



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 محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج

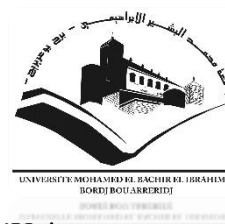
Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون

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

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques



Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie

**Etude de l'activité anti-radicalaire et anti-hémolytique en présence de
glucose de *Marrubium vulgare* et *Laurus nobilis***

Présenté par : Belalit Houria

Mayouf Zahia

Soutenu le : 09 /07/2019

Devant le jury :

Président :	M ^{me} BENSCHIR Hadjira	MAA	(Univ . Bordj Bou Arreridj)
Encadrant :	M ^r BELLIK Yuva	MCA	(Univ . Bordj Bou Arreridj)
Examineur :	M ^{me} FATMI Widad	MCB	(Univ . Bordj Bou Arreridj)

Année universitaire : 2018/2019

Remerciement



*Avant tout nous remercions
ALLAH qui nous a donné la santé la volonté et
la passion de réaliser ce travail.*

*Nous tenons à remercier notre encadrant Mr.
BLLIK YUVA pour avoir encadré et dirigé ce
travail avec une grande rigueur scientifique,
et pour sa disponibilité, ses précieux conseils, la
confiance qu'il nous a accordé et pour son suivi
régulier à l'élaboration de ce mémoire.*

*Un grand merci à l'équipe du laboratoire de
Biochimie
pour toute l'aide qu'elle nous a apporté au
cours de la réalisation la partie expérimentale.
Toute personne qui a participé de près ou de
loin, directement ou indirectement à la
réalisation de ce travail*

Dédicace

*Je commence ma dédicace au nom de Dieu et le salut sur
Mohamed le messager de Dieu*

*Je voudrais dédier ce modeste travail à
Toi ma MÈRE, l'être chère de ma vie, toi qui est
toujours là à me consoler, me soulager et m'encourager, toi
qui a donné le précieux de toi pour me voir réussir de jour
en jour,*

*MÈRE tu es « La cause de ma réussite dans la vie »
L'être que j'aime tant, toi PÈRE qui a veillé toujours pour
mon bien-être, « Toi PÈRE la lueur de mon chemin »*

**A ma petite sœur HIBA»*

*A ma sœur RAZIKA et son mari
« Mes adorables frères KARIM et MAHMOUD*

**A mon fiancé BILAL*

«A ma partenaire Houria

A tous mes professeurs»

*A madame ASSIA qui nous a beaucoup soutenu
Et a tous mes collègues de la promotion Biochimie
«A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin.*

ZAHIA

Dédicace

*Je commence ma dédicace au nom du Dieu et le salut sur
Mohamed le messenger de Dieu*

Je voudrais dédier ce modeste travail à

*Toi ma MÈRE, l'être le chère dans ma vie, toi qui est
toujours là à me consoler, me soulager et m'encourager, toi
qui a donné le précieux de toi pour me voir réussir de jour
en jour, MÈRE tu es*

« La cause de ma réussite dans la vie »

*A mon ange gardien que le temps n'a pas pu atténuer son
absence, « A mon PAPA »*

A mes adorables sœurs ROUMAÏSSA et SOUMIA

A mes adorables sœurs et leurs maris

A mon adorable frère KHALED

«A ma partenaire Zahia

A tous mes professeurs

*A madame ASSIA qui nous beaucoup a soutenu
Et a tous mes collègues de la promotion Biochimie
«A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin*

HOURLIA

Sommaire

Introduction	1
--------------------	---

Partie bibliographique

Chapitre I : Monographie de plantes étudiées

I.1. Les plantes médicinales.....	3
I.2. Composition des plantes.....	3
I.2.1. Métabolites primaires.....	3
I.2.2. Métabolites secondaires	3
I.3. Origine des plantes	4
I.3.1. Plantes spontanées	4
I.3.2. Plantes cultivées	4
I.4. <i>Marbium vulgare</i>	4
I.4.1. Nom vernaculaire	5
I.4.2. Classification botanique	5
I.4.3. Description botanique.....	6
I.4.4. Composition chimique	6
I.4.5. Usages thérapeutiques de <i>Marrubium vulgare</i>	6
I.5. <i>Laurus nobilis</i>	7
I.5.1. Nom vernaculaire	7
I.5.2. Classification botanique	8
I.5.3. Description botanique	8
I.5.4. Composition chimique	8
I.5.5. Usages thérapeutiques de <i>Laurus nobilis</i>	8

Chapitre II : Globules rouge et Statut oxydatif

II.1. Globules rouges	11
II.2. Membrane érythrocytaire.....	11
II.3. Rôles du globule rouge	11

II.4. Métabolisme du globule rouge	12
II.4.1 Impact d'une concentration élevée en glucose sur le globule rouge.....	12
II.4.1.1 Voie des polyols	13
II.4.1.2. Voie de la protéine kinase C	13
II.4.1.3. Voie des hexosamines.....	14
II.4.1.4. Formation des produits terminaux de glycation (AGE)	14
II.5. Production des ROS au cours de l'hyperglycémie	15

Partie expérimentale

III. Matériels et méthodes

III.1. Matériels	16
III.1.1. Echantillons	16
III.1.1.1. Plantes	16
III.1.1.2. Sang.....	16
III.1.2. Réactifs et standards.....	17
III.2. Méthodes	17
III.2.1. Préparation des extraits	17
III.2.2. Détermination de la teneur en eau (humidité).....	18
III.2.3. Dosage des métabolites secondaires	18
III.2.3.1. Dosage des polyphénols totaux	18
III.2.3.2. Dosage des flavonoïdes	19
III.2.4. Test au DPPH.....	20
III.2.5. Etude de l'activité anti-hémolytique	21
III.2.5.1. Préparation du sang isotonique	21

III.2.5.2. Mesure de la turbidité cellulaire.....	22
III.2.5.3. Dosage d'hémoglobine libérée	22
III.2.5.4. Etude microscopique	23
III.3.. Analyse statistique.....	24

IV. Résultats et discussion

IV.1. Détermination du taux d'humidité.....	25
IV.2. Teneur en métabolites secondaires.....	25
IV.2.1. Teneur en polyphénols totaux.....	25
IV.2.2. Teneur en flavonoïdes.....	27
IV.3. Inhibition du radical libre DPPH.....	28
IV.4. Etude de l'activité anti hémolytique des extraits de plante.....	29
IV.4.1. Turbidité cellulaire.....	29
IV.4.2. Concentration en hémoglobine extracellulaire.....	30
IV.4.3. Etude Microscopique.....	31
Conclusion et perspectives.....	32

Références bibliographiques

Annexes

Liste des figures

Figure	Titre	Page
1	Aspect morphologique de <i>Marrubium vulgare</i> .	4
2	<i>Marrubium vulgare</i> clichée par Belalit Houria.	4
3	Aspect morphologique de <i>Laurus nobilis</i> .	7
4	<i>Laurusnobilis</i> clichée par Mayouf Zahia.	7
5	Squelette membranaire des érythrocytes humains.	11
6	Voies activées par l'hyperglycémie.	12
7	Voie des polyols.	13
8	Voie de la PKC dans le cadre de la pathologie diabétique.	14
9	Formation des PTG par la glycation.	15
10	Image montrant le site de la récolte.	16
11	Echantillon de sang.	16
12	Protocole d'extraitaction.	17
13	Forme libre et réduite du DPPH.	20
14	Préparation de sang isotonique.	21
15	Protocole expérimental de l'évaluation de l'activité hémolytique.	23
16	Le taux d'humidité et de matière sèche des de <i>Marrubium vulgare</i> et <i>laurus nobilis</i> .	25
17	Teneur en polyphénols totaux des deux extraits de plante.	26
18	Teneur en flavonoides des deux extraits de plante.	27
19	Pourcentage d'inhibition du radicale libre DPPH.	28
20	Histogrammes montrant la turbidité cellulaire des différents échantillons étudiés sous l'effet de la solution hypotonique (NaCl à 0.7%) et sous l'action du glucose à (1. 5 .10 .100) mg/ml Les valeurs sont données en moyenne $\pm$ Ecart type.	29
21	Histogrammes montrant la concentration en hémoglobine extracellulaire des différents échantillons étudiés sous l'effet de la solution hypotonique (NaCl à 0.7%) et sous l'action du glucose à (1. 5 .10 .100) mg/ml Les valeurs sont données en moyenne $\pm$ Ecart type.	30
22	Photos des frottis sanguins de chaque essai vus sous microscope électronique (10X100).	31

Liste des tableaux

	Titre	Page
I	Nom vernaculaire de <i>Marrubium vulgare</i> .	5
II	Classification botanique de <i>Marrubium vulgare</i> .	5
III	Quelques exemples d'usages traditionnels de <i>Marrubium vulgare</i> .	6
IV	<i>Nom vernaculaire de Laurus nobilis</i> .	7
V	classification botanique de <i>Laurus nobilis</i> ..	8
VI	Quelques usages traditionnels de <i>Laurus nobilis</i> .	9

Liste des abréviations

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium ou chlorure d'aluminium.

ANOVA : Analyse de la variance.

ATP : Adénosine triphosphate

CAT : Catalase

CO₂ : Dioxyde de carbone

Cu : Cuivre.

DPPH : 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl

ERA : Espèce réactive d'azote.

ERO : Espèce réactive d'oxygène

F-C : Folin-Ciocalteu

Fe : Le fer

GAE : Équivalent à l'acide gallique

GPx : Glutathion peroxydase

GR : Globules rouges.

GSH : Glutathion réduit

GSSG : Glutathion disulfure

Hb : Hémoglobine

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène ou eau oxygénée

LDL : Lipoprotéines de faible densité

(Ln) : *Laurus nobilis*

(MV) : *Marrubium vulgare*

PTG : produit terminaux de glycation

(T-) : témoin négatif

(T+) : témoin positif

(U) : micro litre

(H) : humidité

(OH) : groupement hydroxyle

(Rpm) : rotation par minute

(nm) : nano mètre

Introduction

Introduction

En dépit, de l'amélioration remarquable des conditions de vie durant ces dernières décennies, l'hyperglycémie chronique reste encore l'un des facteurs les plus importants dans l'apparition de nombreux processus pathologiques **(Pi-Sunyer, 2002)**. En effet, l'augmentation du flux de glucose augmente à la fois la production d'oxydants et altère les défenses anti-oxydantes par de multiples voies d'interaction. Par ailleurs, de nombreuses études ont montré que l'accumulation de glucose intracellulaire peut augmenter la peroxydation de la membrane des cellules prédisposant aux altérations de la membrane et de l'intégrité cellulaire **(Jain, 1989)**.

Le globule rouge, de par sa fonction de transport de l'oxygène, est soumis à des conditions où le stress oxydant est important **(Çimen, 2008)**. Les érythroïdes accumulent de l'hémoglobine au cours de leur développement, et les érythrocytes, une fois matures, transportent sans cesse de grandes quantités d'oxygène **(Hattangadi et Lodish, 2007)**, avec comme conséquence l'élévation du niveau de stress oxydatif **(Fruehauf et Meyskens, 2007)**.

Les effets néfastes de l'hyperglycémie sur les globules rouges ont été suggérés pour être dus à la génération des radicaux libres et l'induction du stress oxydant. **Fischer et ses collaborateurs (1978)**, ont rapportés que les espèces réactives de l'oxygène (ROS) augmentent la fragilité de la membrane érythrocytaire, entraînant une hémolyse intravasculaire et une libération d'hémoglobine dans le plasma. Chez des sujets hémodialysés, le stress oxydant diminue d'une manière significative la durée de vie des globules rouges par rapport à aux érythrocytes de sujets sains. De plus, la participation du stress oxydant dans l'anémie a été récemment confirmée par les supplémentations en antioxydants comme la vitamine E, en GSH ou en vitamine C **(Zachee et al., 1995; Gastaldello et al., 1995)**. Outre, l'apport en antioxydants, plusieurs pistes ont pu être proposées pour diminuer le stress oxydant érythrocytaire, notamment la modulation des apports en fer **(Pereira et al., 1996; Delmas-Beauvieux et al., 1995; Lim et al., 1999)**.

Afin de protéger le corps contre les dommages oxydatifs, une approche efficace consiste à améliorer la nutrition antioxydante. Les antioxydants de sources naturelles ont une biodisponibilité plus élevée et par conséquent une efficacité protectrice supérieure aux antioxydants synthétiques **(Hyun et al., 2016)**.

L'Algérie, par ces ressources naturelles, dispose d'une flore singulièrement aussi riche que variée. On compte environ 3000 espèces de plantes **(Gaussen, 1982)**. Une grande part de plantes inexplorées à la fois en chimie et en biologie est encore immense. Ce qui offre

éventuellement l'opportunité de découvrir des traitements pour des maladies encore dévastatrices et de proposer des alternatives thérapeutiques peu onéreuses avec moins d'effets indésirables. Les études actuelles portant sur les métabolites secondaires consistent à étudier leurs activités pharmacologiques. La maîtrise totale et parfaite des différentes propriétés de ces plantes, qui passe par la détermination de l'ensemble de constituants phytochimiques capables d'engendrer un ou plusieurs effets pharmacologiques, est aujourd'hui un objectif qui occupe de plus en plus la communauté scientifique (**Abdelwahed et al., 2007**).

Dans le présent travail nous nous sommes fixés comme objectif d'évaluer le potentiel antiradicalaire des extraits de plantes sur le globule rouge humain. Notre démarche consiste, d'une part, en l'extraction des substances actives de *Marrubium vulgare* et de *Laurus nobilis* avec dosage de leurs teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes, et d'autre part, l'étude de l'effet de ces substances sur la résistance des hématies au stress hypotonique sous l'action de concentrations croissantes en glucose.

Partie bibliographique

I.1. Les plantes médicinales

Les plantes médicinales contiennent plusieurs substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques (**Sofowora, 2010**). Elles sont donc importantes pour la recherche pharmaceutique et l'élaboration de médicaments (**Decaux, 2002**), non seulement lorsque les constitutions de ces plantes sont utilisées directement comme agent thérapeutique, mais aussi comme matière première pour la synthèse de nouveaux médicaments (**Ameenah, 2006**).

I.2. Composition des plantes

La plante est le siège d'une activité métabolique aboutissant à la synthèse des métabolites primaires et des métabolites secondaires (**Hartmann, 2007**).

I.2.1. Métabolites primaires

Les métabolites primaires sont caractérisés par leur caractère nécessaire et vital à la survie de la cellule ou de l'organisme (**Diallo, 2000**).

- Les glucides représentent une source d'énergie surtout au niveau des parois cellulaires (cellulose).
- Les lipides constituent aussi une source d'énergie présente dans les membranes cellulaires.
- Les acides aminés représentent une source primaire de construction des protéines.

I.2.2. Métabolites secondaires

Ce sont des produits du métabolisme secondaire (exclusivité du monde végétal), ayant une répartition limitée, et sont d'une grande variété structurale. Les métabolites secondaires sont divisés principalement en trois grandes familles, les polyphénols, les terpènes et les alcaloïdes (**Abderrazak et Joël, 2007**).

On estime que 25% des médicaments prescrits sont produits à partir de principes actifs provenant des végétaux. **Potterat et Hostettmann (1998)** ont rapporté que 120 composés d'origine naturelle provenant de 90 plantes différentes trouvent une application dans l'industrie pharmaceutique.

I.3. Origine des plantes

I.3.1. Plantes spontanées

Elles furent les seules utilisées autrefois et représentent encore aujourd'hui un pourcentage notable du marché. Leur répartition dépend du sol, du climat et de l'intensité de la lumière nécessaire pour le bon développement des végétaux (**Bézanger-Beauquesne, 1986**).

I.3.2. Plantes cultivée

Les plantes cultivées ont l'avantage d'assurer une matière première en quantité suffisante pour répondre aux besoins et les substances actives recueillies sont homogènes de par leur aspect et leur composition chimique (**Bézanger-Beauquesne, 1986**).

Notre travail vise à étudier deux plantes médicinales algériennes soit *Laurus nobilis* et *Marrubium vulgare*. Ces plantes sont très réputées pour leurs vertus thérapeutiques et leur richesse en métabolites secondaires, et particulièrement, les polyphénols et les flavonoides.

I.4. *Marrubium vulgare*

Les Lamiaceae sont une famille de plantes importante appartenant aux angiospermes dicotylédones, ce sont des arbustes, sous arbrisseaux ou plantes herbacées. Cette famille comporte de nombreuses plantes utilisées dans la médecine traditionnelle et moderne. Un très grand nombre de genres et d'espèces de plantes appartenant à la famille des Lamiaceae sont riches en flavonoïdes et iridiodesglycosylés (**Judd et al., 2002**).

Dans la flore de l'Algérie les Lamiaceae sont représentées par 28 genres et 146 espèces, (**Quezel et Santa, 1962**).



Figure 1: Aspect morphologique de *Marrubium vulgare* (**Bardet et al., 2008**)



Figure 2 : *Marrubium vulgare* (clichée par Belalit)

Les tableaux I et II reprennent les noms vernaculaires ainsi que la classification botanique du marrube.

I.4.1. Nom vernaculaire

Tableau I : Nom vernaculaire de *Marrubium vulgare*.

Arabe	مريوت (Temani, 2006)
Français	Marrubium blanc (Greuter et al, 1986).
Anglais	White horehound (Greuter et al, 1986).

I.4.2. Classification botanique

Tableau II : Classification botanique de *Marrubium vulgare* (**Greuter et al, 1986**).

Réegne	Végétale
Embranchement	Spermatophyte
Sous embranchement	Angiosperme
Classe	Dicotylédone
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	Marrubium
Espèce	Vulgare
Nom binomial	<i>Marrubium vulgare</i> .

I.4.3. Description botanique

Marrubium vulgare est une plante herbacée vivace. Elle présente des feuilles dentées et duveteuses ainsi que des petites fleurs blanches à saveur très amère renfermant un principe actif essentiel « la marrubine » (**Temani, 2006**). Elle peut atteindre jusqu'à 80 cm de hauteur et pousse dans les lieux incultes et à proximité des chemins avec des fleurs, en verticilles, axillaires, nombreux, multiflores, très compacts, espacés sur les tiges (**Greuter et al, 1986**).

I.4.4. Composition phytochimique

Sur le plan chimique, *Marrubium vulgare* est riche en diterpènes (El Bardai et al., 2003), en phenyléthanoïdes glucosidiques (Sahpas et al., 2002), en tanins, en saponins (Kurbatova et al., 2003) et en flavonoïdes (Nawwar-Mahmoud et al., 1989); on lui reconnaît des propriétés antioxydantes (Matkowski et Piotrowska., 2006; Pukalskas et al., 2012), hypoglycémiantes et antidiabétiques (Boudjelal et al., 2003), analgésiques (Dejesus et Cechinel., 2000 ; Meyre Silva et al., 2005) et anti-inflammatoires (Sahpas et al., 2002).

Le marrube blanc est riche en terpènes, sesquiterpènes. Il renferme également des huiles essentielles, des alcaloïdes et des composés phénoliques tels que les flavonoïdes (Elberry et al., 2015).

I.4.5. Usages thérapeutiques de *Marrubium vulgare*

En Algérie, le marrube blanc est utilisé en médecine traditionnelle contre plusieurs maladies tels que le diabète, le rhumatisme, le rhume et les douleurs respiratoires (Belhattab et Larous, 2006).

Tableau III : Quelques exemples d'usages traditionnels de *Marrubium vulgare* de par le monde.

Pays	Usage	Référence
L'Egypte ancienne Indienne	Bronchites, asthme, rhume	(Schlemper et al., 1996) ;
	Anti-inflammatoire	(Sahpaz et al., 2002) ;
	Antimicrobien	(Sahpaz et al., 2002) ;
	Antifongique Antileucémique	(Edziri et al., 2007) ; (Alkhatib et al., 2010) .
	Antinociceptif	(Dejesus, 2000);
	Antispasmodique	(Rigano et al., 2009);
	Analgésique	(Schlemper et al., 1996);
	Insecticide	(Pavela et al., 2004).
Allemagne	Cholérétique (augmentation de la sécrétion biliaire).	(Schlemper et al., 1996).
Mexique	Manque d'appétit	(Roman et al., 1992).
	Diabète Hypoglycémiant	

I.5. *Laurus nobilis*

Le laurier est une plante aromatique à importance médicinales. Elle appartient à la famille des Lauraceae (Lauracées). Celle-ci comprend 32 genres et environ 2000-2500 espèces, dont certaines produisent des huiles essentielles appréciées, comme la canelle le camphrier, le laurier. Les Lauraceae sont l'une des plus importantes familles ligneuses tropicales. Des études récentes ont révélé une étroite relation entre ses genres, tous sont dioïques et la plupart ont une inflorescence ombelle sous-tendu par bractées (Marzouki et al., 2009).



Figure 3 : Aspect morphologique de *Laurus nobilis* (Beloued, 2005).



Figure 4 : *Laurus nobilis* (clichée par Mayouf Zahia)

Les tableaux IV et V reprennent les noms vernaculaires ainsi que la classification botanique du laurier.

I.5.1. Nom vernaculaire

Différentes dénominations en fonction des pays (Anton, 2005).

Tableaux IV : Nom vernaculaire de *Laurus nobilis*

Pays	Nom vernaculaire
Arabe	Rand
Kabyle	Thasselte
Français	Laurier commun, laurier sauce, laurier d'apollon, laurier franc, laurier.
Anglais	Bay, sweetbay ,baylaurel, truelaurel, Roman laurel , noble laurel

I.5.2. Classification botanique

Cette classification à celle donnée par (Quezel et santa, 1962).

Tableau V : classification botanique de *Laurus nobilis*

Règne	Plantes
Sous règne Plantes	Vasculaires
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Dialypétales
Ordre	Laurales
Famille	Lauracées
Genre	Laurus
Espèce	<i>Laurusnobilis</i>

I.5.3. Description botanique

Laurus nobilis est un, arbuste ou arbre aromatique de 2 à 10m de haut à tige droite grise dans sa partie basse et verte en haut. Ses feuilles sont alternées, coriaces, légèrement ondulées sur les bords, longues de 16 cm sur 8 cm de large, persistantes vert foncé et glacés sur leur face supérieure et plus pale en dessous. Les fleurs sont dioïques (petites fleurs mâles et femelles sur des pieds séparés), jaunes, groupées par 4 à 5 en petites ombelles. Le fruit est une petite baieovoïde de 2cm de longueur sur 1cm de largeur, noir vernissé à maturité (Iserin, 2001; Demir et al., 2004; Beloued, 2005).

I.5.4. Composition chimique

Les feuilles de *Laurusnobilis* contiennent aussi des flavonoïdes polaires (dérivées glycosylées de quercétine, kaempferol et de catéchine) et apolaires (quatre dérivés acylés de kaempferol), (Fiorini et al., 1998; Kivçak et Mert, 2002), sesquiterpènes lactones, alcaloïdesd'isoquinoline (Kivçak et Mert, 2002), en plus Gómez-Coronado et ses collaborateurs (2004) ont montré la richesse de ses feuilles en vitamine E.

I.5.5. Usages thérapeutiques de *Laurus nobilis*

Laurus nobilis est largement utilisée en cuisine et en médecine traditionnelle.

Le tableau VI présente les multiples usages traditionnels de *Laurus nobilis*.

Tableau VI : Quelques usages traditionnels de *Laurus nobilis*.

Pays	Partie utilisée	Mode	Usage	Références
Espagne	Feuilles	Décoction	Antirhumatismale, apéritif, digestif, Hypoglycémiant	(Fresquet et <i>al.</i> , 1993) ;
Pakistan	Feuilles	Décoction	Diurétique, antiseptique, traitement des troubles digestifs	(Chaudhry et Tariq, 2006) ;
Palestine	Feuilles		Anticancéreuse, antispasmodique	(Fiorini et <i>al.</i> , 1998) ;
U.S.A	Feuilles		Antirhumatismale, carminatif, hypoglycémiant, traitements des bronchites aiguës et la migraine	(Fang et <i>al.</i> , 2005) ;
	Feuilles, fleurs, fruits-è	In vitro	Antimutagène, anticancéreuse	(Barla et <i>al.</i> , 2007) ;
Serbie	Feuilles	Infusion	Carminatif, expectorant, diurétique, Antirhumatismale, emménagogue, Anticonvulsif et antiépileptique	(Simic et <i>al.</i> , 2003) ;
Turquie	Feuilles	Infusion	Antirhumatismale, anti-hémorroïdes, diurétiques, flatulence, épigastrique.	(Kıvcak et Mert, 2002).

Chapitre II

Globules rouges et statut oxydatif

II.1. Globules rouges

Le globule rouge (GR), appelé aussi hématie ou érythrocyte, est une cellule anucléée unique, avec un cytoplasme comportant 95% d'hémoglobine (Hb). Cette cellule présente de nombreuses propriétés liées aux protéines et aux lipides de la membrane, et hautement spécialisée dans le transport des complexes d'oxygène à partir des poumons au reste du corps (Girasole et *al.*, 2012; Kozlova et *al.*, 2012).

II.2. Membrane érythrocytaire

L'architecture de la membrane des érythrocytes est caractéristique de toutes les membranes cellulaires. Elle est caractérisée par l'interposition d'une bicouche lipidique et de cytosquelette, et se compose de plusieurs protéines qui forment un réseau filamenteux sous la bicouche lipidique. Le réseau est composé de spectrine, Ankyrine et actine. Les protéines du cytosquelette interagissent avec les protéines intégrales et les lipides de la bicouche pour maintenir l'intégrité de la membrane (Smith, 1987). Les dommages oxydatifs associés à la membrane des érythrocytes (lipides/protéines) peuvent être impliqués dans l'hémolyse (Kozlova et *al.*, 2012).

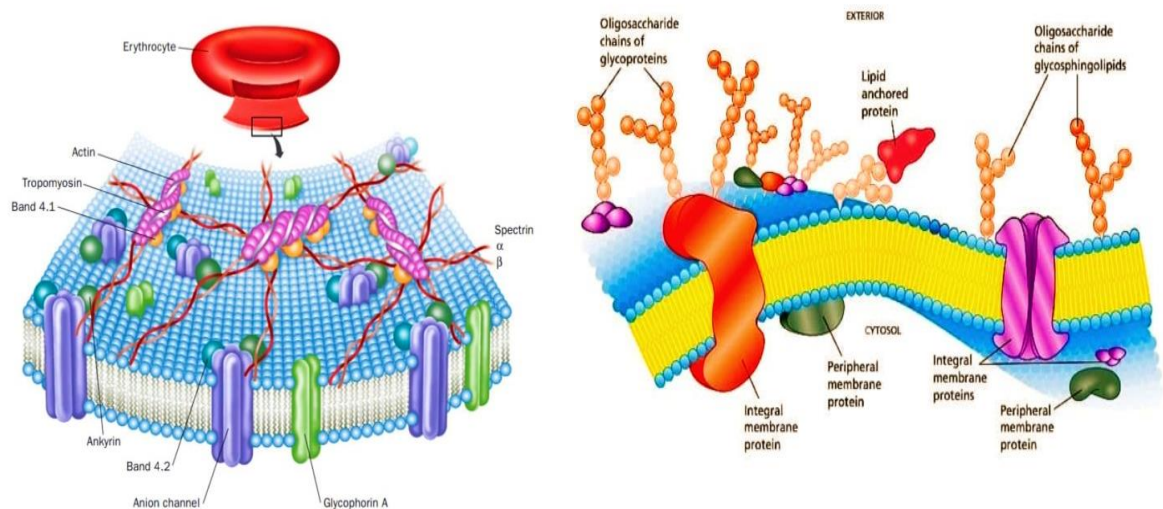


Figure 5 : Squelette membranaire des érythrocytes humains.

John Wiley & son, (2011).

II.3. Rôles du globule rouge

La fonction principale du globule rouge est le transport de l'oxygène grâce à l'hémoglobine. Cette dernière, est également responsable du transport d'une faible proportion

du dioxyde de carbone dans le sang et constitue un tampon, accepteur des H^+ libérés après formation du HCO_3 (François, 2005).

II.4. Métabolisme du globule rouge

Dans le globule rouge mûre, l'énergie nécessaire au maintien de sa morphologie et de sa résistance provient entièrement du métabolisme du glucose. Le métabolisme du glucose a pour but le maintien de l'homéostasie cellulaire redox grâce à la formation de nucléotides pyridines réduits, et la production de l'ATP (François, 2005).

II.4.1. Impact d'une concentration élevée en glucose sur le globule rouge

La toxicité liée à l'hyperglycémie chronique est aujourd'hui bien établie. En effet, différentes voies sont activées en condition d'hyperglycémie et jouent un rôle dans la toxicité cellulaire. Parmi les voies activées par l'hyperglycémie: la voie des polyols, des hexosamines, de la protéine kinase C (PKC) et les voies de formation des produits terminaux de glycation (PTG) (Brownlee, 2005) (Figure 6).

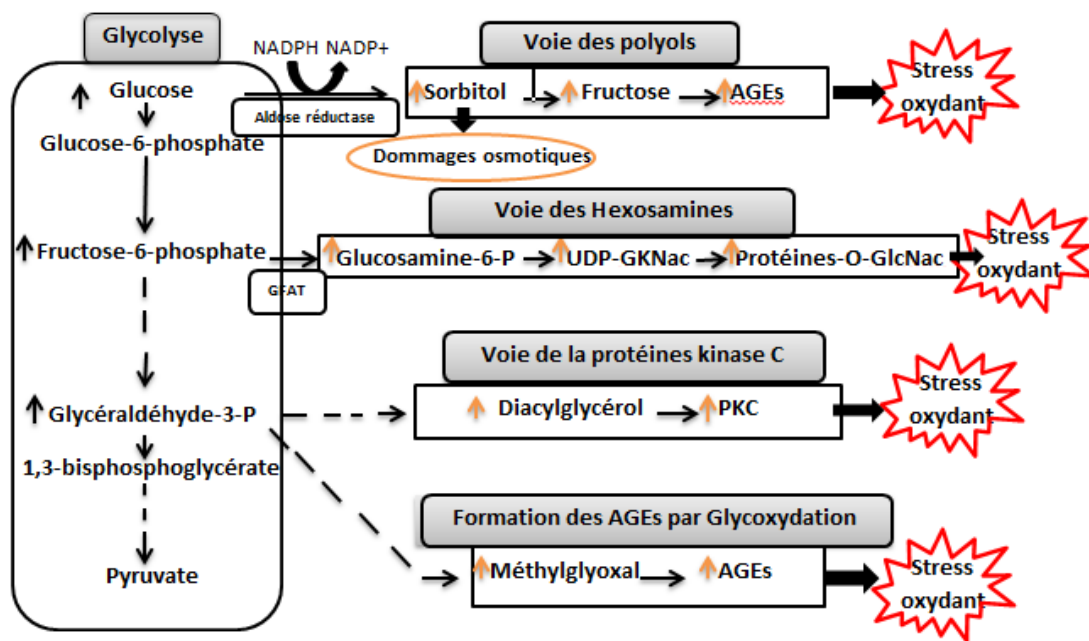


Figure 6 : Voies activées par l'hyperglycémie. (Brownlee., 2005).

II.4.1.1. Voie des polyols

Dans les conditions d'hyperglycémie chronique, une partie du glucose est réduite en sorbitol par action de l'aldose réductase dont le co-facteur est le NADPH (**Figure 7**). Une partie du sorbitol peut être oxydée en fructose à l'origine des produits terminaux de glycation de plus, l'utilisation du NADPH comme cofacteur va entraîner une diminution de la disponibilité de celui-ci pour l'activité de la glutathion réductase donc une diminution des défenses anti-oxydantes (**Haleng et al., 2007; Lee Chung, 1999; Brownlee, 2005**).

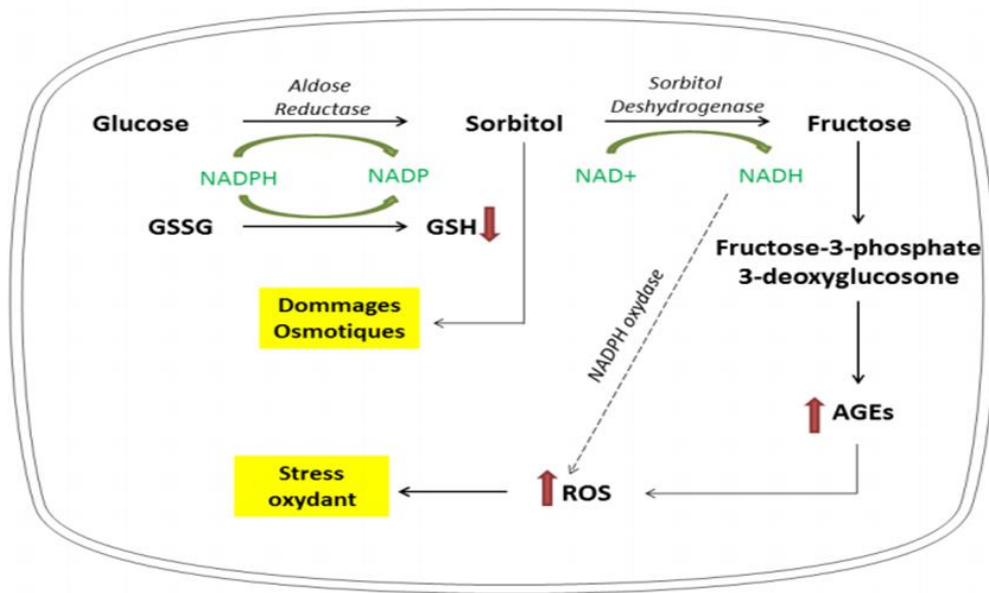


Figure 7 : Voie des polyols. (Lee, 1999).

II.4.1.2. Voie de la protéine kinase C

Il a été largement démontré qu'hyperglycémie entraînait une activation de la voie de la PKC par l'augmentation du glycéraldéhyde-3-phosphate via la glycolyse. Le glycéraldéhyde-3-phosphate est un précurseur du diacylglycérol. L'activation de la PKC va entraîner l'augmentation de la production des ROS de par l'augmentation de l'activité de la NADPH oxydase.

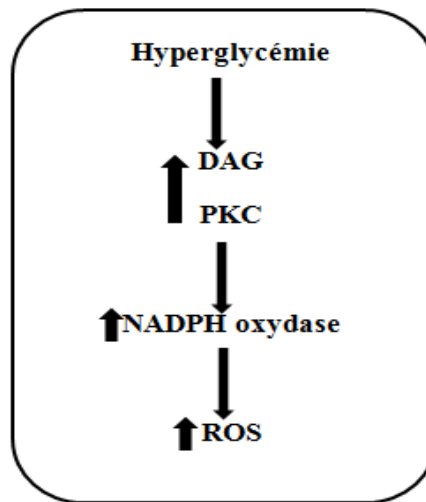


Figure 8 : Voie de la PKC dans le cadre de la pathologie diabétique. (Koya, 1998).

II.4.1.3. Voie des hexosamines

Le phénomène de glycosylation est dépendant de l'activité de la GFAT (Glutamine fructose-6-phosphate amidotransferase) qui va entraîner l'accumulation des protéines modifiées par l'O-GlcNac glycosylation qui participe dans la génération des ROS et contribue à l'installation d'un stress oxydant.

II.4.1.4. Formation des produits terminaux de glycation (PTG)

Une forte concentration de glucose peut conduire à une accumulation de glycéraldéhyde-3-phosphate qui est ensuite converti en méthylglyoxal. Le méthylglyoxal est un précurseur de glycation, correspond à la réaction entre un ose (glucose, galactose, fructose) et la fonction amine libre d'une protéine pour former une base de Schiff. Cette réaction est suivie de réarrangements qui vont donner lieu à la formation de produit d'Amadori. Les produits d'Amadori subissent de nombreuses réactions oxydatives formant des intermédiaires réactifs puis aboutissant à la formation de produits terminaux de glycation ou AGE (**Figure 9**).

La présence d'AGE est aussi génératrice de stress oxydant et entraîne une augmentation de la production de ROS (Haleng *et al.*, 2007; Selvaraj *et al.*, 2006; Hartog, 2007).

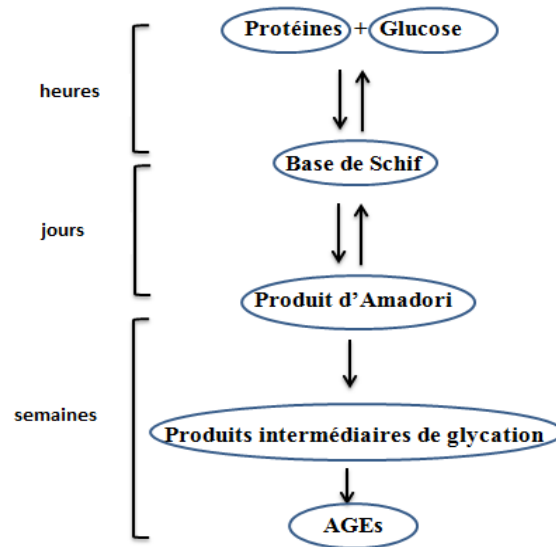


Figure 9 : Formation des PTG par la glycation. (Haleng et *al.*, 2007).

II.5. Production des radicaux libres au cours de l'hyperglycémie

L'attaque oxydante des ROS au niveau des érythrocytes concerne l'hémoglobine (Hb) et la membrane cellulaire. Malgré un système de défense efficace, le fer ferreux dans l'oxyhémoglobine peut transférer un électron à l'oxygène en générant un radical superoxyde, ainsi la transformation de l'hémoglobine en méthémoglobine (Misra et *al.*, 1972).

Dans le cas physiologique, 3% d'hémoglobines (Hb) est convertie en méthémoglobine (metHb) par jour, et la metHb produite est de nouveau réduite par la méthémoglobine réductase. Cependant, dans les conditions de stress élevé, la production de méthémoglobine est favorisée, ce qui implique la génération de superoxydes (Rice et *al.*, 1987). La dismutation enzymatique ou spontanée des radicaux superoxydes donne du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) qui peut être converti, en présence d'ions ferreux (Fe^{2+}) via la réaction de Fento, en radical hydroxyle ($OH\cdot$), qui a le potentiel d'initier la peroxydation lipidique (Mossa et *al.*, 2014).

Partie expérimentale

III. Matériels et Méthodes

III.1. Matériels

III.1.1. Echantillons

III.1.1.1 Plantes

La récolte de *Marrubium vulgare* et de *Lauris nobilis* a été effectuée durant le mois de Février 2019, dans la région de Ain Taghrout et Colla, Wilaya de Bordj bou Arreridj) (**Figure 10**).

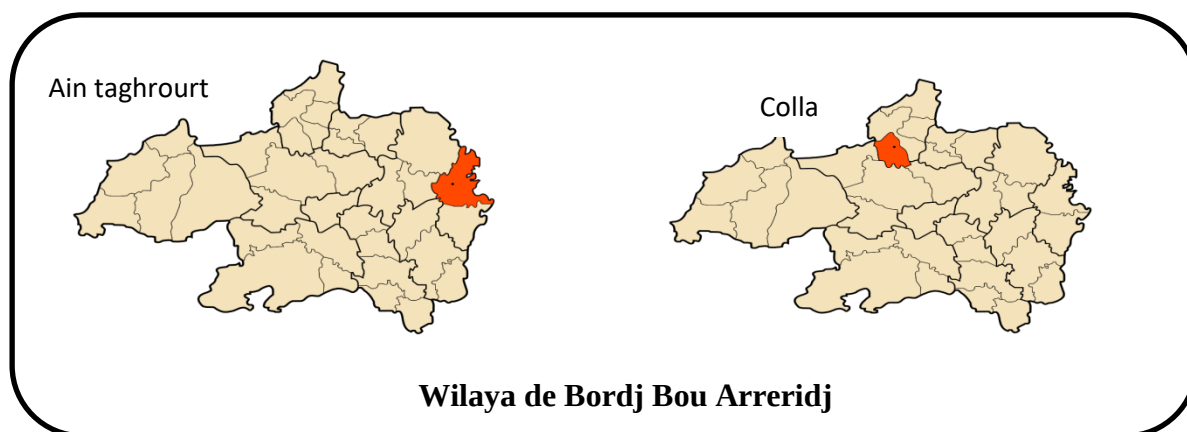


Figure 10 : Image montrant le site de la récolte (Source Wikipédia).

III.1.1.2. Sang

Les expériences ont été réalisées sur du sang humain frais. Les prélèvements sanguins ont été réalisés sur héparinate de lithium par un personnel médical du laboratoire centrale d'hématologie, hôpital Bouzidi Lakhdar de la Wilaya de Bordj Bou Arreridj.

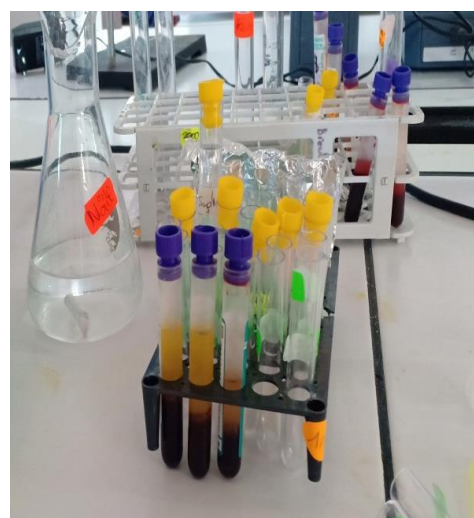


Figure 11 : Echantillons de sang.

III.1.2. Réactifs et standards

Les produits chimiques utilisés dans la présente étude sont les suivants : Folin-Ciocalteu (FC), carbonate de sodium (Na_2CO_3), trichlorure d'aluminium (AlCl_3), acide gallique, quercétine, acide ascorbique, chlorure de sodium (NaCl), méthanol, formol.

III.2. Méthodes

III.2.1. Préparation des extraits

Les plantes récoltées sont séchées dans un endroit sec et aéré, à l'abri de la lumière du soleil, puis broyées et réduites en poudre fine.

Une quantité de 5 g de la poudre végétale est introduite dans un erlenmeyer contenant 100 ml de solvant (méthanol pure). L'ensemble est soumis à une agitation pendant 3 h à température ambiante et à l'abri de la lumière puis laissé précipiter pendant 1h. L'extrait est ensuite récupéré par filtration à l'aide d'un papier filtre (papier Wathman) et conservés dans des flacons en verre pour une utilisation ultérieure. La figure ci-après illustre la démarche expérimentale utilisée pour la préparation de l'extrait.

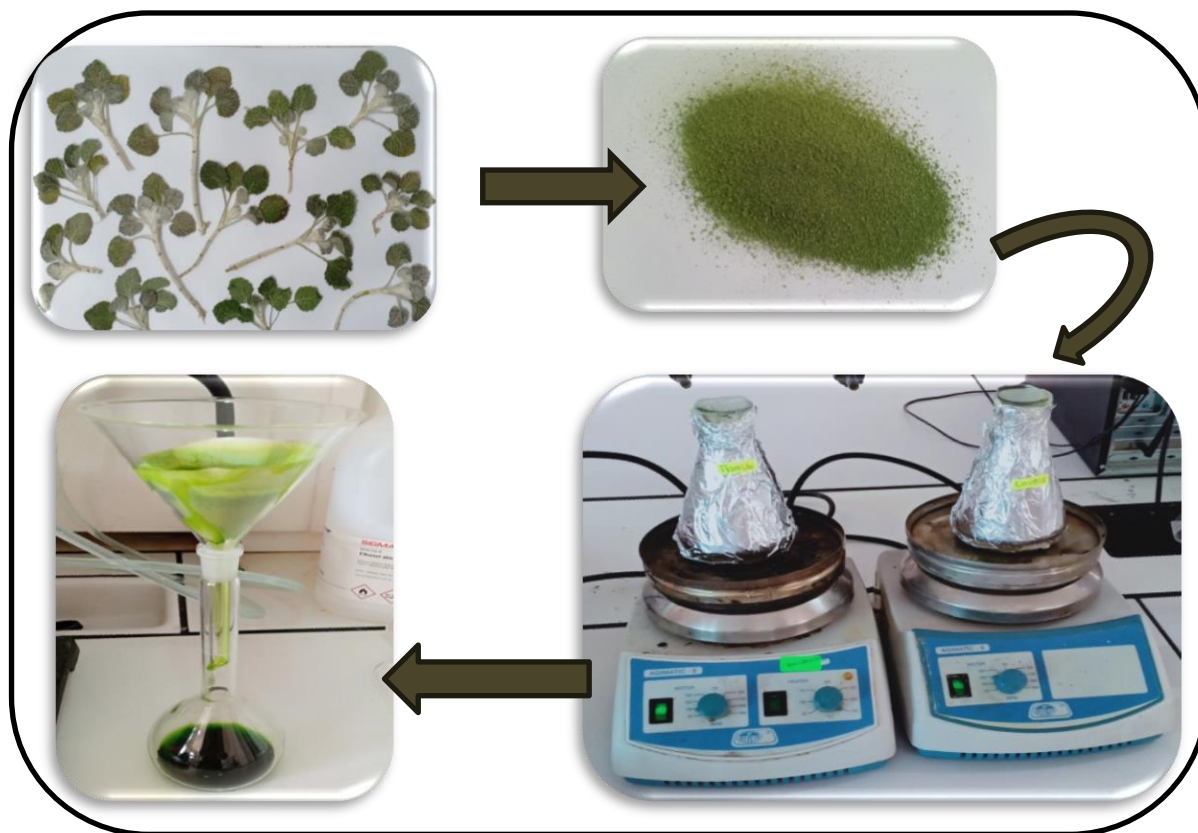


Figure 12 : Protocole d'extraction.

III.2.2. Détermination du taux d'humidité

Principe de la méthode

La teneur en humidité des plantes étudiées est déterminée selon la méthode de séchage à l'étuve à une température de 105 °C et ce jusqu'à l'obtention d'une masse constante de l'échantillon. Ainsi, le pourcentage d'humidité est calculé selon la formule de **(El-hilaly, 2006)**.

$$\text{Taux d'humidité (\%)} = [(PF-PS)] \times 100$$

PF : poids frais.

PS : poids sèche.

Mode opératoire

Dans le test d'humidité, la première étape consiste à sécher des creusets vides à l'étuve pendant 15 min à 105 °C puis les laisser refroidir dans un dessiccateur. 5g de chaque plante fraîche sont placés dans des creusets puis portés à 105°C. Après 2 heures d'incubation, les creusets sont retirés de l'étuve et introduits directement dans le dessiccateur; les creusets doivent être pesés après refroidissement. L'opération est répétée jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

La teneur en matière sèche est calculée selon la relation suivante:

$$\text{Matière sèche (Ms)\%} = 100 - H\%$$

III.2.3. Dosages des métabolites secondaires

III.2.3.1. Dosage des polyphénols totaux

Principe de la méthode

La teneur en polyphénols totaux des extraits des deux plantes a été déterminée selon la méthode de Folin-Ciocalteu tel que décrite par **(Beretta et al., 2005)**.

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$).

L'intensité de la couleur produite, dont l'absorbance maximale est à 760 nm, est proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans les extraits **(Ghazi et Sahraoui, 2005)**.

Principe de la méthode

La teneur en phénols totaux dans les extraits des deux plantes a été déterminée selon la méthode de Folin-Ciocalteu avec quelques modifications (**Beretta et al., 2005**). Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$).

L'intensité de la couleur produite, dont l'absorbance maximale est à 760 nm, est proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans les extraits (**Ghazi et Sahraoui, 2005**).

Mode opératoire

Un aliquote de 200 μ l de chaque extrait de plante est introduit dans un tube à essai, auquel un volume de 500 μ l du réactif de Folin (à 10%) est ajouté. L'ensemble est soigneusement mélangé et incubé à l'abri de la lumière pendant 5 min à température ambiante. Un volume de 1500 μ l de carbonate de sodium (7.5%) est additionné au mélange.

Le mélange réactionnel est ensuite agité puis incubé pendant 30 min et l'absorbance est mesurée à 760 nm contre un blanc contenant tous les réactifs sauf l'extrait à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible. Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique (0,02 ; 0,04 ; 0,06 ; 0,08 ; 0,1 mg/ml).

Les teneurs en phénols totaux sont exprimées en mg équivalent d'acide gallique (EAG)/g d'extrait en utilisant l'équation de la régression linéaire de la droite d'étalonnage du standard ($y=7.08x+0.1703$).

III.2.3.2. Dosage des flavonoïdes

Principe de la méthode

La quantification des flavonoïdes est estimée selon la méthode colorimétrique de trichlorure décrite par (Baharun et al, 1996) avec quelques modifications. Le principe de cette technique repose sur les propriétés chélatrices des flavonoïdes à l'égard des ions aluminium. Les groupements hydroxyles (OH) des flavonoïdes forment une liaison covalente avec le trichlorure d'aluminium produisant ainsi un complexe de couleur jaunâtre ayant une absorbance maximale à 430 nm. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la quantité des complexes formés.

Mode opératoire

1 ml de chaque extrait de plante est mélangé avec 1 ml de trichlorure d'aluminium (à 2% dans le méthanol). Après incubation à température ambiante pendant 1 heure, l'absorbance du mélange est mesurée à 420 nm contre un blanc contenant les réactifs sauf l'extrait.

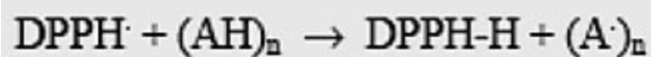
Dans les mêmes conditions et de la même façon sont mesurées les absorbances de la série des solutions standards de la quercétine (0,005 ; 0,01 ; 0,02 ; 0,03 ; 0,04 mg/ml). La concentration en flavonoïdes totaux, exprimée en mg équivalent de quercétine (EQ)/g d'extrait, est calculée à partir de la droite d'étalonnage ($y = 23,295x + 0,0924$).

III.2.4. Test au DPPH

Principe de la méthode

L'inhibition du radical libre 2,2-diphényl-2-picryl-hydrazyle (DPPH.) est effectuée selon la méthode proposée par Blois en 1958. Cette méthode permet de mesurer le pouvoir piègeur et de calculer la concentration inhibitrice médiane IC_{50} des substances antioxydantes. Le DPPH est un radical libre de couleur violette (forme oxydée), qui devient jaune (forme réduite) sous l'effet des substances antioxydantes qui lui cède un proton (**Figure. 13**)

On peut résumer cette réaction par l'équation suivante :



Où $(AH)_n$ représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH pour le transformer en molécule DPPH-H (**Brand Williams et al., 1995**).

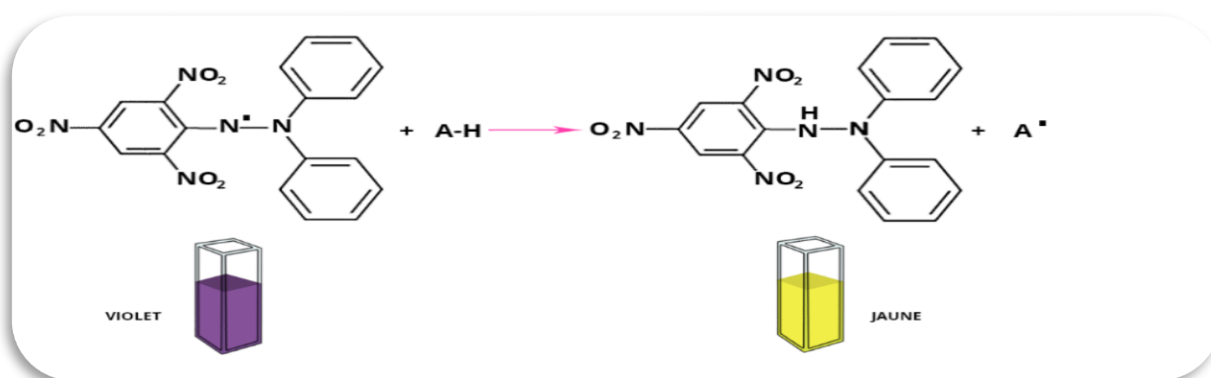


Figure 13 : Forme libre et réduite du DPPH (**Brand-Williams et al., 1995**).

Mode opératoire

Dans des tubes secs et stériles, on introduit 2 ml de la solution de l'extrait à tester de chaque concentration déjà préparée et on ajoute 0.4 ml de solution de DPPH. Après agitation, les tubes sont placés à l'obscurité pendant 30 minutes, à la température ambiante. La lecture de l'absorbance est faite par un spectrophotomètre à 517 nm contre un blanc préparé pour chaque concentration qui est constitué de 2ml d'extrait et 0.4ml du méthanol. Parallèlement, un contrôle est préparé en mélangeant 2ml de méthanol et 0.4ml de DPPH. Le test est réalisé en triplicata pour chaque concentration.

Le pourcentage de l'activité anti-radicalaire est calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Activité anti radicalaire (\%)} = [(Ac - Ae) / Ac]$$

Ac : absorbance du contrôle.

Ae : Absorbance de l'échantillon.

III.2.5. Etude de l'activité anti-hémolytique des extraits de plantes

III.2.5.1. Préparation du sang isotonique

Le sang recueilli est centrifugé à 2500 rpm pendant 5 min pour éliminer le surnageant (contenant du plasma, des plaquettes et des leucocytes), puis le surnageant est remplacé par un même volume d'une solution isotonique (NaCl à 0.9%) (**Figure 14**).

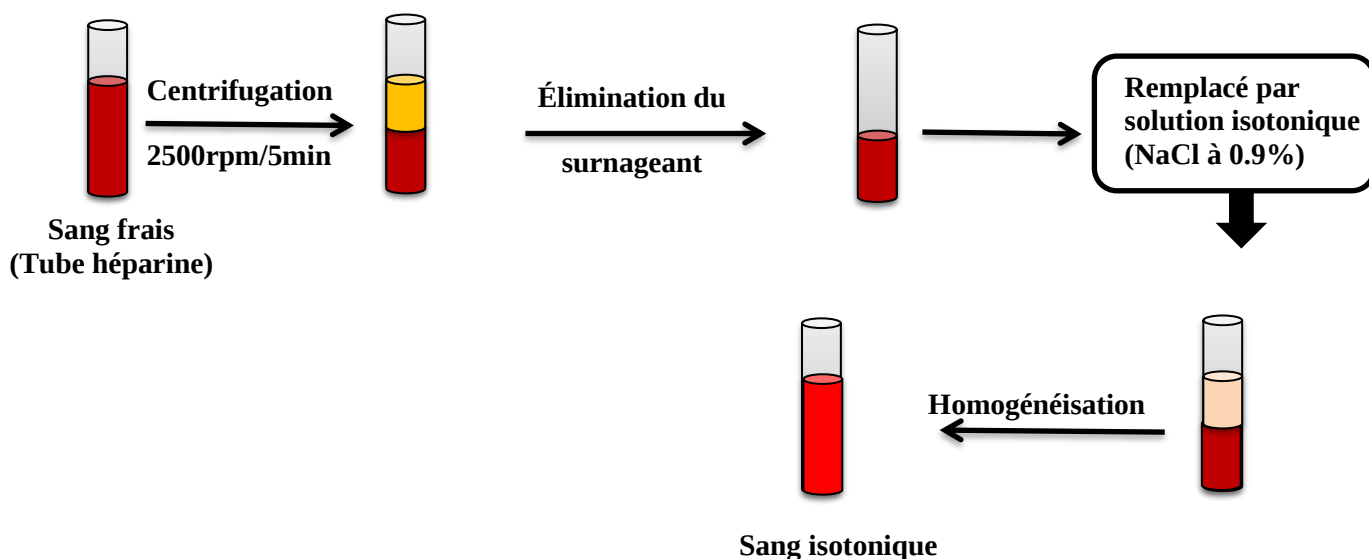


Figure 14: Préparation du sang isotonique.

III.2.5.2. Mesure de la turbidité cellulaire

Les différents échantillons à analyser sont préparés à partir du sang isotonique (sang centrifugé et dont le plasma est remplacé par une solution isotonique (NaCl à 0.9%)) (**Figure 15**).

- Le tube A contient du sang isotonique et une solution isotonique (Témoin négatif : non *traité par le Glucose*).
- Le tube B contient 50% de sang isotonique et une solution isotonique (Témoin positif : *traité par le Glucose*).
- Le tube C renferme du sang isotonique et un antioxydant de référence (Vit C à 20 mmol/l).
- Le tube D contient du sang isotonique et l'extrait du Marrube (50 mg/ml).
- Le tube E contient du sang isotonique et l'extrait du Laurier (50 mg/ml).

Mode opératoire

Un volume de 100 µl est prélevé de chaque tube auquel sont ajoutés 200 µl d'une solution hypotonique (0.7%), après 15 min on ajoute 100 µl de formol (0.4%) pour fixer les hématies, ensuite on prélève 100 µl du mélange qu'on dilue 40 fois pour faire la lecture à 620 nm.

Chaque échantillon est ensuite centrifugé (2500 rpm/5 min) pour récupérer le surnageant et doser son hémoglobine libérée.

II.2.5.3. Dosage de l'hémoglobine libérée

L'hémoglobine libérée est dosée par spectrophotométrie à 412 nm (bande de Soret). Le dosage de l'hémoglobine après incubation dans un milieu hypotonique permet de déterminer d'une manière indirecte la proportion d'hématies lysées.

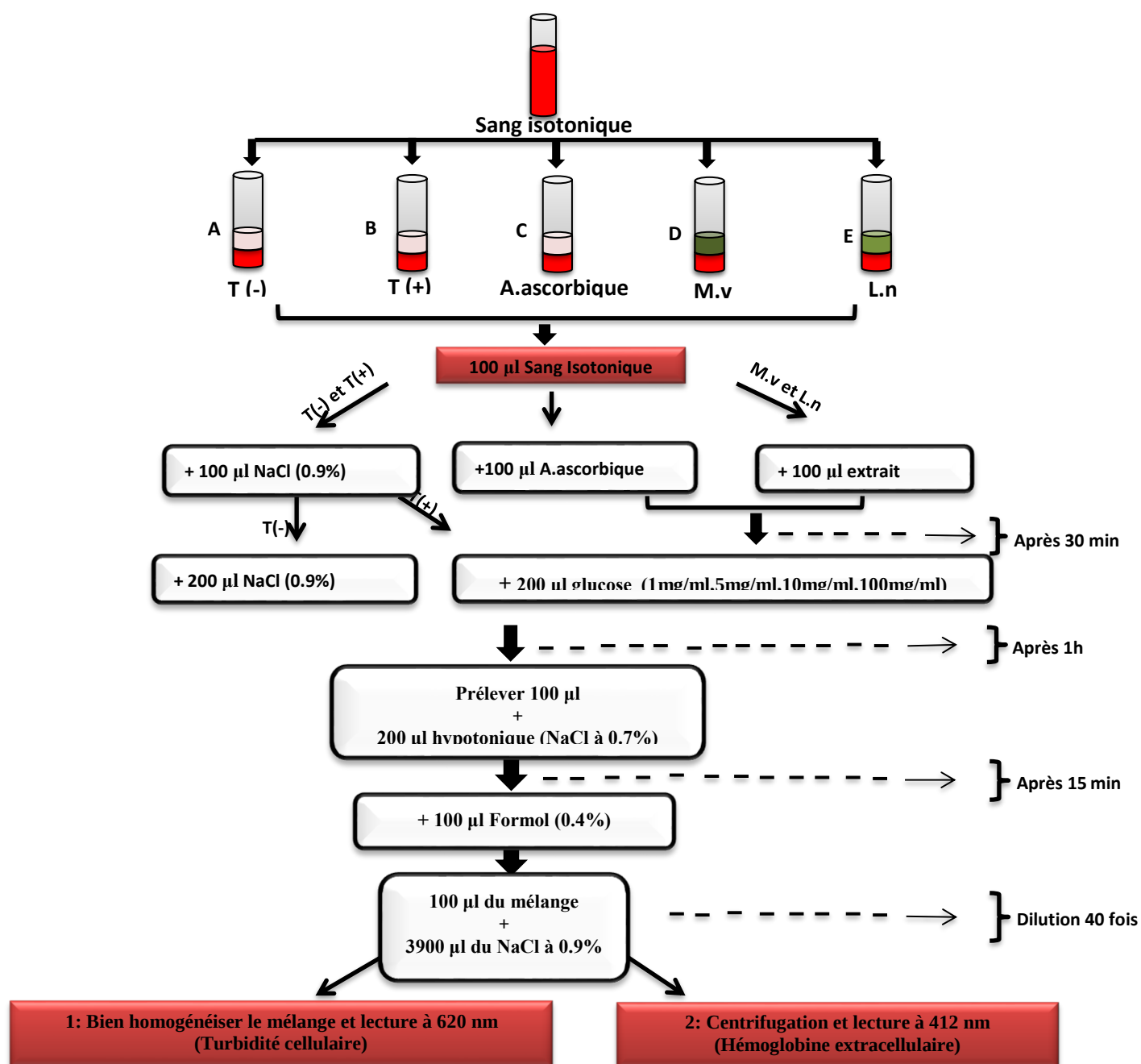


Figure 15 : Protocole expérimental de l'évaluation de l'activité hémolytique

III.2.5.4. Etude microscopique

Dans le but d'avoir des précisions sur l'état (forme) des hématies, la mesure de la turbidité cellulaire est suivie directement par l'observation sous microscope au grossissement (10X100) avec prise de photos numériques.

III.3. Analyse statistique

L'étude statistique est faite dans le but de comparer les moyennes des résultats obtenus par l'analyse de la variance (ANOVA, test T) en utilisant le logiciel STATVIEW version 5.5. Le seuil de signification est pris à $p < 0,001$.

Résultats et discussion

IV. Résultats et discussion

IV.1. Détermination du taux d'humidité

Le test d'humidité est réalisé dans le but d'estimer la teneur en eau des plantes étudiées. Les résultats obtenus montrent que *Marrubium vulgare* et *Laurus nobilis* présentent des valeurs très élevées en eau, toutefois, *Marrubium vulgare* semble avoir plus d'eau (74.63%) par rapport à *Laurus nobilis* (28.76%). Cela signifie que plus de la moitié du poids de la plante fraîche est constituée par l'eau et le reste du poids de la plante correspond à la matière sèche (**Figure 16**).

Les résultats obtenus pour le marrube, semblent être élevée de ceux trouvés par **Bouterfas et al., 2013**, (40,32%). En ce qui concerne le laurier, (**Barahmi et al., 2008**) trouvèrent un taux d'humidité élevé (47.1%) par rapport à notre résultat.

Il est bien établi que le taux d'humidité dépend de quelques facteurs liés à la plante et/ou aux conditions environnementales (**Hopkins, 2003**).

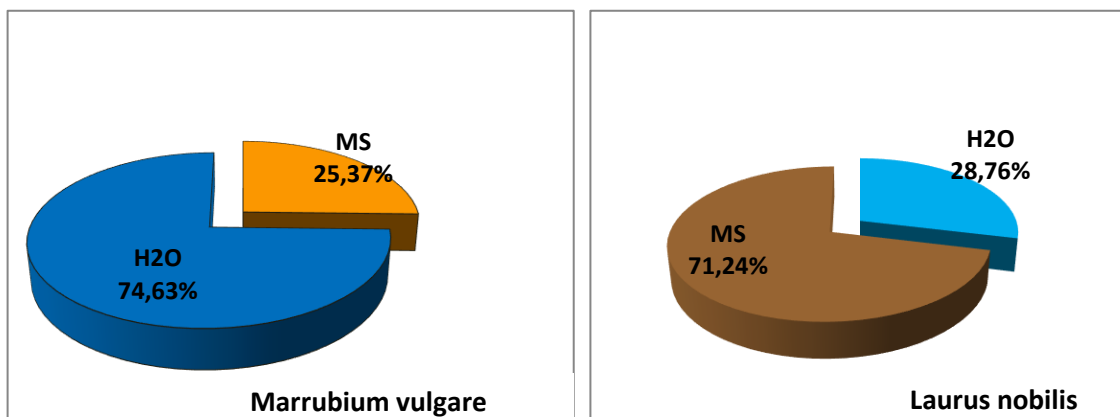


Figure 16 : Taux d'humidité et de matière sèche de *Marrubium vulgare* et de *Laurus nobilis*

IV.2. Teneur en métabolites secondaires

IV.2.1. Teneur en polyphénols totaux

La teneur en composés phénoliques des extraits méthanoliques des deux plantes a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage ($y = 7.08x + 0.1703$), réalisée avec de l'acide gallique à différentes concentrations (**voir annexe 1**).

Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par g de poudre végétale (mg EAG/g de poudre végétale). Les teneurs en polyphénols totaux des deux extraits analysés sont représentées sur la **Figure 17**.

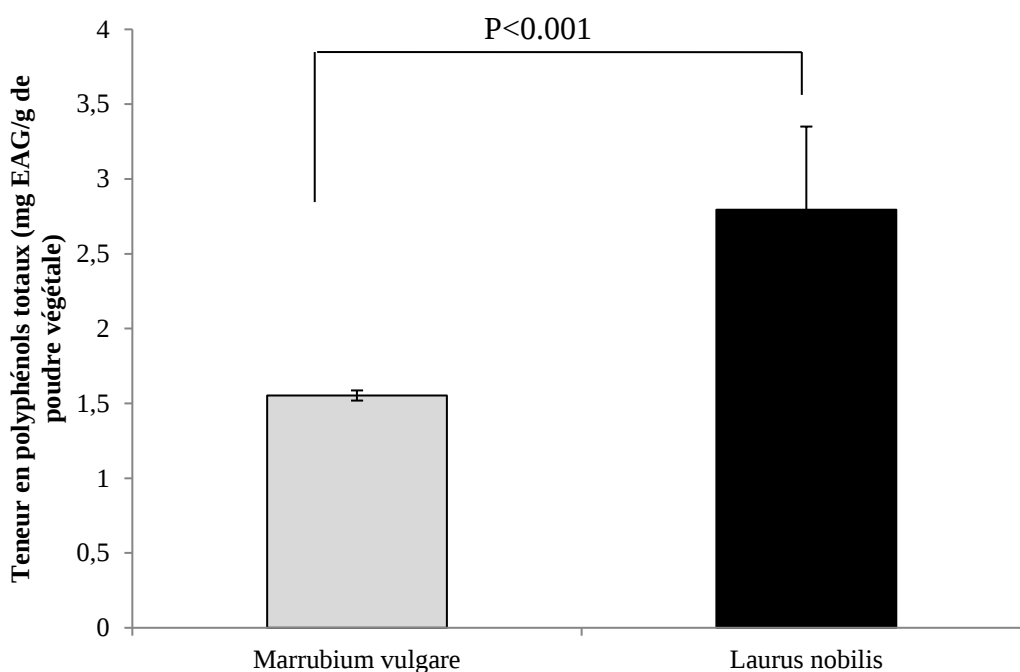


Figure 17 : Teneur en polyphénols totaux des deux extraits de plante.

Il apparaît clairement que le laurier a une teneur plus élevée en polyphénols (55.88 ± 11.08 mg EAG/g de poudre végétale) que le marrube (15.52 ± 0.33 mg EAG/g de poudre végétale) ($P < 0.001$). Les teneurs moyennes des polyphénols du laurier restent supérieures à celles du marrube, ces résultats sont en accord avec ceux rapportés dans la littérature (Brahimi et al., 2015).

Concernant *Laurus nobilis*, Muniz-Marquez et ses collègues (2013) ont rapporté une teneur en polyphénols largement inférieure à nos résultats (8.2 mg EAG/g) Alors que (Taroq et al, 2018), en étudiant l'extrait méthanoïque de *Laurus nobilis*, trouvèrent une concentration plus élevée en polyphénols (133.32 mg EAG/g).

De même, la teneur en polyphénols de l'extrait méthanolique de *Marrubium vulgare* est plus élevée (0.87-2.64 mg EAG/g) à celle rapportée par (Wu et al., 2004). Alors que Bouterfas et ses collègues (2016) ont enregistré une teneur supérieure (47.7-160 mg EAG/g).

En effet, la teneur phénolique d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétiques) et extrinsèques (conditions climatiques, pratiques culturelles, maturité à la récolte et les conditions de stockage, ...) (Falleh *et al.*, 2008; Podsedek, 2007).

IV.2.2. Teneur en flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes est déterminée par une méthode colorimétrique basée sur l'utilisation du trichlorure d'aluminium (AlCl_3) (Bahorun *et al.*, 1996). Les résultats sont représentés dans la **Figure 18** et sont exprimés en mg équivalent de quercétine/g de poudre végétale (mg EQ/g de poudre végétale) en se référant à une courbe d'étalonnage ($y=23.295x+0.0924$) réalisée dans les mêmes conditions (voir annexe 2).

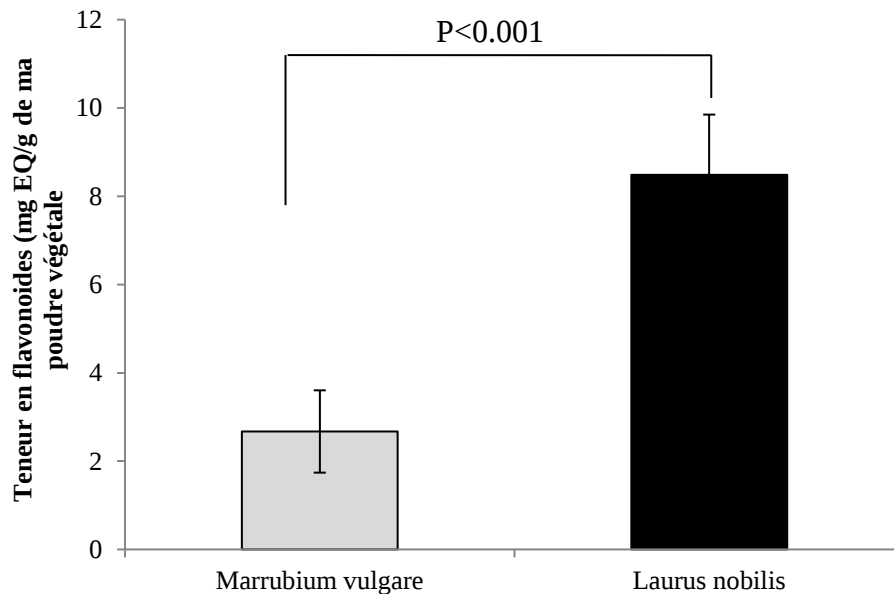


Figure 18: Teneur en flavonoïdes des deux extraits de plante.

Il apparaît là aussi que de la même manière pour les teneurs en polyphénols totaux, le laurier est plus riche en flavonoïdes (169.7 ± 13.63 mg EQ/g) que le marrube (26.71 ± 9.32 mg EQ/g) ($P < 0.001$).

Les teneurs en flavonoïdes de l'extrait du laurier sont en accord avec celles rapportées dans les mêmes études précédentes (Brahimi *et al.*, 2015; Taroq *et al.*, 2018). Quant à l'extrait

du marrube, les valeurs en flavonoïdes obtenus restent inférieures à celles rapporté par Bouterfas et ses collaborateurs (2016).

La distribution des métabolites secondaires peut changer pendant le développement de la plante, ceci peut être également lié aux conditions climatiques (température élevée, exposition solaire, sécheresse,...etc) qui stimulent la biosynthèse de ces métabolites secondaires (Falleh *et al.*, 2008).

IV.3. Inhibition du radical DPPH

L'activité anti radicalaire des différents extraits a été évaluée spectrophotométriquement à 517 nm en suivant la réduction du radical DPPH sur une solution méthanolique qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune.

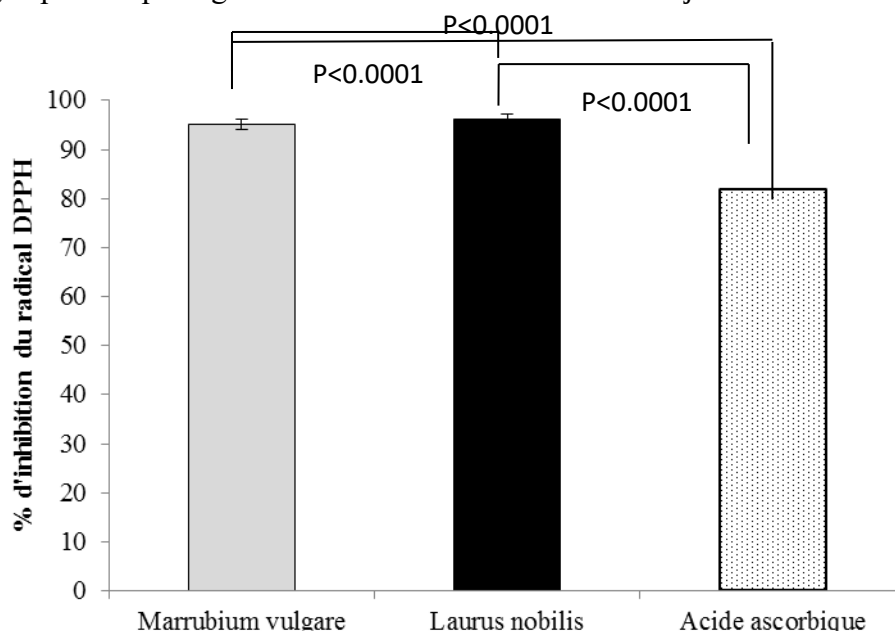


Figure 19 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH par les deux extraits.

Le test au DPPH est largement utilisé pour évaluer l'activité de piégeage des radicaux libres par les extraits de plantes. La **figure 19** montre les résultats de l'activité antiradicalaire des extraits et de la vitamine C exprimés en pourcentage d'inhibition du DPPH. Les extraits présentent une bonne activité anti-radicalaire de l'ordre de (96,06 ± 1,04% pour le laurier) et 95,18 ± 1,02 % pour le marrube) comparé à celle de la vitamine C qui est de 81,81 ± 0 % pour une même concentration (50 µg/ml) ($P < 0.0001$). Les extraits semblent plus actifs contre le radical DPPH et ont exprimé un pouvoir antioxydant plus important que le standard. Cela est probablement due aux teneurs élevées en polyphénols et en flavonoïdes.

Aouadhi et *al.*, (2014) a étudié l'extrait méthanolique du marrube à Tunisie, et a rapporté un fort pouvoir antioxydant à l'égard du DPPH. D'autre part, Taroq et ses collègues (2018) ont également rapportés une bonne activité anti-radicalaire de l'extrait méthanolique du laurier.

IV.4. Etude de l'activité anti-hémolytique des extraits de plante

IV.4.1. Turbidité cellulaire

La **Figure 20** montre les densités optiques (DO) des globules rouges des échantillons témoins (témoin négatif et témoin positif) et des échantillons traités (acide ascorbique, *Marrubium vulgare* et *Laurus nobilis*).

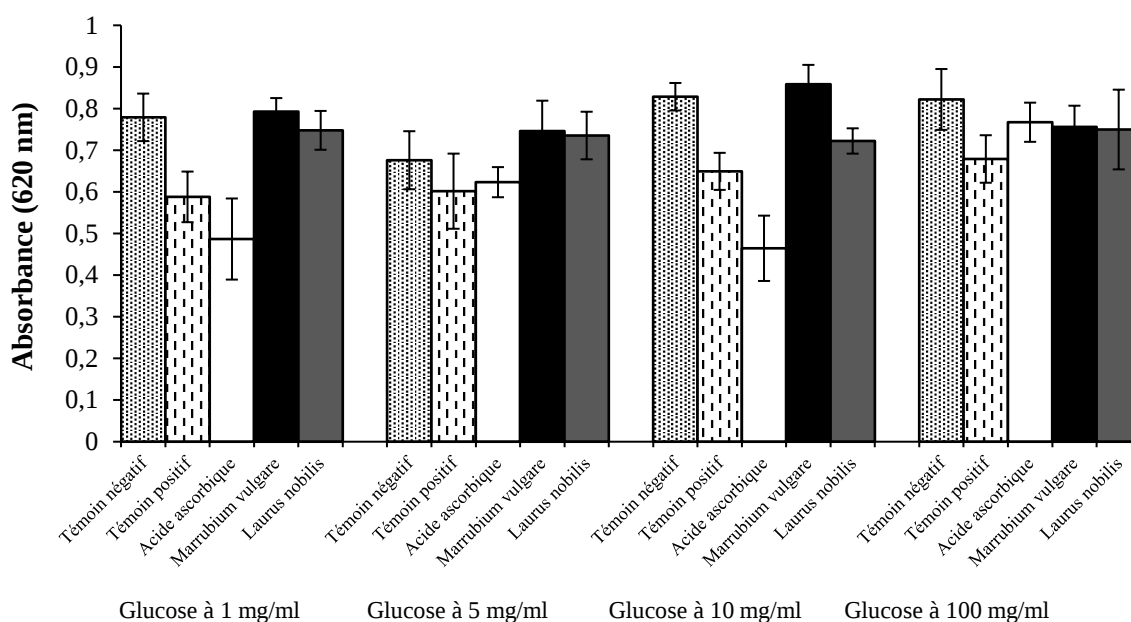


Figure 20 : Histogrammes montrant la turbidité cellulaire des différents échantillons étudiés sous l'effet de la solution hypotonique (NaCl à 0.7%) et sous l'action de différentes concentrations de glucose (1mg/ml, 5mg/ml, 10mg/ml, 100mg/ml).

Il apparaît clairement que dans les différents essais réalisés, les valeurs de concentrations cellulaires du sang témoin négatif (non traité par le glucose) restent largement supérieures par rapport aux restes des échantillons étudiés. Tandis que, les suspensions de globules rouges traitées par le laurier et, en particulier, le marrube présentent les valeurs de concentrations cellulaires les plus élevées comparées à celle du témoin positif et sont presque équivalentes à celles du témoin négatif. Les suspensions de globules rouges du témoin positif ainsi que celles traitées à l'acide ascorbique semblent être les plus fragiles au milieu hypotonique vu les faibles valeurs enregistrées.

IV.4.2. Concentration en hémoglobine extracellulaire

Les densités optiques de l'hémoglobine (Hb) libérée sont représentées dans la **Figure 21**. Les valeurs de l'hémoglobine libérée vont dans le même sens que celles observées pour la cellule. Les concentrations de l'Hb traitées par le marrube et le laurier sont supérieures à celles du témoin positif et celles traitées par l'acide ascorbique. Ces résultats suggèrent un effet double effet protecteur des deux plantes étudiées aussi bien sur l'intégrité cellulaire que sur la composante intracytoplasmique du globule rouge représentée par l'Hb.

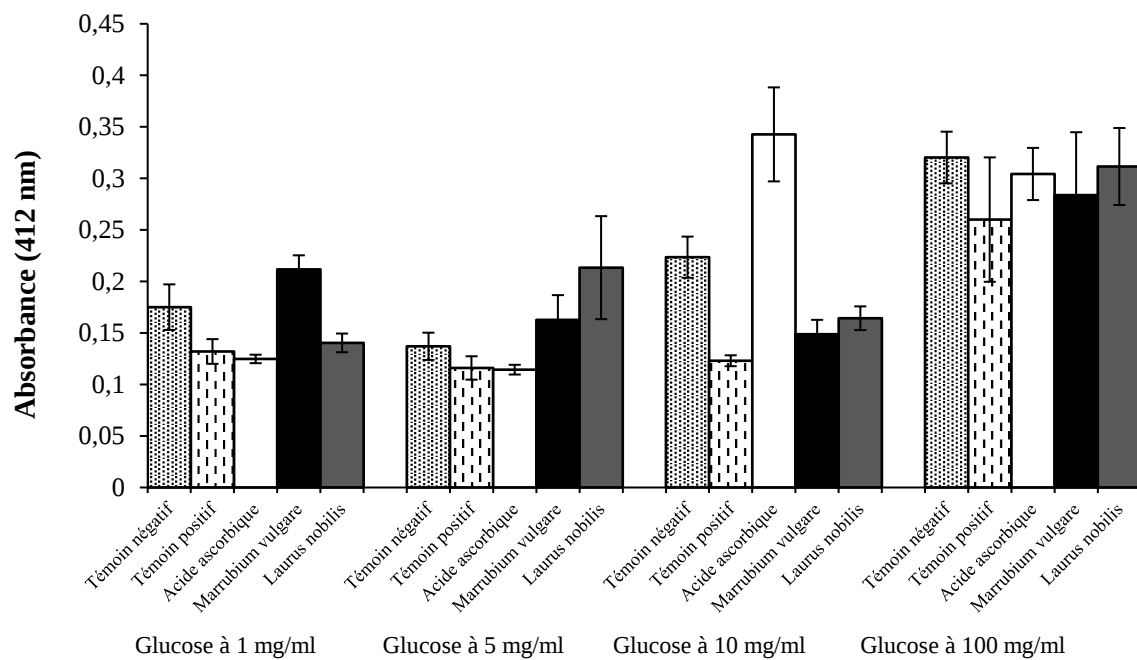


Figure 21 : Histogrammes montrant la concentration en hémoglobine extracellulaire des différents échantillons étudiés sous l'effet de la solution hypotonique (NaCl à 0.7%) et sous l'action de différentes concentrations de glucose (1mg/ml, 5mg/ml, 10mg/ml, 100mg/ml).

IV.4.3. Etude microscopique

La réalisation de frottis sanguins permet d'avoir plus de précisions sur l'état global de l'intégrité cellulaire, la **Figure 22**, montre que les globules rouges des suspensions traitées à la vitamine C et celles du contrôle positif sont celles qui présentent des altérations de la membrane cytoplasmique. Alors que les cellules du sang contrôle négatif ainsi que celles traitées aux extraits des deux plantes semblent avoir un contour cellulaire plus régulier.

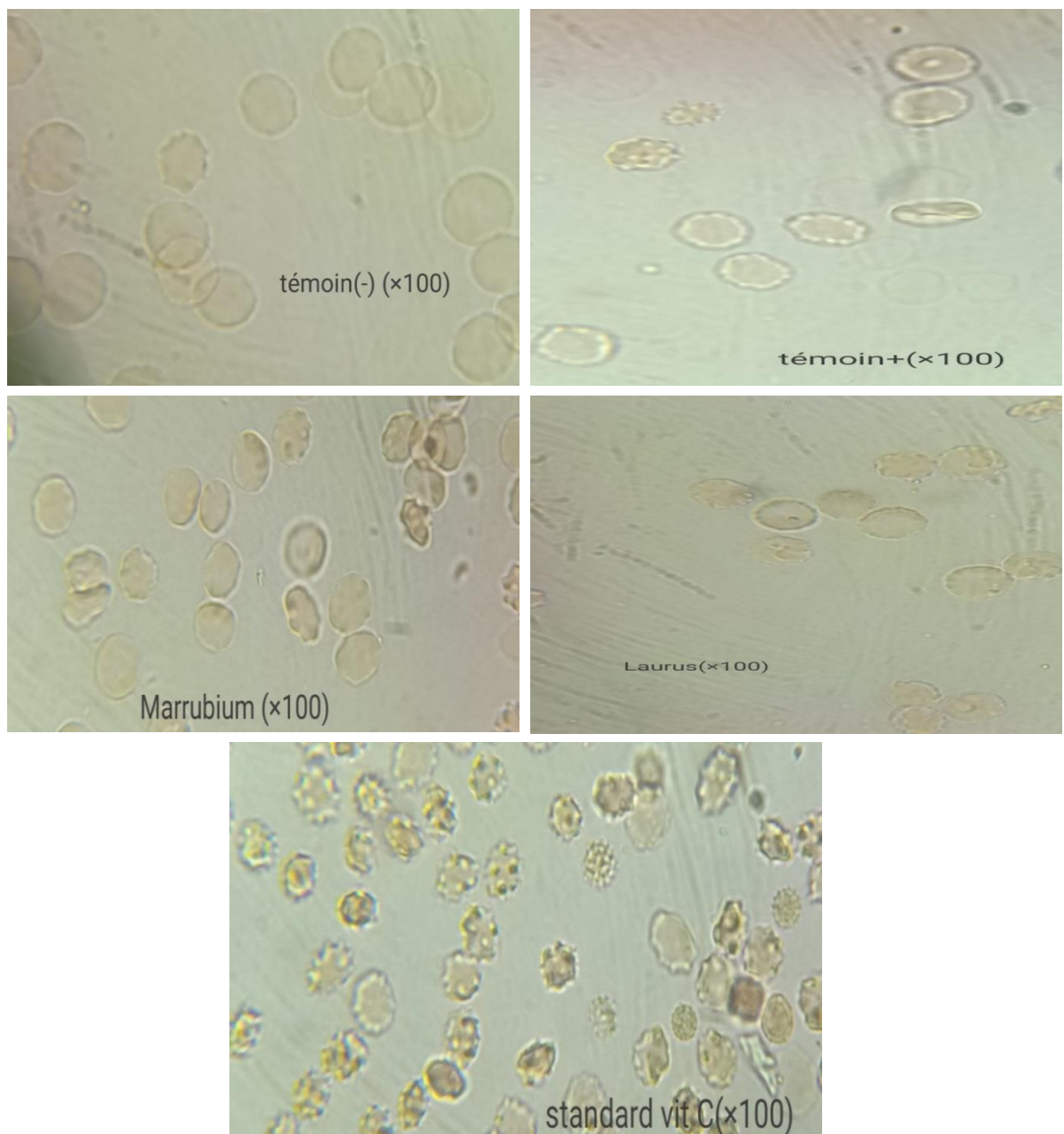


Figure 22 : Photos des frottis sanguins de chaque essai vus sous microscope électronique (10X100).

Discussion

La susceptibilité des globules rouges au phénomène oxydatif fait d'eux un modèle adéquate pour étudier le stress oxydatif et évaluer les défenses antioxydantes (**Pincemail, 1999**). Il suffit de soumettre ces cellules à un système produisant des radicaux libres et de mesurer le taux d'hémolyse comme marqueur *in vitro* du dommage oxydatif. Dans cette étude, les globules rouges ont été incubés dans un milieu hypo-osmotique et en présence de concentrations croissantes en glucose.

Nous avons étudié l'effet protecteur de *Marrubium vulgare* et de *Laurus nobilis* sur la résistance des hématies humaines au stress hypotonique par une mesure simultanée de la turbidité cellulaire et de l'hémoglobine libérée.

Nous avons démontré que l'extrait de marrube et de laurier protégeaient efficacement les globules rouges contre le stress oxydant induit par le glucose, dans des conditions hypotoniques. Le mode d'action des extraits présentant un potentiel de stabilisation membranaire pourrait être attribué à leurs liaisons aux membranes érythrocytaires. Cela peut empêcher les interactions physiques avec les agents d'aggrégation impliquées dans l'hémolyse des globules rouges (**Chioma, 2017**).

Ces résultats suggèrent que la protection contre le stress oxydant passerait probablement par l'inhibition de la peroxydation lipidique (**Sudip, 2006**), et par la diminution de la sensibilité à l'oxydation des globules rouges par les polyphénols (**Zubeyir, 2016**).

Dans la présente étude, les suspensions de globules rouges traitées aux extraits des deux plantes ont montré des valeurs élevées à la fois en turbidité cellulaire qu'en hémoglobine. Ceci indique qu'un taux élevé en hémoglobine ne reflète pas systématiquement une lyse totale des cellules mais plutôt une protection contre l'oxydation et la dénaturation de l'hémoglobine libérée.

Contrairement aux extraits étudiés, l'acide ascorbique semble réagir comme un pro-oxydant. Comme a été mentionné dans l'étude de (**Omaye, 2004 in Parisa, 2009**).

Conclusion

Conclusion

Aujourd'hui, on ne cesse d'assister à un retour à la nature et à la thérapeutique par les plantes en raison des effets néfastes de nombreux traitements conventionnels.

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à évaluer la teneur en composés phénoliques et flavonoidiques ainsi que les propriétés antioxydantes de deux extraits de plantes (*Marrubium vulgare* et *Laurus nobilis*). Les résultats obtenus montrent que l'extrait du laurier a des teneurs élevées en polyphénols et en flavonoïdes par rapport à l'extrait du marrube (55.88 ± 11.08 mg EAG/g vs 15.52 ± 0.33 EAG/g et 169.6 ± 27.2 mg EQ/g vs 26.71 ± 9.32 mg EQ/g). Le test de DPPH a révélé également que l'extrait du laurier a une activité antiradicalaire légèrement supérieure à celle du marrube.

Nous avons également démontré que les extraits étudiés protègent non seulement les globules rouges de l'hémolyse, mais également l'hémoglobine de la dégradation.

Ces résultats restent partiels et d'autres travaux sur ces extraits s'imposent au niveau pharmacologique et chimique, donc il serait intéressant à l'avenir d'approfondir l'étude phytochimique qui consiste en : la purification, l'identification et la caractérisation des composés actifs impliqués dans le pouvoir anti-hémolytique. Il serait aussi judicieux de compléter cette étude par l'optimisation des activités obtenues en fonctions des paramètres cinétiques et expérimentaux influençant le mécanisme antihémolytique de ces extraits.

Références bibliographiques

Références Bibliographique

A

Abdallah H., and Sahki R. (2004). Le Hoggar promenade botanique. Espèces herbacées. *Edition Ésope*, Pp 311.

Abdelwahed A., Bouhlel I., Skandrani I., et al. (2007). Study of antimutagenic and antioxidantactivities of gallicacid and 1,2,3,4,6-pentagalloylglucose from Pistacialentiscus Confirmation by microarrayexpression profiling. *Chemico-BiolInteract* **165**, 1–13.

Abderrazak et Joel. (2007). La botanique de A à Z. BTS. IUT. L icence. Pp352.

Alkhatib R., Joha S., Cheok M., Roumy V., Idziorek T., Preudhomme C., Quesnel B., Ameenah G. (2006). Plantes médicinales: traditions d'hier et drogues de demain, *Molecular aspects of Medicine*. **27**, 1-93.

Anton R., Lobstein. A. (2005) (Univ . Bordj Bou Arreridj)

.Plantes aromatiques.Epice, aromates, condiments et huiles essentielles- Tec & Doc, Paris (France). Pp521.

Ameenah G. (2006). Plantes médicinales: traditions d'hier et drogues de demain, *Molecular aspects of Medicine*. **27**, 1-93.

Anton R., Lobstein. A. (2005) .Plantes aromatiques.Epice, aromates, condiments et huiles essentielles- Tec & Doc, Paris (France). Pp521

Alexander C, Kurt H, Wahjo D, Olivier P. (1998) . Antioxydant and lipophilic constituents of Tinospora crispa . *Planta Medica*. **64** (05) 393-396-1998 .

Aouadhi Chedia., Hanene Ghazghazi., Hasnaoui Brahim., and Maaroufi Abderrazak.(2014).Total phenolic content, antioxidant and antibacterial activities of Marrubium vulgare methanolic extract. *The Tunisian Journal Of Medicinal Plants and Natural Products*.**11**,73-79.

B

Bahorun T., Gressier B., Troitin F., Brunete C., Dine T., Vasseur J., Gazin J.C., Pinkas M., Luycky M., Gazin M. (1996). Oxygenspeciesscavengingactivity of phenolicextractsfromhawthornfresh plant organs and pharmaceuticalpreparations. *Arzneimittel-Forschung*. **46**; 1086-1089.

Bardet. O., Fedoroff. E., Causse. G., Moret. J., (2008). Atlas de la flore sauvage de Bourgogne. CoéditionParthénopé / Muséum national d'Histoire naturelle. France. Pp : 754populations of Teucriumpolium L. (Lamiaceae). *Chemistry et Biodiversity*. **5**, 1389-1400.

Barla., Topcu .,Oksuz S., Tumaen G .and King ston DGI .(2007). Identification of cytotoxic sesquiterpen from laurus nobilis L . *Food Chem* .10478-1484.

Beaudeux, J.L., Peynet, J., Bonnefont-Rousslot, D., Therond, P., Delattere, J., Legrand, A. (2006). Source cellulaires des espècesreactives de l'oxygène et de l'azote. *Annales Pharmaceutique Francaise*, **64** :373-381.

Belhattab R., Larous L. (2006) Essential oil composition and glandular trichomes of *Marrubium vulgare* L. growingwild in Algeria. *J EssentOilRes*.**18**, 369–73

Beloued A. (2005) Plantes médicinales d'Algérie. Office des publications universitaires. Alger. Pp : 124

Beretta G., Granata P., Ferrero M., Orioli M., Facino R. M. (2005). Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica Chimica Acta*. **533**, 185-191.

Betteridge D.J. (2000). What is oxidative stress? *Metabolism*. **49**,3-8.

Bézanger-Beauquesne L., Pinkas M., Torck M. (1986). *Les plantes dans la thérapeutique moderne*, 2ème édition révisée, Ed. Maloine éditeur,

Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Sci Technol*. **28**, 25–30.

Barahmi Nabila; Chibane, M.(Encadreur). (2008). Étude de quelques propriétés biologiques des extraits polyphénoliques de cinq plantes médicinales.

Brownlee M. (2005).The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes*. **54**,1615–1625.

Brahmi N ., Monica Scognamiglio., Severina Pacifico., Aida Mekhoukheb., KhodirMadanib., Antonio Fiorentino., Pietro Monaco. (2015). ¹H NMR based metabolic profiling of eleven Algerian aromatic plants and evaluation of their antioxidant and cytotoxic properties

Bouterfas k., Mehdadi Z., Latreche A., Zouaoui H. et Bouredja N. (2013). Quantification of some polyphenols of *Marrubium vulgare* L. of Tessala mount (western Algeria) at the vegetative and the flowering periods. *Les technologies de laboratoire*. **8**, N°31 .

Boudjelal A, Henchiri C, Siracusa L, et al. (2003) . Compositional analysis and in vivo anti-diabetic activity of wild Algerian *Marrubium vulgare* L. infusion. *Fitoterapia* **2** , 286–92.

C

Cimen M. B. (2008). Free radical metabolism in human erythrocytes. *Clinica chimica Acta*. **390**, 1-11.

Chaudry N. M. A. and Tariq P. (2006). Bactericidal activity of black pepper, bay leaf, amixed and coriander against oral isolates. *Pak. J. Pharma, Sci*. **19**, 214-218.

Chioma. Chioma. A. A., Odinaka N. L., Okwesilieze F. C. N. (2017). Antioxidant properties and membrane stabilization effects of methanol extract of *Mucuna pruriens* leaves on normal and sickle erythrocytes. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*.1-7.

D

Delmas-Beauvieux M.C., Combe C., Peuchant E., Carbonneau M.A Demo A., Petrakis C., Kefalas P. et Bosliou D. (1998) Nutrient antioxidants in some herbs and Mediterranean plants leaves. *Food Research international*. **31**, 351-354.

Demir V., Guhan T., Yagcioglu A.K., Ddegirmencioglu A. (2004). Mathematical modeling and the Determination of some Quality Parameters of Air-dried Bay leaves. *Biosystems Engineering*. **88**, 325-335

Dejesus R. A., Cechinel Filho V .(2000). Analysis of the antinociceptive properties of marrubiin isolated from *Marrubium vulgare* L. *Phytomedicine*. **7**,111–5.

Decaux I. (2002). Phytothérapie, mode d'emploi, Ed : le bien publique. Pp.6.

Delaquis, P.J, Stanich K, Girard B. and Mazza G. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils, *Int. Food Microbial.* **74**, 101-109.

Diallo D (2000). Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Mali and phytochemical study of four them *Glinus oppositifolius* Aizoaceae Diospyros these de doctorat *Lausanne*.148-176.

E

Edziri H., Ammar S., Groh P., Mahjoub M. A., Mastouri M., Gutmann L., Zine M. et Aouni M. (2007). Antimicrobial and cytotoxicactivity of *Marrubium alysson* and *Retama retamain* Tunisia, *Pak. J. Biol. Sci.* **10**, 1759-1762.

Elberry A. A., Harraz F. M., Ghareib S. A., Gabr S. A., Nagy A.A.and Abdel-Sattar E. (2015). Methanolic extract of *Marrubiumvulgare* ameliorates hyperglycemia and dyslipidemiain streptozotocin-induceddiabetic rats. *International Journal of DiabetesMellitus.* **3**, 37-44.

El Bardai S, Morel N, Wibo M, et al. (2003). The vasorelaxant activity of marrubenol and marrubiin from *Marrubium vulgare*. *Planta Med* **69** : 75–7.

El-hilaly J., Tahraoui T., Israili Z.H., Lyoussi B. (2006). Hypolipidemic effects of acute and sub-chronic administration of an aqueous extract of *Ajuga iva* L. whole plant in normal and diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacol. Vol (105).* **Pp** : 441–448.

F

Falleh H., Ksouri R., chaieb k., karray-bouraoui,N., Trabelsi N., Boulaaba M. , Abdelly C.(2008) Phenolic composition of *Cyanaracardunculus* L, organs, and their biological activities. *C.R. Biologies.***331**, 372-379.

Fang F., Sang S. M., Chen K. Y., Gross Lau A., Ho C.T. and Rosen R.T. (2005). Isolation and identification of cytotoxic compounds from bay leaf (*Laurus nobilis*). *Food Chemestr.* **93**, 497-501.

Fiorini C., David B., Fourastét I., Vercauteren J. (1998) AcylatedKaempferol glycosides from *Laurusnobilis*leaves, *J. Phtochemistry.* **47** (5) : 821-824.

Fischer T. M., Haest, C. W., Stohr M., Kamp D., and Deuticke B. (1978).Selectivealteration of erythrocytedeformabiliby by SH-reagents: evidence for an involvement of spectrin in membrane shearelasticity. *Biochim. Biophys. Acta* . **510**, 270–282.

Frieauf JP , et Meyskens. (2007). Reactive oxygen species : a breath of life or death ? *Clin Cancer Res* . **13**(3), 789-94 .

Fresquet N. , et Médioni J.(1993). Effects of aging on visual discrimination learning in *Drosophila melanogaster* . The Quarterly Journal of Experimental Psychology B : *Comparative and Physiological Psychology*, **46B**(4), 399-412.

François Cannone-Hergaux, (2005) . Erythrophagocytosis and recycling of heme iron in normal and pathological conditions, regulation by hepcidin . *Transfusion Clinique et Biologique.* **12**(2) : 123-30.

G

Gaussen H., et Leroy H. F. (1982). Précis de botanique, végétaux supérieurs, 2ème Ed : *Masson*.

Paris. 426 p.

Ghazi F., & Sahraoui S. (2005). Evolution des composés phénoliques et des caroténoïdes totaux au cours de la maturation de deux variétés de dattes communes Tantouch et Hamraia, Mémoire d'ingénieur en agronomie, El Harrach. *Food Chem.* **51**(17) : 4903-4908.

Girasole M., Dinarelli S., Boumis G. (2012). Structure and function in native and pathological erythrocytes: a quantitative view from the nanoscale. *Micron*, **43**(12):1273–1286.

Gómez-Coronado D.J.M., Ibañez E., Rupérez F.J., Barbas C. (2004). Tocopherol measurement in edible products of vegetable origin, *Journal chromatography.* **1054**: 227-233.

Greuter W., Burdet H. M., Long G., (1986). Eds. *Med-Chechlist*; Conservation et Jardins Botaniques : Genève . **3**, 292-295.

H

Haleng J., Pincemail J., Defraigne J-O, Charlier C., Chapelle J-P. (2007) .Le stress oxydant. *Rev Médicale Liège.* **62**(10).

Hartog J.W.L., Voors AA., Bakker S.J.L., Smit A.J., van Veldhuisen DJ. (2007) Advanced glycation end-products (AGEs) and heart failure: pathophysiology and clinical implications. *Eur J Heart Fail.* **9**, 1146–55.

Hartmann T. (2007). From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. *Photochemistry*, **68**, 2831-2846.

Hellen K., Stulzer., Monika P. Tagliari., Julio A. Zampirolo., Valdir Cechinel-Filho., Valfredo Schlemper. (2006). Antioedematogenic effect of marrubiin obtained from *Marrubium vulgare*, *Journal of Ethnopharmacology* , **108**. 379–384.

Hennebelle T. (2006). Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de plantes productrices d'antioxydants: *Marrubium peregrinum*, *Ballota larendana*, *Ballota pseudodictamnus* (Lamiacées) et *Lippia alba* (Verbenacées). Thèse de Doctorat Université des sciences et technologies de Lille 1, Lille, Pp 304.

Herrera-Arellano, A. A. L. Aguilar-Santamaria, B. Garcia-Hernandez, P. Nicasio-Torres, J. Tortoriello, (2004) . Clinical trial of *Cecropia obtusifolia* and *Marrubium vulgare* leaf extracts on blood glucose and serum lipids in type 2 diabetics, *Phytotherapy.* **11**, 561–566.

Hyun T. K., Kim H. C., Ko Y. J., Kim J. S. (2016). Antioxidant, α -glucosidase inhibitory and anti-inflammatory effects of aerial parts extract from Korean crowberry (*Empetrum nigrum* var. *japonicum*). *Saudi J Biol Sci.* **23**, 181–8.

Hopkins W.G. (2003). Physiologie végétale. Ed: DE BOECK 12, pp 41- 42.

Hattangadi et Lodish. (2007). Regulation of erythrocyte lifespan : Do reactive oxygen species set the clock ?. *Journal of Clinical Investigation* . **117**(8), 2075-7.

I

Issançalis., Mohamed Hosny., Taha Khalifa., Peter Rüedi., (1992). Phenylpropanoid glycosides from *Marrubium alysson*, *Phytochemistry.* **31**, 3624 -3626

Iserin P. (2001). Encyclopédie des plantes médicinales. 2ème Ed. Larousse. Londres Pp : 143 et 225-226.

Ismaeili, M.A.; Yazdanparast., R. (2004). Hypoglycaemic effect of *Teucrium polium* : studies with rat pancreatic islets. *Journal of Ethnopharmacology* , 95 .

J

Jain. S. K. (1989). Hyperglycemia can cause membrane lipid peroxidation and osmotic fragility in human red blood cells. *The Journal of Biological Chemistry*. **264**, no. **35**, Pp. 21340–21345.

Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A., Steven P., (2002). Botanique systématique : Une perspective phylogénétique. 1ère Ed : Paris et Bruxelles. Pp : 84-87- 369-384-399.

John Wiley and son. (2011) . Biochemistry. 4th Edition . p : 95 .

K

Kaileh Mary, Vanden Berghe, Elke Boone, Tamer Essawi , Guy Haegeman. (2007). Screening of indigenous palestinian medicinal plants for potential anti inflammatory and cytotoxic activity. *Journal of ethnopharmacology*. **113**(3) : 510-5 .

Kivçak B., Mert T. (2002) Preliminary evaluation of cytotoxic properties of *Laurus nobilis* leaf extracts. s. **73**, 242-243.

Kozlova E. K., Chernysh A.M., Moroz V.V. et Kuzovlev A. N. (2012). Analysis of nanostructure of red blood cells membranes by space Fourier transform of AFM images. *Micron*, **44**, 218–227.

Koya D. et King G. L. (1998). Protein Kinase C activation and the development of diabetic complications. **47**, 859-866.

Kurbatova NV, Muzychkina RA, Mukhitdinov NM, Parshina GN (2003) . Comparative phytochemical investigation of the composition and content of biologically active substances in *Marrubium vulgare* and *Marrubium alternifolium*. *Chem Nat Comp*. **39**, 501–2.

L

Lee A. Y., Chung S. S. (1999) . Contributions of polyol pathway to oxidative stress in diabetic cataract. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*. **13**, 23–30.

Lim PS., Wei YH., Yu YL., Kho B. (1999). Enhanced oxidative stress in haemodialysis patients receiving intravenous iron therapy. *Nephrol Dial Transplant*. **14**, 2680-7.

M

Matkowski A., Piotrowska M. (2006). Antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants from the Lamiaceae. *Fitoterapia*. **77**, 346-353.

Masoodi M. H., Ahmed B., Zargar I. M., Khan S. A., Khan S. and Singh P. (2008). Antibacterial activity of whole plant extract of *Marrubium vulgare*. *African J Biotechnol*. **7**, 86-87.

Meyre-Silva C, Yunes RA, Schlemper V, et al. (2005). Analgesic potential of marrubiin derivatives, a bioactive diterpene present in *Marrubium vulgare* L. (Lamiaceae). *Il Farmaco* . **60**, 312–26.

Misra H.P., Fridovich J. (1972). The generation of superoxide radical during the autooxidation of hemoglobine. *Joornalbiologicalchemistry*. **247**, 6960-6962.

Mossa, A-T. H., Heikal T.M., et Mostafa Mohamed Mohafrash S. (2014). Lipid peroxidation and oxidative stress in rat erythrocytes induced by aspirin and diazinon: the protective role of selenium. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. **4**, 603-609.

Mitrofan-Oprea L., Palii C., Tissier J. P., Heron A., Verpoort T., Behague M., Smagghe E., Schooneman F., Huart J. J., Goudaliez F., Montreuil J., & Bratosin D. (2007). Nouveaux critères d'évaluation de la viabilité des hématies destinées à la transfusion. *Transfusion Clinique et Biologique*. **14**, 393-401.

Marzouki H., A. Piras. A., Bel Haj Salah. K., Medini H., Pivetta T., Bouzid S., Marongiu B. et Falconieri. (2009). Essential oil composition and variability of *Laurus nobilis* L. growing in Tunisia, comparison and chemometric investigation of different plant organs. *Natural research product* . **23**, 343-54.

Muniz-Marquez D. B, Rosa M . , Rodriguez ,Herrera R , Juan C , Contreras , Esquivel Y cristobal N (2013) . Production Artesanal de Agaumié UNA Bebida tradicional Mexicana Artisanal production of Aguamié ; traditional Mexic Beverage production of Agaumié. *Revista científica de la universidad Autonoma de Coahuila* . **5** No 10.

N

Nawwar-Mahmoud AM, El-Mousallamy AMD., Barakat HH., et al. (1989) Flavonoid lactates from leaves of *Marrubium vulgare*. *Phytochemistry*. **28**, 3201–6.

Novaes, A. P., Rossi, C., Poffo, C., Pretti, J. E., Oliveira, A. E., Schlemper, V., ... & Bürger, C.

(2000). Preliminary evaluation of the hypoglycemic effect of some Brazilian medicinal plants. *Thérapie* . **56**(4), 427-430.

P

Parisa S. (2009). RBC: Tool for Oxidant Agents Screening Test. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. **3**, 2970-2973.

Polunin, P.; Huxley A. (1971). Fleurs du bassin méditerranéen. Fernand Nathan ed., Paris. P:89

Pavela R. (2004). Insecticidal activity of certain medicinal plants, *Fitoterapia*. **75**, 745–749.

Pukalskas A, Rimantas Venskutonis P, Salido S, et al. (2012). Isolation, identification and activity of natural antioxidants from horehound (*Marrubium vulgare* L.) cultivated in Lithuania. *Food Chem*. **130**, 695–701.

Pi-Sunyer., Xavier., F. (2002). Glycemic index and disease. *Journal of American Clinical Nutrition*. **76**, 290S-8S.

Q

Quezel P., Santa S. (1962-1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Vol. 1-2. Ed. Centre National de la Recherche Scientifique CNRS. Paris, 1170 p.

Quezel. P., Santa. S. (1962). Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales. Editions du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, Tome I. Pp : 565.

R

Rigano D., Formisano C., et al. (2006). Antibacterial activity of flavonoids and phenylpropanoids from *Marrubium globosum* ssp. *libanoticum*. *Phytother Res.* Dec 21; [Epub ahead of print]. *Res.*, 21: 395–397.

Gaussen H., et Leroy H. F. (1982). Précis de botanique, végétaux supérieurs, 2ème Ed : Masson. Paris. 426 p.

Rice-Evans C., Bayasal E. (1987). β -Thalassemia. *New England journal of Medicine*, 353:1135-1146.

Roob J. M., Khoschsorur G., Tiran A., Horina J. H., Holzer H., Winklhofer-Roob B. M. (2000). Vitamin E attenuates oxidative stress induced by intravenous iron I patients on hemodialysis. *J Am Soc Nephrol* . **11**, 539-49.

Roman R.R., Alarcon-Aguilar F., et al. (1992). Hypoglycemic effect of plants used in Mexico as antidiabetics. *Archives of Medical Research*. **23**, 59-64.

Rigano D., Aviello G., Bruno M., Formisano C., Rosselli S., Capasso R., Senatore F., Izzo A.A. & Borrelli F. (2009). Antispasmodic Effects and Structure–Activity Relationships of Labdane Diterpenoids from *Marrubium globosum* ssp. *libanoticum*, *J. Nat. Prod.*, Vol. 72, 1477-1481.

S

Sahpaz S., Bailleul F. & Hennebelle T. (2010). Activity of Ladanein on Leukemia Cell Lines and Its Occurrence in *Marrubium vulgare*, *Planta Medica*. **76**, 86-87.

Simi M., Kundakovi T., Kovačević N. (2003). Preliminary assay on the antioxidant activity of *Laurus nobilis* extracts. *Fitoterapia*. **74**, 613-616.

Selvaraj N., Bobby Z., Sathiyapriya V. (2006). Effect of lipid peroxides and antioxidants on glycation of hemoglobin: an in vitro study on human erythrocytes. *Clin Chim Acta. Int J Clin Chem*. **366**, 190–5.

Schlemper V., Ribias A., Nicolau M., Cechinel V. (1996) : Antispasmodic effects of hydroalcoholic extract of *marrubium vulgare* on isolated tissues ; *phytotherapy* **7**, 103-107

Sahpaz S. Garabacki N. Tits M. Bailleul F. (2002) . isolation and pharmacological activity of phenylpropanoids esters from *Marrubium vulgare* ; *journal of Ethnopharmacology* **79**, 389-392.

Sofowora A., (2010). Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Paris, France, Karthala, 378 p.
STEPP J. R., MOERMAN D. E., 2001. The importance of weeds in ethnopharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*. **75**, 19-23.

T

Taroq A., El Kamar F., Aouam I., El Atki Y., Lyoussi B. et Abdellaou A. (2018). Antioxidant Activities And Total Phenolic And Flavonoid Content Variations Of Leaf Extracts Of *Laurus Nobilis* L. From Morocco. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. **11**, 540.

Temani Y. (2006). Les plantes : le marrube. *Edition santé*, p : 1-2.

W

Wu X., Beecher G., Holden J. M., Hayatowitz D. B., Gebhardt S. E. and Prior R. L.(2004). Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. *Journal of Agricultural and Food Chem.***52**, 4026-4037.

Z

Zachée P., Ferrant A., Daelemans R., Goossens W., Boogaerts MA., Lins RL. (1995). Reduced glutathione for the treatment of anemia during hemodialysis : A preliminary communication. *Nephron.* **71** : 343-9.

Zhang M., Hongfei J., Aiti A., et al. (2008) A tree sequence alignment based tree-to-tree translation model. *ACLHLT* **08**, 559–67.

Zübeyir H., Mehmet R., Fekero L., Rag J., Balahoro L., Tahsin K. and Erdem Çokluk. (2016). The Relationship of Oxidation Sensitivity of Red Blood Cells and Carbonic Anhydrase Activity in Stored Human Blood: Effect of Certain Phenolic Compounds. *BioMed Research International.* **3057384**, 8 pages.

Annexe 1

Dosage des polyphénols

Tableau N°1 : Absorbances de l'acide gallique à différentes concentrations.

Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	20	40	60	80	100
Abs (à 765nm)	0.315	0.465	0.585	0.710	0.9005

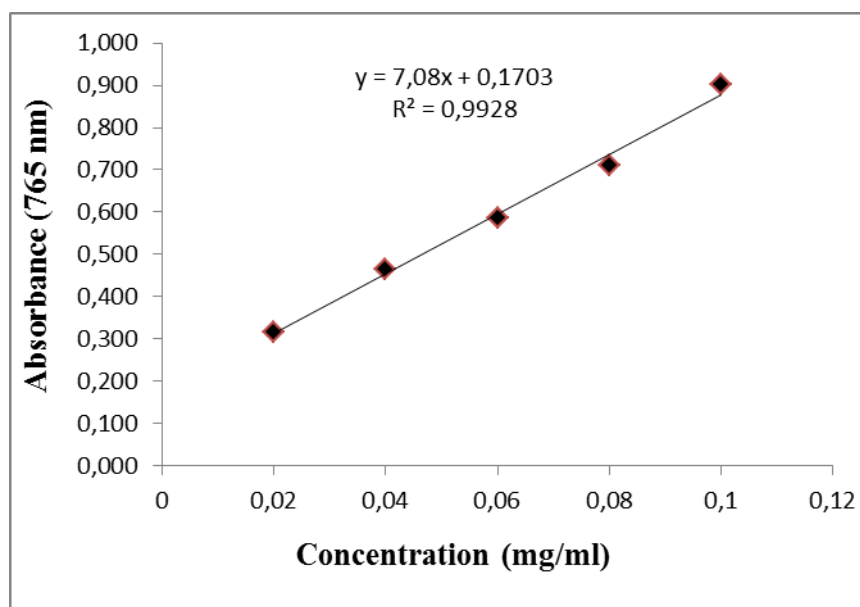


Figure 1 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Dosage Flavonoïde

Tableau N°2 : Absorbances de la quercétine à différentes concentrations.

Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	5	10	20	30	40
Absorbance (à 420 nm)	0.192	0.313	0.602	0.80	1.001

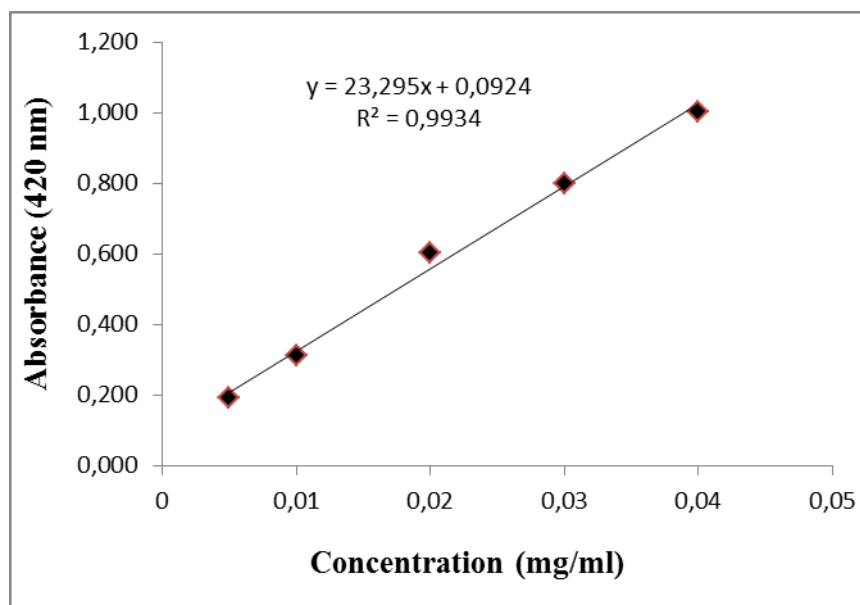


Figure 2 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.

Annexe 2

Etude statistique du dosage des TPC

Tableau ANOVA pour TPC

	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	Valeur de F	Valeur de p	Lambda	Puissance
Type de plantes	1	231,387	231,387	14,942	,0181	14,942	,825
Résidu	4	61,943	15,486				

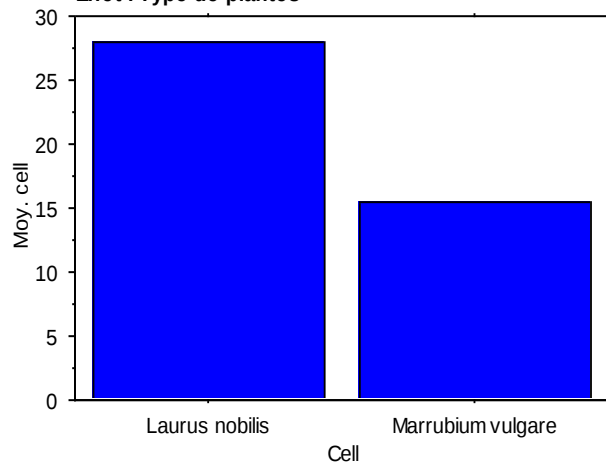
Tableau de moyennes pour TPC

Effet : Type de plantes

	Nombre	Moyenne	Dév. Std.	Err. Std.
Laurus nobilis	3	27,947	5,555	3,207
Marrubium vulgare	3	15,527	,339	,196

Graphique des interactions pour TPC

Effet : Type de plantes



Test PLSD de Fisher pour TPC

Effet : Type de plantes

Niveau de significativité : 5 %

	Diff. moy.	Diff. crit.	Valeur p	
Laurus nobilis, Marrubium vulgare	12,420	8,921	,0181	S

Etude statistique du dosage des flavonoides

Tableau ANOVA pour TPC

	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	Valeur de F	Valeur de p	Lambda	Puissance
Type de plantes	1	231,387	231,387	14,942	,0181	14,942	,825
Résidu	4	61,943	15,486				

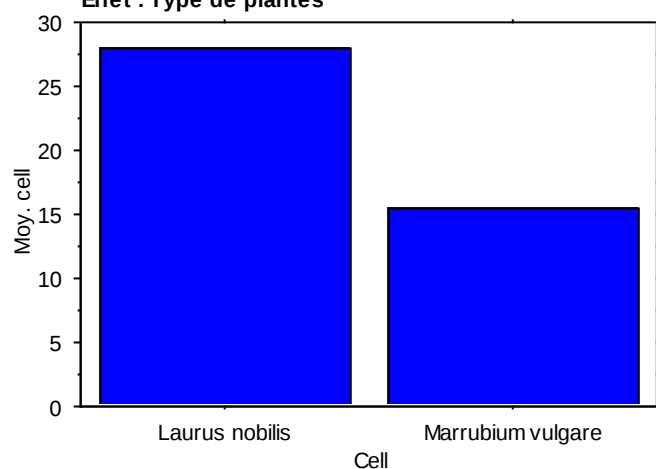
Tableau de moyennes pour TPC

Effet : Type de plantes

	Nombre	Moyenne	Dév. Std.	Err. Std.
Laurus nobilis	3	27,947	5,555	3,207
Marrubium vulgare	3	15,527	,339	,196

Graphique des interactions pour TPC

Effet : Type de plantes



Test PLSD de Fisher pour TPC

Effet : Type de plantes

Niveau de significativité : 5 %

	Diff. moy.	Diff. crit.	Valeur p
Laurus nobilis, Marrubium vulgare	12,420	8,921	,0181

S

Etude statistique du test DPPH

Tableau ANOVA pour DPPH

	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	Valeur de F	Valeur de p	Lambda	Puissance
Type de plantes	2	11082,911	5541,456	13661,941	<,0001	27323,881	1,000
Résidu	6	2,434	,406				

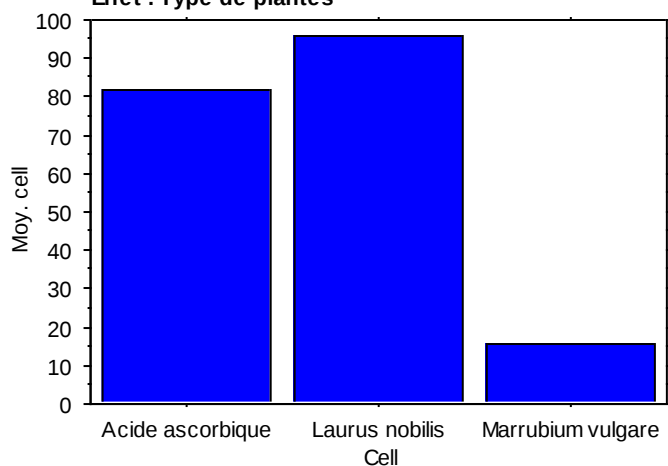
Tableau de moyennes pour DPPH

Effet : Type de plantes

	Nombre	Moyenne	Dév. Std.	Err. Std.
Acide ascorbique	3	81,818	0,000	0,000
Laurus nobilis	3	96,061	1,050	,606
Marrubium vulgare	3	15,527	,339	,196

Graphique des interactions pour DPPH

Effet : Type de plantes



Test PLSD de Fisher pour DPPH

Effet : Type de plantes

Niveau de significativité : 5 %

	Diff. moy.	Diff. crit.	Valeur p	
Acide ascorbique, Laurus nobilis	-14,242	1,272	<,0001	S
Acide ascorbique, Marrubium vulgare	66,291	1,272	<,0001	S
Laurus nobilis, Marrubium vulgare	80,533	1,272	<,0001	S

Etude statistique activité anti-hémolytique

RBC- Glucose 1mg/ml

Tableau ANOVA pour RBC

	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	Valeur de F	Valeur de p	Lambda	Puissance
Type de traitement	4	,316	,079	34,998	<,0001	139,991	1,000
Résidu	14	,032	,002				

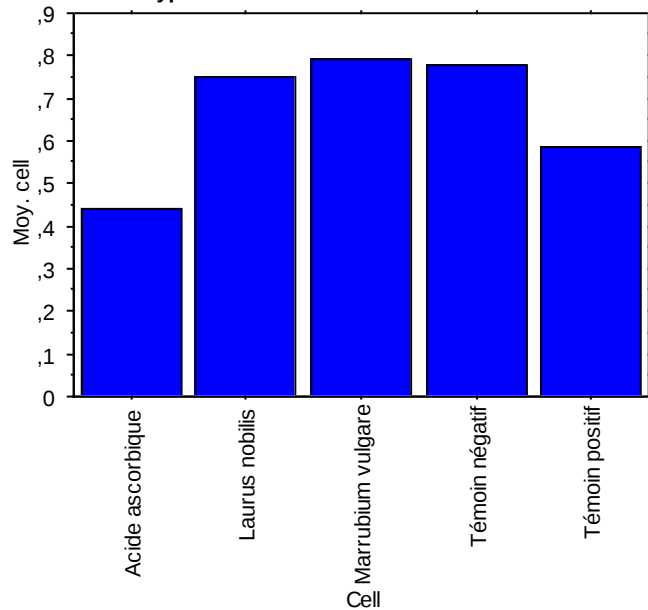
Tableau de moyennes pour RBC

Effet : Type de traitement

	Nombre	Moyenne	Dév. Std.	Err. Std.
Acide ascorbique	3	,439	,023	,014
Laurus nobilis	4	,748	,047	,023
Marrubium vulgare	4	,793	,033	,016
Témoin négatif	4	,779	,057	,029
Témoin positif	4	,588	,061	,030

Graphique des interactions pour RBC

Effet : Type de traitement



Test PLSD de Fisher pour RBC

Effet : Type de traitement

Niveau de significativité : 5 %

	Diff. moy.	Diff. crit.	Valeur p	
Acide ascorbique, Laurus nobilis	-,309	,078	<,0001	S
Acide ascorbique, Marrubium vulgare	-,354	,078	<,0001	S
Acide ascorbique, Témoin négatif	-,340	,078	<,0001	S
Acide ascorbique, Témoin positif	-,149	,078	,0011	S
Laurus nobilis, Marrubium vulgare	-,045	,072	,2021	
Laurus nobilis, Témoin négatif	-,031	,072	,3684	
Laurus nobilis, Témoin positif	,160	,072	,0003	S
Marrubium vulgare, Témoin négatif	,014	,072	,6887	
Marrubium vulgare, Témoin positif	,205	,072	<,0001	S
Témoin négatif, Témoin positif	,191	,072	<,0001	S

Etude statistique activité anti-hémolytique

Hb- Glucose 1mg/ml

Tableau ANOVA pour Hb

	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	Valeur de F	Valeur de p	Lambda	Puissance
Type de traitement	4	,017	,004	21,917	<,0001	87,670	1,000
Résidu	12	,002	1,952E-4				

Tableau de moyennes pour Hb

Effet : Type de traitement

	Nombre	Moyenne	Dév. Std.	Err. Std.
Acide ascorbique	4	,125	,004	,002
Laurus nobilis	3	,140	,009	,005
Marrubium vulgare	3	,212	,014	,008
Témoin négatif	4	,175	,022	,011
Témoin positif	3	,132	,012	,007

Graphique des interactions pour Hb

Effet : Type de traitement

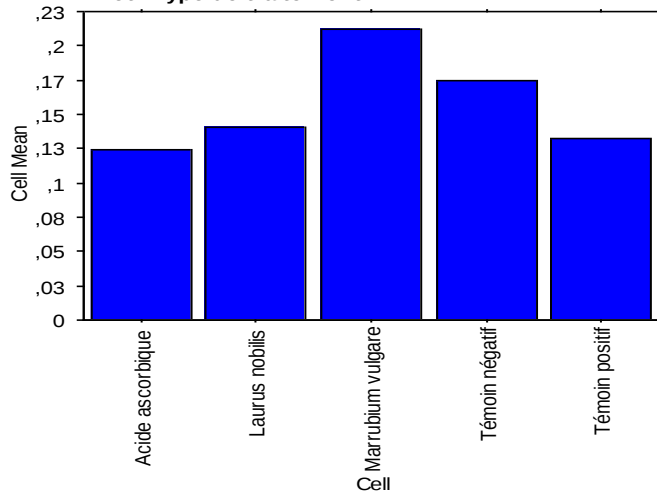
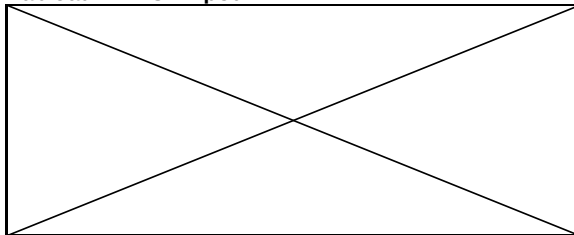


Tableau MANOVA pour



Les tableaux MANOVA ne sont pas calculés pour les modèles factoriels avec une seule variable dépendante.

Test PLSD de Fisher pour Hb

Effet : Type de traitement

Niveau de significativité : 5 %

	Diff. moy.	Diff. crit.	Valeur p	
Acide ascorbique, Laurus nobilis	-,016	,023	,1698	
Acide ascorbique, Marrubium vulgare	-,087	,023	<,0001	S
Acide ascorbique, Témoin négatif	-,050	,022	,0003	S
Acide ascorbique, Témoin positif	-,007	,023	,5097	
Laurus nobilis, Marrubium vulgare	-,071	,025	<,0001	S
Laurus nobilis, Témoin négatif	-,035	,023	,0070	S
Laurus nobilis, Témoin positif	,008	,025	,4791	
Marrubium vulgare, Témoin négatif	,037	,023	,0049	S
Marrubium vulgare, Témoin positif	,080	,025	<,0001	S
Témoin négatif, Témoin positif	,043	,023	,0017	S

ملخص

الهدف من هذا العمل هو تقييم الخواص المضادة للأكسدة لمستخلصات النبتتين الطبيبتين (المريوت و الرند) و تأثير كل منهما على مقاومة كريات الدم الحمراء للإنسان في وسط خارجي منخفض التوتر تحت تأثير تركيزات متزايدة من الجلوكوز.

أظهر المحتوى الإجمالي لفينولات الفلافونويد أن نبتة الرند كان لها التركيز الأعلى من نبتة المريوت و ذلك بمحتويات تقدر ب: 11.08 ± 55.88 ملغ مكافئ لحمض الغاليك/غ تقابل 0.33 ± 15.52 ملغ مكافئ لحمض الغاليك/غ و 27.2 ± 169.6 ملغ مكافئ للكيرسيتين/غ تقابل 9.32 ± 26.71 ملغ مكافئ للكيرسيتين/غ ، في اختبار إرجاع الجذر الحر، أظهرت النشاطية المضادة للأكسدة أن كلا المستخلصين لديهما كفاءة عالية مع تفاوت متقارب بين المستخلصين.

كما أظهرت نتائج النشاطية المضادة لانحلال الدم أن الرند و المريوت لهما تأثير مزدوج في حماية كل من خلايا الدم الحمراء من الإنحلال و الهيموغلوبيين من التخريب.

الكلمات المفتاحية: المريوت، رند، نشاط تأكسدي، جلوكوز، كريات الدم الحمراء، النشاطية المضادة لانحلال الدم

Résumé

Dans le présent travail nous nous sommes intéressés à l'évaluation des propriétés antioxydantes des extraits de deux plantes médicinales (*Marrubium vulgare* et *Laurus nobilis*) et l'effet de ces extraits sur la résistance hypo-osmotique des hématies humaines sous l'action de concentrations croissantes en glucose.

Le dosage des polyphénols et des flavonoïdes a montré que laurus présente des concentrations plus élevées que le Marrube (55.88 ± 11.08 mg EAG/g vs 15.52 ± 0.33 mg EAG/g et 169.6 ± 27.2 mg EQ/g vs 26.71 ± 9.32 mg EQ/g) Dans le test au DPPH, les extraits étudiés ont une importante activité anti-radicalaire avec une supériorité plus ou moins du Laurier sur le Marrube.

Les résultats de l'activité anti-hémolytique ont montré que *Laurus Nobilis* et *Marrubium vulgare* exercent un double effet protecteur sur les hématies et assurent une protection contre l'hémolyse des globules rouges et la dénaturation de l'hémoglobine

Mots clés : *Marrubium vulgare*, *Laurus nobilis*, stress oxydant, glucose, hématies, activité anti-hémolytique.

Abstract

The aim of the present work was to evaluate the antioxidant properties of two medicinal plants extracts (*Marrubium vulgare* and *Laurus nobilis*) and to study the effect of these extracts on the resistance of the human erythrocytes to hypoosmotic condition in the presence of increasing concentrations of glucose.

The assessment of polyphenols and flavonoids showed that Laurus presented higher concentrations than Marrube (55.88 ± 11.08 mg GAE / g vs 15.52 ± 0.33 GAE/ g and 169.6 ± 27.2 mg QE / g vs. 26.71 ± 9.32 mg QE / g). In term of DPPH radical scavenging activity, it can be assumed that the studied extracts showed a significant anti-radical activity with a superiority of Laurus on arrube.

The results of anti-haemolytic activity showed that *Laurus Nobilis* and *Marrubium Vulgare* exert a double protective effect on red blood cells by affording a protection against haemolysis and hemoglobin denaturation.

Key words: *Marrubium vulgare*, *Laurus nobilis*, oxidative stress, glucose, red cells, anti-hemolytic activity.