

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 Académique

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie.

Spécialité/Option: Biologie Moléculaire et cellulaire /Biologie moléculaire des procaryotes

Département: Biologie

Thème

Effets antifongiques d'une plante médicinale

Marrubium vulgare

Présenté par :

Goudjil Chafia

Medjabra Imen

Devant la commission composée de :

Mairif S

Ayed H

Benbeikacem S

Torche A

Drif F

Athamnia M

Président

Encadreur

Examineur

Membre

Membre

Membre

Université de Guelma

Juin 2017



Remerciements

Nous remercions Allah, le bon Dieu miséricordieux de nous avoir aidé à réaliser ce travail.

Nos remerciements vont également à la commission d'examen :

*Mme **Mairif.S** d'avoir accepté d'honorer cette soutenance comme président de jury. Qu'il nous soit permis de lui exprimer nos plus hautes considérations.*

*Nous remercions profondément notre encadreur Mme **Ayed H** pour sa disponibilité, son suivis, son aides, ses remarques judicieuses et ses conseils précieux qu'ils nous ont prodigués avec gentillesse tout au long de notre travail.*

*Mme **Benbelkacem S** qui nous a fait l'honneur de participer à ce jury pour examiner et juger ce travail. Nous le remercions vivement*

*Nous remercions également Mme **Torche A.**, Mme **Drif.F.**, M **Athamnia M.***

*Nos vifs remerciements s'adressent, **madame Khanak K** pour les aides et les encouragements qu'il nous a témoignés.*

*Nous remercions également **Mme khaleff, M. Mmehamdikan , M., Mme fetni, A.** qui nous a été d'un grand secours pendant la réalisation de ce travail*

*Nous remercions aussi toute l'équipe de laboratoire d'Hôpital **EBEN ZOHR***

Nous remercions l'ensemble du personnel de département de biologie

*(**Étudiants, Enseignants, techniciens, secrétaires**).*

*Nos **collègues de fin de cycle**, qui nous ont donné leurs encouragements toute la durée de réalisation de ce travail.*

Nos familles, qui durant nos études, nous ont toujours donné la possibilité de faire ce que nous voulions et qui ont toujours cru en nous.

Enfin, nous tenons à remercier profondément toutes les personnes qui de près ou de loin, ont contribué à l'élaboration de ce présent mémoire.



DEDICACE

A Ceux qui sont les plus chères au monde

Je dédie ce travail

*À mes parents, qu'ils trouvent ici ma plus profonde
gratitude et tout mon amour pour leur soutien tout au long
de mes études et leurs Sacrifices sans limites.*

*A mes chères sœurs Aridj Nour El houda, Rahma. Qui sont
très chère.*

A mes amis mes camarades de promotion

*A tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de ce
Mémoire.*

IMEN

DEDICACE

*Je m'incline devant Dieu tout puissant qui m'a ouvert la
porte du savoir et m'a aidé à franchir. Je dédie ce modeste
travail*

*Mes chers parents, pour leur endurance
En témoignage de nos profondes affectations. Qu'ils sachent
que ce travail est en partie le fruit de leur soutien ; nous
leur sommes très reconnaissants. Leur fierté à nos égard
aujourd'hui est pour nous la meilleure des récompenses.
A tous nos frères et ma Sœur djamila Qui sont très chère.
A tous nos amis et à tous ceux Qui nous ont témoigné leur
affectation et leur soutien durant ces longues années*

chafia

La phytothérapie, proposant des remèdes naturels, est bien acceptée par l'organisme. Elle connaît actuellement un renouveau exceptionnel en occident du fait des effets secondaires induits par les médicaments inquiétant les utilisateurs qui font alors appel à une médecine plus douce. Le présent travail a pour objectif, l'étude phytochimique de la partie aérienne, ainsi que l'évaluation de l'activité biologique (antifongique) de l'extrait méthanolique préparé par la méthode d'extraction (macération) d'une plante médicinale *marrubium vulgare* de la famille *lamiacée*. Cette plante largement distribuée dans le bassin méditerranéen en générale et en Algérie en particulier est utilisée pour le traitement de plusieurs pathologies. (diabète asthme-bronchites). Le screening phytochimique des feuilles de ce dernier est révélé par des méthodes basé sur la précipitation, changement de couleur spécifique, apparition de la mousse ou un examen sous la lumière de l'UV la présence des alcaloïdes, des flavonoïdes, des tanins, des stérols, des saponosides et des coumarines. L'analyse par CCM montre la richesse de l'extrait en polyphénols ces molécules de différentes solubilités est révélé une teneur importante 75.50mg/g L'activité antifongique a été déterminée sur deux souches fongiques (*candida albicans* et *Aspergillus Niger*) selon la méthode sur diffusion de disque, les deux souches étudiées présentent une faible sensibilité vis-à-vis l'extrait de la plante. Les tests antifongiques montrent que l'inhibition de la croissance des souches varie en fonction de la concentration de l'extrait

Mots clés : Activité antifongique - *Marrubium vulgare*- La phytothérapie-

Phytotherapy, offering natural remedies, is well accepted by the body. It is currently experiencing an exceptional revival in the West due to the side effects induced by medication worrying users who then resort to a softer medicine. The objective of this work is the phytochemical study of the aerial part and to evaluate the biological activity (antifungal) of the methanol extract prepared by the extraction method (maceration) of a medicinal plant *marrubiumVulgare* of the lamiaceae family. This plant widely distributed in the Mediterranean basin in general and in Algeria in particular is used for the treatment of several pathologies (diabetes, asthma, bronchitis). The phytochemical screening of the leaves of the latter is revealed by methods based on precipitation, specific color change, appearance of the foam or an examination under the light of the UV. The presence of alkaloids, flavonoids, tannins, sterols, sponosides and coumarins. These molecules of different solubilities are revealed to have a high content of 75.5mg/g. Antifungal activity was determined on two fungal strains (*candida albicans* and *Aspergillus Niger*). According to the disk diffusion method, the two strains studied have a low sensitivity to the extract of the plant. The antifungal tests show that the inhibition of the growth of the strains varies as a function of the concentration of the extract

Key words: antifungal -*Marrubiumvulgare*-Phytotherapy

التداوي بالأعشاب يقترح أدوية جد مقبولة من طرف العضوية و الذي غالبا ما يكون مرفقا بالأدوية كلاسيكية و هو ما يعرف الآن في يومنا هذا تجدد إستثنائيا عند الغرب. بالإضافة إلى الأدوية الإصطناعية التي تحبط المستخدمين ما أدى إلى إتجاههم نحو علاجات اقل ضررا بالنسبة للعضوية. هدفنا من خلال هذه لعمل هو دراسة المكونات الكيميائية للأجزاء الهوائية و تقييم النشاط البيولوجي (مضاد الفطريات) للمستخلص المثنولي لنبته *marrubium vulgare* من عائلة *lamiacée* هذه النبتة تعرف إنتشارا واسعا في منطقة البحر المتوسط و الجزائر خاصة فهي جد مستعملة في علاج أمراض متعددة (السكري والربو والتهاب الشعب الهوائية). أدى التحليل الكيميائي المعتمد على لترسب و تغير اللوني و ظهور رغوة الفحص تحت ضوء الأشعة فوق البنفسجية على الكشف عن وجود المركبات الثانوية كما أدى التحليل بواسطة CCM إلى إثبات ثراء المستخلص المثنولي بمتعدد الفينولات هذه الجزيئات ذات ذوبان المختلف حيث نجد مردودها جد معتبر بقيمة 75 مغ/غ . النشاط المضاد الفطريات تم تحديده على سلالتين الفطرية عن طريق عملية نشر على القرص هذين النوعين قد أبديا حساسية معتبرة مع المستخلص الخاص بالنبته. كما أظهرت الاختبارات المضادة للفطريات أن تثبيط نمو سلالات تختلف تبعا لتركيز مستخلص

كلمات مفتاحية: النشاط المضاد للفطريات – *marrubium vulgare* -التداوي بالأعشاب

AG :Acide Gallique

C: Carbone

Cu: cuivre

Fe: fer

Fe cl₃ : chlorure ferrique

Hgcl₂ : chlorure de mercure

mg EAG/g E :milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait.

MO₄⁻² : phosphomolybdic

PAM : plantes aromatique médicinale

pH : potentiel d'hydrogène

S: confession de sédimentation

SDA: sabouraud-dextrose Agar

OMS:organisation mondiale de la santé.

WO₄⁻² : phosphotungstic

Tableau N°	Les titres des Tableaux	N° page
Tableau 1	Quelques différences entre champignons et bactéries	17
Tableau 2	Dosage des polyphénols totaux de l'extrait méthanoléque <i>marrubium vulgare</i>	31
Tableau 3	Screening phytochimique de plante	36
Tableau 4	Diamètres d'inhibition des antifongiques	38
Tableau 5	Diamètres d'inhibition de l'extrait méthanoléque	39
Tableau 6	Diamètres d'inhibition des antifongiques testés sur de <i>candida albicans</i> après 48h	39
Tableau 7	Diamètres d'inhibition de <i>candida albicans</i> avec l'extrait méthanoléque	40
Tableau 8	Diamètres d'inhibition des antifongiques testés sur <i>d'Aspergillus Niger</i>	41
Tableau 9	Diamètres de l'inhibition <i>d'Aspergillus Niger</i> avec l'extrait méthanoléque <i>marrubium vulgare</i>	43
Tableau 10	Diamètres d'inhibition <i>d'Aspergillus Niger</i> avec les antifongiques	44
Tableau 11	Diamètre de l'inhibition <i>d'Aspergillus Niger</i> avec de l'extrait méthanoléque <i>marrubium vulgare</i> après 72	46
Tableau 12	Teneur en polyphénol totaux de l'extrait méthanoléque <i>marrubium vulgare</i>	47
Tableau 13	Valeurs des Rapports frontaux (<i>Rf</i>) du solvant Acétone/méthanol/eau	47
Tableau 14	Valeurs des Rapports frontaux (<i>Rf</i>) du solvant Acide acétique /méthanol/eau	48
Tableau 15	les valeurs de Rapports frontaux (<i>Rf</i>) du solvant Acétate d'éthyle /méthanol/eau	48
Tableau 16	Valeurs de Rapports frontaux (<i>Rf</i>) du solvant chloroforme /méthanol/eau	48

Figure N°	Les titres des figures	N° page
Figure 1	<i>Marrubium vulgare</i> . a- Stade végétatif; b- stade reproducteur	8
Figure 2	Groupe phénol	12
Figure 3	Principaux caractères morphologiques des <i>Aspergillus</i>	24
Figure 4	Protocole expérimentale.	30
Figure 5	Courbe d'étalonnage d'acide gallique	32
Figure 6	Effet du méthanol sur les deux souches fongique (a)levure <i>candida albicans</i> et (b) champignon <i>Aspergillus Niger</i>	37
Figure 7	Diamètres d'inhibition des antifongiques testés sur <i>candida albicans</i>	38
Figure 8	L'aromatogramme de l'extrait méthanoléque <i>marrubium vulgare</i> testé sur <i>candida albicans</i> après 24h	39
Figure 9	Diamètres d'inhibition des antifongiques sur <i>candida albicans</i> après 48h	40
Figure 10	Diamètre d'inhibition des antifongiques testés sur <i>Aspergillus Niger</i>	41
Figure 11	Effet des antifongiques sur <i>Aspergillus Niger</i> après 48h	42
Figure 12	Aromatogramme de l'extrait méthanoléque <i>marrubium vulgare</i> testé sur <i>Aspergillus Niger</i> dans 48h	43
Figure 13	Diamètres d'inhibition d' <i>Aspergillus Niger</i> avec les antifongiques	44
Figure 14	Effet des antifongiques testés sur l' <i>Aspergillus Niger</i> dans 72h	45
Figure 15	Aromatogramme de l'extrait méthanoléque <i>marrubium vulgare</i> sur <i>Aspergillus Niger</i> après 72h	46
Figure 16	Figure N°:16 Chromatographie sur couche mince de l'extrait méthanoléque, Système de solvant (A : Acétate d'éthyle/méthanol/eau, B : acide acétique/méthanol/eau C : chloroforme/méthanol/ eau, D : Acétone/méthanol/eau)	49

Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction	1
Synthèse bibliographique	
Chapitre I : Généralité sur les plantes médicinales et la phytothérapie	3
1-Historique	3
2- Notion de plante médicinale	5
3- Phytothérapie	5
4-Aperçu bibliographique sur la plante étudiée	6
4-1-Description botanique	6
4-2- Position systématique de l'espèce Marrubium vulgare	7
4-3-Famille lamiacée	7
4-5-Composition chimique	8
4-6-Effets et usages médicinaux	8
5-Les métabolites secondaires	10
5-1-Définition	10
5-2-Classification des métabolites secondaires	11
5-3-Composés phénoliques	11
5-3-1-Définition	11
5-3-2-Flavonoïdes	12
5-3-3-Tanins	13
5-3-4-Coumarines.....	13
5-4-Alcaloïdes	13
5-5-Terpenoïdes	14
5-3-6-1-Stérols	15
5-3-6-2-Saponines	15
Chapitre II Activité antifongique	
1-Propriété des champignons	16
1-1-Définition.....	16
1-2-Morphologie	18
1-2-1-Hyphe	18
1-2-2-Mycélium	18

1-2-3-Levure	18
1-2-4-Pseudohyphes	18
1-2-5-Dimorphisme	18
1-3- Métabolisme	18
1-4- Multiplication des champignons	19
1-4-1-Multiplication asexuée	19
1-4-2- Multiplication sexuée	19
1-5-Importance économique des mycètes	19
2-Aspect généraux des maladies dues aux champignons	21
2-1-Candidoses	21
2-1-2- <i>Candida albicans</i>	21
2-1-3- Morphologie	22
2-1-4-Ecologie	22
2-1-5-Taxonomie	23
2-1-6-Pathogénie du candida	23
2-2-Aspergillose	24
2-2-1- <i>Aspergillus</i>	24
2-2-2-Définition	25
2-2-3-Pathogénie de l' <i>Aspergillus</i>	25
2-2-4-Aspergillose du système respiratoire	25
2-3- Propriétés pathogènes des mycètes	26
Partie Expérimental	28
1-Matériel végétal	28
2-Etude phytochimique	28
2-1-Tests préliminaires de la composition chimique	28
2-1-1-Alcaloïdes.....	28
2-1-2-Tanins	28
2-1-3- Flavonoïdes	28
2-1-4-Saponosides	28
2-1-5-Coumarines	29
2-1-6 :Sterol non saturés et les triterpènes	29
3-Préparation de l'extrait méthanolique	29
3-1-Délipidation	29
3-2-Dépigmentation	29

3-3-L'Extraction de polyphénols (extrait méthanolique)	29
4-Analyse des extraits méthanoliques de <i>Marrubium vulgare</i>	31
4-1-Dosage des polyphénols	31
5-Séparation par chromatographe sur couche mince (CCM)	32
6- Détermination de l'activité antifongique	32
6-1- Souches utilisées	32
6-2-Isolement des souches fongiques	33
6-3-Test de méthanol	33
6-4- contrôle positif.....	33
Résultats et Discussion	35
1- Résultats de screening phytochimique des feuilles de <i>Marrubium vulgare</i>	35
1-1- Alcaloïdes	35
1-2-Coumarines	35
1-3-Tanins	35
1-4-Stérols	35
1-5-Flavonoïdes	35
1-6-saponosides.....	35
2-Résultats de l'antifongigramme et l'aromatogramme	37
2-1-Test de méthanol	37
2-2-Antifongigramme	37
2-3-Test positif de <i>candida albicans</i>	38
2-4-Test positif d' <i>Aspergillus Niger</i>	41
3-Dosage des polyphénols totaux	47
4-Chromatographie sur couche mince	50
Discussion	50
5-Analyses qualitatifs de la plante	50
5-1-Le screening phytochimique.....	50
6-Analyses quantitatives de l'extrait.....	50
Conclusion et perspective	52
Références bibliographiques	
Annexes	

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples en industrie agroalimentaire, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés bioactifs on retrouve les métabolites secondaires. Ces substances font l'objet de nombreuses recherches basées sur les cultures *in situ* et *in vitro* de tissus végétaux (**Touibia.Met al.,2013**). Ceci est notamment le cas des polyphénols végétaux qui sont largement utilisés en thérapeutique. Récemment, plusieurs travaux ont mis en évidence les différentes activités biologiques des plantes aromatiques et médicinales, en particulier leurs pouvoirs antifongique, antibactérien et antioxydant (**Aouadhi.Cetal., 2013**). Au cours de ces vingt dernières années, il a été observé une très nette augmentation du nombre d'infections dues aux champignons pathogènes, notamment aux levures du genre *Candida*, ainsi que l'émergence d'espèces filamenteuses telles que l'*Aspergillus*. Les infections fongiques restent des affections graves et leur fréquence a augmenté de façon considérable (**Hulin,Aet al.,2015**). Les mycoses opportunistes ont nettement progressé ces dernières années. Cela vient du fait que ces mycoses ne se manifestent cliniquement qu'en présence de dispositions particulières de l'hôte. Le nombre croissant de patients présentant des déficits immunitaires, le recours plus fréquent à des gestes invasifs et à des thérapeutiques agressives en médecine expliquent l'importance croissante des mycoses (**Fritz.Ket al.,2008**). Les infections provoquées par les champignons (*Aspergillus*) ou les levures (*Candida*) qui sont appelées aussi les mycoses sont devenues un réel problème de santé publique. Elles sont de plus en plus difficiles à les inactiver et leurs fréquences sont en très forte progression. L'apparition de souches résistantes aux antibiotiques usuels, le changement dans le spectre clinique des pathogènes, l'émergence d'un pouvoir pathogène chez des souches habituellement saprophytes de notre environnement sont les principaux facteurs de cette forte recrudescence. (**Aouadhi.Cetal., 2013**). Bien qu'on dispose aujourd'hui de médicaments antifongiques, le traitement des mycoses reste difficile d'une part du fait du nombre limité de principes réellement efficaces et de leur coût très élevé, et d'autre part lié à l'émergence de souches résistantes à certains antimycosiques usuels. Ces différentes difficultés ont suscité notre intérêt pour la recherche d'autres substances fongitoxiques pouvant être l'ébauche d'enrichir l'arsenal thérapeutique actuel. Différentes espèces de végétaux sont connues depuis longtemps pour leurs effets antimicrobiens. Les plantes aromatiques et médicinales (PAM) constituent une richesse naturelle très importante dont la valorisation demande une parfaite connaissance des propriétés à mettre en valeur (**El bouri.R,2014**).

Le choix est porté sur une plante utilisée depuis longtemps, considérée comme interchangeable thérapeutique. Il s'agit de *Marrubium vulgare*. De la famille des Lamiacées, largement répandue dans le bassin méditerranéen en générale et en Algérie en particulier. Elle est reconnue comme l'une des plantes médicinales spontanées les plus utiles et les plus efficaces (Mehdadi, Zet al., 2012), Elle est également employée comme analgésique (Asadi-samani, Met al., 2015), insecticide (Burcu, B et al., 2014), anti-inflammatoire (Maaroufi, A et al., 2014), antimicrobien (Maarou, A et al., 2014), antioxydant (Bouterfas, Ket al., 2014), antifongique, anti-hypertensives (Zarai, Zet al., 2011), antidiabétiques et dans de nombreuses autres activités biologiques. Ces propriétés thérapeutiques sont liées à la présence des métabolites secondaire (Sanaz, Het al., 2014).

Ce manuscrit se compose de deux grandes parties :

Pour la première partie. Il est réalisé une recherche bibliographie composée de deux Chapitre : dans le premier chapitre il est abordé la phytothérapie, les plantes médiales et les métabolites secondaires. Le deuxième chapitre traite des généralités sur les champignons. La deuxième partie est consacré pour le matériel et les méthodes expérimental aussi que les résultats et les discussions.

L'objectif du présent travail est de réalise une étude phytochimique afin d'identifier certains groupes chimiques bioactifs contenus dans cette plante et déterminer l'activité antifongique de l'extrait méthanolique préparé vis-à-vis deux souches pathogènes pour l'homme. (*Candida albicans*, *Aspergillus niger*).

I-Généralité sur les plantes médicinales et la phytothérapie

I-1-Historique

L'usage des plantes médicinales se perd dans la nuit des temps et nous savons maintenant que même les chimpanzés -qui sont il est vrai nos proches parents- utilisent certains végétaux pour soulager les maux dont il leur arrive de souffrir. Il ne fait aucun doute que les hommes de la préhistoire firent de même et affinèrent au fil du temps leurs connaissances en la matière. Les plus anciens documents écrits notamment le papyrus d'abers, vieux de plus de 3500 ans, attestent de cette pratique en orient et en Égypte. Durant l'antiquité européenne et plus tard, au moyen âge, de nombreux auteurs se sont penchés sur la question, donnant outre la description botanique des plantes médicinales usitées un certain nombre de renseignements sur l'emploi qui en était fait. Après que l'imprimerie ait permis une diffusion beaucoup plus grande des textes l'engouement pour les livres d'herboristerie n'a cessé de se confirmer dans une certaine mesure jusqu'à aujourd'hui (**Hensel.W, 2009**).

- En 1848, on trouva sur les ruines de NIPPUR de nombreuses tablettes d'argiles sumériennes gravées en caractère cunéiformes, âgées de 5000 ans. On constata qu'il s'agissait du premier recueil de formules végétales à usage humain (onguent, suspensions, décoctés etc.
- La chine dont le degré de civilisation à la même époque n'est plus à démontrer, possédait aux alentours de 2700 ans avant J-C. le Pen-Tsao.
- Hippocrate père de la médecine, dont l'une des règles « primum non nocere » (avant tout ne pas nuire) a consacré une grande partie de sa vie à l'étude des plantes médicinales.

Il conseillait par exemple de procéder à la «dérivation des humeurs délétères» c'est-à-dire au drainage des émonctoires avec des plantes comme le séné ou l'hellébore. Il recommandait aussi des diurétiques comme le romarin et l'olivier.

- Vint ensuite Pedanius Discoride qui dans son ouvrage «de materia medica » étudia plus de 600 simples.
- Galien père de la pharmacie Galénique étudia le moyen de les mettre en forme. Le moyen âge fut aussi une grande époque quant à l'utilisation des plantes médicinales.

- Albert le Grand (1193-1280) eut comme discipline Saint Thomas d'Aquin. C'était un dominicain, un philosophe réputé de l'école du Rhin. Il fut un maître à la fois en alchimie et en botanique. Il publia « de plantis » remarquable traité sur les plantes.
- Sainte Hildegarde (1098-1179) qui font l'objet de nombreuses publications était une abbesse du monastère des moines bénédictins de Rupertsberg en Allemagne, femme médecin, et remarquable musicienne elle était un excellent thérapeute et écrivit quatre traités sous le nom de *Physica* consacrés aux maladies et aux plantes (dont l'Arnica ou la piloselle).
- Paracelse (1493-1541) ou Théophraste Bombast de hohenheim était un médecin alchimiste qui cherchait à décrypter les analogies mystiques unissant l'homme au macrocosme dans lequel il vit.

La phytothérapie se modernise, le XIXe voit l'essor de l'industrie. On délaisse peu à peu l'utilisation traditionnelle, pour chercher à isoler le principe actif. Le pharmacien **Pierre-Josep Pelletier** (1788-1842) extrait de l'ipéca, l'émétine et du quinquina (traitement du paludisme). On va encore plus loin en effectuant des hémisynthèses... puis des synthèses par copié des molécules naturelles... si bien que les programmes des études de médecine laissèrent de côté botanique et pharmacognosie . Puis, voici quelques années, les choses ont changé, les mouvements écologiques, la peur des effets iatrogènes des médicaments parfois difficiles à cerner a remis au goût du jour des traitements plus naturels, moins toxiques, plus près du public. Des noms prestigieux, les docteurs **Henri Leclerc** et **Jean valnet** donnèrent à la phytothérapie moderne des bases scientifiques. Dans les pays occidentaux, une personne sur quatre l'utilise de façon régulière (**Roux.D et al.,2007**).

2- Notion de plante médicinale

Une plante dite médicinale est une plante qui a des propriétés thérapeutiques (**Roux.D et al.,2007**). La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie : elles présentent des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus. L'utilisation des plantes est très ancienne et pendant très longtemps elle a représenté pratiquement le seul moyen de soigner, basé sur l'empirisme. Ces préparations peuvent être des teintures, des extraits, des huiles grasses ou essentielles, des poudres, etc (**Iserin.P,2001**). La reconnaissance de la valeur clinique, pharmaceutique et économique des médicaments à base de plantes continue de croître, bien que celle-ci varie fortement selon les pays. Chaque pays définit de différentes manières les plantes médicinales simples ainsi que les produits qui en sont tirés. Ainsi, les pays ont adopté plusieurs approches pour l'octroi de licences, la préparation, la fabrication et la commercialisation en vue d'assurer leur innocuité, leur qualité et leur efficacité. Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés enthérapeutique. La pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles, ou des matières premières pour la semi synthèse. Il y a eu donc un réveil vers un intérêt progressif dans l'utilisation des plantes médicinales dans les pays développés comme dans les pays en voie de développement, parce que les herbes fines guérissent sans effet secondaire défavorable. Ainsi, une recherche de nouvelles drogues est un choix normal.

3- Phytothérapie

On appelle phytothérapie, La thérapeutique des plantes (du grec phyto=plante et therapeia=soin). C'est une thérapeutique qui utilise les plantes ou les forme galéniques dérivées de plantes excluant les principes d'extraction purs isolés des plantes ainsi de nombreuses formes galéniques peuvent être utilisées : tisanes (infusées, décoctés.....)Poudre, extraits liquides, etc (**Roux.D et al.,2007**).

La Phytothérapie utilise des plantes médicinales dans leur totalité ou certaines parties de la plante dans des buts thérapeutiques. La phytothérapie compte parmi les premières et les plus anciennes méthodes curatives depuis l'aube de l'humanité. C'est ainsi que les êtres humains utilisent des plantes depuis des siècles voire des millénaires à des fins thérapeutiques sur l'ensemble de la planète, ce qui a permis aux hommes de générer au cours des siècles un large savoir et une immense expérience dans leur utilisation (**Beatrix.F et al.,2013**).

Les médicaments à base de plantes se caractérisent en outre par une large marge thérapeutique. Le début de l'effet thérapeutique est, comparé aux substances chimiques, la plupart du temps retardé, c'est à dire qu'il produit son effet le plus souvent après répétition de la prise et utilisation prolongée; c'est pourquoi cet effet thérapeutique est rarement observé d'emblée. Par voie de conséquence les médicaments phytothérapeutiques sont utilisés le plus souvent comme traitement symptomatique, pour atténuer les souffrances dans des indications «non vitales», dans des pathologies légères à moyenne et de durée moyenne à chronique, lors de troubles ou de perturbations de l'état général de même que pour la prévention dans le domaine sanitaire. En ce qui concerne les situations aiguës ou la médecine d'urgence, les médicaments à base de plantes n'ont guère leur place sauf en de rares exceptions comme les préparations à base de Séné lors de constipation aiguë. (**Beatrix.F et al.,2013**).

4-Aperçu bibliographique sur la plante étudiée

4-1-Description botanique

Le marrube est une plante méditerranéenne, au feuillage vert gris duveteux. vivace herbacée de 30-60 cm de haut à tige carrée, laineuse dans la partie inférieure ; feuilles opposées, ovales pouvant atteindre 4 cm de long et de large, gaufrées, à pétiole court, jeunes feuilles laineuses ; floraison : juin à août ; fleurs blanches bilabiées, serrées les unes contre les autres à l'aisselle des feuilles supérieures corolle de 6 -7 mm de long (**Hensel.W,2009**). C'est une belle plante ornementale qui mérite de retrouver une place dans nos jardins (**Josy.M,2012**). Elle est répandue sur tout le continent américain, l'Asie, originaire d'Europe (**Dmitruk.M et al., 2014**). Toute l'Afrique du Nord (**Burcu.B et al.,2014**). Il est particulièrement abondant dans la région méditerranéenne (**Armondo.G et al.,2006**). Il pousse principalement sur les friches, Bord des chemins, terrains vagues lisière des bois, taillis (**Hensel.W,2008**).

4-2- Position systématique de l'espèce *Marrubium vulgare* est

Règne :	<i>Végétale.</i>
Embranchement :	<i>Spermatophytes</i>
Classe :	<i>Magnolipsides</i>
Sous-classe :	<i>Asteridae</i>
Ordre :	<i>Lamiales.</i>
Famille :	<i>Lamiacées.</i>
Genre :	<i>Marrubium.</i>
Espèce :	<i>Marrubium vulgare</i>

Les noms donnés à la plante sont les suivants : en Algérie est connue par le nom *Marriouth*. En Anglais Harehound et *marrube blanc* en français (**Boudjelal.A,2013**).

4-3-Famille lamiacée

La famille lamiacée est une des familles les plus grandes et les plus distinctives de plantes à fleurs (**Farzaneh.N et al.,2005**), avec environ 220 genres et près de 4 000 espèces dans le monde entier.

La famille renferme de nombreuses espèces économiquement importantes soit par leurs huiles essentielles, soit pour leur usage condimentaire, elles appartiennent aux genres *Mentha* (*la Menthe*), *Lavandula* (*la Lavande*), *Marrubium* (*le Marrube*), *Nepeta* (*L'Herbe aux chats*), *Ocimum* (*le Basilic*), *Origanum* (*l'Origan*), *Rosmarinus* (*le Romarin*), *Salvia* (*la Sauge*), *Satureja* (*la Sarriette*) et *Thymus* (*le Thym*) (**Boutlelis.D et al.,2014**).

Cette famille a une distribution presque cosmopolite. Mais concentration importante dans les régions méditerranéennes. Généralement plantes de milieux ouverts (**Radorphe.E,2002**). Certains des genres comme *nepeta*, *phlomis*, *eremostachys*, *salvia* et *lagochilus* ont une grande diversité méditerranéenne (**Ferzench.N et al.,2005**). La famille des Lamiacées comprend des plantes aromatiques et médicinales, qui sont utilisés dans la médecine traditionnelle, bien que les espèces de cette famille soient bien connues pour leur teneur en huile volatile, leurs activités thérapeutiques et d'autres propriétés. Cela reflète l'existence d'autres composants chimiques, tels que les polyphénols (**Bouterfas.K et al.,2014**).

L'espèce de *Mentha*, *Thymus*, *Salvia*, *Origanum*, *Coleus* et *Ocimum* sont utilisés comme arômes alimentaires, Aussi plusieurs espèces de cette famille sont utilisées dans les traditions et les modernes médicaments (**Ferzench.N et al.,2005**).

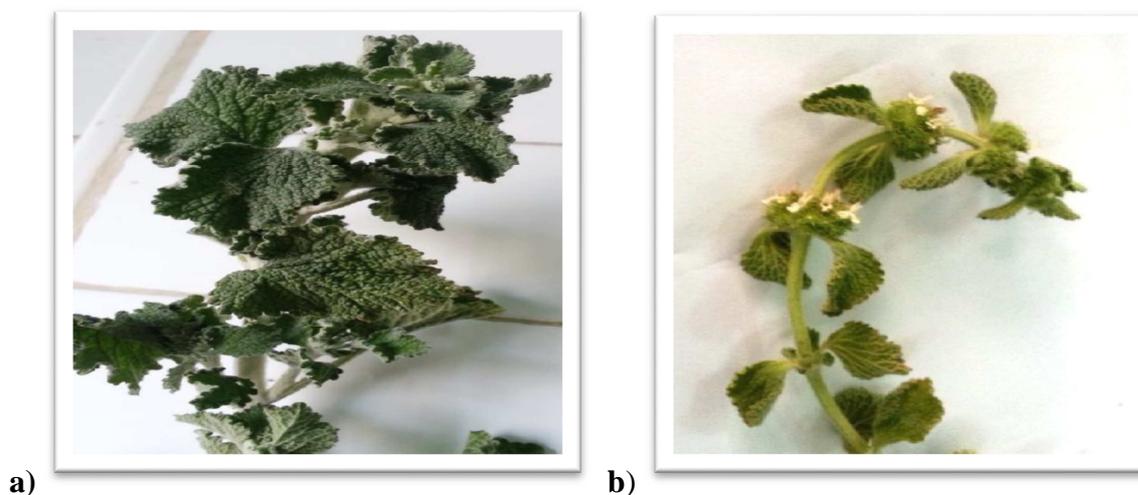


Figure N° :1 *Marrubium vulgare*. a- Stade végétatif; b- stade reproducteur

4-5-Composition chimique

On y trouve Lactones diterpéniques (marrubine, 0,3-1 %), mucilage, pectine, alcaloïdes, stachydrine, bétonicine, Stérols, triterpènes, sels minéraux (Iserin.P,2001) flavonoïdes, tannins et huile essentielle (riche en sesquiterpènes) (Gregoriz.I *et al.*,2013),. on pense que la marrubine est responsable de l'effet expectorant de la plante et de son pouvoir amer. elle régularise les battements cardiaques (Iserin.P,2001).

4-6-Effets et usages médicaux

Le marrube blanc était employé, dans l'antiquité, contre les affections respiratoires. Le médecin grec **dioscoride** le recommandait déjà en décoction pour soigner la tuberculose, l'asthme et les toux (Iserin.P,2001). Il est aujourd'hui apprécié pour ses propriétés expectorantes contre la toux. Ses fleurs renferment des lactones qui agissent sur le système respiratoire **W.Starabo** et Hildegarde de Bingen ont déjà fait cette constatation .pour **W.Starabo** contrairement à son apparence de plante assez fragile, le marrube est tout puissant : « son odeur est douce, sa saveur ne l'est guère mais il combat les pénibles maux qui angoissent la poitrine ». Hildegarde de Bingen recommande : « si on tousse, prendre du marrube, faire cuire dans du vin, passer dans un linge et boire ». Par contre au moyen âge, on lui attribue d'autres vertus obsolètes aujourd'hui. **W.Starabo** en fait un contre poison. **Macer Floridus** se monte que le marrube est une panacée : combiné avec le miel, le marrube déterge les blessures et cicatrice, les ulcères, rongeurs. Pris en boisson, il apaise les douleurs de côte.

Le jus desséché de cette plante est efficacement employé dans tous les cas que vous venant 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. Cependant le marrube est nuisible à ceux qui souffrent de la vessie ou des reins .ces usages sont aujourd'hui obsolètes (**Josy.M,2012**). La marrubine étant un expectorant et un amer puissant, le marrube blanc est prescrit dans le traitement des difficultés respiratoires, des bronchites, des bronchectasies (dilatation pathologique des bronches), des bronchites asthmatiformes, des toux sèches et de la coqueluche. Il fluidifie les mucosités. Tonique amer, le marrube blanc est apéritif et améliore le fonctionnement de l'estomac. Il régularise également le rythme cardiaque. Jadis très répandu, son emploi en décoction pour soigner diverses affections cutanées est aujourd'hui pratiquement abandonné (**Iserin.P,2001**).

5-Les métabolites secondaires

Les plantes renferment une part importante des composés qui interviennent dans l'ensemble des réactions enzymatiques ou biochimiques ayant lieu dans l'organisme. On distingue ainsi deux groupes de métabolites: les métabolites primaires et les métabolites secondaires(Muanda.F,2010).Les métabolites primaires sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie. Ces métabolites sont directement impliqués dans les processus vitaux essentiels au développement normal et à la reproduction des cellules, parmi ces derniers, il ya les glucides, les protéines, les lipides et les acides nucléiques(Macheix.J,2005).Les métabolites secondaires contrairement aux métabolites primaires, ils ne participent pas à l'assimilation des nutriments, ni à leur transformation et ils sont aussi chimiquement très différentes. Malgré leur faible poids moléculaire, pour certains leur structure peut être d'une très grande complexité. Leur fonction essentielle est de défendre et de protéger la plante contre toutes sortes d'agent pathogène, de parasites phytophages ou de prédateurs vertébrés et invertébrés. Ils sont aussi synthétisés en réactions aux facteurs abiotiques tels que la sécheresse ou à l'effet des rayons ultraviolet et autres. Certains de ces composés chimiques sont également efficaces pour lutter contre les autres plantes concurrentes. Les métabolites secondaires sont parfois volatils et ils servent de moyen de communication entre plantesde mêmes ou de différentes espèces.La concentration des métabolites secondaires chez les plantes est variable et dépend du climat, de l'altitude ainsi que des différents stress biotiques et abiotiques.

Les plantes ne sont pas les seuls à profiter de leurs métabolites secondaires. En effet, il existe de nombreux exemples d'automédication chez les animaux. Ces derniers savent choisir les plantes capables de les soigner de diverses maladies.Les sociétés humaines proches de la nature en font de même et les scientifiques s'inspirent de ces métabolites secondaires pour créer de nouveaux susceptibles de soigner nos maladies(Pierre.J,2016).

5-1-Définition

-Le terme «métabolite secondaire», qui a probablement été introduit par **Albrecht Kossel** en **1891**, est utilisé pour décrire une vaste gamme de composés chimiques dans les plantes, qui sont responsables des fonctions périphérique indirectement essentielles à la vie des plantes.

-Jusqu'à une époque récente, on avait tendance à considérer comme des « déchets » du métabolisme, ne présentant pas d'intérêt apparent pour l'organisme qui les synthétise.

Mais aujourd'hui, on sait que ces substances ont souvent un rôle de messagers chimiques, responsables des relations qui ne sont établies entre les êtres vivants(**Boutineau.M,2010**).

-Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches, ils ont un intérêt multiple, ils sont mis à profit aussi bien dans l'industrie alimentaire, cosmétique que pharmaceutique. Ils sont largement utilisés en thérapie comme vasculo-protecteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et anti-radicalaires(**Muanda.F,2010**).

-Les polyphénols sont présents partout dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles de tous les végétaux. Les principales sources alimentaires sont les fruits et légumes, les boissons (vin rouge, thé, café, jus de fruits), les céréales, les graines oléagineuses et les légumes secs. Les fruits et légumes contribuent environ pour moitié à notre apport en polyphénols(**Muanda.F,2010**).

5-2-Classification des métabolites secondaires

Dans le monde végétal, on estime qu'il y a plus de 200000 métabolites secondaires différents. (**Pierre.J,2016**).on peut classer en trois grandes catégories essentielles : les composés phénoliques, les terpénoïdes, et les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine(**Parsaeimehr.Aet al.,2011**).

5-3-Composés phénoliques

5-3-1-Définition

Les composés phénoliques ou les polyphénols constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. Sont des produits du métabolisme secondaire des plantes(**Bouterfas.Ket al.,2014**).Ils ont largement distribués et comportant au moins 8000 structures connues différentes. Cette biosynthèse a permis la formation d'une grande diversité de molécules qui sont spécifiques d'une espèce de plante, d'un organe ou d'un tissu particulière(**Chami.F,2005**).

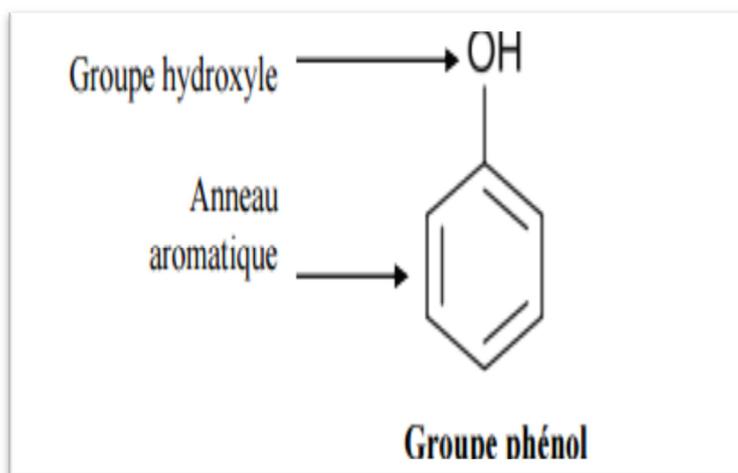


Figure N°:2 Groupe phénol

5-3-2-Flavonoïdes

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols(**Roux.Det al.,2007**). Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, dont les plus importantes sont les flavones, les flavonols, les flavanones, les Dihydroflavonols, les isoflavones, les isoflavanones, les chalcones, les aurones et les anthocyanes.Ces diverses structures se rencontrent à la fois sous forme libre (aglycone) ou sous forme de glycosides(**Boutlelis.D,2014**).

Les flavonoïdes présents dans la plupart des plantes, sont des pigments polyphénoliques qui contribuent, entre autres, à colorer les fleurs et les fruits en jaune ou en blanc et ils assureraient aussi la protection des tissus superficiels contre les effets nocifs des rayonnements ultraviolets. Ils ont un important champ d'action et possèdent de nombreuses vertus médicinales Antioxydants, ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation Certains flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales, et des effets protecteurs sur le foie(**Iserin.P,2001**). Les flavonoïdes sont essentiellement des médicaments de l'insuffisance veineuse et de fragilité capillaire. Leur action se situe au niveau des petites veines et des protecteurs capillaires. Ils ont en effet une propriété vitaminique P c'est -à- dire qu'ils diminuent la perméabilité des capillaires sanguins et augmentent leur résistances.Ce sont des molécules pratiquement atoxiques, bien tolérées, mais d'action lente(**Roux.Det al.,2007**).

5-3-3-Tanins

Les tanins sont des substances polyphénoliques de structure variées, ayant en commun la propriété de tanner la peau, c'est-à-dire de la rendre imputrescible. Ces substances ont en effets la propriété de se combiner aux protéines en les précipitant, ce qui explique leur pouvoir tannant (Roux, Det al., 2007). Toutes les plantes contiennent des tanins à un degré plus ou moins élevé. Ceux-ci donnent un goût amer à l'écorce ou aux feuilles et les rendent impropres à la consommation pour les insectes ou les bétails. Ils permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections. Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples, comme dans le cas des veines variqueuses, pour drainer les sécrétions excessives, comme dans la diarrhée, et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure (Iserin, P., 2001). Ils ont un effet vasoconstricteur sur les petits vaisseaux superficiels d'où leur propriété astringente. Quelle que soit la voie d'administration l'effet antiseptique, antibactérien, et antifongique est intéressant, notamment pour les dermatoses. D'une façon générale se sont des inhibiteurs enzymatiques (Roux, Det al., 2007).

5-3-4-Coumarines

Les coumarines, de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses (Iserin, P., 2001). Elles existent sous forme libre soluble dans les alcools et dans les solvants organiques ou les solvants chlorés alors que les formes hétérosides sont plus ou moins solubles dans l'eau. Elles sont considérées comme des phytoalexines, celles-ci sont des molécules de faibles masses moléculaires provenant de voies métaboliques variées comme celle des phénylpropanoïdes ou des sesquiterpènes. Les phytoalexines sont synthétisées aux niveaux des sites d'infections et ont une activité antimicrobiennes démontrée *in vitro* (Hoffmann, L., 2013).

5-4-Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques, le plus souvent d'origine végétales, azotées, basiques sur le plan chimique ils constituent un groupe très hétérogène, le seul point commun est la présence d'un azote qui confère à la molécule un caractère basique plus ou moins prononcé. On rencontre les alcaloïdes chez nombreux végétaux, ils peuvent être présents dans tous les organes. Une plante renferme rarement un seul alcaloïde ; en général on a un mélange d'alcaloïdes de construction plus ou moins apparentée où l'un d'entre eux domine.

Les alcaloïdes existent rarement à l'état libre dans la plante, mais le plus souvent ils sont combinés à des acides organiques ou à des tanins(**Roux.Det al.,2007**).

Les alcaloïdes Formant un groupe très large, qui les rend pharmaceutiquement très actifs. Certains sont des médicaments connus qui ont des vertus thérapeutiques avérées C'est le cas d'un dérivé de la pervenche de **Madagascar** employé pour traiter certains types de cancer. D'autres alcaloïdes, comme l'atropine, présente dans la belladone, ont une action directe sur le corps : activité sédatrice, effets sur les troubles nerveux (**maladie de Parkmson**).On les trouve dans plusieurs familles des plantes, la plupart des alcaloïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool et ont un goût amer. La plupart du temps ils agissent à faible doses, mais peuvent posséder, même à très faible dose, une forte toxicité(**Iserin.P,2001**).

5-5-Terpenoïdes

Appelés aussi terpènes, constituent un vaste groupe de métabolites secondaires, ce sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou de chaîne ouverte(**Malecky.M,2008**).ils possèdent des structures, des propriétés physiques et chimiques et activités biologiques très diverses, par exempleLe taxol® et le taxotère®, diterpènes de l'if utilisés dans le traitement des tumeurs de l'ovaire, du poumon et du sein(**Krief.S,2004**)Les terpènes constituent le principe odoriférant des végétaux. Cette odeur est due à la libération des molécules très volatiles contenant 10, 15, 20 atomes de carbones(**Malecky.M,2008**).Le terme de terpenoïde est attribué à tous les composés possédant une structure moléculaire construite d'un monomère à 5 carbones appelé isoprène, ces composés sont majoritairement d'origine végétale. Synthétisés par les plantes, organismes marins, les champignons et même les animaux, ils ne sont pas spécifiques des végétaux puisque le squalène, le cholestérol ou encore des sesquiterpènes et des diterpènes se rencontrent chez les animaux ((**Krief.S,2004**). Cependant, l'extrême diversité des terpenoïdes chez les végétaux contraste avec le petit nombre détecté chez les animaux.Lesterpenoïdes sont les constituant principaux des huiles essentielles des résines et des cires des nombreux plantes (**Malecky.M,2008**).La classification des terpenoïdesest basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène en donnant des hémiterpènes (C5), monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), sesterpènes (C25), triterpènes (C30), tetraterpènes (C40) et polyterpènes(C10) n avec $n > 8$ (**Connolly.Jet al.,1984**).

5-5-1-Stérols

Sont des constituants essentiels des membranes cellulaires. On les trouve aussi bien chez les animaux que dans les végétaux. Les stérols, très largement répandus dans le monde vivant, se rencontrent aussi bien chez les bactéries, les champignons, les plantes supérieures, les protozoaires, les métazoaires que chez les algues(Naitsaid.N ,2007)

Parmi les stérols, le plus important du point de vue activité biologique, est le β -sitostérol présent dans toutes les plantes y compris les fruits et les légumes. On les retrouve également dans des aliments comme les germes de blé ou de soja, les huiles végétales comestibles telles que l'huile de graines de tournesol ou de maïs. Des études faites sur des animaux ont montré que le béta sitostérol, comme son glucoside, possèdent des propriétés anti-inflammatoire, antipyrétique, antinéoplasique et immuno-modulatrice, il a des effets antitumoraux, observés sur les cellules de cancer humain de la prostate(Seghiri.R,2000).

5-5-2-Saponines

Principaux constituants de nombreuses plantes médicinales, les saponines doivent leur nom au fait que, comme le savon, elles produisent de la mousse quand on les plonge dans les solutions aqueux. Ce sont des hétérosides de poids moléculaires élevé.il sont solubles dans l'eau et dans l'alcool dilué. Les saponines existent sous deux formes, les stéroïdes et les triterpénoïdesLa structure chimique des stéroïdes est similaire à celle de nombreuses hormones humaines (œstrogène, cortisone), et de nombreuses plantes qui en contiennent ont un effet sur l'activité hormonale(Roux.Det al.,2007). Lessaponosides ont également une action veinotrope et même des propriétés analgésiques, anti-inflammatoire et anti-oedémateuse ce qui justifie leur emploi dans les manifestations de l'insuffisance veineuse, le traitement des signes fonctionnels de la crise hémorroïdaire et dans les troubles dela fragilité capillaire(Iserin.P,2001).

II -Généralités

1-Propriété des champignons

1-1-Définition

Les champignons sont des microorganismes appartenant au domaine Eucaryotes possédant une paroi rigide et un vrai noyau .ils ne contiennent pas de pigments photosynthétiques .ils sont moins différenciés que les plantes, mais présentent un degré d'organisation plus élevé que les bactéries procaryotes. Le règne des champignons (Mucota,Fungi) comprend plus de 50000 espèces différentes. Parmi celles –ci, environ 200 sont actuellement connues comme agents infectieux. Seulement une douzaine de ces espèces pathogènes sont responsables de plus de 90 % des mycoses .beaucoup de mycoses sont relativement bénignes, comme par exemple dermatomycoses .ces dernières années cependant, le nombre de mycoses sévères menaçant le pronostic vital a augmenté .une raison en est l'augmentation des patients présentant un déficit immunitaire quelle qu'en soit la cause (Fritz.K *et al.*,2008).

Tableau N° :1 : Quelques différences entre champignons et bactéries (Fritz.K *et al.*,2008).

Propriétés	Champignons	Bactéries
Noyau	Eucaryote, membrane Nucléaire, mitose	Procaryote, pas de membrane nucléaire, « nucléoïde »
Cytoplasme	Mitochondries, réticulum endoplasmique, ribosomes 80s	Pas de mitochondries, pas de réticulum endoplasmique, ribosomes 70s
Membrane cytoplasmique	Stérols (ergostérol)	Absence de stérols
Paroi membranaire	Glucanes, mannanes , chitine , mannoprotéines	Muréine acide teichonique (exceptions), protéines
Métabolisme	Hétérotrophes, le plus souvent aérobie, absence de photosynthèse	Hétérotrophes, aérobie facultatif ou strict et anaérobie
Grandeur, diamètre moyen	Levures : 3-5-10 µm. hyphomycètes :	1 -5 µm
Dimorphe	non définissable. Présent chez quelques champignons	absent

1-2-Morphologie : les champignons présentent différentes formes morphologiques

1-2-1-Hyphe .élément de base des champignons filamenteux. Structure ramifiée, tubulaire, 2-10 µm.

1-2-2-Mycélium

Enchevêtrement d'hyphes. Mycélium végétatif qui pénètre dans un milieu de culture et pousse en profondeur, mycélium aérien (reproduction asexuées) qui se développe au-dessus du milieu de culture.

1-2-3-Levure

Élément de base d'un champignon unicellulaire .aussi décrit comme blastospore .rond à ovale.

1-2-4-Pseudohyphes

Plusieurs levures allongées formant une chaîne et ressemblant ainsi aux hyphes.

1-2-5-Dimorphisme

Certains champignons en fonction des conditions environnementales, apparaissent sous forme de levure ou de mycélium, ce qui est décrit comme dimorphisme .les champignons pathogènes dimorphe se présentent au stade parasitaire (comme agent infectieux) sous forme de levure, et sous forme de mycélium au stade saprophyte (sur un milieu de culture ou dans l'environnement) (**Fritz.K et al.,2008**).

1-3- Métabolisme

Tous les champignons sont C hétérotrophes, ce qui signifie qu'ils sont dépendants de sources organiques exogènes de C comme substrat nutritif. La majorité des champignons sont aérobies stricts. Beaucoup d'espèces sont capables de pousser dans des milieux de culture simples. Il existe des espèces thermophiles, psychrophiles, acidophiles. Les mycètes sont généralement adaptés à des environnements qui seraient hostiles aux bactéries. Ils adsorbent le nutriment plutôt que de les ingérer comme le font les animaux .toutefois, ils se distinguent des bactéries par certains besoins que le milieu doit satisfaire et par des caractéristiques nutritionnelles suivantes :

- En règle générale, les mycètes se développent mieux dans un environnement dont le PH est d'environ 5, ce qui est trop acide pour la croissance de la plupart des bactéries habituelles.

- Presque toutes les moisissures sont aérobies .la plupart des levures sont des anaérobies facultatifs.
- la plupart des mycètes résistent mieux à la pression osmotique que les bactéries ; par conséquent, la plupart peuvent croître dans des milieux où la concentration de sucre ou de sel est relativement élevée.
- les mycètes peuvent se nourrir de substances qui contiennent une très faible teneur en eau, généralement trop faible pour permettre la croissance des bactéries.

Les mycètes ont un peu moins besoin de diazote que les bactéries pour atteindre un taux équivalent de croissances.

- les mycètes sont souvent capables de métaboliser des glucides complexes, tels que la lignine (un constituant du bois), que la plupart des bactéries ne peuvent pas utiliser comme nutriment.

Ces traits permettent aux mycètes de pousser sur des substrats qui semblent peu propices à la vie, tels que les murs des salles de bains, le cuir et les vieux journaux (**Gerard.J et al.,2012**).

1-4- Multiplication des champignons

1-4-1-Multiplication asexuée

Celle-ci comprend la multiplication végétative des filaments et des levures et la fraction végétative .c'est à dire la formation des spores asexuées (**Fritz.K et al.,2008**).

1-4-2- Multiplication sexuée

La multiplication sexuée des fungi perfecti (syn: eumycètes) suit en principe le même modèle que celui des eucaryotes supérieurs. Les noyaux de deux partenaires haploïdes fusionnent et forment un zygote diploïde. Les champignons qui parasitent les tissus humains rarement des spores sexuées. Chez beaucoup de champignons pathogènes, les structures de reproduction sexuelles ne sont pas connues ou ne sont pas sans doute même pas présentes. Ces champignons sont décrits comme Fungi imperfecti (syn : deutéromycètes) (**Fritz.K et al.,2008**).

1-5-L'importance économique des mycètes

Les mycètes sont aussi utiles, on les utilise en biotechnologie depuis des années. par exemple, *Aspergillus niger* sert à produire de l'acide acétique pour la préparation des aliments et des boissons depuis **1914**. la levure *saccharomyces cerevisiae* est employée pour faire du vin. Elle aussi été génétiquement modifiée pour produire diverses protéines, y compris un vaccin contre l'hépatite B. *Trichoderma* est utilisé commercialement pour produire de la cellulase, une enzyme qui permet d'éliminer les parois cellulaires des plantes et de clarifier ainsi les jus de fruits. quand on a découvert le taxol, un médicament anticancéreux provenant de l'if, on a craint que les forêts de ces conifères ne soient décimées dans la ruée pour la substance thérapeutique. Mais en **1993**, **Andrea et Donald Stierle** ont sauvé les ifs en découvrant que le mycète *Taxomyces* produit lui aussi du taxol. On utilise des mycètes dans la lutte biologique contre les insectes nuisibles. En 1990, le mycète *Entomophaga* s'est mis subitement à proliférer et à tuer la spongieuse, un papillon qui était en train de détruire les arbres dans l'est de l'États-Unis et du Canada. À l'heure actuelle, on poursuit des recherches en vue d'établir si ce mycète peut remplacer les insecticides chimiques. Chaque année, de 25 à 50 % des fruits et des légumes cueillis sont gâtés par les mycètes. On ne peut pas utiliser les fongicides chimiques contre ce fléau pour des raisons de sécurité et de sécurité et de protection de l'environnement. Toutefois, on peut employer sans risques, et on le fait, un autre mycète, *Candida oleophila*, pour empêcher la croissance des mycètes sur les fruits cueillis. Ce biopesticide est efficace parce que *C. oleophila* recouvre la surface des fruits avant que les mycètes nuisibles s'y établissent. les recherches se poursuivent pour trouver d'autres mycètes utiles dans la lutte contre les parasites :

- *Metarrhizium* pousse sur les racines des plantes, et certains charançons parasites meurent après s'être nourris des racines.
- Au Texas, on a découvert un mycète sur des insectes qui se nourrissent d'aubergines. On espère utiliser ce mycète comme nouvelle arme de biocontrôle contre l'aleurode, une petite mouche blanche très répandue qui occasionne des pertes importantes en agriculture
- *Coniothyrium minitans* s'attaque aux mycètes qui détruisent les cultures de soja et d'autres légumineuses.

Dans la lutte contre les termites dissimulées dans les troncs d'arbres et d'autres endroits difficiles d'accès, on a mis aux points une mousse contenant *Poecilomyces fumosoroseus*. On mise sur cette arme biologique comme solution de rechange aux insecticides chimiques (Gerard.J *et al.*,2012).

2-Aspect généraux des maladies dues aux champignons

Plus de la moitié de la population mondiale est infectée par des eucaryotes pathogènes. L'organisation mondiale de la santé (OMS) compte 6 maladies parasitaires parmi les 20 premières causes de mort par infection microbienne au monde. Depuis les 20 dernières années, on assiste à une augmentation de l'incidence des mycoses graves. Il s'agit d'infection nosocomiales qui touchent les personnes dont le système immunitaire est affaibli. De plus, des milliers de maladies fongiques affectent les plantes qui ont une valeur économique importante, causent des pertes de plus d'un milliard de dollars par année (Gerard.J *et al.*,2012).

2-1-Candidoses

Définition

Ce sont des infections dues à des champignons du genre *Candida*. Ces champignons sont des levures anascopées produisant un pseudo ou vrai mycelium. Au moins 70 % des infections à *Candida* sont provoquées par *C. albicans*. Le reste est dû à *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii*, *C. krusei* et quelques autres espèces plus rares de *Candida* (Fritz.K *et al.*,2008).

2-1-2-*Candida albicans*

Généralité

Les levures sont des champignons microscopiques unicellulaires se multipliant par bourgeonnement. Le *Candida albicans*, souvent associé à un champignon microscopique, est un microorganisme de la famille des levures qui se trouvent normalement dans l'organisme humain en quantité relativement limitée. Cette levure représente la cause de pathologies graves et dont la fréquence reste constante malgré le développement de nouveaux moyens thérapeutiques, en particulier chez des patients immunodéprimés (Fritz.K *et al.*,2008).

2-1-3- Morphologie

Candida albicans est une levure non capsulée, non pigmentée, et aérobie. Cette levure diploïde, dont le matériel génétique se répartit en huit chromosomes, se reproduit de façon asexuée par bourgeonnements multilatéraux d'une cellule mère (le blastospore) formant ainsi des colonies blanches crémeuses.

Au niveau morphologique, cette levure peut mesurer de 3 à 15 μm , et est caractérisée par un polymorphisme

- La forme blastospore, ronde ou ovale, mesurant de 2 à 4 μm avec parfois un bourgeon de formation
- La forme pseudomycélium, mesurant de 500 à 600 μm de longueur et de 3 à 5 μm de largeur, composée d'un assemblage de cellules mises bout à bout pour simuler un filament mycélien
- La forme mycélium vrai, champignon filamenteux, spécifique de l'espèce *Candida albicans*, où la conversion d'une levure en filament mycélien passe par l'intermédiaire d'une structure appelée le tube germinatif. Cette forme favorise l'invasion des tissus et des organes de l'hôte (Youcef Ali.M.,2014) .

2-1-4-Ecologie

La levure *C. albicans* est dimorphe, caractérisée par deux formes, la forme normale appelée « levure » et la forme infectieuse appelée « mycélium ». Elle n'est jamais retrouvée sur la peau saine, elle se plaît à vivre dans des endroits particulièrement chauds et humides du corps humain, sa nourriture préférée est le glycogène, un sucre complexe des cellules épithéliales formant la peau et les muqueuses. Plus les cellules du corps contiennent de glycogène, plus *Candida* s'en nourrit et se développe. Au niveau des muqueuses digestives et vaginales, la levure se présente sous forme de blastospores, considérées comme la forme saprophyte qui vit en symbiose avec l'organisme hôte. En revanche, lorsque le délicat équilibre entre la forme commensale et les défenses immunitaires est rompu, cette étroite symbiose se transforme en parasitisme, résultant en une maladie infectieuse appelée candidose. Au niveau des tissus infectés, *Candida albicans* est retrouvée simultanément sous les formes de blastospores et de mycélium. Alors que la forme blastospore reste non-invasive,

la forme mycélienne est capable de pénétrer les muqueuses. La contamination est essentiellement inter humaine, soit par transmission fécale, soit par contact direct (salive, sécrétions, mains). En milieu hospitalier, les levures du genre *Candida* et en particulier *Candida albicans* représentent la cause majeure des infections nosocomiales opportunistes d'origine mycosique.

Candida albicans peut aussi être isolée de manière exceptionnelle dans la nature (sol, plante, atmosphère, eau...) mais cela résulte en général d'une contamination fécale (**Youcef Ali.M.,2014**) .

2-1-5-Taxonomie

Le genre *Candida* comprend environ 200 espèces dont les plus rencontrées en pathologie humaine sont: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. parapsilosis*, *C. kefyr* et *C. dubliniensis*. Sur le plan taxonomique, les *Candida* sont classés parmi les Ascomycètes (**Youcef Ali.M.,2014**) .

Règne : *Fungi*

Division : *Ascomycota*

Classe : *Saccharomycetes*

Ordre : *Saccharomycetales*

Famille : *Saccharomycetaceae*

Genre : *Candida*

Espèce : *Candida albicans*

2-1-6- Pathogénie du *candida*

Candida est présent comme commensal sur les muqueuses de l'homme et de l'animal. les infections à *candida* sont pour cette raison considérée comme des infections endogènes .les candidoses surviennent le plus souvent chez des patients avec résistance abaissée , principalement en cas de neutropénie, corticothérapie , diabète ou de traitement antibiotique à large spectre (levée de la résistance de colonisation) .

Les muqueuses sont le plus affectées, plus rarement la peau et les organes internes, ou la cavité abdominale en cas de complication de la chirurgie abdominale (candidose profonde). En cas d'infection de la cavité buccale, on observe des revêtements blanchâtres adhérents sur la muqueuse jugale et la langue. La vulvo-vaginite ressemble, d'un point de vue macroscopique, à la candidose buccale. La peau est principalement infectée au niveau des parties humides et chaudes du corps. Les ongles (onychomycose) peuvent être envahis. *Candida* peut aussi envahir le poumon et, par dissémination hématogène, les reins, le cœur et d'autres organes. La candidose chronique que mucocutanée est considérée comme la conséquence d'une altération de l'immunité cellulaire (Fritz.K *et al.*, 2008).

2-2-Aspergillose

2-2-1-Aspergillus

Généralités

Les *Aspergillus* sont des moisissures appartenant à la classe des Ascomycètes.

Morphologiquement, le genre *Aspergillus* comprend des champignons dont le mycélium est cloisonné (Eumycètes) et porte de nombreux conidiophores dressés, non ramifiés, terminés en vésicules. Les phialides sont portées soit directement sur les vésicules (tête conidienne unisériée), soit sur des métules (tête conidienne bisériée) alors que les spores (conidies) sont sèches, en chaînes et unicellulaires. Les *Aspergillus* sont des contaminants très communs, polyphages dont certaines souches pouvant être pathogènes pour l'Homme et pour les végétaux par la production de toxines. Cependant, d'autres souches représentent un intérêt industriel pour la préparation d'aliments fermentés et pour la production d'enzymes et d'acides organiques. Ce genre comprend environ 185 espèces réparties en 18 groupes morphologiquement, génétiquement et physiologiquement proches. Une vingtaine d'espèces est impliquée dans des pathologies animales et humaines. Les *Aspergillus* ont une large répartition géographique, mais sont plus souvent associés aux régions à climat chaud.

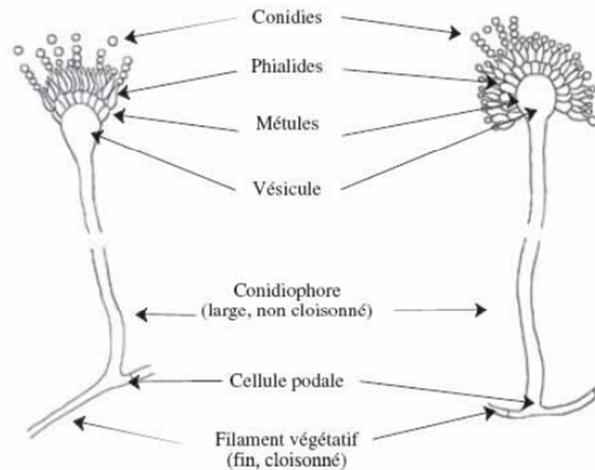


Figure N° : 3 Principaux caractères morphologiques des *Aspergillus* (Tabuc.C,2007)

2-2-2-Définition

Est une mycose opportuniste qui touche particulièrement les poumons ; elle est causée par *aspergillus* (formes de hyphes filamenteux cloisonnés qui ont environ 3-4 μ m d'épaisseur et présentent une ramification en forme Y). Les aspergilloses les plus fréquemment rencontrées sont dues à *aspergillus fumigatus* et *A.flavus* .plus rarement on trouve *A. niger*, *A. nidulans* et *A .terreus*. Cependant *fumigatus* est responsable d'au moins 90 % des cas d'aspergillose. Les *aspergillus* se rencontrent de façon ubiquitaire dans la nature. On les observe plus fréquemment sur des plantes en décomposition.

2-2-3-Pathogénie de l'aspergillus

La porte d'entrée la plus importante de l'agent infectieux est l'arbre bronchique, mais les germes peuvent aussi pénétrer par des lésions cutanées ou muqueuses. (Fritz.K *et al.*,2008).

2-2-4-Aspergillose du système respiratoire

l'aspergillome est un nodule de champignons circonscrit qui se développe en règle général dans une caverne préexistante (p. ex. caverne tuberculeuse) .une autre affection pulmonaire est représentée par la pneumonie chronique nécrosante .

chez les patients neutropéniques, atteints du SIDA ou greffés, survient l'aspergillose pulmonaire aiguë invasive de mauvais pronostic. Une autre aspergillose des voies respiratoires est la trachéobronchite. Les aspergillus sont parmi les champignons, ceux qui sont le plus souvent impliqués dans les infections des sinus nasaux. Une des mesures importantes de prévention de l'aspergillose pulmonaire chez les patients greffés de moelle osseuse est la filtration de l'air avec des filtres de haute efficacité dans les unités de soins stériles (Fritz.K *et al.*, 2008).

2-3- Propriétés pathogènes des mycètes

Bien qu'ils causent des maladies, les mycètes ne sont pas caractérisés par un ensemble bien défini de facteurs de virulence. Certains mycètes produisent des métabolites qui sont toxiques pour les hôtes humains. Toutefois, dans ce cas-là, la toxine humaine est seulement une cause indirecte de la maladie, puisque le mycète est déjà en croissance sur ou dans l'hôte. Certains d'entre eux, tels que les moisissures qui poussent dans les maisons, peuvent provoquer une réaction allergique chez l'hôte. Les trichothécènes sont des toxines fongiques qui inhibent la synthèse des protéines dans les cellules eucaryotes. Elles provoquent des irritations cutanées, des maux de tête, des vomissements graves, de la diarrhée, des problèmes oculaires et, parfois, des hémorragies pulmonaires fatales. *Stachybotris* et *Fusarium* sont des mycètes qui poussent sur les murs endommagés par l'eau. Au cours des dernières années, les trichothécènes ont causé la mort de plusieurs nourrissons.

Il semble évident que certains mycètes présentent des structures et des propriétés qui contribuent à leur virulence. *Candida albicans* et *Trichophyton* sont deux mycètes qui provoquent des infections cutanées et sécrètent des protéases. On croit que ces enzymes modifient la membrane des cellules de l'hôte de façon à permettre l'adhérence du microbe. *Cryptococcus neoformans* est un mycète qui entraîne un type de méningite ; il produit une capsule qui l'aide à résister à la phagocytose. Certains mycètes ont acquis une résistance aux médicaments antifongiques, notamment en réduisant la synthèse de leurs récepteurs pour ces produits.

L'ergotisme, maladie courante en Europe au moyen âge, est le fait d'une toxine produite par un ascomycète pathogène des plantes, *Claviceps purpurea* – l'ergot – qui pousse sur les céréales, dont le seigle.

La toxine est un alcaloïde qui peut causer des hallucinations .Elle provoque aussi la constriction des capillaires et peut entraîner la gangrènes des membranes en enrayant la circulation du sang dans le corps.

Plusieurs autre toxines sont élaborées par les mycètes qui croissent sur les céréales ou autres plantes .par exemples le beurre d'arachide est occasionnellement retiré de la vente en raison d'une quantité excessive d'aflatoxine, substance qui a des propriétés cancérogènes. L'aflatoxine est produite par la croissance de la moisissure *Aspergillus flavus*. A la suite de son ingestion, elle se transformerait dans le corps humain en un composé mutagène.

Quelques mycètes sont à l'origine de toxines appelées mycotoxines. La phalloïdine et l'amanitine, qui proviennent d'*Amanita phalloides*, sont des exemples de mycotoxines. Ces neurotoxines sont assez puissantes pour causer la mort de ceux qui mangent ce champignon macroscopique (**Gerard.J et al.,2012**).

1-Matériel végétal

Les échantillons utilisés dans cette étude sont les feuilles de *Marrubium vulgare* ces dernières ont été récoltées au moins de février 2017 de la région d'Ain sandel (Wilaya de Guelma). Elles sont séchées à l'air libre et conservées à l'abri de la lumière et de l'humidité.

2-Etude phytochimique

2-1-Tests préliminaires de la composition chimique

2-1-1- Alcaloïdes

À 01g de la poudre végétale sont ajoutés 5ml de H₂SO₄. Le mélange est agité et macéré pendant 24 heures. À 1 ml du filtrat sont versées 5 gouttes du réactif du Mayer. La formation du précipité blanc- jaunâtre indique la présence d'alcaloïdes. (Edeogal *et al.*,2005)

2-1-2-Tanins

À 01 g de la poudre sont dispersées dans 20 ml d'eau bouillante. Après infusion pendant 15 mn. Le filtrat est couplé à 100 ml par l'eau distillée. À 5 ml de filtrat sont ajoutés quelques gouttes d'une solution de chlorure ferrique (FeCl₃) 2%. Après l'agitation le test positif se traduit par l'apparition d'une couleur brun-vert. (Edeogal *et al.*,2005).

2-1-3-Flavonoïdes

La fonction phénolique des flavonoïdes donne des colorations variées. La réaction du FeCl₃ et du groupement phénol est révélée par l'apparition d'une couleur verdâtre.

01g de la poudre végétale sont solubilisées dans 25ml d'eau distillée. Le mélange est porté à ébullition pendant 15 mn puis filtré. (Edeogal *et al.*,2005)

À 02 ml la solution extractive sont ajoutés 2 à 3 gouttes de solution de FeCl₃ à 2 %. le test positif est révélé par l'apparition d'une couleur verdâtre

À 2ml de la solution extractive sont ajoutés 2 à 3 gouttes d'une solution diluée de FeCl₃ à 2 %. le test positif est révélé par l'apparition d'une couleur verdâtre. (Edeogal *et al.*,2005).

2-1-4- Saponosides

À 100ml d'eau distillée bouillante sont ajoutées 1g de la poudre. le mélange est maintenu à ébullition pendant 15mn. Après filtration, le volume est complété à 100ml.

Remplir 1ml du décocté à 1% préparé dans un tube à essai et ajuster le volume à 10ml avec de l'eau distillée. Ensuite, agité l'ensemble est laissé au repos, laisser reposer pendant 15 mn. L'apparition d'une mousse qui dure quelque instant indique la présence des saponosides. (Edeogal *et al.*,2005)

2-1-5-Coumarines

À 01g de la poudre végétale sont versées quelques gouttes d'eau distillée. Le tube est recouvert avec un papier imbibé d'une solution de NaOH et porté dans un bain marie pendant quelques minutes. Puis 0.5ml de NH₄OH dilué (10%) sont ajoutés. deux tâches sont déposées sur un papier filtre puis examiné sous la lumière UV. La fluorescence des tâches confirme la présence des coumarines. (Edeogal *et al.*,2005).

2-1-6 -Sterol non saturés et les triterpènes

5 g de la poudre végétale sont macéré dans 20ml de chloroforme, puis 1ml de l'acide sulfurique H₂SO₄ sont ajoutées au filtrat. L'apparition d'une couleur verte à la surface de contact entre les deux phases indique la présence des stérols insature et triterpènes (Edeogal *et al.*,2005)

3-Préparation de l'extrait méthanolique

Elle se fait selon les étapes suivantes

3-1-Délipidation

200 g de plante *Marrubium vulgare* sont macérés dans l'éther de pétrole cette macération et répéter trois fois avec filtration et renouvellement du solvant à chaque fois.

3-2-Dépigmentation

Le résidu obtenu après la délipidation est macéré trois fois avec le chloroforme en filtrant à chaque fois

3-3-L'Extraction de polyphénols (extrait méthanolique)

Il est procédé à la macération par le méthanol. Cette opération est refaite trois fois avec filtration à chaque fois. Les trois filtrats sont ensuite récupérés et évaporés dans un rot à vapeur. Le résidu est récupéré dans des flacons hermétiquement ferme, puis laissé de séché à l'air libre pour évaporer le maximum du méthanol.

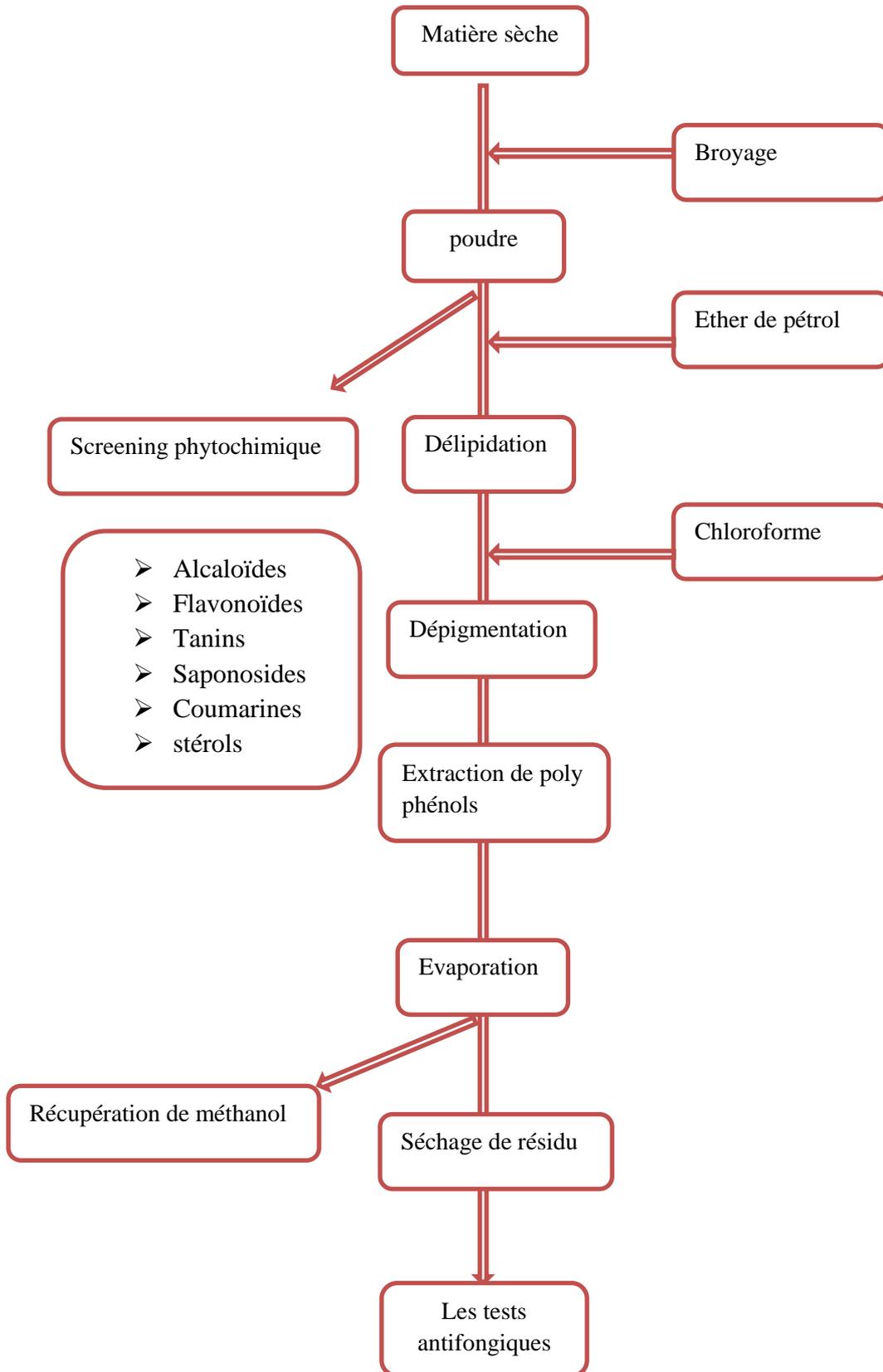


Figure N°4: Protocole expérimentale.

4-Analyse des extraits méthanoliques de *Marrubium vulgare***4-1-Dosage des polyphénols**

La teneur en composés phénoliques des extraits méthanoliques de *Marrubium vulgare* (EMMV) a été déterminé par la méthode de folin-ciocalteu (Talbi.H et al., 2015). Ce dosage est basé sur la réduction en milieu alcalin de la mixture phosphotungstic (WO_4^{-2}), phosphomolybdic (MO_4^{-2}) du réactif de folin par les groupements oxydables des composés polyphénoliques, conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleue. Ces derniers présentent un maximum d'absorption dont l'intensité est proportionnelle à la quantité du polyphénol présent dans l'échantillon. (Talbi.H et al., 2015). 200 μ l de chaque extrait sont ajoutés à 1 ml de réactif de folin le mélange est homogénéisé et incubé pendant 4 minutes, 800 μ l d'une solution de carbonate de sodium Na_2CO_3 (0,75%) sont ensuite additionnés au milieu réactionnel. L'absorbance est mesuré à $\lambda = 765$ nm. La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de la courbe d'étalonnage établie avec l'acide gallique (0-200 μ g/ml) et exprimée en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait (Talbi.H et al., 2015).

Tableau N° :2 Dosage des polyphénols totaux de L' extrait méthanoliques de *Marrubium vulgare*

Concentrations mg/ml	0	50	100	150	200
La densité optique	0	0.435	0.814	1.310	1.683

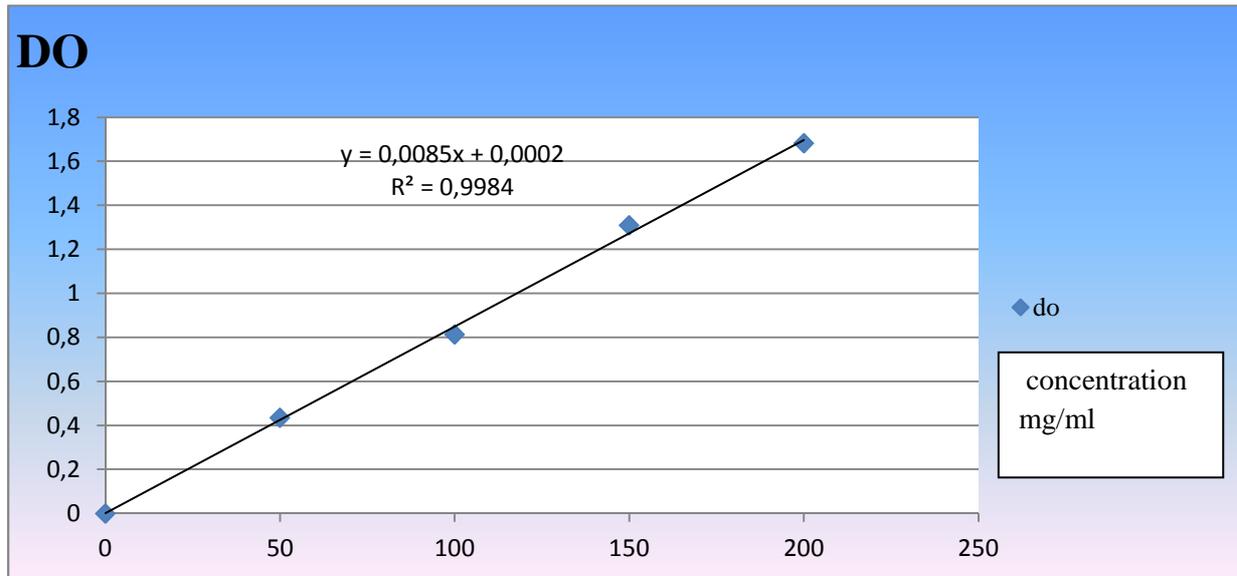


Figure N° :5 Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

5-Séparation par chromatographe sur couche mince (CCM)

Deux microlitres de l'extrait sont déposés à des points repères à 1,5 cm du bord inférieur de la plaque. Les phases mobiles sont préparées ; la première est constituée d'un mélange de l'acétone/eau (20/20), la deuxième est composée d'acide acétique/méthanol/eau (50/67,5/5) pour la troisième, il est utilisé un mélange de chloroforme/méthanol/eau (50/67,5/5), et le dernier est composé d'acétate d'éthyl/méthanol/eau (50/67,5/5). Les plaques sont observées sous lampe UV à $\lambda = 254$ nm. Des RF sont donnés par la formule suivante :

$$Rf = \frac{\text{distance parcourue par l'échantillon}}{\text{distance parcourue par le solvant}}$$

6- Détermination de l'activité antifongique

6-1- Souches utilisées

Les champignons utilisés proviennent du laboratoire de bactériologie de l'hôpital * Ibn Zohr * Il s'agit de : *Candida albicans* et *Aspergillus Niger*.

L'activité antifongique est déterminée par la méthode de diffusion de disque. Le milieu de culture utilisé est sabouraud-dextrose Agar (SDA) pour les deux souches.

6-2 Isolement des souches fongiques

Les champignons à tester sont ensemencés par stries sur des boîtes de sabouraud-dextrose Agar (SDA) puis incubée pendant un jour pour la levure *Candida albicans* et deux jours pour *Aspergillus niger*.

6-3-Test de méthanol

Après ensemencement, les disques stériles de papier whatman de 6 mm de diamètre sont déposés en surface à raison de trois disques par boîte, 200 µl de méthanol sont déposés sur chacun disque, ils sont incubés à 28°C pendant 24h pour *Candida albicans* et 48h à 28°C pour *Aspergillus Niger*.

6-4- contrôle positif

Des disques contenant les antifongiques (phanazol, kétoconazol et Imuzol) avec des concentrations croissantes de (10, 50, 100, 150, 200, 250 et 1000) mg/ml sont déposés à la surface du milieu contenant les deux souches sélectionnées, ces boîtes sont incubées à 28°C pendant 24h, 48h et 72h.

1-Screening phytochimique des feuilles de *Marrubium vulgare*

Analyse au laboratoire

Le screening phytochimique a permis de mettre en évidence la présence des métabolites secondaire au niveau de la plantes étudiée. La détection de ces composés chimiques est basée sur des réactions de précipitation, apparition de mousse, un changement de couleur spécifique ou un examen sous UV.

1-1- Alcaloïdes

L'apparition de précipité blanc a signifié la présence des alcaloïdes dans les feuilles de plantes choisie.

1-2-Coumarines

L'apparition des taches fluorescentes violettes et jaunâtres après L'exposition du chromatogramme à la vapeur de l'ammoniaque et sa visualisation sous UV confirme la présence des coumarines chez les feuilles de plante

1-3- Tanins

L'apparition d'une coloration brune verdâtre a montré la présence des tanins dans les feuilles de *Marrubium vulgare*.

1-4- Stérols

Le test de stérols montré que la surfase de contacte entre les deux phases à une couleur verte, cela indique l'existence des stérols insature et triterpènes

1-5-Flavonoïdes

L'apparition d'un Précipité blanche signifié que les feuilles de *Marrubium vulgare* contiennent des flavonoïdes.

1-6-Saponosides

L'apparition d'une mousse qui dure quelques instant confirme la présence des saponosides.

Tableau N° :3 Résultats du Screening phytochimique de plante

Teste plante	Les Tanins	Les Alcaloïdes	Les saponosides	Les coumarines	Les flavonoïdes	Les stérols
<i>Marrubium vulgare</i>	+++	+	+	+++	+++	+

1) +++ : quantité important,

2) + : quantité faible

2-Résultats de l'antifongigramme et l'aromatogramme

2-1-Test de méthanol

La Figure (N° :7) illustré que le test méthanol est négatif réalisé sur les microorganismes étudiées, ce dernier ne présent aucun pouvoir antifongique

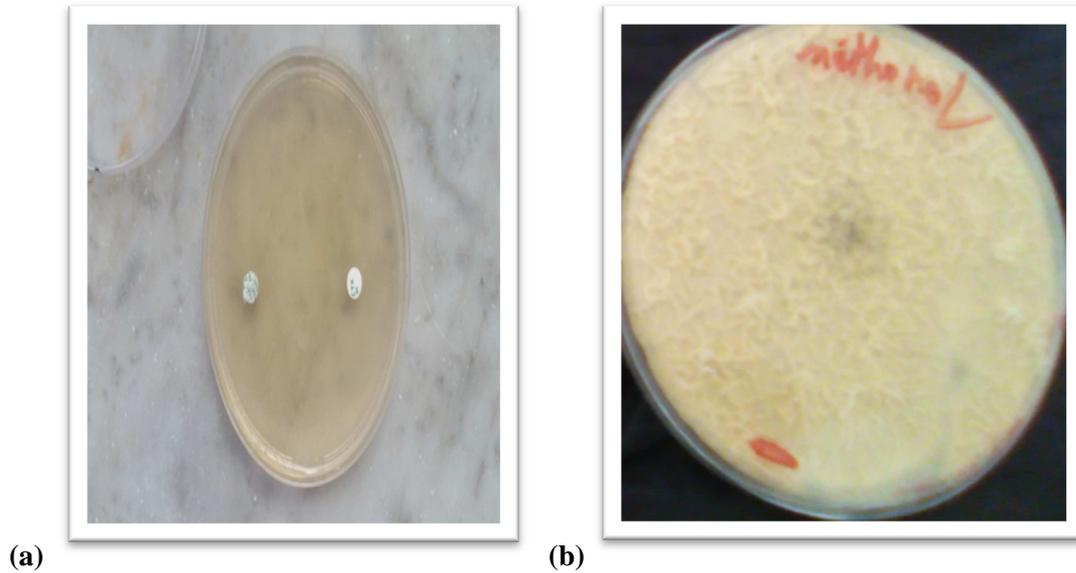


Figure N°:6 Effet du méthanol sur les deux souches fongique (a)levure *condida albicans* et (b) champignon *Aspergillus Niger*

2-2-Antifongigramme

Les Tableaux N° : 4, N° : 5, N° :6, N° : 7, N° :8, N° :9, N° :10 et N° :11. Les Figures N° :8, N° :9, N° :10, N° :11 N° :12, N° :13, N°14 et N° :15, font apparaitre les résultats des antifongiques testés sur les microorganismes étudiés

2-3-Teste positif de *candida albicans*

A-Observation après 24h des antifongiques:

Tableau N° : 4 Diamètres d'inhibition des antifongiques

concentrations mg/ml	10	50	100	150	200	250	1000
antifongiques							
phanazol	0	0	0	2	6	7	0
kétoconazole	0	0	3	5	6	10	7
Imuzol	0	0	0	0	1	7	0

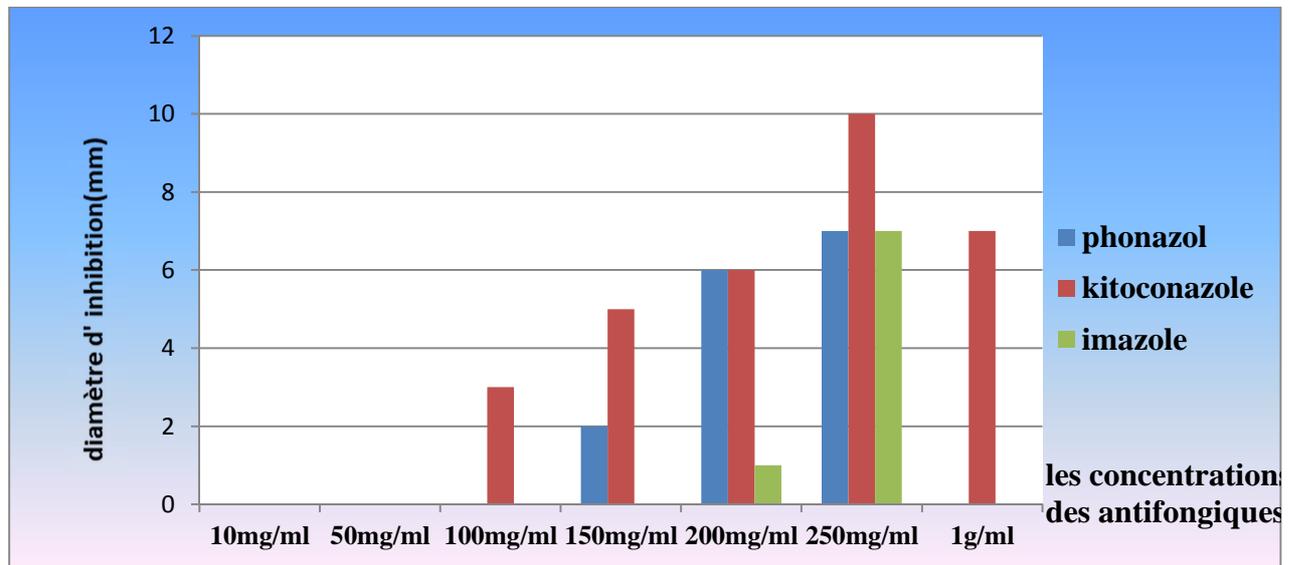


Figure N°: 7 Diamètres d'inhibition des antifongiques testés sur *condida albicans*

La souche s'est manifestée d'une part résistante ou phanasole et le kitoconazole pour les concentrations 10mg/ml et 50mg/ml. Et d'autre part, sensible pour les concentrations 100, 150, 200, 250mg/ml. Pour l'imudazol la souche est présente une sensibilité pour les concentrations (200 et 250mg/ml) avec des diamètres de (1et 7mm).

B-Observation après 24h avec l'extrait

Tableau N° :5 Diamètres d'inhibition de l'extrait méthanoléque :

Concentrations L'extrait mg/ml	10	50	100	150	200	250	1000
L'extrait	++	+++	++++	+++	++	+++	++

1) +++ : quantité important

2) ++ : quantité faible

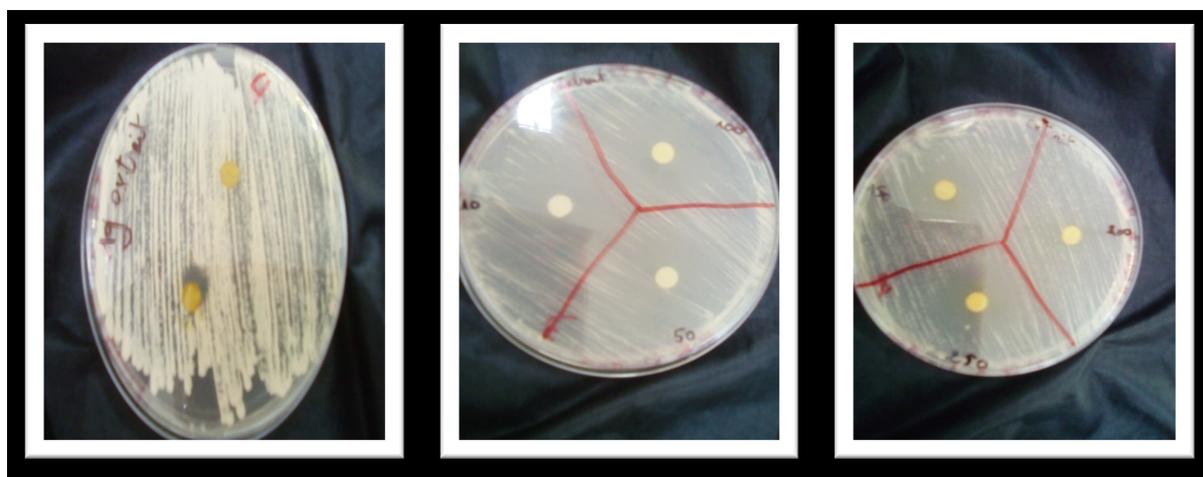


Figure N° :8 Aromatogramme de l'extrait méthanoléque de *marubium vulgare* testé sur *condida albocans* après 24h

D'après les résultats obtenus, l'extrait méthanoléque de *marubium vulgare* exerce un effet antifongique sur *condida albocans* avec des diamètres variante de 2 mm à10 mm

C-Observation après 48h avec les antifongiques:

Tableau N° :6 Diamètres d'inhibition des antifongiques testés sur de *condida albocans* après 48h

Concentrations antifongiques mg/ml	10	50	100	150	200	250	1000
phanazol	0	0	0	2	4	7	0
kétoconazol	0	0	2	5	6	10	4
Imuzol	0	0	0	0	1	5	0

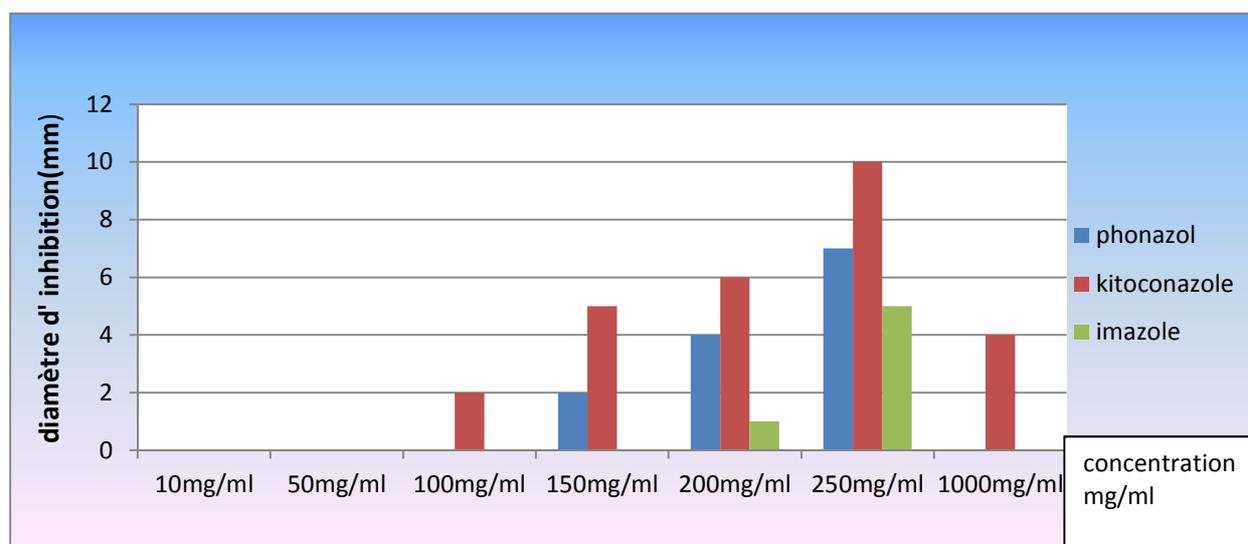


Figure N° :9 Diamètres d'inhibition des antifongiques sur *Candida albicans* après 48h

La souche s'est manifestée d'une part résistante ou phanasol et kétéconazol pour les concentrations 10 et 50 mg/ml. Et d'autre part, sensible pour les concentrations 100, 150, 200 250mg/ml avec des diamètres de (2 et 10mm). Pour l'imuzol la souche est présente une sensibilité pour les concentration (200 et 250mg/ml) avec des diamètres de (1et 5mm).

D- observation après 48h avec l'extrait

Tableau N° :7 Diamètres d'inhibition de *Candida albicans* avec l'extrait méthanolique

Concentrations Mg/ml	10	50	100	150	200	250	1000
résultat	++	+++	++++	+++	++	++	++

2-4-Test positif d'*Aspergillus Niger*

A-Observation après 48h avec les antifongiques

Tableau N°: 8 Diamètres d'inhibition des antifongiques testés sur d'*Aspergillus Niger*

concentration mg/ml antifongiques	10	50	100	150	200	250	1000
phanazol	2	6	9	6	9	7	12
kétoconazol	2	1	3	5	6	4	5
Imuzol	0	7	5	2	5	5	8

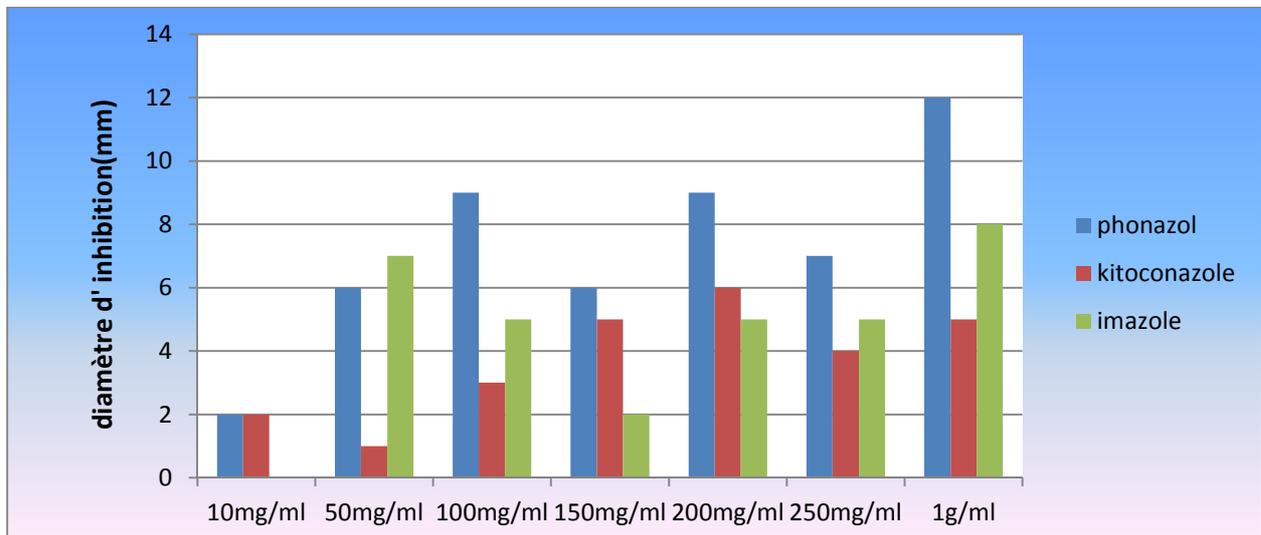


Figure N° :10 Diamètre d'inhibition des antifongiques testés sur *Aspergillus Niger*

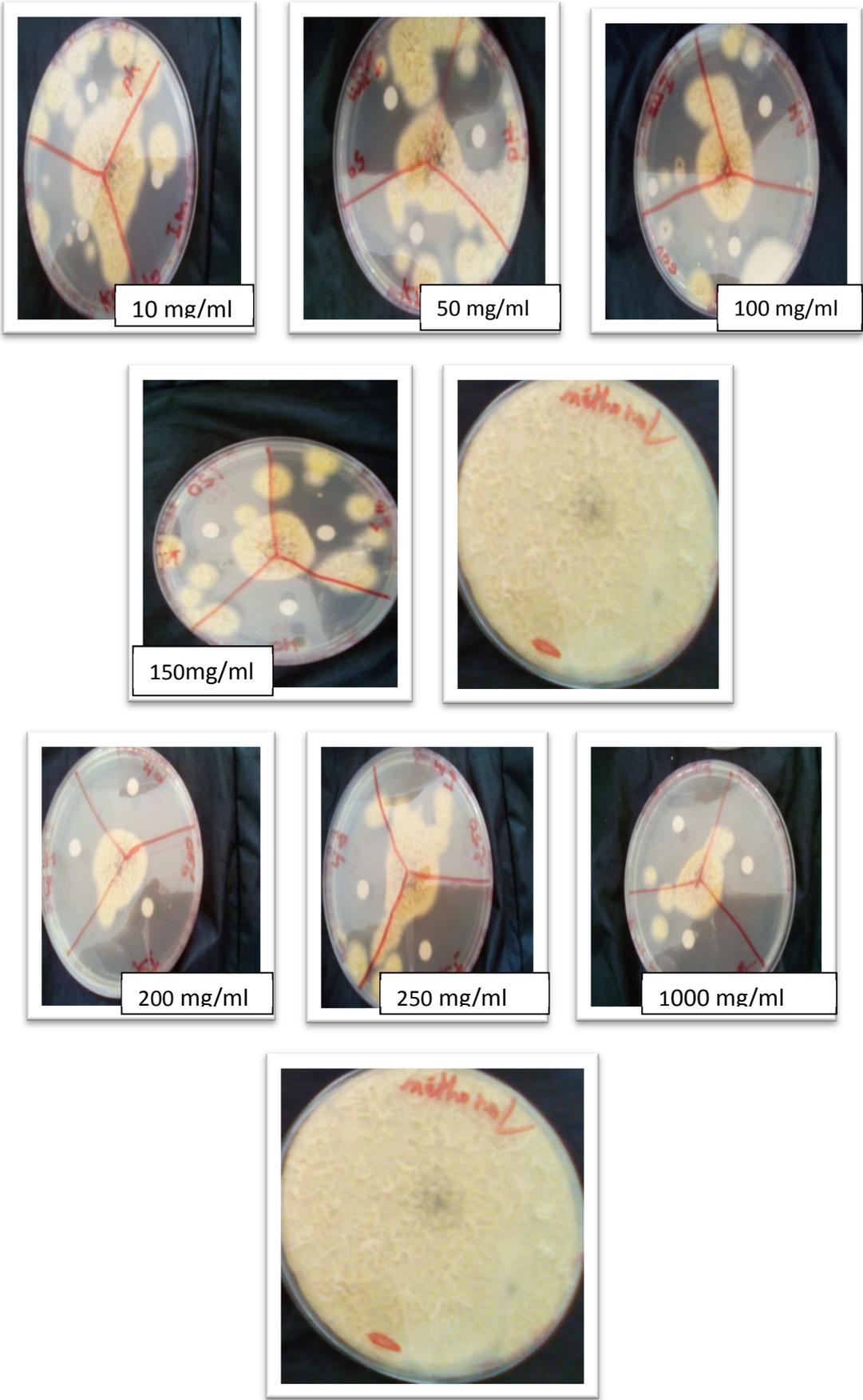


Figure N° :11 Effet des antifongiques sur *Aspergillus Niger* après 48h

B-Observation après 48h avec l'extrait :

Tableau N°: 9 Diamètres de l'inhibition d'*Aspergillus Niger* avec l'extrait MMV

concentration mg/ml L'extrait	10	50	100	150	200	250	1
Les résultats	+++	+++	+++	+++	++	++	++

1)+++ :quantité important

2)++ :quantité faible

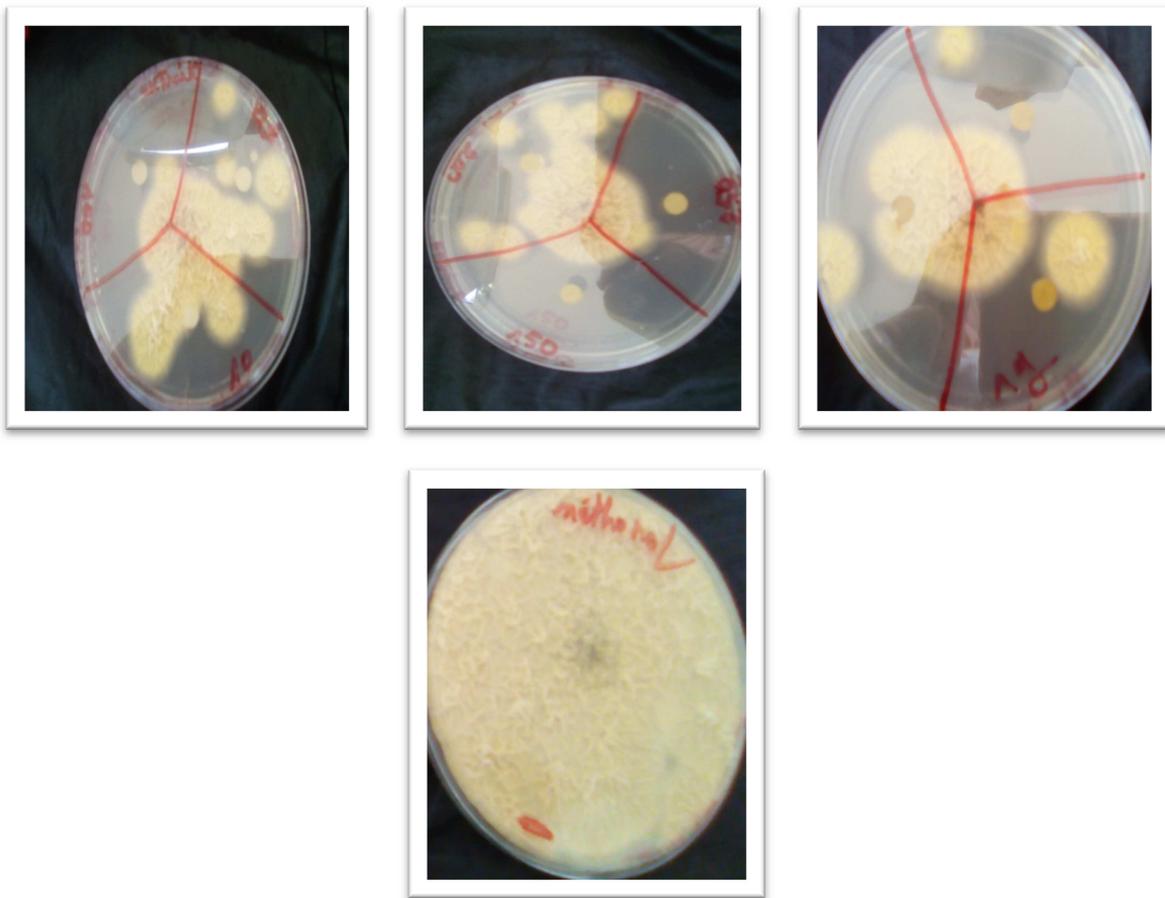


Figure N° :12 Aromatogramme de l'extrait MMV testé sur *Aspergillus Niger* dans 48h

C-Observation après 72h avec les antifongiques :

Tableau N° :10 Diamètres d'inhibition d'*Aspergillus Niger* avec les antifongiques

Concentration mg/ml antifongique	10	50	100	150	200	250	1
phanazol	0	2	5	5	5	6	10
kétoconazol	0	0	0	3	0	0	2
Imuzol	0	2	0	0	0	1	2

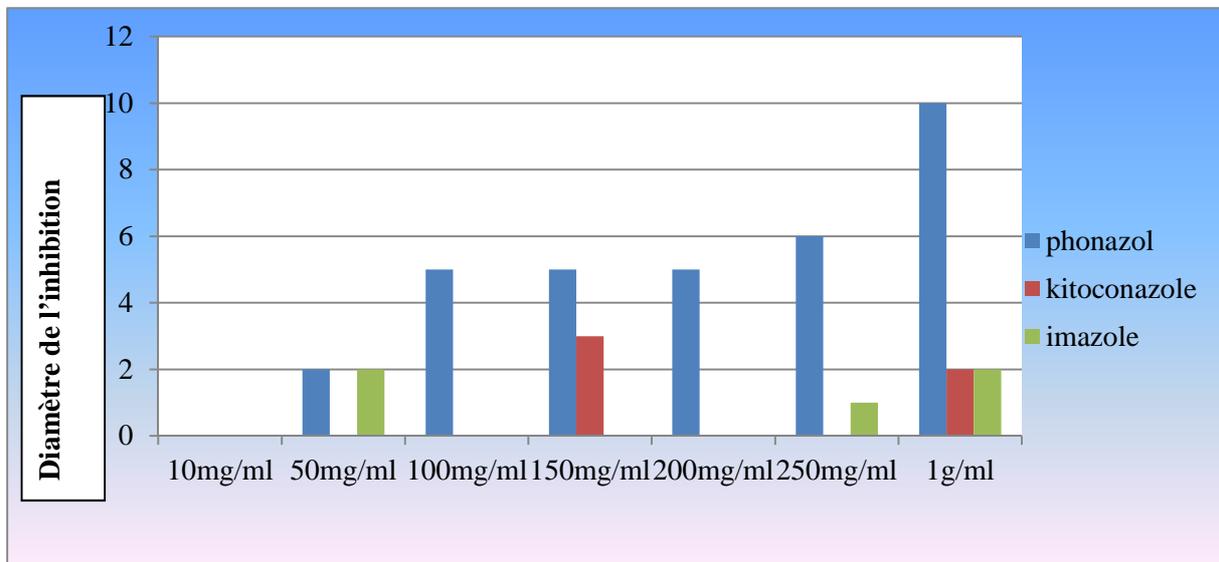


Figure N° :13 Diamètres d'inhibition d'*Aspergillus Niger* avec les antifongiques

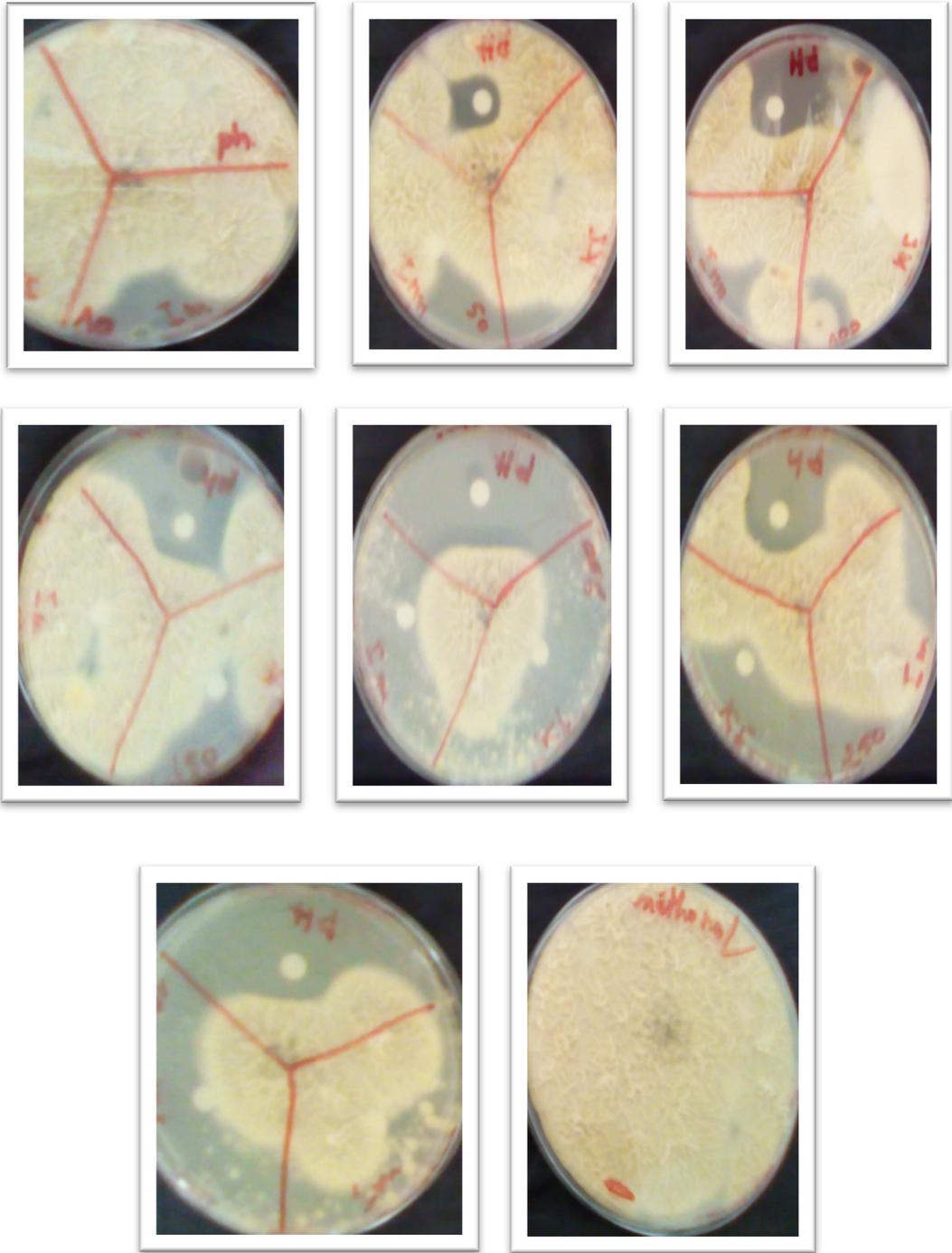


Figure N° :14 Effet des antifongiques testés sur l'Aspergillus Niger dans 72h

D-Observation après 72h avec l'extrait :

Tableau N° :11 Diamètre de l'inhibition d'*Aspergillus Niger* avec de l'extrait MMV après 72

concentrations mg/ml L'extrait	10	50	100	150	200	250	1000
Résultats	++	++	+++	+++	++++	+++	++

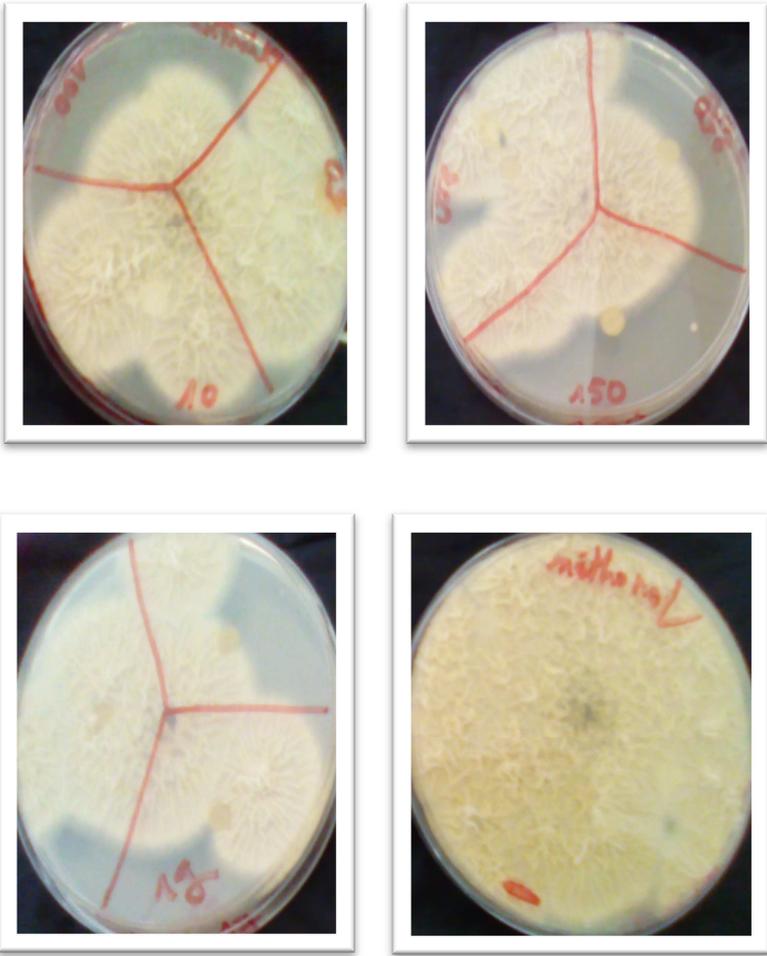


Figure N° :15 Aromatogramme de l'EMMV sur *Aspergillus Niger* après 72h

3-Dosage des polyphénols totaux :

Les Dosage des polyphénols totaux sont exprimés dans les deux **Tableaux N°2, N° :12**. La méthode modifiée de Folin-ciocalteu s’est avérée efficace pour le dosage des polyphénols totaux dans l’extrait méthanolique MV. Cette méthode a été choisie car elle satisfait aux critères de reproductibilité et de faisabilité.

Tableau N° :12 Teneur en polyphénol totaux de l’EMMV

	Teneur en polyphénol (mg EAG/g extrait)
L’EM <i>Marrubium vulgare</i>	75.50

4-Chromatographie sur couche mince CCM

L’analyse par chromatographie sur couche mince et l’observation sur une lampe à UV à une longueur d’onde $\lambda = 254$ nm. quatre systèmes de solvant sont utilisés afin d’étudier la solubilité des molécules composant cet extrait de l’extrait. Les phases sont : acétone /eau (20V/20V), acide acétique/méthanol/eau (50V/67.5V/5V) acétate d’éthyle/méthanol/eau (50V/67.5V/5V), chloroforme/méthanol/eau(50V/67.5V/5V)

Tableau N° :13 Valeurs des Rapports frontaux (Rf) du solvant Acétone/méthanol/eau

Acétone/méthanol/eau		
Les Tâches	Rapports frontaux (Rf)	Les couleurs
Tâches 1	0.05	Orange
Tâches 2	0.34	Orange
Tâches 3	0.65	Vert clair

Tableau N° :14 Valeurs des Rapports frontaux (*R_f*) du solvant Acide acitique /méthanol/eau

Acide acitique /méthanol/eau		
Les Tâches	Rapports frontaux (<i>R_f</i>)	Couleur
Tâches 1	0.6	Bleu clair
Tâches 2	0.65	Vert clair

Le système de migration constitué d'Acétate d'éthyle, de méthanol et d'eau (50V/67.5V/5V), a permis d'avoir une très bonne séparation chromatographique et une visibilité acceptable des taches par rapport aux autre système de migration (.Acétone/méthanol/eau, Acide acitique /méthanol/eau, chloroforme/méthanol/eau)

Tableau N° :15 Valeurs de Rapports frontaux (*R_f*) du solvant Acétate d'éthyle /méthanol/eau

Acétate d'éthyle/méthanol/eau		
Les Tâches	Rapports frontaux (<i>R_f</i>)	Les Couleurs
Tâches 1	0.10	Bleu
Tâches 2	0.15	Bleu
Tâches 3	0.60	Orange foncé
Tâches 4	0.63	Orange clair
Tâches 5	0.72	Vert

Tableau N° :16 Valeurs de Rapports frontaux (*R_f*) du solvant chloroforme /méthanol/eau

chloroforme/méthanol/eau		
Les Tâches	Rapports frontaux (<i>R_f</i>)	Les Couleurs
Tâches 1	0.48	Bleu clair
Tâches 2	0.75	Orange

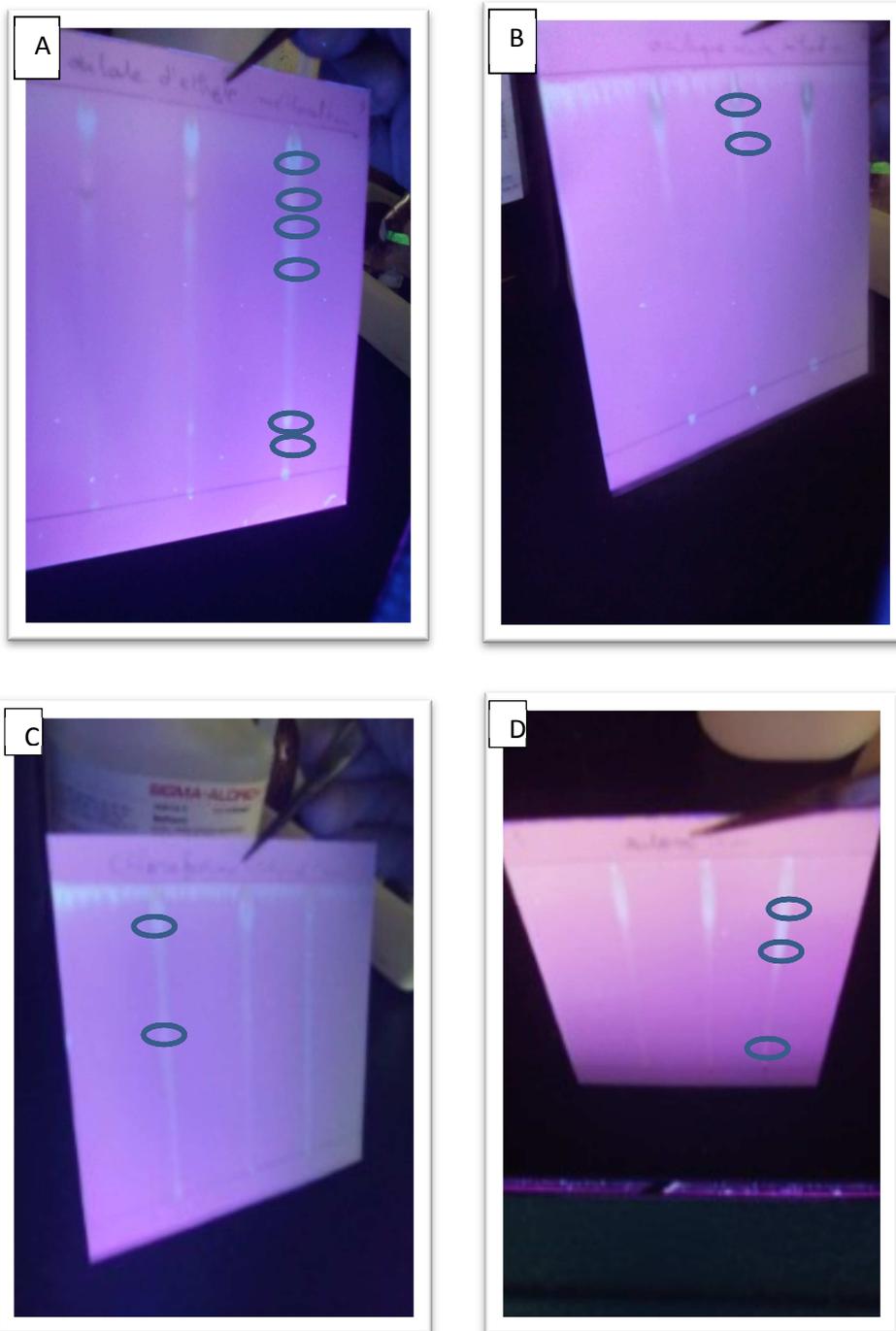


Figure N°:16 Chromatographie sur couche mince de l'extrait méthanoléque
Système de solvant (A : Acétate d'éthyle/méthanol/eau, B : acide acitique/méthanol/eau
C : chloroforme/méthanol/ eau, D : Acétone/méthanol/eau)

I-Analyses qualitatifs de la plante

-Le screening phytochimique

Le potentiel d'une plante médicinale est attribué à l'action de ses constituants phytochimiques. Ils sont produits comme métabolites secondaires, en réponse au stress environnemental ou pour assurer un mécanisme de défense aux agressions provoquant des maladies chez les végétaux (MOHAMMEDI, 2013).

Le screening phytochimique a permis de mettre en évidence la présence de quelques métabolites secondaire (Tanins, flavonoïdes, alcaloïdes, stérols, coumarines et saponosides) La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais des réactions de précipitation, un changement de couleur et l'observation sous lampe UV. L'examen phytochimique réalisé sur la partie aérienne de *Marrubium vulgare* a révélé la présence des Tanins et des flavonoïdes en quantités importantes par contre les autre composant sont en quantités moins importante (**TableauN° :2**). La CCM réalisés, a montré la richesse de cet extrait en produits de différente solubilité dont les effets thérapeutique sont nombreux. Les résultats sont contradictoire avec ceux déterminée par (Kahlouche,2015) qui n'ont pas détectées la présence des coumarines et des alcaloïdes

II-Analyses quantitatives de l'extrait

Les composés phénoliques (acides phénoliques, tannins et flavonoïdes) forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes car ils exercent un effetpharmacologique et assurer un mécanisme de défense aux agressions provoquant des maladies chez les végétaux.

La détermination de la teneur en phénols totaux dans l'extraitde*MarrubiumVulgare*est estimée par la méthode de Folin- Ciocalteuqui est basée sur la réduction en milieu alcalin de la mixture phosphotungstique (WO_4^{-2}) phosphomolybdique (MoO_4^{-2}) du réactif de Folin par les groupements oxydables des composés phénoliques, conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleue. Ces derniers présentent un maximum d'absorption à longueur d'onde $\lambda = 760$ nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon.(**TableauN° : 11**). La teneur en composés phénoliques de l'extrait méthanoliquesont exprimés en mg équivalent acide gallique par gramme de matière sèche (mgEAG/g E) a été calculée à partirde la courbe d'étalonnage de l'acide galliquereprésentés dans le(**TableauN° : 12**).Des études sont concentrés sur l'effet de différent extraits de cette plante sur les champignons. Les résultats montrent que la teneur en phénols totaux de l'extrait méthanolique est de (75.50 mg/g).Cette valeur est supérieur à celle obtenu par

(dallali,2017) (44.86 mg/g) et (Aouadhi, C2014)(26.8mg/g).Mais elle est inférieure à celle obtenu par (Bouterfas.k 2014)(293.34mg /g) et(moulessehoul, y et al) en 2012(147.5mg /g).

Il est bien connu que le contenu des composés phénoliques pourrait être influencé par les conditions environnementales, Tels que la saison et la phase de la germination (ATHAMENA, 2009). La période d'échantillonnage et l'origine géographique, les précipitations et les températures, et Type de sol. En outre, il existe plusieurs facteurs expérimentaux qui peuvent influencer sur des composés phénoliques bioactifs de l'extrait. Ces facteurs comprennent la méthode d'extraction, le temps et la température d'extraction, le type et la concentration du solvant Utilisé (Bouterfas, k et al., 2014). Ce qui influence sur la composition chimique de ces composants aussi que l'activité biologique (ATHAMENA, 2009).

Malgré l'effet antifongique remarquable de marubede *M. Vulgare*, Cet effet demeure important à celui des antifongiques (phanazol, imazol et kétoconazol). Cela due au teneur important en composés phénoliques de l'extrait qui contribuent à cette activité. L'extrait méthanolique de *Marrubium Vulgare* est révélé actif sur les deux souches fongiques testées mais avec des degrés différents. Le Tableau N° : 4, N° : 6 et la Figure N° 9, N° : 10, N° : 12) montrent que *C. albicansa* présente une sensibilité importante pour les 24h et les 48h .pour la souche d'*Aspergillus. Niger* et après 48h, il est observé une faible sensibilité (Tableau N° : 10, N° : 9) et (Figure N° : 17, N° : 18, N° : 19, N° : 20). Les résultats obtenus sont en accord avec ceux déterminés par (MAAROUFI, A. et al., 2014) qui ont montré que cet extrait avait un effet plus important.

Des études complémentaires récentes s'intéressent sur l'activité antibactérienne de l'extrait *marrubium vulgare*. (Aouadhi. C. et al., en 2014) ils ont trouvés que l'extrait *M. vulgare* a eu une activité significative contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives. Tous ces résultats valorisent *M. vulgare* comme plante médicinale qui peut être une source de composés actifs biologiques. Ainsi, cette espèce pourrait être une bonne source pour une enquête plus approfondie dans le développement de nouveaux antimicrobiens et même antioxydants. Il peut être utilisé comme additif naturel dans les industries alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques au lieu de composés synthétiques plus toxiques.

L'analyse phytochimique qualitative pu mettre en évidence la présence des alcaloïdes, des flavonoïdes, des tanins, des Saponosides, des stérols et des coumarines avec un teneur important en flavonoïdes et en tanins.

Les résultats obtenus montrent que l'extrait méthanolique De *marrubium vulgare* a une valeur de 75.50mg/g. Cette étude révèle que l'extrait méthanolique des feuilles de *Marrubium. Vulgar* est plus actif contre les souches fongiques testées. en perspective, Il serait important que d'autres types d'extraits puissent être essayés pour retrouver d'éventuelles activités. Les résultats obtenus *in vitro* ne constituent qu'une première étape dans La recherche de substances d'origine naturelle biologiquement active. Par conséquent, des études complémentaires sur la composition chimique de l'extrait ainsi que l'étude *in vitro* et *in vivo* de cette activité antimicrobienne sont nécessaires.

- ARMANDO, Grassia¹. FELICE, Senatore¹. NELLY, Apostolides Arnold. MAURIZIO, Bruno. FRANCO, Piozzi. DANIELA, Rigano. CARMEN, Formisano. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils from Aerial Parts of Two *Marrubium* sp. (Lamiaceae) Growing Wild in Lebanon. Polish J. Chem, 2006, 80 623–628.
- AOUADHI, Chadia. GHAZZAZI, Hanene. HASNAOUI, Brahim. MAAROUFI, Abderrazak. Total phenolic content, antioxidant and antibacterial activities of *marrubiumvulgare* methanolic extract. Tunisien journal of medicinal plants and naturel products, 2014, 11(1) 1-8.
- ASADI-SAMANI, Majid. KAFASH-FARKHAD, Najme. AZIMI, Nafiseh. FASIHI, Ali. ALINIA-AHANDANI, Ebrahim. RAFIEIAN-KOPAEI, Mahmoud. Medicinal plants with hepatoprotective activity in Iranian folk medicine. Asian pacific journal of tropical biomedine, 2015, 5(2) 146-157.
- BRUMO, P Kremer. Plantes médicinales. Vigot, 2000, p 224.
- BOTINEAU, Michel. Botaniques systématiques et appliquées des plantes à fleurs. Lavoisier, 2010, p 333.
- BEATRIX, Falch. ROGER, Eltbogen. BEAT, Meier. La Phytothérapie la base bien documentée De la Médecine classique. Organisations du corps médical, 2013,94(5) 161-163.
- BURCU, Bayir. HATICE, Gündüz. TUBA, Usta. ESMA, Şahin. ZEYNEP, Özdemir. ÖMER, Kayır. ÖZKAN, Şena. HÜSEYİN, Akşita. MAHFUZ, ELMASTASA. Ramazan, Erenler. Chemical Composition of Essential Oil from *MarrubiumVulgare* L. Leaves. Journal of new results in science, 2014,6 44-50.
- BOURI, Rachid. Étude de l'effet fongitoxique de 37 extraits de plantes aromatiques et médicinales sur différentes espèces de candida en milieu liquide. Thèses doctorat.

Universite Mohammed v Soussi rabat, 2014.

- BOUTERFAS, Karim. ZOHEIR, Mehdadi. DJAMEL, Benmansour. MEGHIT ,BoumediénKhaled. MOHAMED, Bouterfas. ALI, Latreche. Optimization of Extraction Conditions of Some Phenolic Compounds from White Horehound (*Marrubiumvulgare* L.) Leaves. International Journal of Organic Chemistry 20144292-308
-

- BOUTLELIS, djahraali. Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L. thèses doctorat. universitebadjimokhtarannaba, 2014.
 - CONNOLLY, J D. HILL, R A. dictionary of terpenoids. Chapman et hall, 1984, p 1.
 - DMITRUK, Marta. WERONIKA Haratym morphological differentiation of non-glandular and glandular trichomes on *marrubium vulgare* L. Modern Phytomorphology, 2014, 6(85) 1
 - FARZANEH, Naghibi. MAHMOUD, Mosaddegh. SAEED, Mohammadi Motamed. ABDOLBASET Ghorbani. Labiatae Family in folk Medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 2005, 2 63-79
 - FRITZ, H Kayser. ERIK C, Bottger. ROLF, M Zinkernagel. OTTO, Haller. JOHANNES, Eckert. PETER Deplazes. Microbiologie médical. Flamation médecine science, 2008, p 361-379.
 - GERARD, J Tortora. BERDELL, R Funke. CHRISTINE L Case. Microbiologie. Renouveau, 2012 p 161-169.
 - GREGORIS, Iatrou. FOTINI, Llamari. GIORGOS, Dimitrellos. TSAKIRI, Maria. Catalogue aromatic medicinal plants. Eptalofos S.A, 2013, P 59.
 - HOFFMANN, Laurent. Étude de métabolisme des phénylpropanoïdes. thèses doctorat. Université louis pasteur Strasbourg I, 2003
 - HULIN, A. DEGUILLAUME, M. BRETAGNE, S. BEZIE, Y. The good use of antifungal drugs in the treatment of invasive candidosis and aspergillosis. J Pharm Clin, 2005, 24(3) 127- 137.
 - HENSEL, W. Quelle est cette plante médicinale. Vigot, 2009, P 4 34.
 - ISERIN, Paul. Larousse des plantes médicinales. Andrew chevalier .2001, p 10 14 15.
 - JOSY, Marty Dufaut. Les plantes aromatiques et médicinales. Amazon, 2012, p 86 87 88.
 - KRIEF, SABRINA. Métabolites secondaires des plantes et comportement animal. Thèses doctorat. Muséum national d'histoire naturelle Paris, 2004.
 - KAHLOUCHE, RF. DJERROU, Z. GHORIBI, L. MANSOUR-DJAALAB, H. BENSRI, C. HAMDI-PACHA Y. chemical characterisation and antibacterial activity of
-

- phases obtained from Extracts of *artemisiaherba alba*, *marrubiumvulgare* and *pinuspinaster*. international journal of pharmacognosy and phytochemical Research, 2015,5(2) 270-274.
- MACHEIX, Jean- Jacques. Les composés phénoliques des végétaux. Presses polytechniques et universitaires romandes. 2005, p 37.
 - MALECKY, Mostafa. The metabolism of terpenoides in caprins. Thèses doctorat. Life Sciences Paris, 2008.
 - MUANDA, François Nsemi. Identification de polyphenols, évaluation de leur activité antioxydant et étude de leurs propriétés biologiques. Thèses doctorat. L'Université Paul Verlaine-Metz, 2010.
 - NAIT SAID, Nadia. Étude phytochimique des extraits chloroformiques des plantes: *pituranthoschloranthus* et *marrubiumvulgare*. Magisrer. Université El-Hadj Lakhdar Batna, 2007.
 - PARSAEIMEHR, Ali. ELMIRA, Sargsyan. ANUSH, Vardanyan. Expression of secondary metabolites in plants and their useful perspective in animal health. *AbahBioflux*, 2011, 3(2)115-124.
 - PIERRE, JOST Jean. YAN-CHIM Josf. Stratégie de défense des plantes contre les maladies et les parasites et quelques applications pratiques. *Connaissances et savoirs*, 2016 p 54 55
 - RADORPE, Edouard Spiciger. Botanique systématique des plantes à fleurs. Presses polytechniques et universitaire romandes, 2002, p 328.
 - ROUX, Danielle. ODILE Catier. Botanique pharmacognosie phytothérapie. *wolterskluwer*, 2007, p 9 67 74 75 89 90 72 73 73 111.
 - SEGHIRI, Ramdane. Recherche et détermination structurale Des métabolites secondaires du genre *centaurea*: *c. africana*, *c. nicaensis*. Thèses doctorat. universités Mentouri Constantine.
 - TABUC, Cristina. flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. thèses doctorat. l'institut national polytechnique de Toulouse et de l'université de Bucarest, 2007.
 - TOUAIBIA, Meriem. CHAOUCH, Fatma Zohra. Pouvoir antioxydant des extraits de *Myrtus communis* L obtenus *in situ* et *in vitro*. *Nature Technologie*, 2014, 10 3-8
-

- TALBI, H. BOUMAZA, A. EL MOSTAFA, K. talbi, G. HILALI, A. Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigellasativa*L. (Evaluation of antioxidant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigellasativa L.*). Mater Environ, 2015, 6(4) 1111-1117.
- YUCEF ALI, Mounia. Etude de l'activité anti-*Candida albicans* des Microorganismes isolés à partir du sol des zones arides. Thèse doctorat. Université Constantine 1, 2014.
- ZARAI, Zied. ADEL, Kadri. Ines. Ben Chobba, BEN MANSOUR, Riadh. BEKIR, Ahmed. MEJDOUB, Hafedh. NEJI, Gharsallah. The in-vitro evaluation of antibacterial, antifungal and cytotoxic properties of *Marrubium vulgare L* essential oil grown in Tunisia. Lipids in Health and Disease, (2011), 10(161) 1-8.
- ZANAZ, Hamedeyazdan. SOLMAZ, Asnaashari. FATEMEH, Fathiazad. Characterization of Non-Terpenoids in *Marrubium crassidens* Boiss Essential Oil. Advanced Pharmaceutical Bulletin, 2013, 3(2) 429-432.



Annexes 1

1-Matériel de screening phytochimique

❖ Les produits chimiques et les réactifs

- réactif de MAYER, H_2SO_4 , Chlorure ferrique ($FeCl_3$), HCL, Ethanol, $FeCl_3$, $AlCl_3$
- Réactif de Folin, carbonate de sodium Na_2CO_3 , L'acide gallique, phosphomolybdic (MO_4^{-2}), phosphotungstic (WO_4^{-2}), L'acide sulfurique H_2SO_4
- Ether de pétrole, Chloroforme, méthanol.

❖ Les équipements

- Rotavapor R-215.
- Spectrophotomètre (JENWAY 6305).
- Cuve de chromatographie.
- Balance (BB310).
- Balance de précision (Explorer® Pro).
- Agitateur Vortex (Snijders 34524).
- Verrerie.

2-Matériel fongique

❖ Produit utilisés

- Méthanol, Sabouraud-dextrose Agar (SDA), H_2O distillé stérile.

❖ Les équipements

- Autoclave
- Etuve
- Four pasteur
- Verrerie.
- Réfrigérateur.

3-Matériel végétal : *marrubium vulgare*

Annexes 2

1-Solution préparées

- ❖ **Réactif de MAYER** : 5g de KI et 1.35g de $HgCl_2$ solubilisés dans 100 ml d'eau distillée
-