taux de GSH.

Cette augmentation reflète la participation du GSH à la défense cellulaire contre les ERO. A l'inverse, les dommages oxydatifs ont été réduits .Une telle réduction pourrait être due à l'effet Antioxydant de *Marrubium vulgare* (Ben Saad. et al., 2017).

Selon El –Hallous et al., 2018 le GSH est considéré comme un antioxydant primaire ou préventif car il inhibe la réaction en chaîne des radicaux libres en réduisant Concentrations disponibles de radicaux libres.

Le rapport GSH/GSSG est souvent utilisé comme marqueur du niveau d'oxydation d'une cellule. La maintenance d'un niveau élevé de glutathion est donc essentielle pour prévenir d'éventuels dégâts oxydatifs (Hermes-Lima., 2005).

Le glutathion réduit est un autre marqueur pris en considération pour évaluer le statut antioxydant. Il joue un rôle multifactoriel dans le mécanisme de la défense antioxydant (Akther et al., 2013).

Nos résultats confirme ceux de (El –Hallous et al., 2018) et (Elberry et al., 2010), Ils ont montré une augmentation de l'activité de la GSH et de la catalase et une diminution de la production de niveau de MDA.

Ces résultats suggèrent que l'action antioxydants du *Marrubium Vulgare* pourrait être due à la présence d'antioxydants (de type phénolique ou de type flavonoïde) à savoir la marrubiine , le marrubinol et les monoterpènes comme l'acide marrubique présents chez *M. vulgare* " qui ont une activité antioxydant prouvée (Akther et al., 2013).

Conclusion

V. Conclusion

L'objectif primordial assigné par ce présent travail est d'évaluer L'activité antioxydante des feuilles de *Marrubium vulgare*.

Au départ nous avons procédé à l'étude phyto-chimique des feuilles du marrube blanc (*Marrubium vulgare*), récoltée dans la région de Ain Sandel, wilaya de Guelma.

A la lumière des résultats obtenus, nous avons conclu :

- La préparation de l'extrait brut des feuilles du *Marrubium vulgare* nous a permis d'obtenir un rendement de 10,04% et c'est un bon rendement.
- Le screening Phytochimique a révélé plusieurs métabolites secondaires tel que les tanins, les flavonoïdes, les alcaloïdes, mucilage et les saponosides, et l'absence des oses, des holosides et des composés réducteurs. c'est une plante riche en différents métabolites secondaires.
- L'effet antioxydant de notre extrait est prouvé :
 - augmentation de l'activité catalytique de catalase,
 - augmentation du taux de la GSH molécule antioxydants,
 - diminution de la peroxydation confirmé par la diminution du taux du son marqueur le MDA.
- L'effet antioxydant été dose dépendant . la dose la plus efficace est de 300 µg /g .
- Nos résultats sont satisfaisants mais reste à élargir l'étude est tester d'autres paramètres du stress oxydatif tel que la GST et GPX....etc. pour mieux expliquer l'effet anti stress oxydatif de notre plante.

Références bibliographiques

Les références

A

- Abadie H A., Aïcha (2013), Composition chimique De l'huile essentielle de *marrubium vulgaire* L. d'Algérie, lettres internationales de chimie, physique et astronomie, 8(3) : 210-214.
- Aćimović M., Jeremic K., Salaj N., Gavarić N., Kiprovski B., Sikora V et Zeremski T(2020), *Marrubium vulgare* L. : aperçu phytochimique et pharmacologique, Molécules,25(12),2898.
- Afanso V.,Champy R.,Mitrovic D., Colin P., Lomri A (2007), Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases : rôle dans les maladies rhumatismales espèces réactives de l'oxygène et superoxydes dismutases : rôledans les maladies articulaires, revue du rhumatisme,7 :636-643.
- Aksoy M et Küfrevioğlu L (2017), Inhibition de la glutathion S-transférase érythrocytaire humaine par certains dérivés flavonoïdes, Avis sur les toxines, 3 :251-257.
- Akther N ., Chale AS., Sultana S., Chandan BK et Akhter M (2013),activité hépaoprotectrice de *Marrubium vulgare* contre la toxicité induite par le paracétamol ,journal de recherché en pharmacie ,7(7):565-570.
- Amaro S., Jiménez–Altayo F., Chamorro A(2019),Thérapie à l'acide urique pour la vasculoprotection dans l'AVC ischémique aigu,brain circulation 2 :55-61.
- Amri A ., Martino E., Vitulo F ., Corana F ., Bettaieb-Ben Kaâb L ., Rui M ., Rossi D ., Mori M., Rossi S et Collina S(2017),*Marrubium vulgare* L. Leave Extract: Phytochemical Composition, Antioxidant and Wound Healing Properties, molécules 22(11) :1851.
- Arner E et Holmgren A(2001),Physiological functions of thioredoxin and thioredoxin reductase , European journal of biochemistry ,20:6102-6109.
- Arousseau B. (2002)."Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage : conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits." Productions Animales, 15(1), 67-82.

B

- Bafor E E (2017), Potentiels d'utilisation des plantes médicinales dans les troubles de la reproduction chez la femme – la voie à suivre, revue africaine de la sante reproductive,4 :12-16.

- Bahri R., Boussag C., Djezare R (2022), Étude de l'activité antioxydants et antimicrobienne des l'extrait de *Marrubium vulgare*, mémoire pour l'abstention du diplôme de Master, univ Mohamed Boudiaf -Msila, p62.
- Barouki R et Morel Y (2001), Stress oxydant et expression des gènes, journal de la société de biologie, 195(4) :377-382.
- Barouki R (2006), Stress oxydant et vieillissement, Med Sci (Paris), 22 :266-272.
- Bayrasy CH., Romati KH (2016), modulation du stress oxydant : nouveaux concepts pour de nouvelles applications, compte rendu du colloque, pp1-15.
- Belhattab R., Larous L., Figueiredo A C., Santos P AG., Costa M.M et Barroso J G (2004), Composition en huile essentielle et trichomes glandulaires de *Marrubium vulgare* L. poussant à l'état sauvage en Algérie, journal de recherche sur les huiles essentielles, 4 :369-373., mis en ligne le 28 novembre 2011.
- Bendich A., Machlin L J., Scandurra O., Burton GW., Wayner DM (1986), le rôle antioxydant de la vitamine C, Medicine, pp419-444.
- Bensakhria A (2018), le stress oxydatif, toxicologie générale, pp70-86.
- Berbak S., Haddad N., Lanseur Z., Thebot P (2018) Évaluation stress oxydant après une ischémie cérébrale chez le rat, Adama, 2 :15-19.
- Billiar TR., Cirino G., Fulton D., Motterlini R et Papapetropoulos A (2019), Nitric oxide synthases, guide to pharmacology, 4 :313-411.
- Borel p., drai J., faure H., fayol v., Galabert G., laromiguière M., leMoël G (2005), Données récentes sur l'absorption et le catabolisme des caroténoïdes, Ann biol clin 63(2) :165-77.
- Bossé Y., Joanise D R., Boulay., Boulay M R (2003), Modulations redox de la contraction musculaire, Movement sport sciences, 50 :7-31.
- Bouayyadi L., Elhafian M., Zidane L (2015), Étude floristique et ethnobotanique que flore médicinale dans la région du Gharb, Maroc, journal of Applied biosciences, 93 :8760-8769.
- Boucelha L et Djebbar R (2014), les espèces réactives d'oxygène (ros) : DR JEKKYL AND MISTER HYDE Ou comment l'oxygène peut-il devenir toxique ?, https://www.researchgate.net/publication/332211060_LES_ESPECES_REACTIVES_D'OXYGENE_ROS_Dr_JEKKYL_AND_MISTER_HYDE_Ou_comment_l'oxygene_peut-il_devenir_toxique
- Boudehane A., Bouchefifa F., desfous N (2019), Screening photochimique et activité antioxydante de quelques plantes médicinales, mémoire de Master biochimie-Jijel, p32.

- Boudjelal A., Henchiri CH., Syracuse L., Sari M et Ruberto G (2012),Analyse de la composition et activité antidiabétique in vivo de l'infusion de *Marrubiumvulgare* L.sauvage d'Algérie, fitoterapia ,2 :286-292.
- Bourrain J L(2013), Allergies aux huiles essentielles : aspects pratiques Allergy to essential oils : practical aspects, revue française d'allergologie, pp30-32.
- Bousselsela H., Ghedadba N., Hambaba L., Hachemi M.,Dassamiour S et Mouffouk C (2022),in vivo anti –inflammatory activities of *marrubium vulgare* L.and *Marrubium deserti* de noé species growing in Algeria ,phytothérapie 20 :214-223.
- Boutabia L., Telailia S et Mena M(2020), Utilisations thérapeutiques traditionnelles du *Marrubium vulgare* L. Parles populations locales de la région de Haddada(Souk Ahras, Algérie), Ethnobotany Research and Applications 19(44) :1-11.
- Bouterfas K., Mehdadi Z., Latreche A., Cherifi K (2013), Autoécologie du Marrube blanc (*Marrubium vulgare* L.) et caractérisation de la biodiversité végétale dans le Djebel de Tessala (Algérie nord-occidentale), ecologia mediterranea, 39(2) :39-57.
- Bouterfas K., Mehdadi Z.,Aouad Z.,Elaoufi MM., Khaled MB., Latreche A ., Benchiha W(2016),la localité d'échantillonnage influence –t-elle l'activité antifongique des fla vonoides de *marrubiumvulgare* vis –à-vis dze *Aspergillus niger* et *candida albicans* ?, journal de mycologienmédicale 26(3) :201-211.
- Boutlelis djahra A., borjiba O., benkherara S,(2012),Activité antibactérienne des flavonoïdes d'une plante médicinale spontanée *Marrubiumvulgare* L.de la région d'EL Taraf(Nord -Est Algérien), Rev.sci.technol.sythese 24:29-37.
- Bray T M ., Taylor C G(1993),Glutathion tissulaire ,nutrition et stress oxydatif ,journal canadien de physiologie et pharmacologie,71(9) :746-751.

C

- Calynuik B.,Grochowska -Niedworok E.,Walkiewicz K W .,Kawecha S (2016), Malondialdéhyde (MDA)-produit de la peroxydation des lipides comme marquer des troubles de du vieillissement l'homéostasie ,Annales académiæ Médicæ silesiæ ,224-228.
- Carrière A ., Galinier A.,Fernandez Y. ,Carmona M –C.,Pénicaud L et Casteilla L(2006),Physiological and phsiopathological conséquences of mitochondrial réactiveoxygène species ,Med Sci ,1 :47-53.
- CHEBROUK F., HAMMOUDI R., HADJ M M., FERFAD T B (2011), composition spécifique de la plante *marrubium deserti* de la région de Ghardaïa (Sahara septentrional est algérien), algérien journal of arid environment, 2011,2 : 82-8.

- Chelouai Z., Hadet Y., Moussaoui R., benaissa S A et Nachi M (2019), le dosage du malondialdéhyde (MDA) par chromatographie liquide : Aspects pré-analytiques et analytiques , journée de l'innovation en biologie, Faculté de médecine , univ Oran 1.
- Chiang S K., Chen S.-E et Chang L.-C (2019), A dual rôle of heme oxygenase-1 in cancer cells, Mol.Sci, 20(1),39.
- Couto N., Wood J et Barber J (2016), Le rôle de la glutathion réductase et des enzymes apparentées sur le réseau d'homéostasie redox cellulaire, biologie et médecine des radicaux libres, pp27-42.

D

- Daira N E., Maazi M C., Chefrou A (2016), contribution à l'étude photochromique d'une plante médicinale (*Ammoides verticillata* d'EDF.) de l'Est Algérien, bulletin de la société royale des sciences de Liège, pp 276-290.
- Das A k ., Islam MD N ., Faruk M O ., Ashaduzzaman MD et Dungani R (2020), Bilan sur les tanins : Procédés d'extraction, applications et possibilités, South african journal of botany , pp 58-70.
- David J C et Grongnet J F (2001), les protéines de stress, INRA prod .Anim, 14(1) :29-40.
- Delattre J., Durand G., Jardillier J.-C (2003), Biochimie pathologique aspect moléculaires et cellulaires, 2003, paris, éditions Flammarion printed in France, ISBN :2-257-4374, PP 68, 69, 70,75.
- Delbose S., Cristol J P., Descomps B., Chénard J., Sirois P (2001), De l'oxygène à l'anion superoxyde. peut-on moduler la NADPH oxydase ?, journal de la société de biologie, 195(4) :401-411.
- Démarchez M (2012). le stress oxydant cutané. biologie de la peau, pp1.
- Descamps E., Gélé P., Bordet R., Vamecq J (2006), Modulation pharmacologique du stress oxydatif, la lettre du pharmacologue ,4 :112-
- Desport J.-C et Couratier P (2002), Stress oxydant et maladies neurodégénératives stress oxydatif dans les maladies neurodégénératives, nutrition clinique et métabolisme ,4 :253-259.
- Diallo A A (2019), Glutathion : une molécule précieuse détournée à d'autres fins, setalmaa, https://setalmaa.com/glutathion-une-molecule-precieuse-detournee-adautresfins/?fbclid=IwAR1DbhwXjZN2JKGabiAGR4a6FNrhgOO_IG_vh4kCLm9dyA6rlKgZ_DXFxxo#

- Dupont M., Ouachée A., Roye J et Dupuy C (2016), NADPH oxydase, Med Sci (paris),32 :833-835.
- Dutertre J., 2011. Enquête prospective au sein de la population consultant Dans les cabinets de médecine générale sur l'île de la Réunion : à propos des Plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin Généraliste. Thèse. Doc. Univ. Bordeaux 2 – Victor Segalen. U.F.R des Sciences médicales.120p

E

- El hallous E., Alsanie W., Ismail I A et Dessoky E (2018), Utilisation of *Marrubium vulgare* extract as therapeutic to hepatic damage induced by carbon tetrachloride in rats ,international journal of pharmaceutical research & allied sciences ,7(2):168-178.
- EL Morabite K., Benhiba H., Hamada S., Hassam B(2012), *Marrubium vulgare* :la plante brulante, Elsevier Masson, Hors-série 3 - Journées dermatologiques de Paris, 12S (139) :P. B1-B352.
- Elberry A A ., Harraz FM ., Ghareib S A ., Nagy A A., Garb S., Suliaman., M et Abdel –Sattar E(2010), effet antihépatotoxique des extraits de *Marrubium vulgare* de withania somnifera sur l'hépatotoxique induite par le tétrachlorure de carbone chez le rat, journal of basic and clinical pharmacy,1(4) :247-254.
- Elberry A A ., Harraz FM ., Ghareib S A ., Gabré S ., Nagyet A A et Abdel - Sattar E(2015) L'extrait méthanolique de *Marrubium vulgare* améliore l'hyperglycémie et la dyslipidémie chez les rats diabétiques induits par la streptozotocine, journal international du diabète sucré,1 :37-44.
- Etayya A ., Dhibi S ., Samout N ., Elfeki A., Hfaiedh N(2016), Hepathoprotective of white horehound (*Marrubium vulgare*)Extract against cyclophosphamide toxicity in male rats ,Canadian journal of physiology and pharmacology ,94(4) :447-447.

F

- Farkye N Y(2002), Enzymes indigènes du lait/xanthine oxydase, encyclopedia of dairy sciences, pp941-942.
- Favier A (2003), Le stress oxydant : intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique, review l'actualité chimique, pp 108-115.
- Favier A (2006), Stress oxydant et pathologies humaines, analyse pharmaceutiques française ,6 :390-396.

- Feknous S., Haiani C., Cherif H et Saidi F(2017), Composition chimique et propriétés antioxydantes de l'huile essentielle de melissa officinalis L, revue agrobiologia ,7(2) :523-530.

G

- Gardés-Albert M(2006),Aspects physico-chimique des espèces réactives de l'oxygène, annales pharmaceutique française, EM-consulte ,64(6) :365-372.
- Gawel S., Wardas M., Niedworok E et Wardas P(2004), Malondialdéhyde (MDA) comme marqueur de peroxydation lipidique ,57(9_10):453-455.
- Ghedadba N(2018), Contribution à l'étude de l'activité biologique des deux espy de Marrubium vulgare L et Marrubium deserti de Noé in vitro et in Vivo ,thèse pour l'obtention du diplôme de doctorat LMD, biotechnologie des molécules bioactives et pathologie Moléculaires ,univ Mustapha Ben -Boulaïd, Batna2, pp72
- Ghedadba N., Hambaba L., Aberkane MC., Ould -Mokhtar SM., Fercha et BousSELLA H (2014), Évaluation de l'activité hémostatique in vitro de l'extrait aqueux des feuilles de Marrubium vulgare L, journal Algérien des produits naturel, 2(2) :64-74.
- Ghedira K(2005), Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique, Phytothérapie ,4: 162-169.
- Grandjean D (2001), Le stress oxydatif cellulaire chez le chien : conséquence et prévention nutritionnelle, bulletin de l'académie vétérinaire de France, pp49-61.
- Mazza G (2017), Saponines : propriétés, applications et traitement, revue critique en science alimentaire et nutrition ,3 :231-258
- Grégoire M et Baas P(2013), Une enquête sur les cellules mucilagineuses dans les organes végétatifs des dicotylédones, journal israélien de botanique ,2-3 :125-174.
- Guichardant M., Bacot S., Molière P., Lagarde M (2006), Les biomarqueurs de la peroxydation lipidique, Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations, 13(1) :31-34.
- Gurib – Fakim A (2006), Plantes médicinales traditions d'hier et médicaments de demain, aspects moléculaires de la médecine ,1 :1-93.

H

- Haleng J., Pincemail J., Defraigne J O et Chapelle J.P(2007). Le stress oxydant. REV Med liège 2007 ; 62 :10 :628-638.
- Hamma S A (2016), Biologie des espèces réactives, stress oxydatif et diabète de type 2, Edition universitaires européennes. Impression en France, ISBN : 978-8417-4020-5. Pages 21, 52.

- Hamma S A., Nouri N., Fergani I., Lekhal A., Cheriet S., Abadi N., Lezzar A., Benlatreche C(2015), Biologie des espèces réactives et Stress oxydant, journal algérien de médecine , 2 :48-53.
- Hayat J., Akodad M ., Moumen A ., Baghour M ., Skilli A ., Ezrari D ., Belmalha S (2020), screening photochimique, teneur en polyphénols, activités antioxydantes et caractérisation FTIR de *Marrubium vulgare L* .de 2 localités différentes du nord –est du Maroc, Héliyon,6(11):e05609.
- Heim K E, Tagliaferro A R., Bobilya D J(2002), Antioxydants flavonoïdes : chimie, métabolisme et relations structure-activité, journal de la biochimie nutritionnelle,10 :572-584.
- Hemeg T et Taleb D(2018), Évaluation de l'activité antimicrobienne ,et Antioxydante des composés phénoliques du marrube blanc "", mémoire de fin d'étude , biotechnologie microbienne ,univ Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou
- Hille N et Takeshi (1995), Xanthine oxydase et xanthine déshydrogénase, le journal du FASEB,9(11):995-1003.

I

- Ibrahim F., Ibrahim A ., Omer (2014), Potential effect of *Marrubium vulgare L*. extraction on CCL₄ model induced hepatotoxicity in albino mice, world journal of pharmaceutical sciences 2(12):1664-1670.
- Intyre M MC., Bohretanna D F., Dominiczak F(1999), Le rôle de l'anion superoxyde , fonction endothéliale dans l'hypertension,34:539-545.

J

- Jaadan H., Akodad M ., Moumen A ., Baghour M ., Skilli A ., Ezrari D et Belmalha S (2020), screening photochimique, teneur en polyphénols, activités antioxydantes et caractérisation FTIR de *Marrubium vulgare L* .de 2 localités différentes du nord –est du Maroc, Héliyon,6(11):e05609
- Jackson R L et Ginger LM (2009), Isoprostane, journal de recherche sur les lipides ,pp 219-223.
- Josiane C. (2011). Physiopathologie du stress oxydatif. Faculté de pharmacie. Université de Rennes, pp 5.
- Jun L., Arne H(2012), Système de thiorédoxine dans la progression de la mort cellulaire, Antioxydants et signalisation redox,12 : 1738–1747.

- Jun L., Arne H(2014),The thioredoxin antioxidant system,Free Radical Biology and Medicine,pp 75-87.

K

- Khaled- Khodja N., Boulekbache-Makhlouf L., Madani K (2014),Criblage phytochimique des activités antioxydants et antibactériennes d'extraits méthanoliques de certaines Lamiacées, cultures et produits industriels, pp41-48.
- Khasawneh F T., Huang J S., Mir F.,Srinivasan S., Tirupathi C et le breton G .C (2008) ,Caractérisation de la signalisation de l'isoprostane :preuves d'un profil de coordination unique de la 8-iso-PGF avec le récepteur du thromboxane A2 et activation d'une voie inhibitrice distincte dépendante de l'AMPc dans les plaquettes humaines , biochem. pharmacol, 75(12) :2301-2315.
- Kitagawa Y.,Suzuki K.,Yoneda A et Tomomasa W(2004),Effets de la concentration en oxygène et des antioxydants sur la capacité de développement in vitro ,la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS)et la fragmentation les embyonsde l'ADN ,thériogénologie,62(7) :1186-1197.
- Kunert K J et Foyer C H (2013), le cycle ascorbate /glutathion, advances in botanical research, pp77-112.
- Kumar K.,Goh K (1999),crop residurs and management practices ;effects on soil quality , soil nitrogen dynamics ,crop yield , and nitrogen recovery , advances in agronomy ,68:197-319.
- Kurumi Y., Onyeyili PA et Ogugbuaja V O(2004), Iden, j.med sci, 4(3) :197-182.

L

- Laouera H., Yabrirb B., Djeridanec A., Yousfic M., Beldovinid N et Lamamraa M(2009), Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activities of the Essential Oil of Marrubium deserti,2009, Natural Product Communications ,8 :1133-1138.
- Leboutet R et Leguis R(2022), L'autophagie facilite la reconstruction du réseau mitochondrial après un stress thermique chez le nématode, Med .Sci(paris),38 :517-519.
- Leurquin J(2012), Etude des Lamiacées de Belgique et des régions voisines, Lotissement Coputienne, 10- 6920 Wellin - leurquin.romain@skynet.be Juin 2012,PP 68,69.

- Leverage x(2009), Stress oxydant et antioxydants ?, cahiers de nutrition et de diététique, pp219-224.
- Liaudet L(2007), Biologie oxydative et implication cliniques du peroxy-nitrite, Rev Med suisse ,3 :2840-3.
- Lodhi S., Vadnere GP., Sharma VK et Usman MD .R(2017),Marrubium vulgare L.: A review on phytochemical and pharmacological aspects, Journal of Intercultural Ethnopharmacology, PP429-452.

M

- Macheix JJ., Fleurient A., JAY-ALLEMAND C(2005), Les composés phénoliques des végétaux .un exemple de métabolites secondaire d'importance économiques .imprime en Italie, ISBN :2-88074-625-6, pages4,5.
- Mannervik B(1985), Glutathion peroxydase, méthodes en enzymologie,113 :490-495.
- Manzar H.,Abdulhussein D.,Yap T E et CordeiroMm M F(2020),Conséquences cellulaires du déficit en coenzyme Q10dans la neurodégénérescence de la rétine et du cerveau ,Ont.J.mol.sci ,21(23) :9299
- Marc F., Davin A., Benbrahim L.D., Ferrand C., Baccaunaud M et Fritsch P(2004), méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments, médecine science, 20 :458-63.
- Marty-Dufaut J(2012), les plantes aromatiques et médicinales, ISBN:978-2-84521-449-1,PP 86,87.
- Mazat J P., Ransac S(2010), le complexe bc1 de la chaîne respiratoire mitochondriale fonctionne selon l'hypothèse du cycle Q de Mitchell, Med Sci (paris) ,26 :1079-1086.
- Meyre-silva C et cechinel-filto V(2010),a review of chemical and pharmacological aspect of genus marrubuim, current pharmaceutical design 31 :3503-3518.
- MI Youssef, GA Abdallah et KI Kamel (2003), Effet de supplémentation en acide ascorbique et en vitamine E sur la qualité du sperme et les paramètres biochimiques des lapins mâles, sciences de la reproduction animale ,1-2 :99-111.
- Miara M D.,AIT Hammou M et Hadjadj Aoul S (2015),phytothérapie et taxonomie des plantes médicinales spontanées dans la région de Tiaret (Algérie), phytothérapie ,11 :206-218.
- Michel F., Bonnefot-Rousselot D., Mas E., Draï J et Thérond P (2008), biomarqueurs de L peroxydation lipidique :spectes analytiques , Ann Biol clin ,66(6) :605-20.

- Migdal C., Serres M. Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. Méd Scien, 2011, 27 : 405-12.
- Mimmi MC .,Ballico M.,Nakib G.,Calcaterra V.,Peiro J L.,Marotta M et Pelizzo G(2014),Altered Metabolic Profile in Congenital Lung Lesions Revealed by ¹H Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy,Hindawi Publishing Corporation,ISRN Analytical Chemistry,Volume 2014, Article ID 391836, 8 pages ,<http://dx.doi.org/10.1155/2014/391836>.
- Mohomodally M F., Désiré A L D., Rosette MA L E(2022) Catalase, effets des antioxydants sur la santé, pp81-90.
- Morat P., Parent C., Capelli N et Dat J(2008),formes réactives de l'oxygène, stress et mort cellulaire chez les plantes /espèces réactives de l'oxygène, stress et mort cellulaire chez les plantes, comptes rendus biologies, pp255-261.
- Morelle J préface professeur Lucien Israël. (2003). Oxydation des aliments et la sante, Paris. Office d'Edition impression libraire. F.-X de Guibert. Paris, ISBN : 286839-825, PP 16, 58,33.
- Mssillou I , Agour A , Hamamouch N , Lyoussi A , AND Derwich E (2021),Chemical Composition and In Vitro Antioxidant and Antimicrobial Activities of Marrubium vulgare L ,the Scientific World Journal, Volume 2021, Article ID 7011493,pp 5.
- Mujumdar A(1995),handbook of industrial drying,new York , dekker, 2^{eme} 780p1

N

- Nimse S B et Pal D (2015), Freeradicals, naturelantioxydants, and thier reaction mechanisms ; RSC advances ,35 :27986-28006.
- Nguyen H T., Vu T Y., Dakal C T., Dhabhai B., nguyen X H Q., Tatipamula V B (2021),Cloroda-4(18),13-dien -15,16-olide en tant que nouveaux inhibiteurs de la xanthine :une étude in vitro et in silicointégrée ,plos un 16(6) .

O

- Ognjanovic B I.,Pavlovic S.Z., Maletic S D., Zikic R V., Stajn A S., Radojicic R M., Saicic Z S et Petrovic V M(2003),Protective influence of vitamin E on antioxydant défense system in the Blood of rats treated with cadmium, physiol,res 52 :563-570.

P

- Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K et Defraigne J O(2002), Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante action physiologique des défenses antioxydantes, nutrition clinique et métabolisme,4 :233-239.
- Pincemail J., Heusele C., Bnte F., Limet R et Défraigne J O(2001), Stressoxydant, antioxydants nutritionnels et vieillissement,Act, Med, int,métabolismes, hormones, nutrition ,4 :158-161.
- Peixoto I et Haas R .H (2019),Coq10 et vieillissement, biologie,8(2) ;28.
- Phillips N H(2016), Superoxide dismitase (SOD), Nova, p1.

R

- Radi R(2013),Le peroxydant biologique furtiy,journal of biological chemistry,288:26464-26472.
- Rao A V et Rao L G (2007),Carotenoids and humanhealth, pharmacological research, pp207-216.
- Remita S(2001), La peroxydation lipidique radioinduite :les facteurs déterminant l'oxydabilité des lipides, publication : Canadian journal of physiology and pharmacology2001,
- Roger H (2004), Rôles physiologiques de la xanthine oxydoréductase, revues du métabolisme des médicaments 36(2):363-375.
- Rosenthal M D and Glew R H(2009),Medical biochemistry:huma métabolisme in health and disease, Wiley J and sons , Inc , publication ,ISBN:978-0-470-12237-2,pp..
- Ryan-Harshman A et aldoori w(2005),La pertinence du sélénium pour l'immunité ,le cancer ,et les maladies infectieuses/inflammatoires, revue Canadienne de la pratique et la recherche en diététique,66(2):98-102.

S

- sanago R., 2006. Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle.
Université Bamako(Mali) ,pp 53.
- Sandoval-Acuna C., Ferreiro J et Speisky H (2014),Poly phénols et mitochondries :une mise à jour sur leur action indépendantes de plus émergetes en matière de piégeage des ROS, archives de biochimie et biophysique, pp75-90.
- Sarni-manchado P et Cheynier V(2006),Les polyphénols e agroalimentaire ,édition TEC et DOC ,11,rue Lavoisier 75008 paris ,pp 5.

- Schauenberg P et Paris F(2013), Les Plantes médicinales, 2013, Paris, l'imprimerie Beta en Espagne ISBN:978-603-01994-8, pp 282,312.
- Schlemper V.,Ridas A.,Nicolou M.,Filho V(1996),antispasmodic effets of hydroalcoholic extract of Marrubium vulgare on isolated tissues,phytomédecine ,3(2) :211-216.
- Schlienger J.-L.(2020), Vitamines hydrosolubles : vitamine C(acide ascorbique).
- Sennequier N et vadon-le goffs(1998), Biosynthèse du monoxyde d'azote (No):mecanisme régulation et contrôle ,Médecine sciences ,14(11):1185-1195.
- Stulzer H K., Tagliari M P., Zampirolo J A., Cechinel-Filho V., Schlemper V (2006), Effet antioedématogène de la marrubine obtenue à partir de Marrubium vulgare, Journal d'ethnopharmacologie, journal d'ethnopharmacologie, 3 :379-384.
- Szabo C. ,ischiroopoulos H.,Radi R(2007)Peroxynitrite :biochimie physiopathologie et développement de thérapeutique ,la nature examinela découverte de médicaments,6:662-680.

T

- Tanguy M et Begué –simon A M(2009),Antioxydants première partie :les antioxydants dans l'alimentation Médecine ,6 :256-260.
- Tarangelo A et Dixon S J(2019), Métabolisme des lipides et ferroptose ,ferroptose dans la santé et la maladie ,pp1-16.
- Thakur M.,Bhargara S.,Dixit V k(2007), Évaluation de l'activité antioxydante et de l'effet d'amélioration de dactylorhiza hatagirea sur la dysfonction sexuelle chez des rats mâles hyperglycémiques ,preuve.basé complim Altern Med,4S(1):29-31.

U

- Urquiaga et Leighton F(2000), Poly phénols Végétaux Antioxydants et Stress Oxydatif, biol.rés,2 .

V

- Valko M., Jomova K J., Rhodes C., Kuča K et Musílek K (2016), Formation de radicaux libres induite par des métaux redox et non redox et leur rôle dans les maladies humaines, Archives, 90 :1–37.
- Vamecq J., ValléeL., StormeL., GeléP et BordetB(2004), Les acteurs immédiats du stress oxydatifKey players in oxydative stress. Key players in oxydativestress. La lettre de Pharmacologie, 2004, 18: 16-23.

- Vergely C et Rochette L(2002),Le point les NO synthases au niveau cardiovasculaire périphérique,festival de la communication sante ,2 :109-116.
- Voutquenne-Nazabadioko L(2010), Étude chimiotaxomique de la famille des sapindaceae, *Ethnopharmacologia*, 45 :49-52.

W

- Wallenbeg M., Mirsa S., Wasik A M., Marzano C., Bjornstedt M., Gandin V et Fernandes A.P(2014),Le sélénium induit un processus de mort cellulaire multi-cible en plus de la formation de ROS,*J Cell Mol Med* ,18(4) :671-684.
- Wily J (2010),plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique, éducation Karthla ISBN :978-2-811-0330-9, pp 24.

X

- Xuan A D., Barouxis C., Van N T., Lan N H et Texereau J(1998),Monoxyde d'azote (NO)et asthme monoxyde d'azote et asthme, revue française d'allergologie et d'immunologie clinique,3 :165-174.

Y

- Yong A J et Lowe G L(2018), Caroténoïdes-propriétés anti oxydantes,antioxydants ,7(2) :28
- Yousefi K ., Soraya H ., Fathiazad F ., Khonrami A., Hansedeyazdan S ., Dizaji N .,Garjani A (2013),Cardioprotective effect of methanolic extract of *Marrubium vulgare* l ,on isoproterenol-induced acute myocardial infarction in rats ,*Indian journal of experimental biology* ,51:653-660.
- Yuan F., Yin S., Xu Y., Xiang L., Wang H., Li Z., Fan K et Pan G (2021) La richesse et la diversité des catalases chez les bactéries. *Devant. Microbiol.* 12:645477. doi : 10.3389/fmicb.2021.645477.

Z

- Zahaf K et Bohloul M (2019) ,Phytochimique et évaluation de l'activité anticorrosion des extrait des des plantes *Thapsia gqrganica* L et *Marribium vulgare* ,mémoire présenté pour l'abstention du diplôme de Master en chimie ,univ Larbi Ben M'hidi Oum el Bouaghi ,pp62.
- Zahalka J.-P, pharmacien(2009),les plantes en pharmacie propriétés et utilisations, éditions du dauphin 43/45 rue de la tombe-Issoire ,75014 Paris, Paris, ISBN:978-2-7163-1396-4,page134.
- Zeisel S.H et Caudill M.A(2010), Choline, *advances in nutrition* 1 :46-48.

- Zhang W., Xion S et Ahn D U (2013), Oxydation des protéines : Principes de base et implication pour la qualité de la viande, revue critiques en science alimentaire et nutrition ,11 :1191-1201.
- Zhang Y.,Tan Y.,Liu S.,Yin H.,Duan J.,Fan L.,Fan L.,Zhao X ., Jiang B(2022),Implication of withaferin A for the metastatic potentiel and drug resistance in hepatocellular carcinoma cells via Nrf2-Mediated EMT and ferroptosis, Toxicology and Methods ,33(1):47-55.
- Zhao J(2015), Mécanismes de transport des flavonoïdes : comment y aller et avec qui, tendances en phytologie, 9 :576-585.