

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ MOULOUD MAMMARI DE TIZI-OUZOU  
FACULTÉ DES SCIENCES  
DÉPARTEMENT DE CHIMIE



**DOMAINE** : SCIENCES DE LA MATIÈRE  
**FILIÈRE** : CHIMIE  
**SPÉCIALITÉ** : CHIMIE PHARMACEUTIQUE

**MÉMOIRE DE MASTER ACADÉMIQUE**

**THÈME**

**Formulation d'un sirop pharmaceutique à base d'extrait de Marrube Blanc**

Présenté par :

**CHEMLOUL SARAH**

**LEKHAL DILIA**

*Mémoire soutenu publiquement, le 26/06/2025 devant le jury composé de :*

<b>Nom et Prénom</b>	<b>Grade</b>	<b>Affiliation</b>	<b>Qualité</b>
<b>BELMAHDI LILA</b>	<b>MAA</b>	UMMTO	Président
<b>LAIB HATEM</b>	<b>MCB</b>	UMMTO	Examineur
<b>BENCHOUK MOUNIR</b>	<b>MAA</b>	UMMTO	Encadrant

# Remerciements

*Tout d'abord, nous souhaitons exprimer notre reconnaissance envers Dieu, le tout-puissant, pour la force et la patience qu'il nous a offertes pour mener à bien ce projet.*

*Nous tenons à adresser nos remerciements les plus sincères à notre encadrant, Monsieur **Benchoulak Mounir**, pour son dévouement, sa bienveillance et la patience dont il a fait preuve, ce qui a permis d'accomplir ce travail dans des conditions idéales. Nous lui sommes reconnaissants pour sa disponibilité et son soutien, qui ont été cruciaux pour le bon déroulement de notre projet de fin d'études.*

*Nous remercions également les membres du jury, monsieur **Layeb Hatem** et Madame **Belmahdi Lila**, pour leur gentillesse à évaluer notre travail.*

*Nous souhaitons tout particulièrement mentionner Madame **Mesous Naima** Et Madame **koulougli Djedjiga.**, ingénieures au laboratoire de chimie pharmaceutique, pour leur compréhension et leur aide. Nous exprimons également notre gratitude à Monsieur **Fetmouche Karim**, responsable du magasin de matériel et de produits chimiques des laboratoires.*

*Nous tenons à exprimer notre gratitude au département de chimie pour sa disponibilité. Nous souhaitons également adresser un immense merci à nos amis et à nos familles pour leur soutien constant et leurs encouragements tout au long de ce parcours. Enfin, nous remercions toutes les personnes qui, de près ou de loin, de manière directe ou indirecte, ont contribué à la réussite de ce travail, auquel nous avons consacré tant d'efforts et de passion.*



# ***Dédicace***

*Je consacre ce mémoire à mes précieux **parents**, dont le dévouement et la bienveillance ont constitué un soutien inébranlable durant l'ensemble de mon parcours académique. Ils y découvriront l'expression de ma sincère affection et de ma gratitude.*

*À*

*Mes chers frères **Yacine** et **Yanis** et ma très chère sœur **Kenza**.*

*À*

*Mes **collègues** et **amis** qui ont été à mes côtés.*

*À*

***Sarah**, ma binôme et collaboratrice, pour son engagement, sa rigueur et la qualité de notre travail en équipe.*

*À*

*Tous ceux qui ont cru en moi et m'ont encouragée, je vous adresse ma profonde gratitude.*

***Dilia***



# ***Dédicace***

*En signe de gratitude Je souhaite dédier ce travail :*

*À mes précieux **parents**,*

*Qui ont toujours été des sources inépuisables d'encouragement, de soutien, de confiance et d'affection.*

*À mes frères **Lyes** et **Samir**.*

*De même qu'à toute ma famille et à mes amis.*

*À ma chère binôme **Dilia**, amie et complice, avec qui j'ai eu le plaisir de former une excellente équipe et de vivre des instants uniques et mémorables.*

***Sarah***



## Liste des abréviations :

**A. Ascorbique** : acide ascorbique.

**Abs** : absorbance.

**Cft** : concentration des flavonoïdes totaux

**Cppt** : concentration des polyphenols totaux

**Ctt** : concentration des tanins totaux

**DPPH** : 1, 1-diphényl-2-picrylhydrazyl.

**FRAP**: ferric reducing antioxidant power.

**IC50** : concentration inhibitrice à 50%.

**Mg AGE/ E** : milligramme d'acide gallique équivalent par gramme d'extrait.

**Mg Q / g E** : milligrammes de quercétine équivalent par gramme.

**Nm** : nanomètre.

**MPa.S**: millipascal.seconde

***M.vulgare***: *Marrubium vulgare*.

**Tr/min** : Tour par minute.

**UMMTO** : Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou

## Liste des Figures :

<b>Figure01:</b> Le marrube blanc (photo originale).....	5
<b>Figure02:</b> Structure chimique des acides gallique (A) et (B).....	12
<b>Figure03:</b> Structure générale du noyau des flavonoïdes.....	13
<b>Figure04:</b> Définition des différents types de flavonoïdes à partir du squelette flavane.....	14
<b>Figure05:</b> Exemple de terpènes et terpénoïdes.....	17
<b>Figure06 :</b> La plante étudiée - le marrube blanc.....	19
<b>Figure07:</b> Montage d'extraction.....	20
<b>Figure08 :</b> La décantation.....	20
<b>Figure09:</b> L'étuve de l'évaporation.....	21
<b>Figure10:</b> Evaporateur rotatif.....	21
<b>Figure11:</b> Extrait sec.....	29
<b>Figure12:</b> Phase hexanique.....	29
<b>Figure13:</b> Extrait Hydroéthanolique.....	29
<b>Figure14:</b> Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	30
<b>Figure15:</b> Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	32
<b>Figure16:</b> Courbe d'étalonnage des tanins.....	33
<b>Figure17 :</b> Pouvoir réducteur d'extrait et de l'acide ascorbique d'après la méthode FRAP.....	34
<b>Figure18:</b> Piégeage de DPPH en fonction des concentrations de l'acide ascorbique.....	35

<b>Figure19:</b> Piégeage de DPPH en fonction des concentrations de l'extrait brut hydroéthanolique.....	35
<b>Figure20:</b> Viscosité à 60 trs /min.....	39
<b>Figure21:</b> Viscosité à 30 trs/min.....	39

## Liste des tableaux :

<b>Tableau01:</b> Le nom vernaculaire du marrube blanc.....	3
<b>Tableau02:</b> Systématique de la plante étudiée.....	4
<b>Tableau03:</b> Rendement d'extraction.....	28
<b>Tableau04:</b> Résultats des analyses phytochimiques.....	28
<b>Tableau05:</b> Résultats des tests organoleptiques sur le sirop.....	37
<b>Tableau06:</b> Résultats de la viscosité à l'aide de viscosimètre à chute de bille.....	37
<b>Tableau07:</b> Résultats de la viscosité à l'aide de viscosimètre rotatif.....	38

# Sommaire

## Liste des abréviations

## Liste des figures

## Liste des tableaux

## Introduction générale..... 1

### Chapitre 1 :Synthèse Bibliographique

#### 1 Introduction.....2

#### 2 Historique Du Marrubium Vulgare..... 2

#### 3 Description de la famille lamiacées.....3

#### 4 Présentation de la plante..... 3

#### 5 Description morphologique du Marrube Blanc..... 4

#### 6 Habitat et répartition géographique..... 5

#### 7 Composition chimiques..... 5

#### 8 Principes Actifs..... 6

#### 9 Effets et usages médicaux.....6

#### 10 Forme d'utilisation et posologies.....7

#### 11 Contre-indications et effets indésirables.....7

#### 12 Les sirops.....7

#### 13 La composition du sirop..... 8

#### 14 Les avantages et inconvénients.....9

### Chapitre2 : Les métabolites secondaires

#### I Composés phénoliques..... 10

#### II Les alcaloïdes..... 15

#### III Terpènes et Terpénoïdes..... 16

### Chapitre 3 :Matériels et méthodes

#### I Matériel..... 18

#### II Méthodes..... 19

##### II.1 Extraction..... 19

##### II.2 Tests d'identification phytochimiques..... 21

##### II.2.1 Test pour les polyphénols..... 22

II.3 Les dosages des métabolites secondaires.....	22
II.3.1 Dosage des phénols totaux.....	22
II.3.2 Dosage des flavonoïdes.....	23
II.3.3 Dosage des tanins.....	23
II.4 Mesure de l'activité anti-oxydante.....	24
II.4.1 Test de réduction du fer (FRAP).....	24
II.4.2 Test de piégeage des radicaux libres (DPPH).....	24
II.5 Formulation du sirop.....	25
II.6 Analyses physico-chimiques du sirop.....	26
II.6.1 Tests organoleptiques.....	26
<b>Chapitre4 : Résultats et discussions</b>	
I Rendement d'extraction.....	28
II Les tests phytochimiques.....	28
III Dosages des métabolites secondaires.....	30
III.2 Dosage des Flavonoïdes.....	31
III.3 Dosage des tanins.....	32
IV Mesure de l'activité anti-oxydante.....	33
IV.1 Test de la réduction du fer (FRAP).....	33
V Résultats de différents tests organoleptiques sur le sirop.....	36
VI Résultats de tests physico-chimiques.....	37
VI.1 Mesure de PH.....	37
VI.2 Mesure de la densité.....	37
VI.3 Mesure de viscosité.....	37
a) À l'aide de viscosimètre à chute de bille.....	37
b) À l'aide de viscosimètre rotatif.....	37
Conclusion.....	40
Références bibliographiques.....	46

## **Références bibliographiques**

### **Annexes**

### **Résumé**

## **Abstract (anglais)**

***INTRODUCTION***  
***GENERALE***

### **Introduction générale**

À travers les époques, les humains ont toujours dépendu de la nature pour satisfaire leurs besoins essentiels tels que la nourriture, l'hébergement, l'habillement et même pour les soins médicaux. L'utilisation médicinale des incroyables propriétés des plantes pour traiter toutes les maladies humaines est une pratique très ancienne qui a évolué au fil de l'histoire de l'humanité. (Gurif, 2006)

Une plante est considérée comme médicinale ou officinale lorsqu'un de ses organes possède des propriétés pharmacologiques qui peuvent être utilisées à des fins thérapeutiques. Traditionnellement, seule une partie spécifique de la plante est utilisée, telle que la racine, la feuille, la fleur ou la graine, parmi d'autres. Depuis les temps anciens, l'utilisation de ces plantes à des fins médicinales accompagne l'évolution de l'humanité. En effet, les plantes offrent une alternative aux médicaments synthétiques par la phytothérapie. (Daoudi et al., 2015)

Les industries pharmaceutiques montrent un intérêt croissant pour l'étude ethnobotanique des plantes. En Afrique, on trouve une grande variété de plantes médicinales. Ces plantes sont des ressources précieuses pour la plupart des populations rurales du continent, où plus de 80 % des habitants les utilisent pour garantir les soins de santé. (Jiofack et al., 2010) La présence des antioxydants naturels tels que les composés phénoliques, les flavonoïdes et les tanins dans les plantes peut fournir une protection contre un certain nombre de maladies, et leur utilisation a été inversement associée à la morbidité et à la mortalité dues aux troubles dégénératifs. (Baba & Malik, 2015)

Notre étude se divise en deux sections principales. La première section est consacrée à une revue bibliographique sur le *Marrubium vulgare L.*, accompagnée d'une synthèse sur les métabolites secondaires. La seconde section est dédiée à la partie expérimentale, qui se compose de :

- 1-Extraction de substances bioactifs du marrube blanc
- 2-Dosage des polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins.
- 3-Tests antioxydant (FRAP et DPPH).
- 4-Formulation d'un sirop à base d'extrait du *marrubium vulgare*.
- 5-Tests organoleptiques et analyses physico-chimiques du sirop.

*Chapitre 1 :*  
*Synthèse*  
*Bibliographique*

## **1 Introduction**

Depuis très longtemps, les plantes médicinales jouent un rôle déterminant dans la conservation de la santé des hommes et la survie de l'humanité. Elles sont un patrimoine sacré et précieux et constituent une réponse de choix pour fournir à l'organisme, de façon naturelle, les substances nécessaires pour maintenir son équilibre vital. (Lhoste J., 1989).

Le Marrube blanc ou Marrube commun. Le genre *Marrubium* appartient à la famille des Lamiacées et comprend environ 75 espèces répandues dans une grande partie du globe et notamment en Europe et en Asie. On compte 50 espèces sur le pourtour méditerranéen. (Greuter et al., 1986) En Algérie, sept espèces sont répertoriées. (Quézel & Santa, 1962)

## **2 Historique Du Marrubium Vulgare**

*Marrubium vulgare* ou marrube blanc est une espèce très répandue dans le bassin méditerranéen et utilisé pour ses vertus thérapeutiques. (Djahra et al., 2013).

Depuis l'Égypte ancienne, il est utilisé comme expectorant pour soulager la toux. (Blumenthal et al., 2000) En Inde, il est utilisé pour traiter la bronchite aiguë ou chronique et la coqueluche comme remède ayurvédique. (Khaled-khodja et al., 2014) Le nom « marrube » vient de « hoary » (hoary) en raison de la présence de poils blancs entourant les feuilles de marrube, et de « hound » (hound) car il était utilisé pour traiter les morsures de chiens enragés dans la médecine grecque antique. (Khaled-khodja et al., 2014) En 1927, des chercheurs ont démontré que le marrube blanc pouvait être utilisé dans les maladies pulmonaires. (Lodhi et al., 2017) En 1941, il a été signalé que *M. Vulgare* était le remède pectoral à base de plantes le plus prisé, utilisé comme expectorant, tonique amer et diurétique. (Wren, 1941) Dans la littérature Belge intitulée *Materia Medica* de 1954, il est mentionné l'utilisation de *M. Vulgare* sous forme de décoction de sirop de miel pour soigner la bronchite et la toux. (Steinmetz, 1954)

En raison de la présence d'ingrédients amers, notamment l'acide marrubinique comme agent cholérétique, le jus et l'infusion de *M. Vulgare* sont utilisés en usage interne comme stimulant des sécrétions gastriques. En Allemagne, *M. Vulgare* est traditionnellement utilisé comme tonique amer, tandis qu'en Amérique du Nord et en Méditerranée, il est utilisé pour les maladies respiratoires. (Knoss, 2013) Au Brésil, le marrube blanc est traditionnellement

utilisé pour lutter contre les inflammations, les maladies gastrointestinales et les troubles respiratoires.(Meyre-Silva et al., 2005) Le jus d'herbe verte ou la décoction d'herbe séchée et de graines de *M. Vulgare*, se prend avec du miel, ce qui constitue un traitement contre la toux sèche Pour soigner les plaies causées par les morsures de chien, une pommade préparée à partir de feuilles vertes bouillies a été utilisée.(Culpeper, 2006) l'infusion de feuilles est utilisée contre les chenilles et comme insecticide.(Dar et al., 2020) .

### **3 Description de la famille lamiacées**

La famille des Lamiaceae est caractérisée par une grande diversité, comprenant 224 genres et environ 4000 espèces. (Debuigue, 1972) La famille des Lamiacées est largement répandue à la fois dans les zones tropicales et tempérées du monde. On observe la plus grande diversité de cette famille dans le bassin méditerranéen, en Asie centrale, en Amérique, dans les îles du Pacifique, en Afrique équatoriale et en Chine. Un trait distinctif de cette famille est la présence de terpènes dans plusieurs de ses genres, conférant aux plantes une odeur aromatique.

Ces composés sont utilisés à la fois en médecine traditionnelle et en cuisine. (Guenther, 1972)

### **4 Présentation de la plante**

#### **4.1 Le nom vernaculaire**

**Tableau 01 : le nom vernaculaire du marrube blanc**

<b>Région/pays</b>	<b>Nom en langue locale</b>
<b>Algérie (arabe)</b>	<b>Marrioua (Quezel &amp; Santa, 1962)</b>
<b>Algérie (kabyle)</b>	<b>Marnouyeth</b>
<b>Tunisie</b>	<b>Marroubia (Bellakhdar, 1997)</b>
<b>Français</b>	<b>Marrube blanc</b>

<b>Anglais</b>	<b>Harehound (quezel &amp; santa, 1962)</b>
<b>Italien</b>	<b><i>Marrubio</i> (quezel &amp; santa, 1962)</b>

## 4.2 Systématique

Tableau 02 : Systématique de la plante étudiée

<b>Régne</b>	<b>Végétale</b>
<b>sous-régne</b>	<b>plantes vasculaires</b>
<b>Embranchement</b>	<b>Angiospermes</b>
<b>Classe</b>	<b>Eudicots</b>
<b>Ordre</b>	<b>Lamiacées</b>
<b>Famille</b>	<b>Lamiacées</b>
<b>Genre</b>	<b>Marrubium</b>
<b>Espèce</b>	<b>Marrubium Vulgare</b>

## 5 Description Morphologique Du Marrube Blanc

Le marrube blanc est une plante herbacée vivace pouvant atteindre 80 cm de hauteur. Sa tige est quadrangulaire et recouverte d'un fin duvet cotonneux. Ses feuilles sont pétiolées, ovales ou arrondies, avec un limbe crénelé et des bords blanchâtres. La face inférieure est duveteuse. La floraison a lieu de mai à septembre, donnant naissance à de petites fleurs blanches regroupées en verticilles globuleux à l'aisselle des feuilles. Elles possèdent un calice à dents crochues. Le fruit est un tétrakène. Toute la plante dégage une forte odeur et son goût *est âcre et amer.* (Aouadi, 2010)



**Figure 01 :** Le marrube blanc.

## **6 Habitat et répartition géographique**

Le marrube blanc est une plante commune en Algérie et présente dans presque toute l'Europe, Sauf dans l'extrême Nord. Il est également trouvé en Australie et en Nouvelle-Zélande, (Baba Aissa, 1999). Ainsi qu'au Maroc et en Tunisie, principalement en régions méditerranéennes (Bonnier, 1990). Il pousse généralement dans des zones incultes, des terrains vagues, des prairies sèches et chaudes, ainsi que sur des sols calcaires. (De Souza et al., 1998)

## **7 Composition chimiques**

L'échantillon analysé contient divers composés chimiques, tels que des diterpènes amers de la série des furanolabdanes, des composés de lactones comme la marrubine et son précurseur prémarrubine, ainsi que du pérégrinol, du vulgariol, du marrubénol et du marrubiol.

On y retrouve également des hétérosides flavoniques tels que le quercétol, la lurtéoline ou l'apigénine, des lactoylflavones, et quelques dérivés de l'acide ursolique. De plus, des tanins spécifiques des Lamiacées et des dérivés de l'acide hydroxycinnamique sont présents, atteignant jusqu'à 7% (acide chlorogénique, caféique, caféylquinique, mais absence d'acide rosmarinique). En outre, une faible quantité d'huiles essentielles renfermant divers composés monoterpéniques (moins de 1%) tels que l' $\alpha$ -pinène, le camphène et le limonène est également détectée.

### **8 Principes actifs**

Le Marrube renferme divers composants tels qu'un certain niveau de choline, une petite quantité d'huile essentielle, des flavonoïdes, des diterpènes, du tanin, des mucilages, des résines et une grande quantité de fer. La substance active principale est la marrubine, qui a un goût amer (De Souza et al., 1998)

### **9 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, 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, 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, 2001)

### **10 Formes d'utilisation et posologies**

Selon, (Raynaud, 2007) la posologie recommandée est de 4,5 g de poudre par jour, avec une durée de traitement moyenne de 2 semaines.

Voici les différentes formes d'utilisation et posologies recommandées :

- ♦ **Tisanes** : Préparer 3 tasses par jour (matin, midi et soir avant les repas) en infusant 1,5 g de drogue dans 150 ml d'eau bouillante pendant 10 minutes.
- ♦ **Cataplasmes** : Appliquer 7,5 ml 3 fois par jour (matin, midi et soir avant les repas).
- ♦ **Poudre totale cryobroyée** : Prendre 1 gélule le matin, le midi et le soir avant les repas, avec la possibilité d'aller jusqu'à 5 gélules par jour.
- ♦ **Extrait sec** : La quantité d'extrait recommandée correspond à 4,5 g de poudre par jour, soit 2 gélules par jour.

### **11 Contre-indications et effets indésirables**

Il est généralement recommandé aux femmes enceintes d'éviter le Marrube blanc, car selon la Commission Européenne de la Santé, cette plante peut stimuler l'utérus et avoir un effet abortif.

Cependant, aucun effet indésirable n'a été signalé jusqu'à présent. Les propriétés curatives de l'espèce *Marrubium vulgare* sont probablement dues à la présence de certaines substances chimiques dans toute la plante. (Djahra, 2013)

### **12 Les sirops**

Les sirops se définissent comme des préparations aqueuses, caractérisées par leur goût sucré et leur texture visqueuse. Leur formulation requiert une concentration minimale de

saccharose de 45 %, ce qui leur confère une certaine protection antimicrobienne. Il est à noter que le saccharose peut être substitué par des polyols tels que le sorbitol, le glycérol ou le xylitol, ainsi que par des édulcorants comme l'aspartame ou la saccharine. Afin d'atteindre une viscosité comparable à celle des sirops à base de saccharose, des agents épaississants peuvent être incorporés. Les sirops peuvent renfermer un ou plusieurs principes actifs, ainsi que des aromatisants, des colorants et des agents antimicrobiens. Grâce à leur saveur sucrée, ces préparations masquent souvent le goût désagréable de nombreux principes actifs.

Les sirops dépourvus de principes actifs peuvent servir de véhicule privilégié pour d'autres formulations pharmaceutiques, telles que les potions, les solutions et les élixirs. Il est courant de classer les sirops médicamenteux en sirops simples, qui contiennent un seul principe actif ainsi que les sirops complexes, qui sont des sirops renfermant plusieurs principes actifs.(PWEHRLE, 2007).

### **13 La composition du sirop**

Les sirops peuvent inclure un ou plusieurs principes actifs ainsi que des substances auxiliaires telles que des colorants, des aromatisants et des agents antimicrobiens. Il est impératif que le nom et la concentration des édulcorants ainsi que des agents antimicrobiens soient clairement mentionnés sur l'étiquette.

L'intégration d'additifs variés dans la formulation des médicaments doit répondre à plusieurs critères :

- ♦ Leur utilité et leur efficacité doivent être justifiées.
- ♦ Ils doivent être contrôlables dans le produit final.
- ♦ Leur présence doit être clairement indiquée sur l'étiquetage.
- ♦ Leur innocuité doit être démontrée

**Les antioxydants** : il est nécessaire de démontrer que l'utilisation d'antioxydants est incontournable, même lorsque les conditions de fabrication sont optimisées, par exemple en opérant sous atmosphère inerte ou en protégeant le produit de l'exposition à la lumière. Il est crucial de s'assurer que l'antioxydant incorporé exerce effectivement sa fonction protectrice tout au long de la durée de conservation prévue pour le médicament.

**Conservateurs antimicrobiens** : des conservateurs sont ajoutés dans le cas de préparations qui ne possèdent pas, par elles-mêmes, des propriétés antimicrobiennes suffisantes pour prévenir la prolifération de microorganismes.

**Colorants** : un certain nombre de colorants autorisés sont spécifiquement décrits dans une monographie de la pharmacopée.

**Aromatisants** : dans le domaine pharmaceutique, les arômes sont des substances destinées à être intégrées dans certains médicaments afin de masquer ou d'améliorer leur goût ou leur odeur.(PWEHRLE, 2007)

## **14 Les avantages et inconvénients**

### **14.1 Les avantages**

- ♦ Facilité de consommation
- ♦ Particulièrement adaptées aux enfants et aux adultes éprouvant des difficultés à ingérer
- ♦ L'efficacité thérapeutique des formulations liquides se manifeste de manière plus rapide par rapport aux formes solides, en raison de l'absence de problème de délitement.

### **14.2 Les inconvénients**

♦ Les solutions se présentent sous forme de préparations qui requièrent un conditionnement souvent encombrant, fragile et lourd.

♦ Les principes actifs en solution sont plus vulnérables à la dégradation chimique, notamment par hydrolyse, comparativement à leur état solide.

♦ Les conservateurs sont fréquemment employés pour prévenir la multiplication des microorganismes.(Le Hir et al., 2016)

***Chapitre 2 : Les  
métabolites  
secondaires***

## **Introduction**

Les plantes possèdent des métabolites appelés "secondaires", en contraste avec les métabolites primaires tels que les protéines, les glucides et les lipides. Ces composés varient selon les espèces et, bien que leurs fonctions ne soient pas entièrement comprises, il est évident qu'ils jouent un rôle dans les interactions entre la plante et les organismes vivants qui l'entourent. Ils semblent jouer un rôle essentiel dans la coévolution des plantes avec divers organismes vivants tels que les parasites, les pathogènes, les prédateurs, ainsi que les pollinisateurs et les disséminateurs. Ces interactions ont conduit à une grande diversité des composés secondaires. (Krief, 2003)

Le nombre de métabolites secondaires est très important, définissant plus de 200 000 structures. Ils peuvent être divisés en trois grandes familles de composés naturels : les terpénoïdes, les composés phénoliques et les alcaloïdes. (Kahlouche Riachi, 2014)

Chacune de ces catégories contient une variété importante de composés qui présentent une diversité d'activités biologiques significatives pour l'être humain. (Krief, 2003)

## **I Composés phénoliques**

Les composés phénoliques, un groupe de métabolites secondaires (SM) omniprésents dans les plantes et les aliments d'origine végétale, jouent un rôle essentiel dans la défense des plantes contre les parasites et les ravageurs. Ils se caractérisent par la présence d'au moins un noyau phénolique dans leur structure. (Jan et al., 2021)

Selon le nombre d'unités phénoliques présents, on les classe en composés phénoliques simples et polyphénols. Par abus, on les appelle indifféremment composés phénoliques ou polyphénols et comprennent essentiellement les phénols simples, les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins hydrolysables et condensés, les coumarines et les lignine (Koné, s. d.)

### **I.1 Les acides phénoliques**

Les phénols ou acides phénoliques sont de petites molécules composées d'un noyau benzénique et d'au moins un groupe hydroxyle. Ils peuvent être estérifiés et liés à des sucres sous forme d'hétérosides. Ces composés sont solubles dans les solvants polaires. Leur biosynthèse provient de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique (Wichtl & Anton, 2009)

Les phénols présentent des propriétés anti-inflammatoires, antiseptiques et analgésiques. Par exemple, l'aspirine dérivée de l'acide salicylique possède de telles activités (Iserin et al., 2001).

♦ **Acides phénols dérivés de l'acide benzoïque**

Le domaine des acides phénols en C6-C1, qui sont des dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque, est largement répandu, que ce soit sous forme libre ou combinée à l'état d'ester ou d'hétéroside. L'acide gallique et son dimère, l'acide hexahydroxydiphénique, sont les composants essentiels des tannins hydrolysables. En outre, d'autres aldéhydes associés à ces acides, tels que la vanilline, sont largement utilisés dans l'industrie pharmaceutique. (Jean Bruneton, 1993)

♦ **Acides phénols dérivés de l'acide cinnamique**

La plupart des acides phénols en C6-C3, tels que les acides *p*-coumarique, caféique, férulique et sinapique, présentent une distribution très répandue. En revanche, les autres acides phénols tels que les acides *o*-coumarique et *o*-férulique sont moins courants. (Jean Bruneton, 1993)

## **I.2 Phénols simples**

Le catéchol, le guaiacol, le phloroglucinol, entre autres, sont des composés relativement peu communs dans la nature, à l'exception de l'hydroquinone qui se retrouve dans plusieurs familles botaniques telles que les Ericaceae et les Rosaceae. Les deux phénols hydroxylés, le catéchol possédant deux groupes OH et le pyrogallol en possédant trois, ont démontré leur toxicité envers les microorganismes. (Cowan, 1999)

## **I.3 Les tanins**

Les tanins sont des composés organiques présents dans la plupart des végétaux, se retrouvant dans diverses parties telles que les écorces, les racines, les feuilles, ainsi que les fruits tels que le raisin, la datte, le café et le cacao (Hemingway, 1962)

Les tanins sont des composés polyphénoliques qui ont la capacité de précipiter les protéines. Leur présence est principalement observée dans les écorces. Après coagulation,

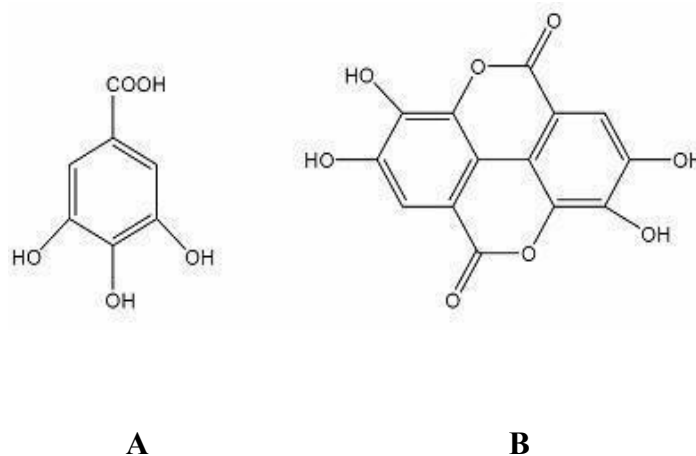
ces tanins forment des composés très stables avec les protéines. Leur principal effet sur les plantes est de les rendre peu digestibles. (Michel & Monique, 1981) Depuis l'Antiquité, les tanins sont utilisés par l'homme pour le traitement des peaux d'animaux. Leur importance économique et écologique est considérable, et ils sont responsables de l'astringence de nombreux fruits, légumes et de leurs dérivés. On distingue généralement deux grands groupes de tanins, qui se différencient à la fois par leur réactivité chimique et leur composition : les tanins hydrolysables et les tanins condensés, comme l'ont mentionné. (Sarni et al., 2006)

♦ **Les Tanins hydrolysables**

Les tanins hydrolysables sont des composés formés de polyesters de glucides et d'acides phénoliques. Ces composés peuvent être facilement décomposés par des enzymes appelées tannases en oses et en acides phénoliques. En fonction de la nature de l'acide phénolique, on distingue deux types de tanins : les tanins galliques et les tanins ellagiques. (Michel &

Monique, 1981)

Les tanins galliques, également connus sous le nom de tanins gallotaniques, se décomposent par hydrolyse en oses et en acide gallique. (Michel & Monique, 1981) Quant aux tanins ellagiques, ou ellagitanins, ils sont dégradés par des enzymes en oses et en acide ellagique. (Michel & Monique, 1981)



**Figure 02** : Structure chimique des acides galliques (A) et ellagiques (B) (Cowan, 1999)

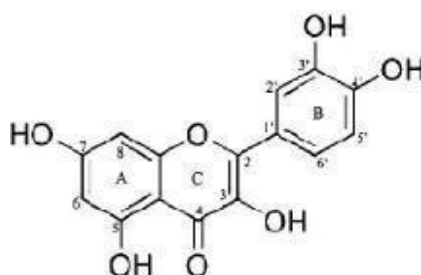
♦ **Les Tanins condensés**

Le terme "tanins condensés" ou "tanins catéchiques" fait référence à des composés qui résistent à l'hydrolyse par les acides et la tannase. Sous l'effet de forts acides chauds ou d'agents d'oxydation, ces substances se transforment en composés rouges ou bruns qui sont insolubles dans la plupart des solvants. Par distillation sèche, ces tanins produisent du pyrocatechol. Leur origine provient de la condensation de molécules de catéchols et ils sont généralement présents en association avec des catéchols dans les plantes fraîches (Paris et al., 1976)

**I.4 Flavonoïdes**

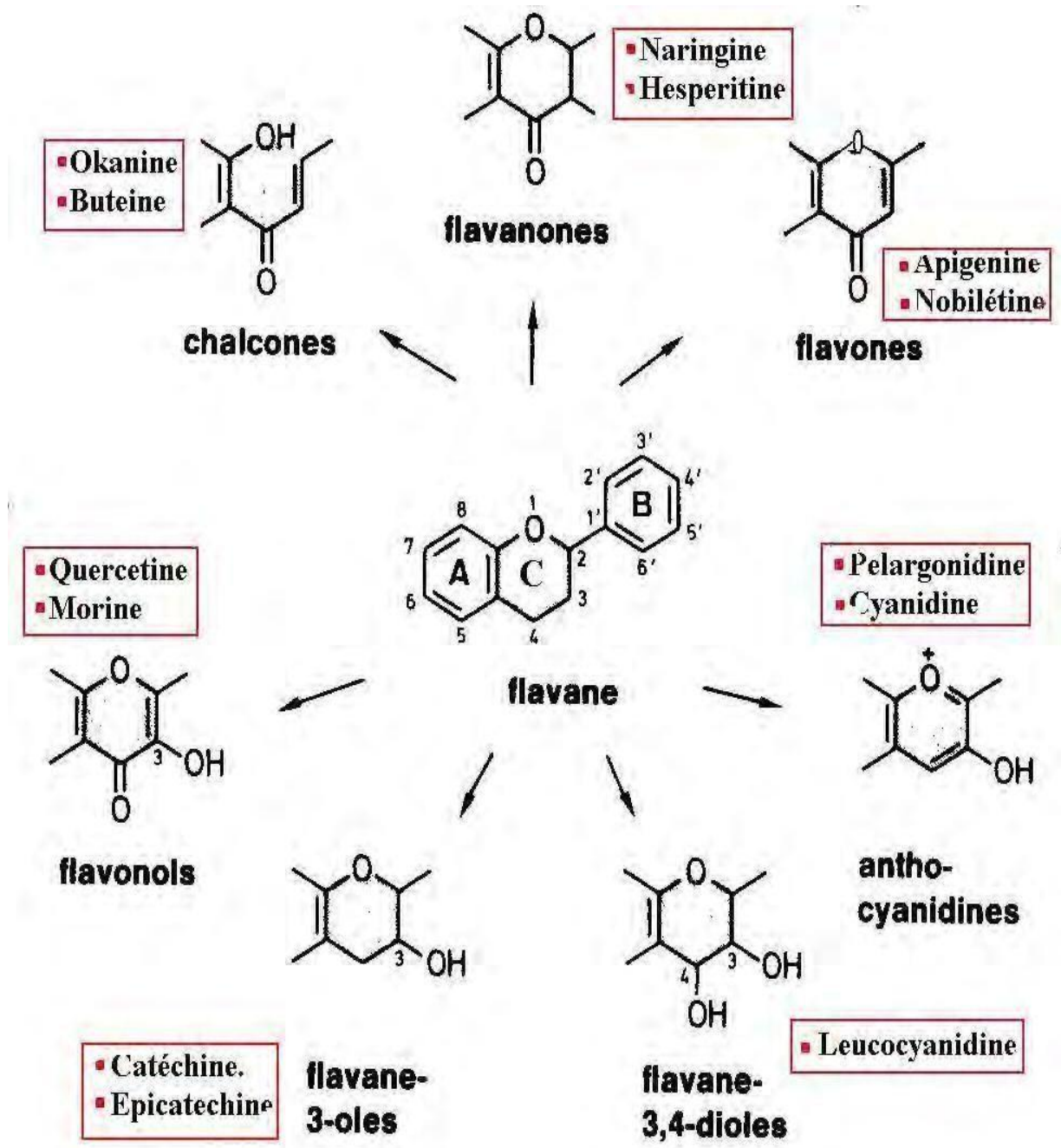
Les flavonoïdes constituent une catégorie de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ils agissent en tant que pigments presque universels des plantes, contribuant en partie à la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Ces composés se retrouvent soit dissous dans la vacuole des cellules sous forme d'hétérosides, soit en tant que constituants de plastes spécifiques, tels que les chloroplastes (Guignard, 1996)

Le terme "flavonoïde" englobe une vaste variété de composés naturels polyphénoliques. On recense environ 6500 flavonoïdes répartis en 12 classes distinctes, et leur nombre continue de croître. Fondamentalement, les flavonoïdes partagent une structure de phénylpropane (C6-C3-C6), où les trois carbones formant la jonction entre les deux noyaux benzéniques, notés A et B, forment généralement un hétérocycle oxygéné C. (Y & Foulla, 2017)



**Figure 03** : Structure générale du noyau des flavonoïdes (J. Bruneton, 1999)

- ✓ Les flavonoïdes se déclinent en différentes structures, telles que les flavones, les flavonols, les flavanones, les flavanonols, les flavanes, les flavan-3-oles, les flavylum, les chalcones, les aurones, les isoflavones, les isoflavonols, les isoflavanes, les ptérocarpanes, les coumaronochromones, les 3-arylcoumarine. Les flavonoïdes ont été classés en six familles distinctes : les flavonols, les flavones, les flavanes, les isoflavones, les anthocyanines et les flavanols. (Y & Foulla, 2017)



**Figure 04** : Définition des différents types de flavonoïdes à partir du squelette flavane. (Dacosta, 2003 ; Louis, 2004)

## **I.5 Les coumarines**

Les coumarines sont des hétérocycles oxygénés ayant pour structure de base le benzo-2pyrone.

Elles ont été découvertes pour la première fois par Vogel en 1820 dans le *Coumarouna odorata*. Actuellement, près de 1000 composés coumariniques ont été identifiés dans plus de 800 espèces de plantes et de microorganismes. Ces composés sont présents dans diverses familles de plantes telles que les Apiacées, les Astéracées, les Fabacées, les Rosacées, les Rubiacées, les Rutacées et les Solanacées. Sur le plan structural, les coumarines sont classées en différentes catégories : les coumarines simples avec des substituants sur le cycle du benzène, les furanocoumarines, les pyranocoumarines, les coumarines substituées en position 3 et/ou 4, et enfin les dimères (Sakagami et al., 2005)

Les coumarines possèdent des propriétés physiologiques et antimicrobiennes. La warfarine est une coumarine utilisée comme anticoagulant qui posséderait également des propriétés antivirales (Cowan, 1999).

## **I.6 Les lignines**

Les lignines sont des métabolites secondaires essentiels présents dans diverses familles de plantes, avec plusieurs centaines de composés identifiés à ce jour. Leur présence a été observée dans différentes parties des plantes, telles que les racines, les feuilles, les fruits et les graines (Midoun, 2011)

## **II Les alcaloïdes**

Les alcaloïdes sont des composés organiques azotés d'origine végétale, possédant des propriétés alcalines et une structure complexe, caractérisée par un noyau hétérocyclique. Présents dans diverses familles de plantes, la majorité des alcaloïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool. Ils se distinguent par leur goût amer et certains sont hautement toxiques (Wichtl & Anton, 2009)

### **III Terpènes et Terpénoïdes**

Les Terpènes sont des constituants habituels des cellules végétales, Ils peuvent s'impliquer dans les fonctions métaboliques essentielles. Ils constituent entre autre le principe odoriférant des végétaux, cette odeur est due à la libération de molécules très volatiles contenant 10, 15, 20 atomes de carbone. Extraites du végétal, ces molécules sont employées comme condiment (girofle) ou comme parfum (rose, lavande). Un grand nombre d'entre eux possède des propriétés antiseptiques (Klaas et al., 2002).

Les terpénoïdes représentent une catégorie de terpènes caractérisés par la présence de molécules d'oxygène, élaborées par le biais de modifications biochimiques, notamment par l'ajout ou la suppression de groupes méthyles. On peut classer les terpénoïdes en différentes catégories, telles que les alcools, les aldéhydes, les esters, les éthers, les époxydes, les cétones et les phénols. Parmi les exemples notables de terpénoïdes figurent le carvacrol, le citronellal, le géraniol, le linalol, l'acétate de linalyle, la pipéritone, le menthol et le thymol. Ces composés bioactifs sont associés à diverses activités biologiques, incluant des propriétés anticancéreuses, anti-allergiques, antibactériennes et antioxydantes.(Ayu et al., 2022)

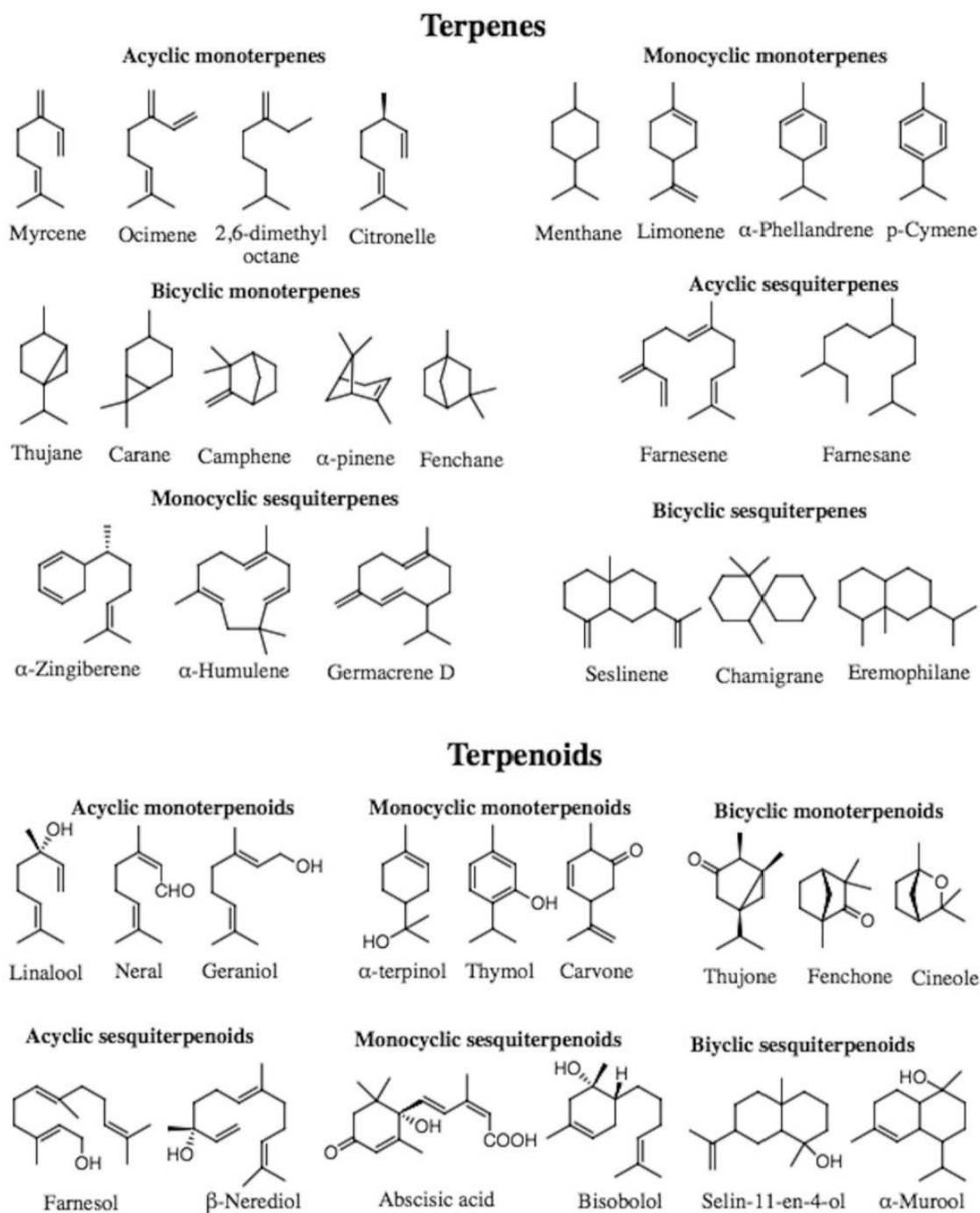


Figure 05 : Exemple de terpènes et terpénoïdes. (Ayu et al., 2022)

*Chapitre 3 :*  
*Matériels et méthodes*

## **I Matériel**

### **I.1 Matériel du laboratoire (appareillage)**

- ♦ Agitateur à hélice de laboratoire **IKA RW 20** digital.
- ♦ Balance analytique de précision de la marque **AXIS**.
- ♦ PH-mètre de la marque **HANNA Instruments HI 2210 Ph Meter**.
- ♦ Centrifugeuse de la marque **Hettich, modèle EBA 20**.
- ♦ Pycnomètre.
- ♦ Viscosimètre à chute de bille **HAAKE**.
- ♦ Viscosimètre rotatif numérique **NDJ-8S**
- ♦ Bain thermostatique **Thermo Electron TYP 003-5009**.
- ♦ Spectromètre UV-Visible **UVmini-1240** de la marque **Shimadzu**
- ♦ Microscope optique monoculaire de la marque **PHYWE**.
- ♦ Evaporateur rotatif **R-114** avec le bain chauffant **B-480**.
- ♦ Etuve de séchage de marque **memmert**.
- ♦ Moulin à café.

### **I.2 Matériel végétal**

Le matériel végétal utilisé dans cette étude se compose de feuilles et de tiges de *Marrubium Vulgare*, récoltées le 5 février 2025 dans la région de Draa Sachem située à Draa El Mizan (wilaya de Tizi Ouzou).

Pour la préparation des échantillons :

- ♦ Les parties aériennes ont été nettoyées avec de l'eau pour éliminer la poussière.
- ♦ Ensuite, elles ont été séchées à l'abri de la lumière, à température ambiante, pendant 15 jours.
- ♦ Le broyage a été effectué à l'aide d'un appareil approprié (Moulin à café).



**Figure 06 :** La plante étudiée - le marrube blanc.

## **II Méthodes**

### **II.1 Extraction**

La méthode d'extraction adoptée, reposant sur **la macération** vise à l'extraction des composés phénoliques notamment les terpénoïdes.

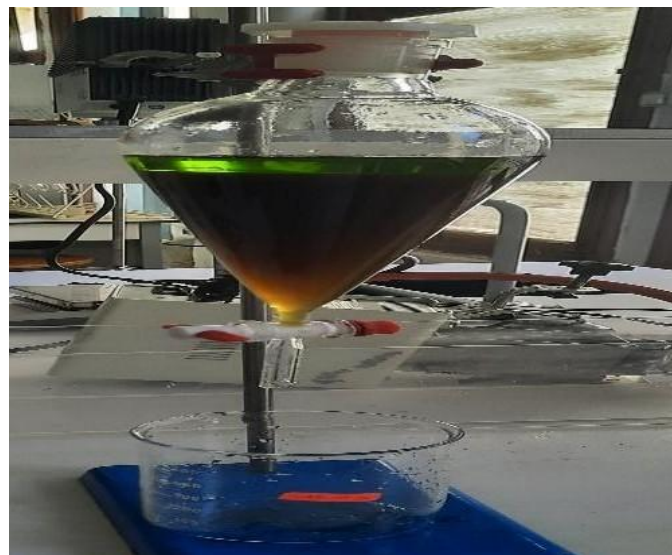
Pour la préparation, nous avons mélangé 50 g de poudre végétale de feuilles et de tiges (50/50 : m/m) avec 752ml d'eau-éthanol (50/50 : v/v) dans un bécher et le mélange a été placé dans un bain thermostatique réglé à 50°C, et soumis à une agitation continue de 800tr/min pendant 1h30.



**Figure 07 :** Montage d'extraction.

Ensuite, nous avons procédé à **la filtration** en utilisant d'abord une passoire pour éliminer les grosses particules, puis un papier filtre.

**La décantation** : l'extrait obtenu a été mélangé avec 100ml d'hexane dans une ampoule à décanter, afin d'éliminer la chlorophylle et les corps gras, et de récupérer la phase eau/éthanol (cette étape a été réalisée deux fois).



**Figure 08 :** la décantation.

**La centrifugation** : la phase (eau/éthanol) récupérée a été centrifugé à 6000tr/min pendant 15 minutes pour éliminer les substances de poids moléculaires élevés et de nature polymérique.

Enfin, pour l'évaporation, deux techniques ont été utilisées.

**L'évaporateur rotatif (à 70C°)** : pour éliminer l'éthanol.

**L'étuve (à 75 C°)** : pour éliminer le dernier solvant restant et obtenir notre extrait final sec.



**Figure 09** : L'étuve de l'évaporation.



**Figure 10** : évaporateur rotatif.

## II.2 Tests d'identification phytochimiques

Ces tests ont été fait sur :

- 1) Le macéra de la première macération de la matière végétale dans le mélange H<sub>2</sub>O/ETOH.
- 2) Sur la phase hexanique séparée de ce macéra.
- 3) Et sur une solution hydroéthanolique 50/50 de l'extrait final préparé.

## **II.2.1 Test pour les polyphénols**

Le test des polyphénols a été réalisé en utilisant la réaction au chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) pour caractériser ces composés.

Pour ce faire, une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2% (annexe 1) a été ajoutée à 2 ml de solution hydroéthanolique de l'extrait. La formation d'une coloration bleu-noir ou verte plus ou moins foncée a été observée, indiquant ainsi la présence de polyphénols. (Muanda, 2010)

## **II.2.2 Test pour les terpénoïdes (test de Salkowski)**

Il a été procédé au prélèvement de 3 ml de solution hydroéthanolique de l'extrait, suivi de l'ajout de 1 ml de chloroforme et de 1,5 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentré le long des parois du tube. La présence de terpénoïdes a été mise en évidence par la couleur brun-rougeâtre de l'interface. (Faruq et al., 2024)

## **II.3 Les dosages des métabolites secondaires**

### **II.3.1 Dosage des phénols totaux**

Le principe de quantification des phénols totaux repose sur les propriétés réductrices des complexes ioniques polymériques formés à partir des acides phosphomolybdiques et phosphotungstiques (réactif de Folin-Ciocalteu) par les composés phénoliques. Cette réaction conduit à la formation d'un complexe bleu lors de l'oxydation des composés phénoliques, lequel est stabilisé par l'ajout de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ). Le dosage des phénols totaux est réalisé en comparant l'absorbance observée à celle obtenue avec un étalon d'acide gallique de concentration connue. (Dif et al., 2015)

#### **♦ Le mode opératoire**

Le protocole expérimental consiste à mélanger 2 ml d'extrait à 1 mg/ml avec 10 ml de réactif de Folin (dilué à 1 :10 avec de l'eau distillée) et 8 ml de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  aqueux (1M) (annexe 2). Les mélanges sont ensuite laissés à reposer pendant 2h, et les phénols totaux sont quantifiés en mesurant l'absorbance à une longueur d'onde ( $\lambda$ ) de 765nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible.

La courbe de référence a été établie dans des conditions similaires à celle d'extrait en employant des solutions d'acide gallique à diverses concentrations (0, 50, 100, 150, 200, 250, 500 mg/ml) dans un mélange d'eau et éthanol (50/50 : v/v). Les quantités de phénols totaux sont présentées en masse équivalente d'acide gallique par masse d'extrait sec. (Pourmorad et al., 2006)

### **II.3.2 Dosage des flavonoïdes**

La quantité de flavonoïde présente dans l'extrait a été évaluée à l'aide de la méthode colorimétrique utilisant le trichlorure d'aluminium. (Bougandoura & Bendimerad, 2012) L'apparition d'une couleur jaune dans la solution témoigne de la formation d'un complexe flavonoïde- $AlCl_3$ .

#### **♦ Procédure expérimentale**

0.5 ml d'extrait hydrométhanolique (1mg/ml) a été mélangé individuellement avec 1,5 ml de méthanol, 0,1 ml de chlorure d'aluminium à 10 %(annexe 2), 0,1 ml d'acétate de potassium 1M (annexe 2) et 2,8 ml d'eau distillée. Ce mélange a ensuite été incubé à température ambiante pendant 1h. L'absorbance du mélange réactionnel a été mesurée à une longueur d'onde de 415 nm.

Une courbe d'étalonnage a été établie dans des conditions similaires à celle d'extrait, en utilisant de la quercétine à des concentrations variant de 20 à 100  $\mu\text{g/ml}$ . Les quantités de flavonoïdes totaux sont exprimées en masse équivalente de quercétine, (flavonoïde de référence) par masse d'extrait sec. (Pourmorad et al., 2006)

### **II.3.3 Dosage des tanins**

Les tanins ont été dosés par la méthode de Folin-Ciocalteu. Environ 0,1 ml de l'extrait d'échantillon a été ajouté à une fiole jaugée (10 ml) contenant 7,5 ml d'eau distillée, 0,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu et 1 ml d'une solution de  $Na_2CO_3$  à 35 %(annexe 2), puis dilué à 10 ml avec de l'eau distillée. Le mélange a été bien agité et conservé à température ambiante pendant 30 minutes. Des solutions étalons de référence d'acide gallique (20, 40, 60, 80 et 100  $\mu\text{g/ml}$ ) ont été préparées de la même manière que l'extrait. L'absorbance des solutions d'essai et étalons a été mesurée par rapport au blanc à 725 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV/visible. La teneur en tanins a été exprimée en mg d'acide gallique équivalent par gramme d'extrait ( EAG/g).(Mythili et al., 2014)

## **II.4 Mesure de l'activité anti-oxydante**

### **II.4.1 Test de réduction du fer (FRAP)**

Le protocole expérimental de (Yildirim, 2001) a été utilisé. 1 ml d'extrait à différentes concentrations a été mélangé à 1,25 ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH = 6,6) (annexe 3) et 1,25 ml d'une solution de ferricyanure de potassium  $K_3Fe(CN)_6$  à 1 % (annexe 3). Le tout a été incubé au bain-marie à 50 °C pendant 20 min, puis refroidi à température ambiante. 2,5 ml d'acide trichloracétique (10 %) (annexe 3) ont été ajoutés pour arrêter la réaction. Le mélange a été centrifugé à 4 000 tr/min pendant 20 min à température ambiante. À 1 ml de surnageant, nous avons ajouté 1 ml d'eau distillée et 200 µl d'une solution de chlorure de fer ( $FeCl_3, 6H_2O$ ) à 0,1 % (annexe 3). Des solutions d'antioxydants de référence (acide ascorbique) ont été préparées dans les mêmes conditions que celle de l'extrait. La densité optique des composés testés et de l'acide ascorbique a été mesurée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 700 nm. Contre un blanc préparé dans les mêmes conditions que celle de l'extrait en remplaçant la quantité de l'extrait avec la même quantité de méthanol.

### **II.4.2 Test de piégeage des radicaux libres (DPPH)**

L'activité piégeuse du radical DPPH a été mesurée selon le protocole décrit par (Sanchez Moreno, 2002). La solution de DPPH a été préparée au préalable en solubilisant 1,2 mg de DPPH dans 50 ml de méthanol. À 1 ml de cette solution préparée de DPPH, nous avons ajouté 0,5 ml de la solution d'extrait à différentes concentrations. Le mélange est conservé à l'obscurité pendant 30 minutes puis l'absorbance est lue à 517 nm contre un blanc préparé pour les mêmes conditions que celle de l'échantillon.

Le témoin positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard, l'acide ascorbique.

Le test a été répété trois fois et les résultats sont exprimés en pourcentage de réduction du DPPH (%) selon la formule suivante :

$$I \% = (\text{Abs contrôle} - \text{Abs test}) / \text{Abs contrôle} \times 100$$

Les valeurs des concentrations permettant d'inhiber 50 % de la concentration initiale de DPPH (IC50) ont été déterminées graphiquement par régression linéaire ou logarithmique des

pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations des composés testés (Bemmansour et al., 2022).

## **II.5 Formulation du sirop**

### ➤ **Première étape**

- ♦ Peser 3,7 g d'extrait brut (cette quantité a été ajoutée progressivement).
- ♦ Ajouter 15g de glycérine.
- ♦ Ajouter 13g d'eau.
- ♦ Placer ce mélange dans un bain marie ajusté à 40°C sous agitation magnétique pendant 30 min.

### ➤ **Deuxième étape**

- ♦ Peser 55g de saccharose dans un bécher.
- ♦ Ajouter le mélange préparé dans la première étape.
- ♦ Placer ce mélange dans un bain marie à 70°C et agiter avec un agitateur à hélice jusqu'à la dissolution totale du saccharose.
- ♦ Après refroidissement, les ingrédients cités ci-après ont été ajoutés au mélange séparément et en agitant jusqu'à dissolution totale après l'ajout de chaque ingrédient ;

**0,1g** d'acide ascorbique, **0,1g** de l'huile essentielle (menthe poivrée), **0,1g** d'arôme de citron et une très petite quantité de colorant marron alimentaire respectivement.

Le sirop obtenu a présenté une très bonne homogénéité mais sa viscosité mesurée n'a pas été dans les normes (200-400 mPa.s). Nous avons procédé donc à l'étape suivante.

### ➤ **Troisième étape (augmentation de la viscosité de sirop)**

- ♦ Une solution saccharosique aqueuse saturée a été préparée en dissolvant 117g de saccharose dans l'eau sous agitation à hélice.
- ♦ 50 g de cette solution a été ajoutée progressivement au sirop initialement préparé sous agitation à hélice.
- ♦ La viscosité de sirop obtenue est dans les normes.

### ➤ **Quatrième étape (filtration)**

- ♦ Le sirop préparé a été filtré, en premier lieu, à travers un tissu avec une taille des pores moyenne, en second lieu à travers un papier filtre perforé.

- ♦ L'objectif derrière cette étape est d'éliminer les traces de la mousse qui se forme durant la préparation de notre sirop.
- ♦ Le sirop final préparé a été conservé dans un flacon opaque et approprié.

## **II.6 Analyses physico-chimiques du sirop**

### **II.6.1 Tests organoleptiques**

La couleur, l'odeur, le goût et l'aspect du sirop ont été évalués par des méthodes sensorielles.

### **II.6.2 Mesure de PH**

Le PH de sirop a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre préalablement étalonné avec une solution tampon.

### **II.6.3 Mesure de la densité**

La densité du sirop a été déterminée à l'aide d'un pycnomètre à une température de 22 °C.

$$d = (M0 - M1) / V$$

**M0** : masse du pycnomètre avec sirop (g).

**M1** : masse du pycnomètre vide (g).

**V** : volume du pycnomètre (ml).

### **II.6.4 Mesure de viscosité du sirop**

La viscosité de notre sirop a été mesurée en utilisant deux instruments différents ;

#### **♦ Viscosimètre à chute de bille**

Le viscosimètre à chute de bille HAAKE mesure la viscosité des liquides newtoniens transparents. Cette viscosité est corrélée au temps de chute d'une bille sur une distance définie. Le mouvement de roulement et de glissement de la bille à travers l'échantillon placé dans un tube de mesure cylindrique légèrement incliné est décrit par le temps de chute. Les résultats

du test sont exprimés en viscosité dynamique, exprimée en millipascal.seconde (mPa.s), unité absolue normalisée au niveau international.

La mesure de viscosité a été réalisée en utilisant les deux billes métalliques 1 et 2 (annexe 3).

La viscosité est calculée après en utilisant la relation suivante :

$$\eta = k (b - \rho l) t$$

**K** : La constante du viscosimètre (mPa.s. cm<sup>3</sup>).

**b** : La densité de la bille (g/ cm<sup>3</sup>).

**$\rho l$**  : La densité du liquide (g/cm<sup>3</sup>).

**t** : Le temps de chute de la bille (S).

#### ♦ **Viscosimètre rotatif**

Le viscosimètre rotatif sur le principe de la mesure de la résistance d'un liquide à la rotation d'un rotor. Grâce à une technologie micro-informatisée, il contrôle précisément la vitesse de rotation et enregistre les données via un capteur. Il permet de déterminer la viscosité absolue des fluides newtoniens et la viscosité apparente des fluides non newtoniens. L'appareil affiche directement les valeurs mesurées (vitesse, viscosité, rotor, etc.) et peut être connecté à un PC ou une imprimante pour l'analyse des résultats.

- ✓ Pour évaluer la viscosité, nous avons recouru à un viscosimètre rotatif numérique NDJ-8S (annexe 4), équipé de quatre éléments mobiles de formes variées (quatre retors). Nous avons sélectionné le rotor 2, en l'utilisant à deux vitesses distinctes, à savoir 30 et 60 tours par minute.

# *Chapitre 4 : Résultats et discussions*

- Les résultats obtenus de notre travail réalisé sont représentés dans ce chapitre.

## **I Rendement d'extraction**

Le rendement de l'extrait brut préparé a été quantifié selon la formule suivante :

$R\% = \frac{\text{Le poids de l'extrait brut hydroéthanolique (g)}}{\text{le poids de la matière végétale utilisé (g)}} \times 100$

**Tableau 03** : rendement d'extraction.

<b>Quantité de plante</b>	<b>Volume du solvant(eau/éthanol)</b>	<b>Quantité de l'extrait brut obtenue</b>	<b>Rendement</b>
50(g) (feuilles/tiges)	752ml	0,22g	22%

Le rendement abouti de l'extraction de notre plante était d'environ 22 %.

Le rendement d'extraction est influencé par divers facteurs, notamment la durée d'extraction, la température, le solvant employé, ainsi que la localisation géographique et la période de récolte de la plante.

## **II Les tests phytochimiques**

Les résultats des analyses phytochimiques réalisées sur l'extrait ainsi que sur l'hexane récupéré sont présentés dans le tableau ci-après :

**Tableau 04** : résultats des analyses phytochimiques.

<b>Test</b>	<b>Le macérât hydroéthanolique</b>	<b>La phase hexanique récupérée</b>	<b>Solution hydroéthanolique de l'extrait</b>
Terpénoïdes	+++	++	++
Polyphénols	+++	+	++

**(+) : test faiblement positif**

**(++) : test moyennement positif**

**(+++): test fortement positif**

Ces tests phytochimiques ont ensuite été réalisés sur le premier macérât hydroéthanolique, la phase hexanique et sur l'extrait final. Les résultats montrent une forte présence de polyphénols dans l'extrait, tandis que les terpénoïdes sont majoritairement retrouvés dans la phase hexanique. Cette répartition s'explique par la polarité des composés : les polyphénols, polaires, restent dans l'extrait initial, tandis que les terpénoïdes, plus apolaires, migrent préférentiellement vers l'hexane.

Les figures ci-après représentent la caractérisation des polyphénols et terpénoïdes sur l'extrait hydroéthanolique, la phase hexanique et la solution hydroéthanolique de l'extrait :



**Figure 11** : extrait sec.



**Figure 12** : phase hexanique.



**Figure 13** : solution Hydroéthanolique.

Les tests phytochimiques réalisés sur l'extrait sec, l'extrait hydroéthanolique et la phase hexanique récupérée ont permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires, en particulier les terpénoïdes et les polyphénols. L'extrait hydroéthanolique a montré une forte coloration verte foncée et brune rougeâtre, traduisant une teneur élevée en polyphénols et en terpénoïdes. Pour la phase hexanique, les résultats montrent la coloration brune rougeâtre lors du test terpénoïdes, indiquant leur présence. Concernant les polyphénols, bien qu'aucune coloration verte intense ne soit apparue, un léger changement de couleur a été noté, suggérant

une présence très faible de ces composés. L'extrait hydro-alcoolique a exprimé une coloration brune rougeâtre indiquant clairement la présence des terpénoïdes. En revanche, il y a un changement de couleur qui met en évidence une présence faible de polyphénols.

### **III Dosages des métabolites secondaires**

#### **III.1 Dosage des polyphénols totaux**

La teneur en polyphénols totaux d'extrait a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu.

L'équation de la courbe d'étalonnage obtenue préparé par l'acide gallique est la suivante :

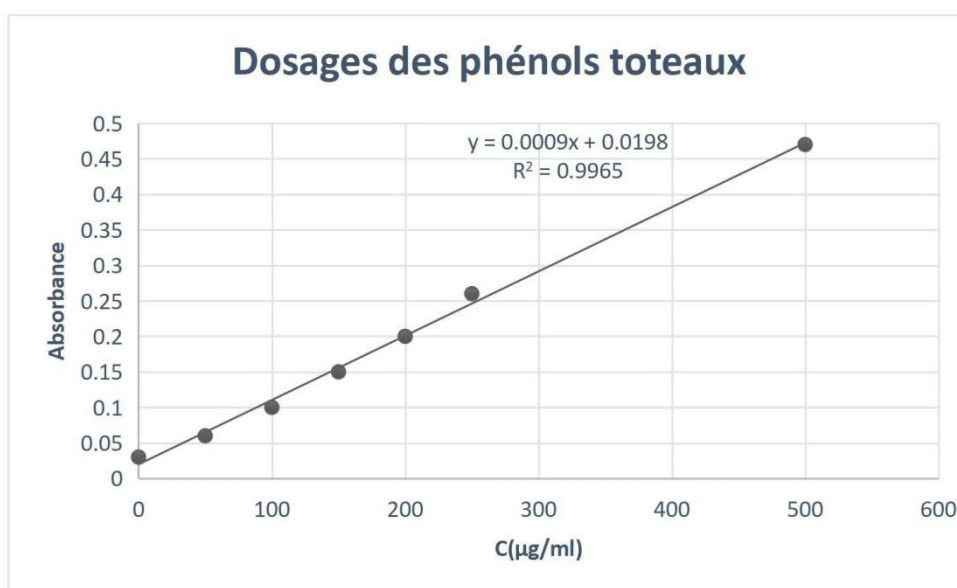
$$Y = 0,0009x + 0,0198, R^2 = 0,9965 \implies C_{ppt} = (Y - 0,0198) / 0,0009 \mu\text{g/ml} \text{ (Figure 14)}$$

$$\implies C_{ppt} = (0,324 - 0,0198) / 0,0009 \mu\text{g/ml}$$

**Y** : Absorbance mesuré par le spectrophotomètre .

**X** : Concentration de la solution hydroéthanolique de l'acide gallique  $\mu\text{g/ml}$  préparé dans un mélange eau/éthanol (50/50)

**C<sub>ppt</sub>** : Concentration des polyphénols totaux recherchés dans la solution analysée d'extrait.



**Figure 14** : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

La quantité de polyphénols est exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g E).

La teneur en polyphénols totaux est 338 mg EAG/g E.

La répartition des métabolites secondaires peut fluctuer en fonction du développement de la plante. Ce phénomène peut être associé à des facteurs climatiques tels que des températures élevées, une exposition accrue au soleil, la sécheresse ou la salinité, qui favorisent la biosynthèse de métabolites secondaires, notamment les polyphénols.(outaleb, 2015)

### **III.2 Dosage des flavonoïdes**

Le teneur en flavonoïdes de l'extrait est établi par le biais d'une méthode colorimétrique utilisant de l'acétate de sodium.

L'équation représentant la courbe d'étalonnage de la quercétine est la suivante :

$$Y=0,4701x +0,0248, R^2=0,9886 \longrightarrow Cft= (Y-0,0248) /0,4701 \text{ mg/ml (Figure 15)}$$

$$\longrightarrow Cft= (0,076-0,0248) /0,4701\text{mg/ml}$$

**Y** : absorbance mesurée par spectrophotomètre.

**X** : concentration de la solution de la quercétine (mg/ml).

**Cft** : concentration des Flavonoïdes totaux recherchée dans la solution analysée d'extrait.

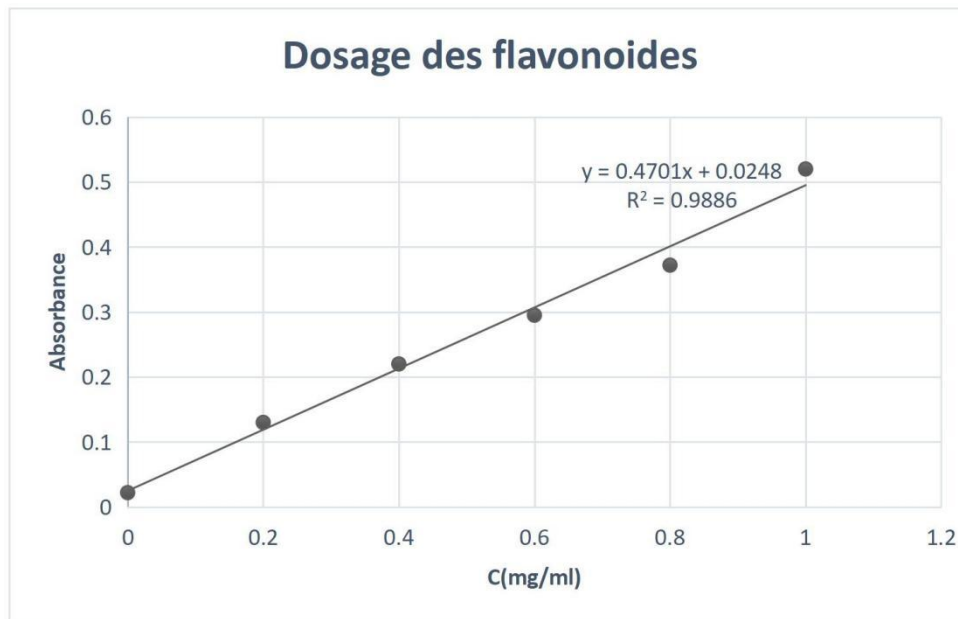


Figure 15 : courbe d'étalonnage de la quercétine

La concentration de flavonoïdes est quantifiée en milligrammes équivalents de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g E).

Le teneur de flavonoïdes est de 108 mg EQ/g d'extrait.

Il convient de souligner que les facteurs géographiques et climatiques ont un impact sur la teneur en flavonoïdes.

### III.3 Dosage des tanins

Le teneur en tanins est établi selon la méthode de Folin-Ciocalteu.

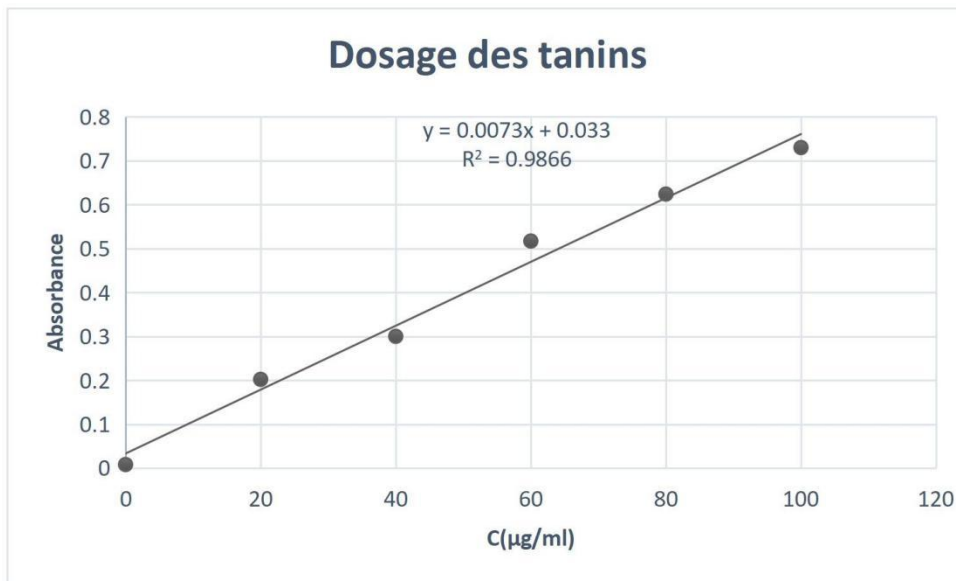
L'équation de la courbe d'étalonnage, élaborée à partir de l'acide gallique, est formulée comme suit :

$$Y=0,0073x+0,033 \quad ,R^2=0,9866 \quad \Rightarrow \quad C_{tt}=(y-0,033)/0,0073 \quad \mu\text{g/ml} \quad \Rightarrow$$
$$C_{tt}=(0,0760,033)/0,0073 \quad \mu\text{g/ml} \quad (\text{Figure 16})$$

**Y** : absorbance mesurée par spectrophotomètre.

**X** : concentration de la solution de l'acide gallique( $\mu\text{g/ml}$ ).

**Ctt** : La concentration des tanins totaux souhaitée dans la solution d'extrait analysée.



**Figure 16** : la courbe d'étalonnage des Tanins.

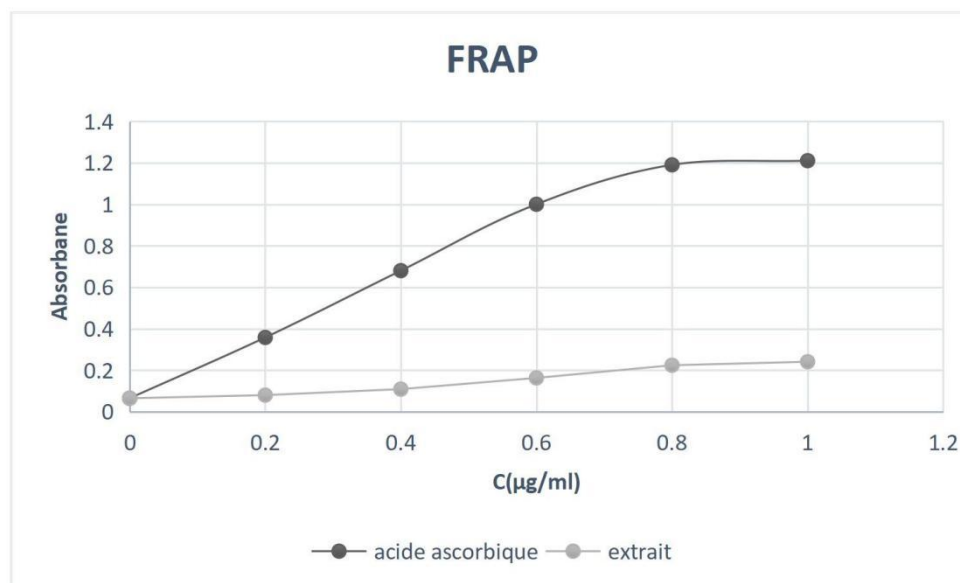
La quantité de tanins est mesurée en milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/ g E).

La teneur en Tanins Totaux est 53,97mg EAG / g E.

## **IV Mesure de l'activité anti-oxydante**

### **IV.1 Test de la réduction du fer (FRAP)**

Les propriétés réductrices de l'extrait et de l'acide ascorbique sont illustrées dans la figure suivante :



**Figure 17 :** Pouvoir réducteur d'extrait et de l'acide ascorbique d'après la méthode FRAP.

L'augmentation de l'absorbance indique une élévation du pouvoir réducteur. L'acide ascorbique se caractérise par sa capacité à réduire le fer, qui est la plus élevée parmi les substances étudiées. Bien que les valeurs d'absorbance de l'extrait soient inférieures à celles de l'acide ascorbique, une hausse est néanmoins constatée, suggérant ainsi une certaine capacité réductrice.

## **IV.2 Résultats de l'activité anti-oxydante par piégeage du radical libre DPPH**

L'évaluation de l'activité anti-oxydante de l'extrait et de l'acide ascorbique par rapport au radical DPPH a été réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre UV Visible, en observant la transformation de la couleur du DPPH, passant du bleu violet à DPPH-H (jaune).

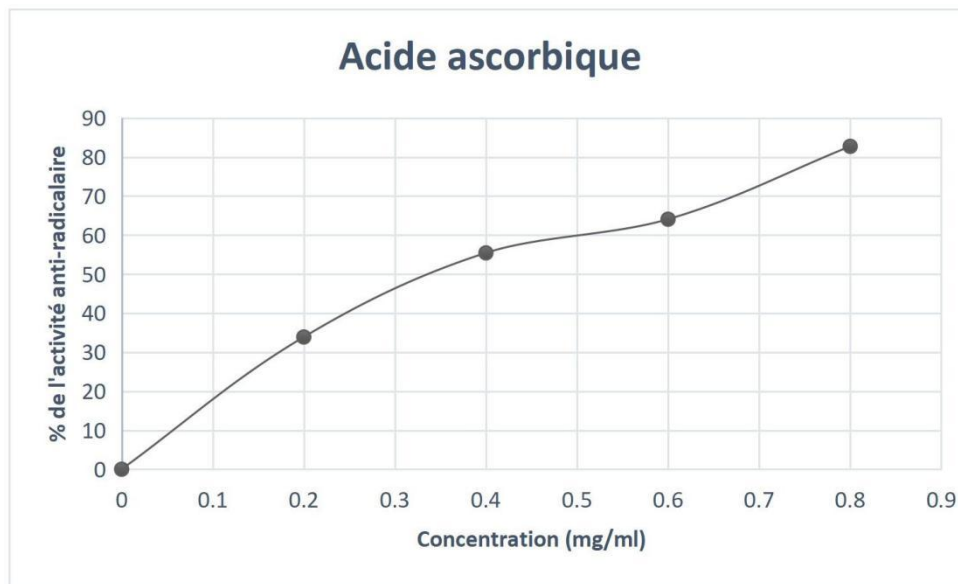


Figure 18 : Piégeage de DPPH en fonction des concentrations de l'acide ascorbique.

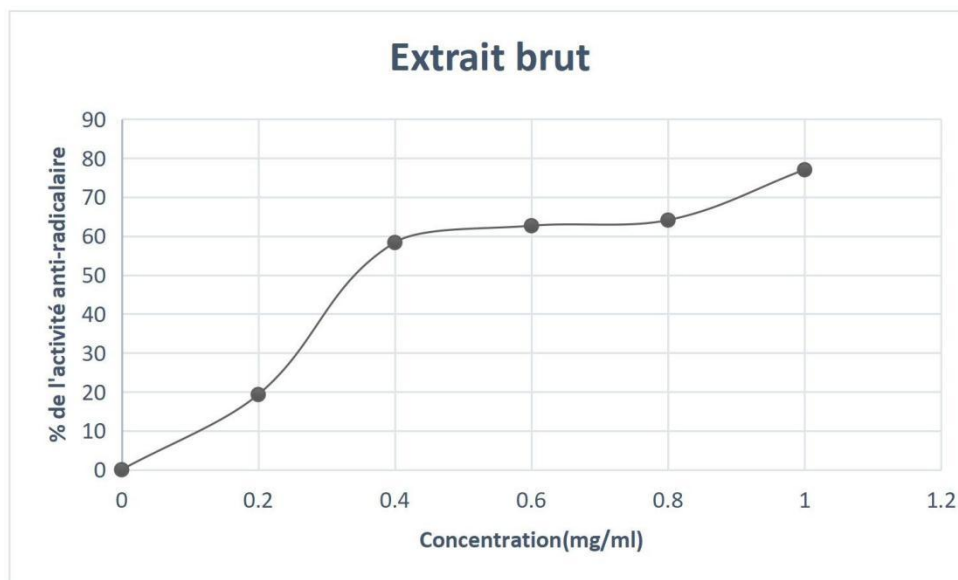


Figure 19 : Piégeage de DPPH en fonction des concentrations de l'extrait brut hydroéthanolique.

- ♦ Les résultats montrent que l'inhibition du radical DPPH augmente proportionnellement à la concentration de l'échantillon testé. Toutefois, à

concentrations égales, l'extrait brut de marrube blanc présente une activité anti-oxydante inférieure à celle de l'acide ascorbique.

### ➤ **Évaluation de la concentration inhibitrice médiane (IC50)**

L'IC50 est inversement corrélé à la capacité anti-oxydante d'un composé, car il représente la quantité d'antioxydant nécessaire pour réduire la concentration d'un radical libre de 50 %. Ainsi, une valeur d'IC50 plus faible indique une activité anti-oxydante plus élevée d'un composé. (Pokorny et al., 2001)

La concentration de l'échantillon requise pour inhiber 50 % du radical DPPH a été déterminée par une analyse de régression linéaire des pourcentages d'inhibition, calculés en fonction de diverses concentrations de l'extrait préparé.

L'IC50 de l'extrait brut, évalué à 0,35 mg/ml, dépasse légèrement celui de l'acide ascorbique, qui est de 0,33 mg/ml. Cela suggère que l'extrait possède une activité anti-oxydante très élevée et notable. Bien qu'il soit moins efficace que la vitamine C, cet extrait présente un potentiel prometteur.

### ✓ **Conclusion**

Les résultats obtenus indiquent que l'extrait brut de *Marrubium vulgare* manifeste une activité anti-oxydante significative, avec une IC50 de 0,35 mg/ml. Ce chiffre est très proche de celui de l'acide ascorbique (IC50 = 0,33 mg/ml), ce qui souligne que notre extrait est un concurrent très puissant à la référence. L'augmentation du pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration confirme un effet dépendant de la dose. Ces résultats suggèrent que le marrube blanc possède un potentiel antioxydant intéressant, corroborant ainsi les données présentes dans la littérature qui soulignent l'utilisation traditionnelle de cette plante pour ses propriétés médicinales, en particulier anti-oxydantes (Wang et al., 2012). Par conséquent, *Marrubium vulgare* pourrait constituer une source naturelle complémentaire de composés bioactifs bénéfiques dans la prévention du stress oxydatif.

## V **Résultats de différents tests organoleptiques sur le sirop**

Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau ci-après :

**Tableau 05** : résultats des tests organoleptiques sur le sirop préparé.

Test organoleptiques	Résultats	Matériels
Aspect	Liquide homogène	Visuel
Couleur	Marron(Miel)	Visuel
odeur	Du menthe poivrée et notre extrait	sensoriel
Goût	Amer	sensoriel

## **VI Résultats de tests physico-chimiques**

### **VI.1 Mesure de PH**

Nous avons effectué une mesure du pH de notre sirop, obtenant une valeur de 4,8. Ce résultat est jugé acceptable, car il se situe dans l'intervalle de [4,6-4,8].

### **VI.2 Mesure de la densité**

La masse du sirop est de 6,51 g et son volume est de 4,91 ml, ce qui conduit à une densité de 1,32.

### **VI.3 Mesure de viscosité**

#### **a) À l'aide de viscosimètre à chute de bille**

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

**Tableau 06** : Résultats de la viscosité à l'aide de viscosimètre à chute de bille.

Bille ( en métal)	Temps (seconde)	Viscosité ( mPa.s)
1	300	2,24
2	25	2,4

#### **b) À l'aide de viscosimètre rotatif**

Les résultats obtenus sont exprimés dans le tableau suivant :

**Tableau 07** : résultats de viscosité à l'aide de viscosimètre rotatif.

Retores	Vitesse (trs/min)	Viscosité(mPa.s)
2	30	297,7
2	60	290,1

La viscosité du liquide mesurée à 30 trs/min est de 297,7 mPa·s (Figure 21), tandis qu'à 60 trs/min (Figure 20), elle est de 290,1 mPa·s. Cette faible variation suggère que la viscosité reste pratiquement constante quelle que soit la vitesse de cisaillement, ce qui indique un comportement globalement **newtonien** du liquide.

### ✓ Conclusion

Les valeurs de la viscosité dynamique mesurées à l'aide du viscosimètre à chute de bille (tableau 06) indiquent que le sirop présente un comportement non newtonien. En effet, la viscosité d'un liquide newtonien reste constante quelle que soit la force de cisaillement appliquée, ce qui n'est pas le cas ici. La bille n°2, exerçant une force de cisaillement légèrement supérieure à celle de la bille n°1, a donné une valeur de viscosité différente, confirmant ainsi le comportement non newtonien du sirop.

Les résultats obtenus avec le viscosimètre rotatif viennent renforcer cette conclusion. Deux forces de cisaillement différentes ont été appliquées au produit au cours de la mesure, et ont donné lieu à deux valeurs de viscosité distinctes. Ce résultat confirme que la viscosité du sirop varie en fonction de la contrainte appliquée, caractéristique d'un comportement non newtonien. De plus, d'après les résultats obtenus par les deux méthodes de mesure, le sirop semble présenter une propriété de type pseudo plastique. Sa viscosité diminue en augmentant la force de cisaillement appliquée.

Le viscosimètre à chute de billes est principalement adapté à la mesure de la viscosité des fluides newtoniens (Gebr.HAAKE, 1997). En revanche, le viscosimètre rotatif convient aussi bien aux liquides newtoniens qu'aux liquides non newtoniens. Notre sirop étant un fluide non newtonien (Drawell, s. d.), ce sont donc les valeurs obtenues à l'aide du viscosimètre rotatif qui doivent être retenues.

- Conformément à la pharmacopée européenne, les caractéristiques d'un sirop incluent un pH variant de 4,6 à 4,8, une densité située entre 1 et 1,3, ainsi qu'une viscosité comprise entre 200 et 400. Les résultats que nous avons obtenus respectent ces normes.



**Figure20** : Viscosité à 60trs/min.



**Figure21** : Viscosité à 30trs/mi

***Conclusion :***

### Conclusion

Les plantes ont historiquement occupé une place essentielle dans la vie quotidienne des êtres humains, car elles sont utilisées pour l'alimentation, le traitement des maladies et la satisfaction de divers besoins.

Ce travail de fin d'étude a permis d'analyser le potentiel bioactif de la partie aérienne de *Marrubium vulgare* en adoptant une approche intégrée qui inclut l'extraction, la caractérisation phyto-chimique, l'évaluation de l'activité anti-oxydante et la formulation galénique.

Le processus d'extraction adopté a abouti à un rendement satisfaisant de 22 %, ce qui témoigne d'une efficacité notable dans l'extraction des composés solubles. L'analyse quantitative des métabolites secondaires de l'extrait préparé a révélé une concentration significative de polyphénols (338 mg EAG/g d'extrait), de flavonoïdes (108 mg EQ/g d'extrait) et de tanins (53,97 mg EAG/g d'extrait), indiquant la richesse de notre extrait en substances bioactifs soulignant ainsi le potentiel pharmacologique de cette plante.

L'évaluation de l'activité anti-oxydante, effectuée par le biais du test DPPH, a montré que l'extrait présentait une concentration inhibitrice médiane ( $IC_{50}$ ) de 0,35 mg/ml, ce qui indique un pouvoir antioxydant très puissant et très proche à celui d'acide ascorbique (0,33mg/ml). Les résultats obtenus mettent en évidence l'importance significative de la richesse en composés phénoliques. Ces données corroborent l'intérêt thérapeutique de *Marrubium vulgare* en tant que source naturelle d'antioxydants. Représentant une alternative potentielle aux antioxydants de synthèse tels que l'acide ascorbique.

À partir de ces résultats, un sirop a été formulé à partir de l'extrait de la plante, en veillant à intégrer l'extrait préparé dans une forme galénique stable et adéquate pour une administration orale. Des analyses physico-chimiques ont été réalisées sur le produit final, confirmant sa conformité aux normes de qualité établies.

Notre étude a révélé que *Marrubium vulgare* est une plante qui mérite d'être reconnue et valorisée, afin que les individus puissent bénéficier de ses effets pharmacologiques. Il est également essentiel de déterminer les modes d'utilisation les plus appropriés en fonction des besoins spécifiques.

## Résumé :

Dans ce projet, nous avons procédé à l'extraction des composés bioactifs de *Marrubium vulgare* (marrube blanc), une plante médicinale reconnue pour ses propriétés thérapeutiques. L'extrait obtenu a subi une étape de purification par ajout d'hexane afin d'éliminer la chlorophylle, suivie d'une décantation. La phase hydroéthanolique récupérée a ensuite été concentrée par évaporation de l'éthanol et de l'eau à l'aide d'un évaporateur rotatif puis d'une étuve, permettant d'obtenir un extrait sec avec un rendement d'extraction d'environ 22%.

Des analyses phytochimiques ont été réalisées pour identifier la présence des polyphénols et les terpénoïdes dans l'extrait, et pour quantifier les polyphénols totaux, les flavonoïdes et les tanins dans l'extrait, dont les teneurs respectives sont de 338 mg EAG/g d'extrait, 108 mg EQ/g d'extrait et 53,97 mg EAG/g d'extrait. Les tests d'identification ont montré la présence des polyphénols et des terpénoïdes. Par ailleurs, l'activité anti-oxydante de l'extrait a été évaluée à travers les tests FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) et DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle). Le test DPPH a montré le pouvoir antioxydant très puissant de notre extrait avec une IC50 égale à 0,35 mg/ml qui est proche de celui d'acide ascorbique (0,33mg/ml). Le test de réduction de fer (FRAP) a confirmé le pouvoir antioxydant de notre extrait bien qu'il soit cette fois-ci nettement inférieur à celui de la référence.

Dans une seconde phase, une formulation de sirop à base de l'extrait sec de *Marrubium vulgare* a été élaborée. Le sirop obtenu a été soumis à des tests physico-chimiques (pH, viscosité, densité...) ainsi qu'à une évaluation organoleptique (goût, odeur, aspect...) afin d'assurer sa qualité et son acceptabilité. Les résultats obtenus de tests réalisées ont confirmé la conformité de notre sirop aux normes internationales.

Ce travail met en évidence le potentiel antioxydant du *Marrubium vulgare* et son intérêt dans le développement de formulations phytothérapeutiques sous forme galénique liquide.

## **Abstract:**

In this project, we extracted bioactive compounds from *Marrubium vulgare* (white horehound), a medicinal plant recognized for its therapeutic properties. The extract obtained underwent a purification step with the addition of hexane to remove chlorophyll, followed by decantation. The recovered hydroethanol phase was then concentrated by evaporating the ethanol and water using a rotary evaporator, then an oven, to obtain a dry extract with an extraction yield of around 22%. Phytochemical analyses were carried out to identify the presence of polyphenols and terpenoids in the extract, and to quantify total polyphenols, flavonoids and tanins in the extract, with respective contents of 338 mg GAE/g extract, 108 mg QE/g extract and 53.97 mg GAE/g extract. Identification tests showed the presence of polyphenols and terpenoids. In addition, the antioxidant activity of the extract was assessed using the FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) and DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) tests. The DPPH test showed the very powerful antioxidant power of our extract, with an IC<sub>50</sub> equal to 0.33mg/ml, which is close to or equal to that of ascorbic acid (0.33mg/ml). The iron reduction test (FRAP) confirmed the antioxidant power of our extract, although this time it was significantly lower than that of the reference.

## **Annexes :**

### **Annexe 1 : Solution à préparer pour le test des polyphénols.**

**Solution FeCl<sub>3</sub> à 2% :** peser 1 g FeCl<sub>3</sub> et ajuster à 50 ml avec l'eau distillée.

### **Annexe 2 : Solution à préparer pour les dosages.**

**Solution Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1M) :** Peser 10,6 g de carbonate de sodium anhydre, dissoudre dans de l'eau distillée, compléter à 100 ml.

**Chlorure d'aluminium à 10% :** Peser 10 g de chlorure d'aluminium et dissoudre dans de l'eau distillée, compléter à 100 ml.

**Acétate de potassium (1M) :** Peser 9,81 g d'acétate de potassium, dissoudre dans de l'eau distillée, compléter à 100 ml.

**Solution Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> à 35% :** Peser 35 g de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, dissoudre dans de l'eau distillée, compléter à 100 ml.

### **Annexe 3 : Solution à préparer pour le test antioxydant (FRAP).**

**Tampon phosphate 0,2 M PH (6,6) :** on introduit 250 ml de solution de phosphate mono potassique 0,2 M dans une fiole jaugée de 1000 ml, ajouter un volume de 222,5 ml de NaOH puis compléter jusqu'à 1000 ml avec de l'eau distillée.

**Solution chlorure de fer à 0,1 :** Peser 0,1 g de FeCl<sub>3</sub>, dissoudre dans de l'eau distillée, compléter à 100 ml.

**Acide trichloracétique à 10% :** Peser 10 g d'acide trichloracétique, dissoudre lentement dans de l'eau distillée (c'est un solide très soluble), compléter à 100 ml.

**Solution ferricyanure de potassium  $K_3Fe(CN)_6$  à 1% :** Peser 1 g de  $K_3[Fe(CN)_6]$ , dissoudre dans de l'eau distillée, compléter à 100 ml.

#### Annexe 4 : Caractéristiques techniques du viscosimètre rotatif

<b>1. Paramètres techniques principaux</b>		
Modèle	NDJ-5S	NDJ-8S
Plage de mesure (mPa·s)	20 – 100 000	20 – 2 000 000
Vitesse de rotation (tr/min)	6, 12, 30, 60	0,3, 0,6, 1,5, 3, 6, 12, 30 60
Rotors (Spindles)	Les rotors (codes L1, L2, L4) sont fournis avec l'appareil. Le rotor L0 est en option.	
Précision	±1 % de l'échelle maximale en usage	
Capacité de retour	±0,5 % de l'échelle maximale en usage	
Alimentation	Adaptateur secteur (entrée : 100 – 240 V / 50 – 60 Hz, sortie : DC 12 V / 1 A)	
Remarques:    K = 1 000    M = 1 000 000		

#### Annexe 5 : Caractéristiques des billes de mesure pour viscosimètre à chute de bille.

Order-No.	Ball No.	Made of	Density $\rho$ (g/cm <sup>3</sup> )	Diameter of the ball (mm)	Constant K (approx.) (mPa·s·cm <sup>3</sup> /g·s)	Recomm. measuring range (mPa·s)
800-0002	1	Boron silica glass	2.4	15.81 ± 0.01	0.007	0.6 – 10
800-0003	2	Boron silica glass	2.4	15.6 ± 0.05	0.09	9 – 140
800-0004	3	Nickel iron alloy 1	8.1	15.6 ± 0.05	0.09	40 – 700
800-0005	4	Nickel iron alloy	8.1	15.6 ± 0.05	0.7	1500 – 5000
800-0006	5	Nickel iron alloy	8.1	14.0 ± 0.5	1.5	1500 – 50 000
800-0007	6	Nickel iron alloy	8.1	11.0 ± 1	35	> 7500

Order-No.	Ball	Made of	Density $\rho$ (g/cm <sup>3</sup> )	Diameter of the ball (mm)	Constant K (approx.) (mPa-s-cm <sup>3</sup> /g-s)	Recomm. measuring range mPa-s
800- 0009	G	Boron silica lass	2.4	15.91 + 0.02	—	Gases
800- 0010	G3	Boron silica lass	2.4	15.30	0.4	20 to 200
800- 0011	G4	Boron silica lass	2.4	14.40	3.5	150 to 1500

---

*Références  
bibliographiques*

- ♦ Agronomy, 11(5), Article 5. <https://doi.org/10.3390/agronomy11050968>
- ♦ Aouadi, S. (2010). *Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle : étude de 57 plantes recommandées par les herboristes* [Thèse de doctorat].
- ♦ Azzi, R. (2013). *Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète sucré dans l'Ouest algérien : Enquête ethnopharmacologique : Analyse pharmacotoxicologique de figuier (*Ficus carica*) et de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) chez le rat Wistar*" [Thèse de doctorat en biochimie]. University Tlemsen (Algérie).
- ♦ Baba Aissa, F. (1999). *Encyclopédie des plantes utiles*. Librairie Moderne.
- ♦ Baba, S. A., & Malik, S. A. (2015). *Determination of total phenolic and flavonoid content, antimicrobial and antioxidant activity of a root extract of arisaema jacquemontii Blume*. 9, 449-454.
- ♦ Balmé, F. (1982). *Plantas Medicinai*s. Ed.Hemus Ltda.
- ♦ Bellakhdar, J. (1997). *Médecine Arabe Ancienne et Savoirs Populaires : La pharmacopée marocaine traditionnelle*. IBS Press.
- ♦ Bemmansour, N., Bemmansour, E. H., & M., S. (2022). *Chemical Composition and Biological Activities of Marrubium Vulgare L.* 49(2), 616-622.
- ♦ Blumenthal, M., Goldberg, A., & Brinkmann, J. (2000). *Herbal Medicine. Expanded Commission E Monographs*. Integrative Medicine Communications.
- ♦ Bonnier, G. (1990). *La grande Flore française : Complète. Tome 9. La végétation de la France, Suisse et Belgique* (Vol. 9). Blin.
- ♦ Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2012). *Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta*(L.) Briq.* 14.19.
- ♦ Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie* (3e édition). Tec & Doc.
- ♦ Bruneton, Jean. (1993). *Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales* (2e édition). Lavoisier, Techniques & Documentation.
- ♦ Çalis, L., Hosny, M., Khalifa, T., & Ruedi, P. (1992). *Phenylpropanoid glycosides from Marrubium alysson*. 31(10), 3624-3626.
- ♦ Cowan, M. M. (1999). *Plant Products as Antimicrobial Agents*. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564-582.
- ♦ Culpeper, N. (2006). *Culpeper's Complete Herbal & English Physician*. Applewood Books.

## Références bibliographiques

---

- ♦ Dacosta, E. (2003). Les phytonutriments bioactifs (Yves Dacosta).
- ♦ Dar, S. A., Bhushan, A., & Gupta, P. (2020). Chemical constituents and pharmacological activities of *Marrubium vulgare* L., an important medicinal herb. In *Botanical Leads for Drugs Discovery* (p. 255-275). Springer.
- ♦ De Souza, M. M., De Jesus, R. A. P., Cechinel-Filho, V., & Schlemper, V. (1998). Analgesic profile of hydroalcoholic extract obtained from *Marrubium vulgare*. 5(2), 103-107. [https://doi.org/10.1016/S0944-7113\(98\)80005-6](https://doi.org/10.1016/S0944-7113(98)80005-6)
- ♦ Debuigue, G. (1972). *Dictionnaire des plantes qui guérissent*. Larousse.
- ♦ Dif, M. M., Benchiha, H., Mehdadi, Z., Benali-Toumi, F., Benyahia, M., & Bouterfas, K. (2015). Etude quantitative des polyphénols dans les différents organes de l'espace *papaver rhoeas* L. 13(5), 314-319. <https://doi.org/10.1007/s10298-015-0976-5>
- ♦ Djahra, A. B. (2013). *Etude phytochimique et activité antihépatotoxique du Marrube blanc ou Marrubium vulgare L* [Thèse de doctorat]. Université Badji Mokhtar, Annaba.
- ♦ Drawell. (s. d.). Operating instructions-NDJ series digital viscosimeter [Manuel d'utilisation]. Drawell International Technology Limited.
- ♦ El-Bardai, S., Lyoussi, B., Wibo, M., & Morel, N. (2001). Pharmacological evidence of hypotensive activity of *Marrubium vulgare* and *Foeniculum vulgare* spontaneously hypertensive rat. 23, 329-343.
- ♦ Greuter, W., Burdet, H. M., & Long, G. (1986). *Med-Checklist* (Vol. 3). Conservatoire et Jardins Botaniques.
- ♦ Gebr.HAAKE, G. (1997). Instruction manuel—Falling Ball Viscometer C.
- ♦ Guenter, E. (1972). *The Essential Oils, Vol. III, Oil of Marjoram*. Robert E.Kruger Publishing Co.Inc.
- ♦ Guignard, J. L. (1996). Abrégé de biochimie végétale. Masson.
- ♦ Gurif, F. (2006). medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*, 27, 1-93.
- ♦ Hemingway, R. W. (1962). Structural variation in proanthocyanidins and their derivatives. In *Plant polyphenols : Synthesis, properties, significance*. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(02\)00037-7](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(02)00037-7)
- ♦ Iserin, P. (2001). *Larousse des plantes médicinales*. Larousse.
- ♦ Iserin, P., Masson, M., Restellini, J., Yberte, E., De Laage De Meux, A., Moulard, F., Zha, E., De La Roque, R., De La Roque, O., Vican, P., Delesalle-Feat, T., Biaujeaud,

- M., Ringuet, J., Bloth, J., & Botrel, A. (2001). Larousse des plantes médicinales : Identification, préparation, soins (2e édition)
- ♦ Jan, R., Asaf, S., Numan, M., Lubna, & Kim, K.-M. (2021). Plant Secondary Metabolite Biosynthesis and Transcriptional Regulation in Response to Biotic and Abiotic Stress Conditions.
  - ♦ Jiofack, T., Fokunang, C., Guedje, N., Fongnzossie, E., Nkongmeneck, B. A., Mapongmetsem, P. M., & Tsabang, N. (2010). Ethnobotanical uses of medicinal plants of two ethnoecological regions of Cameroon. *International Journal of medicine and Medical Sciences*, 2(3), 60.79.
  - ♦ Josy, M. D. (2012). *Les plantes aromatiques et médicinales*. Amazon.
  - ♦ Kahlouche Riachi, F. (2014). Évaluation chimique et activité antibactérienne de quelques plantes médicinales d'Algérie [Université de Constantine 1]. <https://bu.umc.edu.dz/theses/veterinaire/KAH6514.pdf>
  - ♦ Khaled-khodja, N., Boulekbache-Makhlouf, L., & Madani, K. (2014). *Phytochemical screening of antioxidant and antibacterial activities of methanolic extracts of some Lamiaceae*. 61, 41.48.
  - ♦ Klaas, C. A., Wagner, G., Laufer, S., Sosa, S., Loggia, R. D., Bomme, U., Pahl, H. L., & Merfort, I. (2002). Studies on the Anti-Inflammatory Activity of Phytopharmaceuticals Prepared from Arnica Flowers. 68, 385 . 391. <https://doi.org/10.1055/s-2002-32084>
  - ♦ Knoss, W. (2013). *Marrubium and other secondary metabolites*. *XI ou II*(43), 274.
  - ♦ Koné, D. (s. d.). Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes : Extraction, identification d'alcaloïdes—Caractérisation, quantification de polyphénols : Étude de leur activité antioxydante.
  - ♦ Krief, S. (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal : Surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées [Phdthesis, Museum national d'histoire naturelle - MNHN PARIS]. <https://theses.hal.science/tel-00006170>
  - ♦ Louis, S. (2004). Diversité structurale et d'activité biologique des Albumines entomotoxiques de type 1b des graines de Légumineuses.
  - ♦ Lewis, H. W. (1977). *Medical Botany. Plants Affecting Man's Health*. John Wiley.
  - ♦ Iida, L., Tanaka, M., & Mihara, T. (1995). *Marrubinones A and B, labdane diterpenoids from Marrubium astracanicum (Labiatae)*. 43(9), 1454.1457.

## Références bibliographiques

---

- ♦ Lhoste J. 1989. Le grand livre de la phytothérapie. Editions conseil+.
- ♦ Lodhi, S., Vadnere, G. P., Sharma, V. k., & Usman, M. (2017). *Marrubium vulgare L: a review on phytochemical and pharmacological aspects*. 6(4), 429.
- ♦ Loubaki, B. C., Ouattara, A. S., Ouattara, C. A. T., & et al. (1999). Activités antimicrobiennes des extraits aqueux totaux de *Detarium microcarpum* [Cesalpinaceae (Guil et Perr)] sur huit espèces bactériennes impliquées dans certaines maladies infectieuses au Burkina Faso. *Science et Médecine*, 1, 66-73.
- ♦ Maiza, K., Brac de Laperrière, R. A., & Hammiche, V. (1993). *Médicaments et aliments : L'approche ethnopharmacologique*.
- ♦ Meyre-Silva, C., Yunes, R., Schlemper, V., Campos-Buzzi, F., & Cechinel-Filho, V. (2005). *Analgesic potential of marrubiin derivatives, a bioactive diterpene present in Marrubium vulgare (Lamiaceae)*. 60(4), 321 - 326. <https://doi.org/10.1016/j.farmac.2005.01.003>
- ♦ Michel, P., & Monique, H. (1981). *Abrégé de matière médicale, pharmacognosie – Tome 1 : Généralités, monographies (1re partie)*. Masson.
- ♦ Midoun, T. (2011). Extraction des composés phénoliques et étude de leurs activités antioxydantes par la voltamétrie cyclique.
- ♦ Newall, C. A., Anderson, L. A., & Phillipson, J. D. (1996). *Herbal medicines*. The Pharmaceutical Press.
- ♦ Paris, Moyse, René, R., & Hélène. (1976). *Précis de matière médicale. Tome I. Pharmacognosie générale, pharmacognosie spéciale (2e éd. Révisée)*. Masson.
- ♦ Pavela, R. (2004). *Insecticidal activity of certain medicinal plants*. 75, 745-749.
- ♦ Pourmorad, F., Hosseinimehr, S. J., & Shahabimajid, N. (2006). *Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants*. 5(11), 1142-1145.
- ♦ Quézel, F., & Santa, S. (1962). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales: Vol. 1(2)*. CNRS.
- ♦ Quezel, F., & Santa, S. (1962). *Nouvelle Flore de L'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales (Vol. 1.2)*. CNRS.
- ♦ Raynaud, J. (2007). *Prescription et conseil en phytothérapie*.
- ♦ Sakagami, H., Hashimoto, K., Suzuki, F., Ogiwara, T., Satoh, K., Ito, H., Hatano, T., Takashi, Y., & Fujisawa, S. (2005). Molecular requirements of lignin-carbohydrate complexes for expression of unique biological activities. *Phytochemistry*, 66(17), 2108-2120. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.05.013>

## Références bibliographiques

---

- ♦ Salinas, G. M., Guerra, M. C. R., & Villareal, J. V. (2005). *Bacterial activity of organic extracts from Flourensia cernua against strains of Mycobacterium tuberculosis*. 37, 45.49.
- ♦ Sanchez Moreno, C. (2002). *Methods used to evaluate the free radical scavenging activity foods and biological systems*. 8, 121.137.
- ♦ Sarni, M., Pascale, & C., & Véronique. (2006). *Les polyphénols en agroalimentaire* (1<sup>er</sup> édition). Tec & Doc / Lavoisier.
- ♦ Steinmetz, E. F. (1954). *Materia Medica Vegetabilis*. Published by Author.
- ♦ Stöckigt, J., Sheludk, Y., Unger, M., Gerasimenko, I., Warzecha, H., & Stöckigt, D. (2002). Highperformance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoreticelectrospray ionisation mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups. *Journal of Chromatography. A*, 967(1), 85.113.
- ♦ Takeda, Y., Yanagihara, K., & Masuda, T. (2000). *Labdane diterpenoids from Marrubium globosum ssp. Globosum*. 48(8), 1234.1235.<https://doi.org/10.1248:cpb.48.1234>
- ♦ Vander Jagt, T. J., Ghattas, R., & Vander Jagt, D. J. (2002). *Comparison of the total antioxidant content of widely used medicinal plants of Now Mexico*. 70, 1035.1040.
- ♦ Watt, J. M., & Breyer-Brandwijk, M. G. (1962). *The Medicinal and Poisonous Plants of southern and Eastern Africa* (2nd ed). E.& S.Livingstone.
- ♦ Wichtl, M., & Anton, R. (2009). *Plantes thérapeutiques : Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique*.
- ♦ Wren, R. C. (1941). *Potter's Cyclopaedia of Botanical Drugs and Preparations*. Potter & Clarke Ltd.
- ♦ Y, H. P., & Foulla, K.-R. (2017). Evaluation chimique et activite antibacterienne de quelques plantes medicinales d'Algerie [Université Frères Mentouri - Constantine 1].<http://depot.umc.edu.dz/handle/123456789/1596>
- ♦ Yildirim, A., Mavi, A., & Kara, A. A. (2001). *Determination of Antioxydant and Antimicrobial Activities of Rumex crispus L.Extracts*. 49(8), 4083.4089.<https://doi.org/10.1021/jf0103572>