

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Centre Universitaire Salhi Ahmed – NAAMA
Institut des Sciences et de Technologie
Département des Sciences de la Nature et de la Vie



En vue de l'obtention du **diplôme de MASTER Académique**

En : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté Par : DERBALE Khadidja

BEDDIAR Fatima

Intitulé

**EVALUATION DU POTENTIEL ANTIOXYDANT ET
ANTIBACTERIEN DES EXTRAITS DE *Slavia argentea*
ET DE *Pulicaria arabica subsp. inuloide***

Soutenu, devant le jury composé de :

Président	M ^r . KEBDANI Mohammed	M.C.B	C.U. Naâma
Encadreur	M ^r . GHERIB Mohammed	M.C.A	C.U. Naâma
Examineur	M ^r . AMROUCHE Abdel-Illah	Prof	C.U. Naâma

Session : Septembre 2021

Promotion : 2020 / 2021

À ma mère

Nulle dédicace ne saurait t'exprimer toute ma gratitude et ma reconnaissance.

Maman, la noble, la combattante, mon armée et ma seule héroïne ;
Ma merveille, sans ton soutien, ton amour, tes prières je ne serai jamais
arrivée là !

Ce que tu m'as fait apprendre sera gravé à jamais dans mon âme.

À ChahraZed, Nor El Houđa, Asma et Abir ;
À mon petit cher Fayçal ;

Ma fierté et ma force, vous m'avez soutenu dans tous mes projets et mes
ambitions ;

Unis et inséparables on a surmonté tous ensemble les moments sales et
difficiles,

Tout mon amour.

À la mémoire de mon petit frère Abd El Samed,

À mon cher ami YACHEUR Mohammed Ali

Pour ta présence et ton soutien,
Pour le fait de m'avoir serré la main,
Dieu merci, d'avoir croisé nos chemins.

À mes amis et amies ;

Qui m'ont partagé le trajet,
Je vous aime.

Khadija

À la volonté du grand dieu notre ALLAH, tout puissant et bienveillant qui nous à aider à présenter ce modeste travail que je dédie à :

*La lumière de mes yeux et le bonheur de mon existence : **ma mère**, celle qui a sacrifié les meilleurs moments de sa vie pour ma réussite, que dieu la protège.*

*Et à mon **cher père** qui m'a encouragé et m'a donné son soutien et ses conseils.*

*Et à feu **grande mère**, que dieu l'accueille dans son vaste paradis.*

*À mes chères frères : **Youcef, Khalil, et Redouanne et Merieme** Que j'aime énormément et à qui je souhaite une vie pleine de joie, de bonheur et de réussite.*

*À mon binôme : **Khadidja**, pour son amitié, confiance, cohérence et pour tous les moments de joies que nous avons partagé ensemble.*

*À mes oncles : **Emhamed, Ahmed et Medjdoub** et leurs familles et mes tantes et à toute la famille **BEDDIAR** et **GOFFA**.*

*À toutes mes amies en particulier : **nour elhouda, Khadidja.B, Karima et bouchra** .*

*Je tiens à exprimer mes gratitude et mes remerciements à **M^{sieu} gherib** pour ses orientations et son aide.*

À toute ma promotion de microbiologie Appliqué.

À toute personne qui m'aime de loin ou de près.

*✍ **FATIMA***

On tient à exprimer nos vifs remerciements :

À Notre encadreur **Mr GHERIB Mohammed**

De la confiance que vous nous avez accordée en nous proposant ce travail ;
De votre implication, votre soutien,
Et de nous avoir fait l'honneur de présider cette thèse.

Au président de jury **Mr. KEBDANI Mohammed**

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce Jury ;
Votre présence nous ravit.

À l'examineur **Pr. AMROUCHE Abdel-Ilah**

De la confiance que vous nous avez témoignée en acceptant d'examiner ce
travail ;
On tient à vous exprimer nos sincères reconnaissances.

Aux Mr. BOUAFIA Miloud

Qui nous a guidés tout au long du travail
De votre aide incontournable ;
De votre disponibilité et vos précieux conseils.

**Aux ingénieurs du laboratoire de biochimie et laboratoire de la
recherche scientifique ;**

De votre aide et votre bonne humeur ;
Et surtout de votre patience le long de notre pratique.

Le présent travail a été porté sur l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante et antibactérienne de *Salvia argentea* et de *Pulicaria arabica subsp. inuloides* ; deux espèces de la région de l'ouest de l'Algérie, utilisées dans la médecine traditionnelle pour traiter les affections respiratoires.

L'activité antioxydante a été évaluée par deux méthodes : DPPH et FRAP. La fraction acétate d'éthyle des racines de *S. argentea* a révélé le meilleur pouvoir anti-radicalaire avec une $IC_{50} = 2,39 \pm 0,00 \mu\text{g/mL}$ inférieure à celle de l'acide ascorbique ($IC_{50} = 2,59 \pm 0,12 \mu\text{g/mL}$). La même fraction a montré le pouvoir réducteur du fer le plus important parmi la collection des extraits de cet espèce, avec une $EC_{50} = 7,39 \pm 0,838 \mu\text{g/mL}$. L'analyse statistique des résultats a montré la présence d'une forte corrélation linéaire positive entre la teneur en polyphénols totaux et l'intensité de ce potentiel antioxydant.

La fraction n-butanolique des feuilles de *Pulicaria arabica subsp. inuloides* semble avoir le potentiel anti-radicalaire le plus puissant dans sa collection d'extraits ($IC_{50} = 6,96 \pm 0,62 \mu\text{g/mL}$), tandis que l'extrait méthanolique des feuilles a montré le pouvoir réducteur du fer le plus fort avec une $EC_{50} = 9,35 \pm 1,07 \mu\text{g/mL}$.

L'activité antibactérienne a été évaluée par la méthode de diffusion en milieu solide. Une capacité d'inhibition de la croissance bactérienne de ces espèces a été mise en évidence vis-à-vis une gamme de six souches bactériennes pathogènes pour l'homme, dont seulement *Echerichia coli* ATCC 25912 qui s'est manifesté résistante.

Mots clés : *Salvia argentea*, *Pulicaria arabica subsp. inuloides*, activité antioxydante, activité antibactérienne, composés phénoliques.

The present work was focused on the *in vitro* evaluation of the *Salvia argentea* and *Pulicaria arabica subsp. inuloides* antioxidant and antibacterial activity; two species of the western region of Algeria ; used in traditional medicine to treat respiratory diseases.

The antioxidant activity was assessed by two methods: DPPH and FRAP. The ethyl acetate fraction of the roots of *S. argentea* revealed the best radical scavenging activity with an $IC_{50} = 2,39 \pm 0.00 \mu\text{g/mL}$ less than that of ascorbic acid ($IC_{50} = 2,59 \pm 0.12 \mu\text{g/mL}$). The same fraction showed the highest reducing power of iron among the collection of extracts of this specie with an $EC_{50} = 7.39 \pm 0.838 \mu\text{g/mL}$. Statistical analysis of the results showed the presence of a strong positive linear correlation between the total polyphenol and the intensity of this antioxidant potential.

The n-butanol fraction leaves *Pulicaria arabica subsp. inuloides* seems to have the most powerful radical scavenging potential in this collection of extracts ($IC_{50} = 6,96 \pm 0,62 \mu\text{g/mL}$), while the methanol extract of the leaves showed the reducing power the stronger with iron $EC_{50} = 9,35 \pm 1,07 \mu\text{g/mL}$.

The antibacterial activity was evaluated with the solid diffusion method. A capacity to inhibit bacterial growth in these species has been demonstrated against a range of six bacterial strains pathogenic for humans, including only *Echerichia coli* ATCC 25912 which has been shown to be resistant.

Key words: *Salvia argentea*, *Pulicaria arabica subsp. inuloides*, the antioxidant activity, the antibacterial activity, phenolic compounds.

ركز هذا العمل على التقييم المخبري للنشاط المضاد للأوكسدة و المضاد للبكتيريا لنبتتين منتشرتين في الغرب الجزائري هما : *Salvia argentea* و *Pulicaria arabica subsp. inuloides*، والمستعملتين في الطب الشعبي لعلاج أمراض الجهاز التنفسي.

تم تقييم النشاط المضاد للأوكسدة باستعمال طريقتين : حصر الجذور الحرة و ارجاع الحديد. وقد أظهر مستخلص الأسيئات الميثيلية لجذور *S. argentea* فاعلية ممتازة في تثبيت الجذور الحرة حيث سجلنا: $IC_{50} = 2,39 \pm 0.00 \mu\text{g/mL}$ أقل من التركيز المسجل مع حمض الأسكوربيك ($IC_{50} = 2,59 \pm 0.12 \mu\text{g/mL}$). نفس المستخلص كان الأكثر فاعلية في ارجاع عنصر الحديد بين مجموعة مستخلصات هذه النبتة ($EC_{50} = 7.39 \pm 0.838 \mu\text{g/mL}$). وقد أظهر التحليل الاحصائي للنتائج وجود علاقة خطية موجبة قوية بين تركيز أجزاء هذه النبتة من المركبات الفينولية و بين قدرتها المضاد للأوكسدة.

مستخلص البيتانول لأوراق نبتة *P. arabica subsp. inuloides* أظهر أنه الأكثر فاعلية في تثبيت الجذور الحرة في مجموعته ($IC_{50} = 6,96 \pm 0,62 \mu\text{g/mL}$) في حين أن مستخلص أوراق الميثانول كان الأكثر فاعلية في ارجاع عنصر الحديد وذلك بـ $EC_{50} = 9,35 \pm 1,07 \mu\text{g/mL}$

تم اثبات قدرة هذه المستخلصات على تثبيط نمو مجموعة مكونة من ست سلالات بكتيرية ممرضة للإنسان . حيث فقط سلالة *Echerichia coli* ATCC 25912 أظهرت مقاومة لها.

الكلمات المفتاحية : *Salvia argentea* ، *Pulicaria arabica subsp. Inuloides* ، مضادات الأوكسدة، مضادات البكتيريا، المركبات الفينولية.

ACeOH	<i>Acétate d'Ethyle</i>
ButOH	<i>Butanol</i>
DMSO	<i>Di-Méthyl-Sulf-Oxyde</i>
DPPH	<i>2,2-DiPhenyl-1-PicrylHydrazyl</i>
EAG	<i>Equivalent Acide Gallique</i>
EC	<i>Equivalent Catéchine</i>
EC50	<i>Concentration Efficace pour Réduire 50% du Fer</i>
EQ	<i>Equivalent Quercétine</i>
ERO	<i>Espèce Réactive de l'Oxygène</i>
ES	<i>Extrait Sec</i>
ESM	<i>Erreur Standard de la Moyenne</i>
Ext	<i>Extrait</i>
IC50	<i>Concentration Inhibitrice de 50% de DPPH</i>
FRAP	<i>Ferric Reducing Antioxidant Power (Pouvoir Réducteur du Fer)</i>
MeOH	<i>Méthanol</i>
MH	<i>Mueller Hinton</i>
PPT	<i>PolyPhénols Totaux</i>
rpm	<i>Rotation Per Minute (Rotation Par Minute)</i>
subsp.	<i>Sous-espèce</i>
TC	<i>Tanins Condensés</i>
TCA	<i>Acide Tri-Chloro-Acétique</i>
UFC	<i>Unité Formatrice des Colonies</i>
V / V	<i>Rapport Volume par Volume.</i>

Tableau 1 : Protocole de dosage des polyphénols totaux	14
Tableau 2 : Protocole de dosage des flavonoïdes	15
Tableau 3 : Protocole de dosage des tanins condensés	16
Tableau 4 : Protocole de test DPPH	17
Tableau 5 : Protocole de test FRAP	18
Tableau 6 : Souches bactériennes	19
Tableau 7 : Teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés des extraits de <i>S. argentea</i> et <i>P. arabica</i> subsp. <i>inuloides</i>	23
Tableau 8 : Valeurs de l'IC50 des extraits méthanoliques et ses différentes fractions des deux espèces: <i>S. argentea</i> et <i>P. arabica</i> subsp. <i>inuloides</i> ; exprimées en µg/mL, accompagnée de l'IC50 de l'acide ascorbique	28
Tableau 9 : Valeurs de l'EC50 des extraits méthanoliques et de ses différentes fractions des deux espèces : <i>S. argentea</i> et <i>P. arabica</i> subsp. <i>inuloides</i> ; exprimées en µg/mL, accompagnée de l'EC50 de l'acide ascorbique	30
Tableau 10 : Coefficients de corrélation Pearson entre la teneur en composés phénoliques et l'inverse des valeurs d'IC50 et EC50	32
Tableau 11 : Diamètres des zones d'inhibition	33

Figure 1 : Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques	9
Figure 2 : Structure du noyau phénol	9
Figure 3 : Structures chimiques des acides phénoliques	10
Figure 4 : Structures chimiques des sous-classes des flavonoïdes	10
Figure 5 : Structures chimiques des sous-classes des tanins	11
Figure 6 : Rendement d'extraction de <i>S. argentea</i>	22
Figure 7 : Rendement d'extraction de <i>P. arabica</i> subsp. <i>inuloides</i>	22
Figure 8 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux	24
Figure 9: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes	26
Figure 10 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés	27

DÉDICACE	I
REMERCIEMENT	III
RÉSUMÉ	IV
ABSTRACT	V
ملخص	VI
LISTE DES ABRÉVIATIONS	VII
LISTE DES TABLEAUX	VIII
LISTE DES FIGURES	IX
SOMMAIRE	X
INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
CHAPITRE 1	
SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	4
I. DESCRIPTION BOTANIQUE DES PLANTES	5
I.1 <i>Salvia argentea</i>	5
I.1.1 NOMS VERNACULAIRES	5
I.1.2 TAXONOMIE	5
I.1.3 UTILISATION EN MÉDECINE TRADITIONNELLE	6
I.2 <i>Pulicaria arabica subsp. inuloides</i>	6
I.2.1 TAXONOMIE	6

I.2.2	UTILISATION EN MÉDECINE TRADITIONNELLE	6
II.	STRESS OXYDATIF	7
III.	RÉSISTANCE BACTÉRIENNE AUX ANTIBIOTIQUES	8
IV.	POLYPHÉNOLS ET LEURS PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES	9

CHAPITRE 2

	MATÉRIELS ET MÉTHODES	12
I.	MATÉRIEL VÉGÉTAL	13
II.	EXTRACTION ET FRACTIONNEMENT DES COMPOSES PHÉNOLIQUES	13
III.	DOSAGE DES COMPOSES PHÉNOLIQUES	14
III.1	DOSAGES DES POLYPHÉNOLS TOTAUX	14
III.2	DOSAGES DES FLAVONOÏDES	15
III.3	DOSAGES DES TANINS CONDENSÉS	15
IV.	ÉVALUATION <i>IN VITRO</i> DE L'ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE	16
IV.1	TEST DE PIÉGEAGE DU RADICAL LIBRE DPPH •	16
IV.2	POUVOIR RÉDUCTEUR DU FER (FERRIC REDUCING ANTIOXIDANT POWER)	17
V.	ÉVALUATION <i>IN VITRO</i> DE L'ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE	18
VI.	ANALYSE STATISTIQUE	20

CHAPITRE 3

	RÉSULTATS ET DISCUSSIONS	21
--	--------------------------	----

I.	PRÉPARATION DES EXTRAITS ET CALCULES DU RENDEMENT	22
II.	DOSAGE DES COMPOSES PHÉNOLIQUES	23
II.1	TENEURS EN POLYPHÉNOLS TOTAUX	23
II.2	TENEURS EN FLAVONOÏDES	26
II.3	TENEURS EN TANINS CONDENSÉS	27
III.	ÉVALUATION <i>IN VITRO</i> DE L'ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE	28
III.1	CAPACITÉ DE PIÉGEAGE DU RADICAL LIBRE DPPH •	28
III.2	CAPACITÉ DE RÉDUCTION DU FER	30
IV.	CORRÉLATION ENTRE LA TENEUR EN COMPOSES PHÉNOLIQUES ET L'ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE	31
V.	ÉVALUATION <i>IN VITRO</i> DE L'ACTIVITÉ ANTIBACTERIENNE	32
	CONCLUSION ET PERSPECTIVES	36
	RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	38
	ANNEXES	.

INTRODUCTION
GÉNÉRALE

Au fil du temps, l'observation et l'expérimentation ont constitué pour l'homme les modalités d'apprendre à vivre en harmonisé avec son environnement, c'est du règne végétal qu'il a tiré les produits avec lesquels il a pu soulager ses douleurs, guérir ses peines et soigner ses plaies.

Durant les siècles passant, l'homme à travers ses expériences a pu développer ses connaissances et les transmettre d'une génération à celle qui la suit.

Malgré le lever de l'aube de l'époque de l'industrialisation, l'homme n'a jamais pu établir une rupture totale et définitive avec la nature. Celle-ci n'a jamais cessé de l'inspirer et de l'approvisionner en toute matière première nécessaire lors de sa construction de l'édifice de sa civilisation. Jusqu'à l'heure actuelle, la nature garde encore tant de secrets et tant de choses à découvrir.

Pour les sciences biologiques, l'homme n'a pas encore arrivé à répondre à tous les problématiques qui le préoccupent. Autrement la nature n'est pas un constant qui n'évolue pas, elle nous dépasse et on arrive que dans peu de situations à la rivaliser et ceci malgré le progrès scientifique. Cela justifie le fait qu'on cherche encore de solutions dans ces composants.

Le stress oxydatif est impliqué dans le mécanisme physiopathologique de nombreuses pathologies. Il est à l'origine des perturbations du fonctionnement cellulaire et des dommages tissulaires permanents. La recherche des agents protégeant contre ce processus physiopathologique fait toujours l'intérêt.

L'émergence de la résistance bactérienne aux antibiotiques est l'un des problèmes de santé effrayants et qui nous faisant rappeler les tragédies du moyen âge dans lesquelles ces micro-organismes étaient responsables. Cela a bien motivé les scientifiques ; le nombre des études qui cherchent des alternatives thérapeutiques se multiplie continuellement. L'une des pistes de cette recherche est de faire un retour au règne végétal pour apprendre à nouveau comment les plantes se défendent contre ces petits monstres, et comment elles peuvent surmonter ce phénomène effrayant l'homme.

Guidé par ce qu'on a hérité de nos ancêtres de savoir-faire, l'ethnopharmacologie constitue le point de départ. Les espèces végétales utilisées dans la médecine traditionnelle deviennent de plus en plus une thématique de recherche, en vue de confirmer leurs intérêts thérapeutiques et de déterminer les principes actifs responsables des effets biologiques.

Il est admis depuis pas peu du temps que les plantes élaborent une gamme de composés chimiques tellement divers en raison de leurs structures chimiques et des leurs activités, et dont les composés phénoliques font parties. Ces métabolites secondaires ne sont pas indispensables à la vie de la plante. Tandis qu'ils constituent l'intermédiaire avec lequel le végétal interagit avec son environnement et s'adapte avec les changements qui touchent son écosystème.

En outre, des potentiels : antimicrobien, antioxydant, anti inflammatoire, antidiabétique, anticancéreux et autres ont été attribués à ces molécules par nombreux auteurs. De plus, il a été révélé que ces substances peuvent jouer un rôle dans la prévention des maladies cardiovasculaires et cérébrales. Comme ils peuvent servir des additifs alimentaires remplaçant ceux synthétiques qui sont à l'origine des réactions allergiques.

Lors de notre pratique, on compte de contribuer à l'étude phytochimique des deux espèces prédominantes de l'ouest de l'Algérie et largement utilisées en phytothérapie des affections respiratoires. On se focalisera sur l'évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne de ces deux espèces. Entretemps, on va quantifier la teneur en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés ; ces molécules qui peuvent être responsables en partie voire totalement de l'activité biologique de ces deux espèces.

CHAPITRE 1 :
SYNTHÈSE
BIBLIOGRAPHIQUE

I. DESCRIPTION BOTANIQUE DES PLANTES

I.1 Salvia argentea

S. argentea est une plante herbacée vivace originaire de la région méditerranéenne, au nord-ouest de l'Afrique (Maroc, nord de l'Algérie, Tunisie), le sud de l'Europe (Espagne, Portugal, Italie, Sicile, Malte, Albanie, Bulgarie, Slovaquie, Croatie, Bosnie, Kosovo, Monténégro, Serbie, Macédoine et Grèce) et à l'extrême ouest de l'Asie (Turquie). (RICCOBONO *et al.*, 2016).

C'est une plante bisannuelle, se trouve principalement sur les prairies pierreuses, le basalte, les sols volcaniques et les falaises rocheuses (RICCOBONO *et al.*, 2016), à tiges et inflorescences visqueuses, constitués seulement par des bractées. Les feuilles de *S. argentea* sont de 20 - 30 centimètres de long et de 15 centimètres de large, dont les deux surfaces sont fortement couvertes de poils soyeux qui lui donnent un aspect laineux. Les feuilles sont douces au contact, émergeant d'abord en tant que blanc argenté distinctif et en se tournant alors vers gris-vert après la fleuraison. Le temps frais en automne fait virer la couleur des feuilles en argentée. En début de l'été, lorsqu'elle atteint environ 1 mètre de hauteur, elle développe des fleurs blanches-rosées. (QUEZEL *et al.*, 1963 ; CLEBSCH *et al.*, 2003 ; BARAN *et al.*, 2008).

I.1.2 NOMS VERNACULAIRES

Arabe : Ferrache en neda

Français : La sauge argentée

Anglais : Silver sage

I.1.2 TAXONOMIE

Selon (QUEZEL *et al.*, 1963), l'espèce *Salvia argentea* appartient à la classification suivante :

Règne : *Plantae*.

Division : *Magnoliophyta*.

Classe : *Magnoliopsida*.

Ordre : *Lamiales*.

Famille : *Lamiaceae*.

Genre : *Salvia*.

Espèce : *Salvia argentea*.

I.1.3 UTILISATION EN MEDECINE TRADITIONNELLE

Une enquête ethnobotanique sur cet espèce a révélé que les feuilles sont la partie la plus utilisée, souvent pour traiter des affections respiratoires (*BENABDESSLEM et al., 2017 et 2018*). Jadis, les feuilles ont été utilisées contre les plaies, probablement comme agent hémostatique (*Baran et al., 2010*).

I.2 *Pulicaria arabica subsp. inuloides*

Pulicaria est le troisième genre le plus important de la tribu *Inuleae*, il renferme 85 espèces (arbustes et herbes), ils sont distribués en Europe, nord d'Afrique, l'Arabes et l'Asie (*COUTINBO et al., 2011*).

P. arabica subsp inuloides est une plante odorante, à tiges longs d'un pied et demi, plus ou moins dressées ou étalées, très rameuses. Les feuilles sont alternes, sessiles, amplexicaule, oblongues, molles, recourbées. La panicule est hérissé de longs poils blancs, campanulé, un peu supérieur aux fleurs du disque les barbellules qui garnissent les bords sont réduites à des crénelures si peu saillantes, qui ne sont visibles qu'à l'aide d'une très-forte loupe (*CUVIER, 1826*).

I.2.1 TAXONOMIE

Selon (*CUVIER, 1826*), l'espèce *Pulicaria arabica subsp inuloide* appartient à la classification suivante:

Règne : *Plantae*.

Division : *Spermatophyte*.

Classe : *Dicotylédones*.

Ordre : *Asterales*.

Famille : *Asteraceae*.

Genre : *Pulicaria*.

Espèce : *Pulicaria arabica*

Sous-espèce : *Pulicaria arabica subsp inuloides*

I.2.2 UTILISATION EN MEDECINE TRADITIONNELLE

Traditionnellement, le genre *Pulicaria* a été utilisé comme un agent antimicrobien, anti inflammatoire, antispasmodique et diurétique. (*ASSAEED et al., 2020 ; HELAL et al., 2019 ; PHONDANI et al., 2018*).

II. STRESS OXYDATIF

L'organisme humain produit continuellement, du fait des processus physiologiques de la respiration et du métabolisme cellulaire, des espèces oxydantes ou pro-oxydantes ; ce terme rassemble trois caractéristiques : espèce (molécule, atome, radical) capable d'en oxyder une autre ou capable de générer une espèce réactive, de manière spontanée et de manière relativement aspécifique (réaction possible avec de nombreuses molécules) (*FENDRI et al., 2006 ; VAMECQ et al., 2004*).

Ces radicaux oxygénés sont susceptibles de réagir avec les différents constituants cellulaires et de provoquer de profonds dégâts tissulaires (*EVANS, 1993*). Cette agression oxydative est contrecarrée par deux systèmes de défense antioxydant qui neutralisent les radicaux libres oxygénés et s'opposent de la sorte aux processus d'altération cellulaire (*FULBERT et al., 1992*) :

- Un système enzymatique : les superoxydes dismutases, les catalases et les glutathions peroxydases ;
- Un système non enzymatique : les vitamines (A, E et C) ainsi que certaines molécules dont ce n'est pas la fonction principale (acide urique, bilirubine et mélatonine) (*BAUDIN, 2015*).

Le stress oxydant résulte d'un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène et les capacités de défense antioxydante de l'organisme (*BAUDIN, 2015*). Les ERO sont à l'origine des modifications irréversibles de lipides, de protéines et d'acides nucléiques. Le stress oxydant a été incriminé dans le vieillissement et la physiopathologie de nombreuses maladies, comme le cancer avec un défaut d'élimination de cellules cancéreuses, les maladies cardiovasculaires avec une atteinte de la paroi des vaisseaux sanguins, et les maladies inflammatoires car les ERO sont des acteurs essentiels dans la défense non liée aux anticorps. (*BAUDIN, 2015*).

Plusieurs approches thérapeutiques visant à contrer le stress oxydatif. Ces approches incluent notamment l'utilisation :

- Des chélateurs des métaux (par exemple : desferroxiamine et dexrazoxane) ;
- De molécules antioxydantes (par exemple N-acétylcystéine, vitamines C et E, les polyphénols naturels) ;
- D'inhibiteurs des enzymes productrices d'espèces oxydantes (par exemple inhibition de xanthine oxydase génératrice d'anion superoxyde et/ou de la monoamine oxydase productrice d'eau oxygénée) ;
- D'agents modulateurs de la balance défenses cellulaires antioxydantes / mécanismes pro-oxydants par le biais des voies de signalisation cellulaire et de régulation de l'expression génique (*DEPLANQUE et al., 2003 ; VAMECQ et al., 2004*).

III RESISTANCE BACTERIENNE AUX ANTIBIOTIQUES

Les antibiotiques ont constitué une découverte thérapeutique importante pour la santé humaine. Leur utilisation a permis de diminuer le taux de mortalité et de morbidité mondiale depuis longtemps (*OUEDRAOGO et al., 2017*). Cependant, l'usage abusif de ces agents antimicrobiens et/ou leur utilisation inadéquate ont eu pour conséquence de faire apparaître certaines formes de résistances des souches microbiennes contre balançant les effets des antibiotiques et conduisant à une diminution du nombre d'options thérapeutiques, voire être à l'origine d'échecs thérapeutiques (*GOOSSENS et al., 2005 ; KEMPF et al., 2009 ; OUEDRAOGO et al., 2017*).

L'émergence et la diffusion des résistances aux antibiotiques représentent une réelle menace pour la santé publique mondiale. Les données récentes de la bibliographie abondent de descriptions de bactéries multi-résistantes voire toto-résistantes aux antibiotiques dont le nombre ne cesse de croître aussi bien dans les pays industrialisés que dans les pays en développement (*ROSSOLINI et al., 2008*).

Cette résistance est due à des mutations chromosomiques ou à l'acquisition de gènes de résistance portés par des éléments génétiques mobiles (plasmides, phages, transposons, intégrons...) (*KEMPF et al., 2009*). En effet, certaines souches arrivent à rétablir une multi-résistance vis-à-vis de plusieurs antibiotiques à la fois donnant lieu à ce qu'on appelle les bactéries multi-résistantes aux antibiotiques (*CHAUDHARY, 2016*).

Parmi les bactéries pathogènes qui sont devenues de vrais problèmes pour la santé humaine, on trouve des espèces appartenant aux familles des *Entérobactéries*, des *Pseudomonadacés* et des bactéries de la famille des *Acinetobacter* qui sont quasiment résistantes à tous les antibiotiques prescrits (*CHAUDHARY, 2016*).

Les mécanismes de résistance aux antibiotiques sont nombreux, et peuvent cibler plusieurs fonctions cellulaires **Figure 1** (*GIEDRAITIENE et al., 2011*) :

- Diminution de l'adsorption des aminoglycosides ;
- Modification de l'interaction des lipopeptides avec la membrane cellulaire ;
- Modification de l'activité enzymatique des aminoglycosides ;
- Modification de liaison des β -lactamines à des cibles intracellulaires ;
- Modification de liaison à des cibles membranaires ;
- Réduction de l'affinité des glycopeptides à des cibles membranaires (*BOUYAHYA et al., 2017*);

Dans certains cas, la même souche bactérienne peut multiplier ses mécanismes de résistance (*MARSHALL et al., 2009*).

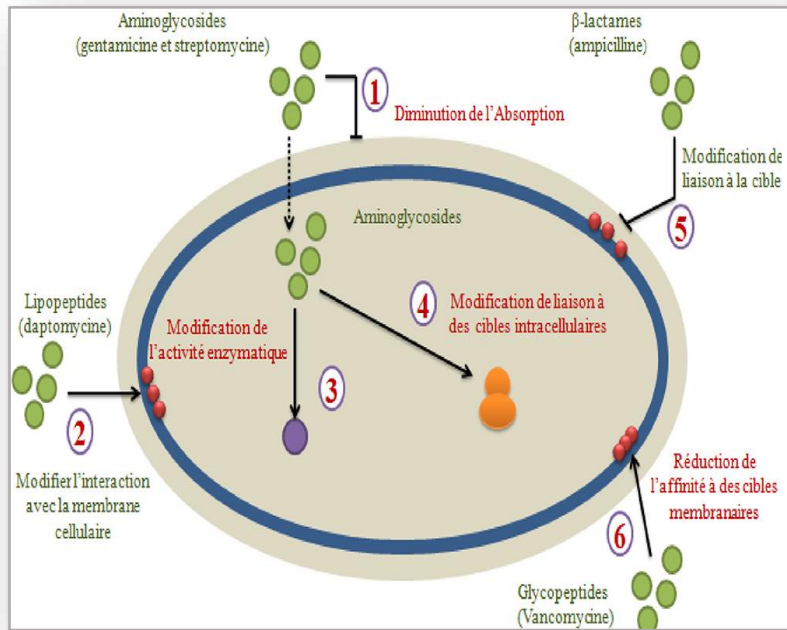


Figure 1 : Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques (BOUYAHYA *et al.*, 2017).

IV POLYPHÉNOLS ET LEURS PROPRIETES BIOLOGIQUES

Les polyphénols sont des métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ces composés sont présents dans toutes les parties des plantes mais avec une répartition quantitative qui varient entre les différents tissus. (DAI *et al.*, 2010 ; WAKSMUNDZKA-HAJNOS *et al.*, 2011).

Leurs fonctions ne sont pas strictement indispensables à la vie du végétal, cependant ces substances jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement, contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème (RICHTER, 1993).

Le « phénol » est l'élément structural fondamental qui les caractérise. Ils peuvent avoir la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones **Figure 2**, auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside (BRUNETON, 1999 ; BALASUNDRAM *et al.*, 2006).

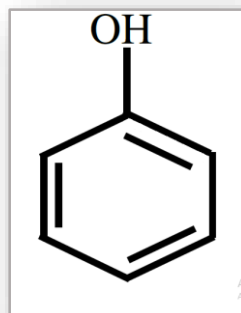


Figure 2 : Structure du noyau phénol (SARNI-MANCHADO *et al.*, 2006)

La classification des polyphénols est basée essentiellement sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux (D'ARCHIVIO *et al.*, 2007 ; KANTI BHOOSHAN PANDEY *et al.*, 2009) :

- **LES ACIDES PHENOLIQUES** : peuvent être divisés en deux catégories en fonction de leur structure : les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique **Figure 3** (KANTI BHOOSHAN PANDEY *et al.*, 2009).

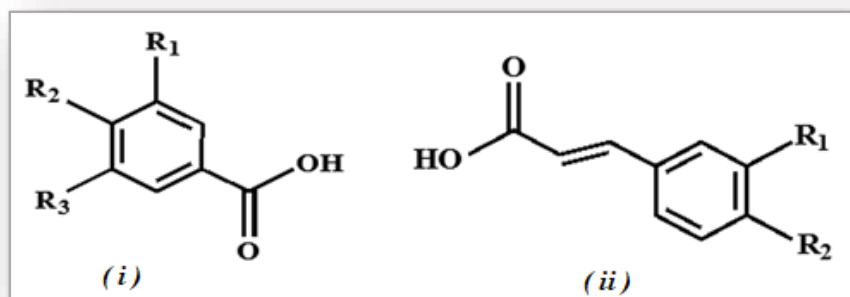


Figure 3 : Structures chimiques des acides phénoliques

(i) : acide hydroxy-benzoïque ; (ii) : acide cinnamique (KANTI BHOOSHAN PANDEY *et al.*, 2009).

- **LES FLAVONOÏDES** : un groupe de composés qui possèdent un squelette de base à quinze atomes de carbone, constitués de deux noyaux aromatiques et d'un hétérocycle central de type pyrane, formant une structure C6-C3-C6 **Figure 4** (GHEDIRA, 2005 ; KANTI BHOOSHAN PANDEY *et al.*, 2009).

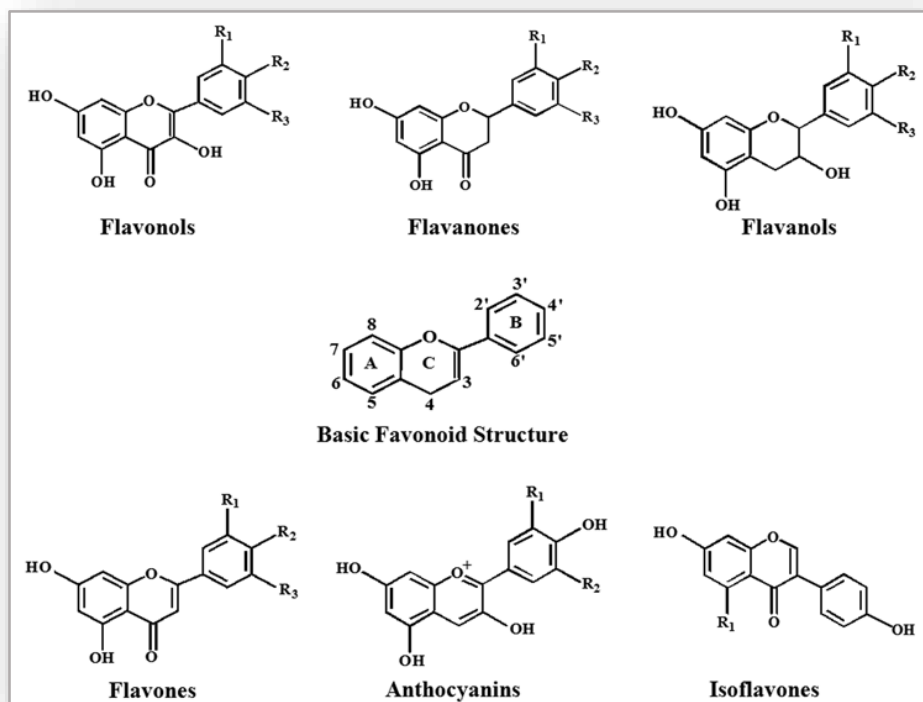


Figure 4 : Structures chimiques des sous-classes des flavonoïdes (KANTI BHOOSHAN PANDEY *et al.*, 2009).

- **LES TANINS** : sur le plan structural, sont divisés en deux groupes, tanins hydrolysables et tanins condensés **Figure 5** (LINDEN et LORIENT, 1994).

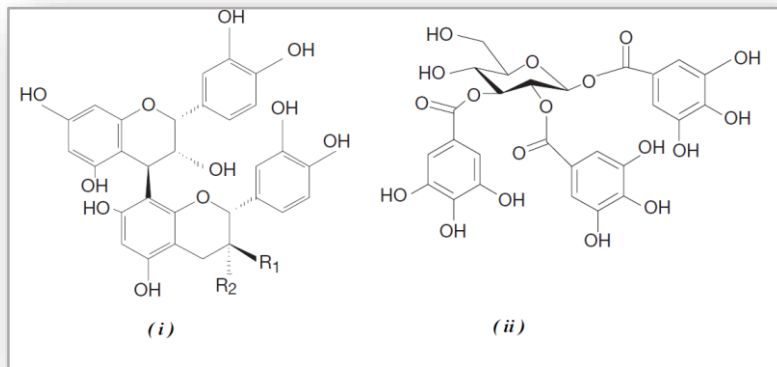


Figure 5 : Structures chimiques des sous-classes des tanins (DERBEL *et al.*, 2005)

- (i) proanthocyanidine (un tanin condensé) ;
- (ii) 1,2,3-tri-O-galloyl-β-D-glucose (un tanin hydrolysable)

L'activité biologique des composés phénoliques est largement démontrée, les autours de nombreuses études ont attribué à ces molécules des propriétés : anti-radicalaire (FLEURIET *et al.*, 2006), anti-inflammatoire (KARLSEN *et al.*, 2007), anticancéreux (SCALBERT *et al.*, 2005 ; GARCIA-LAFUENTE *et al.*, 2009), antidiabétiques (HANHINEVA *et al.*, 2010 ; ANHE *et al.*, 2013), anti-athérosclérose (CHANET *et al.*, 2012) , antimicrobienne très puissantes (RODRIGO *et al.*, 2011 ; GHEDIRA, 2005) et autres....

Notre pratique s'est focalisé sur les effets antioxydant et antibactérien de ces substances.

CHAPITRE 2 :
MATÉRIELS
ET
MÉTHODES

Le présent travail a été effectué au niveau de laboratoire de biochimie et de laboratoire de la recherche scientifique _ institut des Sciences et technologies _ Centre Universitaire SALHI Ahmed_ Naâma.

Notre but a été de contribuer à l'amélioration de la connaissance en terme de l'activité biologique notamment l'activité antioxydante et l'activité antibactérienne des substances extraites à partir de deux plantes : *Salvia argentea* et *Pulicaria arabica subsp. inuloides* ; ce qui est inscrit dans le trajet de la valorisation des ressources naturelles dans la résolution des problématiques sanitaires posées.

I. MATRIEL VEGETAL

Les deux plantés utilisées dans cette recherche ont été identifiées par Dr. GORDO Belkacem _ enseignant de la matière botanique au Centre Universitaire SALHI Ahmed_ Naâma.

Dont les deux parties aérienne et racinaires de *S. argentea* ont été présentées sèches à notre niveau, tandis que la partie aérienne de *P. arabica subsp. inuloides* (feuilles, tiges et fleurs) a été récoltée durant le mois de Mai 2021 dans la région de la wilaya de Naâma, puis elle a été séchée dans une étuve de séchage à température de 45 °C pendant 24h.

Le matériel végétal a été trié puis réduit en poudre à l'aide d'un broyeur électrique et conservé jusqu'à son utilisation.

II. EXTRACTION ET FRACTIONNEMENT DES COMPOSES PHENOLIQUES

Nous avons utilisé pour l'extraction des composés phénoliques la méthode décrite par (*EL-HACI et al., 2016*), en y apportant quelques modifications.

Notre poudre végétale a été mise en contact avec le mélange méthanol-eau (70:30) (v/v). La préparation a été portée sous reflux pendant 2h. Après refroidissement à température ambiante, l'extrait méthanolique a été filtré puis évaporé sous pression réduite à sec (180 rpm, 70°C) par un évaporateur rotatif. Le résidu sec a été repris soit par 4 mL de diméthylsulfoxyde ; et ceci servait de l'extrait méthanolique qu'on va l'utiliser pour évaluer l'activité antibactérienne, soit par 4 mL de méthanol et ce dernier servait de l'extrait brut méthanolique qu'on va l'utiliser pour l'évaluation de l'activité antioxydante et le dosage des composés phénoliques. Les deux extraits ont été conservés à +4°C jusqu'à leurs utilisations.

Pour obtenir les fractions acétate d'éthyle et n-butanolique, on a procédé au partage liquide-liquide. Dont les résidus secs obtenus après évaporation du filtrat méthanolique, ont été partagés entre 20 mL d'acétate d'éthyle et le même volume d'eau distillée dans une ampoule à décanter. Après agitation et décantation des deux phases, la phase d'acétate d'éthyle a été récupérée et séchée par un évaporateur rotatif sous pression réduite à sec (180 rpm, 60 °C).

La phase aqueuse issue a été, quant à elle, partagée avec 20 mL du n-butanol. Après agitation et décantation des deux phases, la phase organique a été récupérée et séchée au rotavapor à sec (180 rpm, 60 °C).

Les résidus secs ont été repris par 4 mL de méthanol et conservé à +4°C. Ces derniers servaient respectivement de la fraction acétate d'éthyle et n-butanolique.

Le rendement d'extraction a été calculé par la formule suivante :

$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = \left(\frac{m}{m_0} \right) \times 100$$

Dont :

m : masse d'extrait sec pesée en g.

m₀ : masse du matériel végétal en g.

III. DOSAGE DES COMPOSES PHENOLIQUES

III.1 DOSAGE DES POLYPHENOLS TOTAUX

Le dosage des polyphénols a été réalisé par la méthode décrite par (VERMERIUS *et* NICHOLSON, 2006). Le principe consiste à la réduction du réactif de *Folin-Ciocalteu* par les groupements hydroxyles des composés phénoliques. Le produit résultant a une coloration bleue dont l'intensité est proportionnellement liée à la quantité de polyphénols présente dans nos extraits.

Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif **Tableau 1**.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg EAG/g).

Tableau 1 : Protocole de dosage des polyphénols totaux

	Acide gallique [50-500 µg/mL]	Extrait / Fraction	Blanc
Na ₂ CO ₃ 2% (µL)	2000	2000	2000
Dilution (µL)	100	100	–
MeOH (µL)	–	–	100
Vortex			
Incubation pendant 5 min à température ambiante			
réactif de <i>Folin-Ciocalteu</i> (µL)	100	100	100
Vortex			
Incubation à l'obscurité pendant 30 min			
Lecture au spectrophotomètre à λ=750 nm			

III.2 DOSAGE DES FLAVONOÏDES

Le dosage des flavonoïdes a été effectué par la méthode de (ZHISHEN *et al.*, 1999), en y apportant quelques modifications. Le principe repose sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes (ALI-RACHEDI *et al.*, 2018)

Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme contrôle positif **Tableau 2**.

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent catéchine par gramme de la matière végétale sèche (mg EC/g).

Tableau 2 : Protocole de dosage des flavonoïdes

	catéchine [10-400 µg/mL]	Extrait / Fraction	Blanc
MeOH (µL)	1500	1500	2000
Dilution (µL)	500	500	–
t = 0			
NaNO ₂ 5% (µL)	150	150	150
t = 5 min			
AlCl ₃ 10% (µL)	150	150	150
t = 11 min			
NaOH 1M (µL)	500	500	500
Vortex			

Lecture au spectrophotomètre à $\lambda = 510$ nm

III.1 DOSAGE DES TANINS CONDENSEES

La teneur en tanins condensés a été déterminée par la méthode de vanilline décrite par (JULKUNEN-TITTO, 1985). Cette méthode est basée sur la réaction de la vanilline avec le groupement flavonoïde terminal des tanins condensés et la formation de complexes rouges (SCHOFIELD *et al.*, 2001).

Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme contrôle positif **Tableau 3**.

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent catéchine par gramme de la matière végétale sèche (mg EC/g).

Tableau 3 : Protocole de dosage des tanins condensés

	Catéchine [300-1000 µg/mL]	Extrait / Fraction	Blanc
Vanilline 4% (µL)	1500	1500	1500
Dilution (µL)	50	50	–
MeOH (µL)	–	–	50
Vortex			
HCl 97% (µL)	750	750	750
Vortex			
Incubation à l'obscurité pendant 20 min			
Lecture au spectrophotomètre à $\lambda = 550$ nm			

IV. EVALUATION *IN VITRO* DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE

L'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* de nos extraits a été faite en procédant à deux tests ; celui de DPPH, et du FRAP, dont l'acide ascorbique a été utilisé comme contrôle positif dans les mêmes conditions expérimentales, afin de comparer son activité avec celles de nos extraits.

IV.1 TEST DE PIEGEAGE DU RADICAL DPPH'

La méthode du DPPH consiste au suivi spectrophotométrique du changement de concentration de DPPH' en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène. (BONDET *et al.*, 1997 ; ANDRZEJ *et al.*, 2012).

Le protocole expérimental suivi, est celui décrit par (El-HACI *et al.*, 2009) **Tableau 4**, dont l'activité anti-radicalaire des extraits testés correspondant au pourcentage d'inhibition (I%) du DPPH' calculé selon l'équation suivante :

$$I\% = [(A_C - A_T) / A_C] \times 100$$

Où :

A_C : Absorbance du contrôle ;

A_T : Absorbance du test effectué ;

Afin d'évaluer le pouvoir antioxydant de nos extraits pour les comparer avec celui de l'acide ascorbique ; on a recouru à la détermination de la concentration de chaque fraction nécessaire pour réduire 50 % du radical libre, autrement appelée l'indice IC50 ; graphiquement à partir de la courbe de régression logarithmique du pourcentage d'inhibition du DPPH' en fonction de la concentration de l'extrait.

Tableau 4 : Protocole de test DPPH

	Acide ascorbique [50-300 µg/mL]	Extrait /Fraction	Standard	Blanc
DPPH (0.025g/ mL) (µL)	1950	1950	1950	–
Dilution (µL)	50	50	–	–
MeOH (µL)	–	–	50	2000
Vortex				
Incubation à l'obscurité pendant 30 min				
Lecture au spectrophotomètre à $\lambda = 515$ nm				

IV.2 POUVOIR REDUCTEUR DU FER (FERRIC REDUCING ANTIOXIDANT POWER)

La méthode de FRAP est basée sur la capacité des extraits ou des fractions testés à réduire le fer ferrique (Fe^{+3}) présent dans le complexe $K_3Fe(CN)_6$ en fer ferreux (Fe^{+2}), ce qui peut être suivi par spectrophotométrie en mesurant la densité de la couleur bleu du complexe ferreux du milieu réactionnel. Dont une augmentation de l'absorbance signifie une augmentation du pouvoir réducteur des échantillons testés (*OZTURK et al., 2007*).

Le protocole expérimental suivi est celui décrit par (*KARAGOZLER et al., 2008*) **Tableau 5**.

Afin d'évaluer le pouvoir antioxydant de nos extraits pour les comparer avec celui de l'acide ascorbique ; on a recouru à la détermination de la concentration de chaque fraction efficace pour réduire 50 % du Fe^{+3} , autrement appelée l'indice EC50, graphiquement à partir de la courbe de régression linéaire de l'absorbance du milieu réactionnel en fonction de la concentration de l'extrait.

Tableau 5 : Protocole de test FRAP

	Acide ascorbique [5-60 µg/mL]	Extrait / Fraction	Blanc
Dilution (µL)	100	100	–
MeOH (µL)	–	–	100
Solution tampon pH = 6,6 (µL)	250	250	250
K ₃ Fe(CN) ₆ à 1% (µL)	250	250	250
Incubation pendant 20 minutes à 50°C			
Refroidissement à température ambiante			
TCA à 10 % (µL)	250	250	250
centrifugation à 3000 tours/min pendant 5 min			
Surnageant (µL)	500	500	500
Eau distillée (µL)	500	500	500
Fe Cl ₃ à 0,1% (µL)	100	100	100
Vortex			
Lecture au spectrophotomètre à λ= 700 nm			

V. EVALUATION *IN VITRO* DE L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE

L'usage intensif et inadapté des antibiotiques dans la médecine humaine et vétérinaire, conjugué à l'utilisation excessive de ces molécules au profit de l'industrie agroalimentaire, ont conduit à l'émergence de bactéries multirésistantes.

Selon l'OMS (2020), la résistance aux antibiotiques constitue aujourd'hui l'une des plus graves menaces pesant sur la santé mondiale, la sécurité alimentaire et le développement. Cela rend la mise en point des substances antibactériennes innovantes échappant à ce phénomène, un enjeu au cœur des priorités de la recherche.

Une des pistes de cette recherche consiste à explorer les plantes utilisées en médecine traditionnelle dans le but de confirmer son utilité thérapeutique et de déterminer les molécules actives pour une éventuelle exploitation par les industries pharmaceutiques.

La troisième partie de notre travail a eu pour objectif d'évaluer l'activité antibactérienne des composés phénoliques extraits des deux espèces faisant notre sujet de étude.

V.1 SOUCHES BACTERIENNES

Le matériel microbiologique a été constitué de six souches bactériennes **Tableau 6**, qui sont pathogènes pour l'homme, souvent multirésistantes aux antibiotiques et responsables des infections plus ou moins graves.

Tableau 6 : Souches bactériennes

Souche bactérienne	N° ATCC	Gram
<i>Bacillus subtilis</i>	21332	+
<i>Bacillus cereus</i>	10876	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	25923	+
<i>Enterococcus faecalis</i>	29212	+
<i>Echerichia coli</i>	25912	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27853	-

V.2 TEST DE SENSIBILITE

On a procédé à la technique de diffusion en milieu solide _méthode des disques_ décrite par (DJAHRA *et al.*, 2013). C'est une méthode similaire à celle de l'antibiogramme qui consiste à déterminer la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis une ou plusieurs molécules.

Chaque disque stérile de papier filtre de 6 mm de diamètre a été imbibé de 15 µL de l'un nos extraits de *S. argentea* et *Pulicaria arabica subsp. inuloides*.

Trois disques ont été placés sur une gélose Mueller-Hinton préalablement inoculé avec nos souches bactériennes, dont la concentration de l'inoculum utilisé était de l'ordre de 10⁸ UFC/mL.

Une deuxième technique de diffusion en milieu solide a été utilisée. C'est celle des puits ; décrite par (TOTY *et al.*, 2013). Après que les milieux MH ont étéensemencés par inondation de nos souches. A l'aide d'une pipette pasteur, des puits de 6 mm de diamètre ont été effectués dans la gélose MH. Chaque puits a reçu 15 µl de l'un de nos extraits.

De plus, des disques témoins imprégnés de DMSO stérile ont été inclus dans nos essais.

Les boîtes ont été incubées à une température de 37 °C pendant 18 à 24 heures.

Après l'incubation, l'activité antibactérienne se manifeste par l'apparition des zones ou des halos clairs autour des disques et des puits chargés des molécules actives. Plus grande est cette zone, plus la souche est sensible (DJAHRA *et al.*, 2013).

VI. ANALYSE STATISTIQUE

Tous nos résultats ont été obtenus de trois répétitions indépendantes, la valeur moyenne a été calculée et exprimée accompagnée de l'erreur standard.

La représentation graphique des données a été réalisée à l'aide des logiciels Microsoft Office Excel 2013 et Origin 2019b.

La corrélation entre l'activité biologique et la teneur en composés phénoliques a été déterminée à partir de l'équation d'une régression linéaire, dont elle a été considérée significative à $p \leq 0.05$.

CHAPITRE 3 :
RÉSULTATS
ET
DISCUSSIONS

I. PREPARATION DES EXTRAITS ET CALCULE DU RENDEMENT

Pour 2 g du matériel végétal sec, les extraits bruts méthanoliques ont été marqués par les meilleurs rendements. Cependant, les rendements les plus faibles ont été enregistrés avec le solvant acétate d'éthyle.

L'efficacité du méthanol en tant que solvant se rapporte à sa polarité intermédiaire, ce qui lui permet d'extraire des composés organiques de bas poids moléculaire possédants des groupes fonctionnels (NGUYEN *et al.*, 2015)

La **Figure 6** et la **Figure 7** résument les résultats des rendements des extraits des deux plantes étudiées, obtenus par les trois solvants ; exprimés en pourcentage (%).

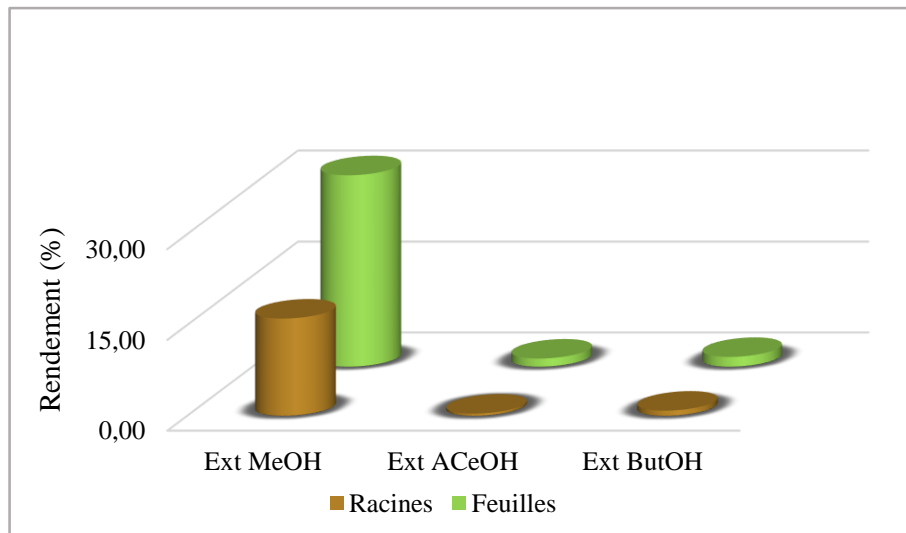


Figure 6 : Rendement d'extraction de *S. argentea*

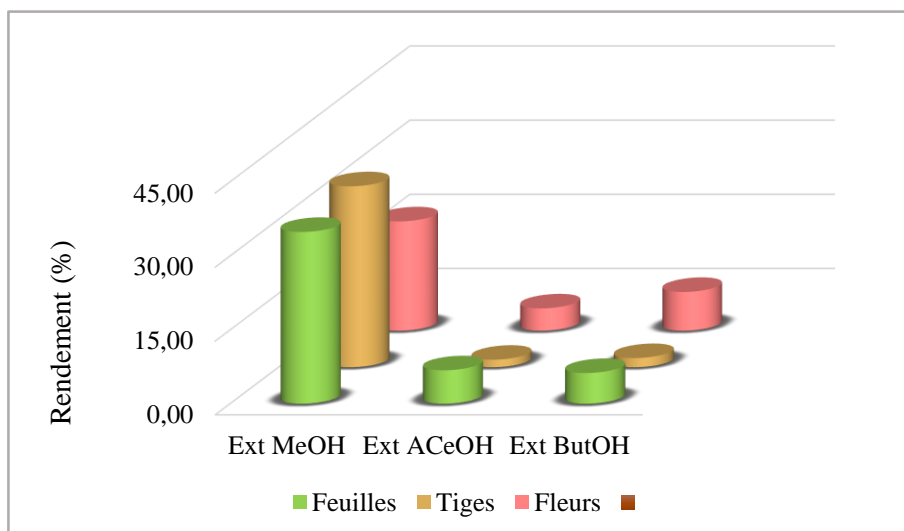


Figure 7 : Rendement d'extraction de *P. arabica subsp. inuloides*

II. DOSAGE DES COMPOSES PHENOLIQUES

Ces dernières années, on apporte un intérêt croissant au remplacement des antioxydants synthétiques par des antioxydants naturels suite aux avantages dont ces derniers peuvent les présenter au profit des industries agro-alimentaire, cosmétique et pharmaceutique (*BALASUNDRAM et al*, 2006 ; *MOURE et al*, 2001).

En jetant un œil sur la littérature, il est reconnu que les composés phénoliques principalement les flavonoïdes, les acides phénoliques et les tannins ; peuvent servir à une source potentielle d'antioxydants naturels (*DEEPSHIKHA*, 2015). D'où vient l'intérêt de quantifier ces composés dans nos extraits en vue de confirmer la présence d'une éventuelle activité biologique.

I.1 TENEURS EN POLYPHENOLS TOTAUX

Les teneurs en polyphénols totaux ont été calculés en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique **Figure 8**. Les résultats obtenus sont rapportés en milligramme équivalent acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/ g ES), et regroupés dans le **Tableau 7**.

Tableau 7 : Teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés des extraits de *S. argentea* et *P. arabica subsp. inuloides*

			Polyphénols totaux (mg EAG/ g ES)	Flavonoïdes (mg EC/ g ES)	Tanins condensés (mg EC/ g ES)
<i>S. argentea</i>	Racines	MeOH	69,92 ± 6,32	24,78 ± 1,34	31,42 ± 6,7
		ACeOH	1759,55 ± 141,69	129,15 ± 17,8	873,63 ± 0,00
		ButOH	860 ± 65,5	29,35 ± 4,98	55,58 ± 6,59
	Feuilles	MeOH	26,75 ± 3,50	8,28 ± 1,51	5,63 ± 1,25
		ACeOH	791,25 ± 6,25	191,4 ± 4,86	192,68 ± 14,02
		ButOH	583,91 ± 13,79	90,67 ± 12,54	21,68 ± 3,70
<i>P. arabica subsp. Inuloides</i>	Feuilles	MeOH	346,2 ± 25,54	118,53 ± 1,24	87,87 ± 9,27
		ACeOH	1999,93 ± 50,86	442,96 ± 18,99	292,1 ± 18,26
		ButOH	1121,84 ± 159,49	322,84 ± 18,22	331 ± 43,41
	Tiges	MeOH	21,84 ± 3,70	2,66 ± 0,18	15,25 ± 2,99
		ACeOH	1965,64 ± 36,49	168,98 ± 27,35	817,92 ± 196,6
		ButOH	2845,94 ± 208,74	216,77 ± 13,38	935,77 ± 146,10
	Fleurs	MeOH	63,79 ± 2,00	12,61 ± 2,39	26,19 ± 3,74
		ACeOH	1056,59 ± 67,51	336,62 ± 72,14	439,6 ± 24,23
		ButOH	611,96 ± 24,77	336,07 ± 16,44	273,99 ± 13,94

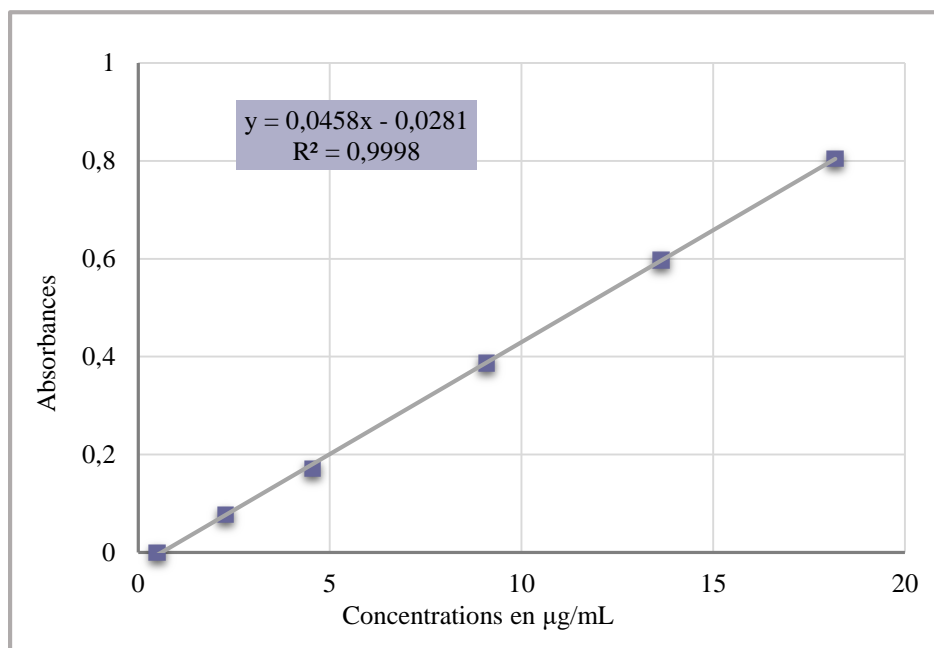


Figure 8 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

On constate une variation dans nos résultats, dont les teneurs en polyphénols totaux de nos extraits dépendent à la fois de l'espèce, l'organe de la plante et de l'affinité des polyphénols vis-à-vis le solvant. Dont il est admis que différents composés phénoliques répondent différemment à la méthode de *Folin-Ciocalteu* (LIU, 2005).

Chez l'espèce *S. argentea*, il s'avère que les fractions acétate d'éthyle et n-butanol des racines sont les plus riches en PPT, avec des teneurs de $1759,55 \pm 141,69$ mg EAG/ g ES et de $860 \pm 65,5$ mg EAG/ g ES respectivement. Tandis que les teneurs les plus faibles ont été obtenues avec les extraits méthanoliques des racines et des feuilles qui étaient de l'ordre de $69,92 \pm 6,32$ mg EAG/ g ES et $26,75 \pm 3,50$ mg EAG/ g ES respectivement.

Il paraît que notre extrait méthanolique des feuilles renferme une teneur en PPT moins que celle obtenue par macération par (TEHAMI *et al.*, 2016), qui ont travaillé sur la même espèce récoltée de la région Tenira_ Sidi Belabbes _ Algérie ($87,13 \pm 0,32$ mg EAG/ g ES). Bien que notre extrait méthanolique des racines est plus concentré en polyphénols que celui de la même étude ($55,64 \pm 0,35$ mg EAG/ g ES)

De même (BEN FARHAT *et al.*, 2013.a et 2013.b) ont déterminé le profil phénolique des extraits méthanoliques de la partie aérienne de *S. argentea* poussant en deux régions en Tunisie ; leurs valeurs obtenues par distillation ($48,90$ mg EAG/ g ES et $41,47$ mg EAG/ g ES) et par Soxhlet ($67,67$ et $72,02$ mg EAG/ g ES) sont plus élevées de nos valeurs.

Ces variations en teneurs des polyphénols peuvent être dues à divers facteurs ; géographique, climatique, phase végétative, équipement génétique et autres (LAMIEN-MEDA *et al.*, 2010). Dont ces facteurs peuvent influencer l'accumulation de composés phénoliques en synthétisant des quantités différentes et/ou types différents de composés phénoliques (SHAHIDI *et al.*, 1995).

D'autre part les techniques d'extractions et les solvants utilisés influencent le rendement d'extraction et par conséquent la concentration en molécules bioactives (LEE *et al.*, 2003). Ce qui est nettement claire dans nos résultats et même lorsqu'on rapporte les résultats obtenus avec d'autres solvants. Parmi, ceux révélés par (ORHAN *et al.*, 2013), avec les extraits éthanoliques des racines et des feuilles de *S. argentea* originaire de la Turquie, qui étaient respectivement 118.14 ± 1.74 mg EAG/ g ES et 84.14 ± 9.27 mg EAG/ g ES.

Chez *P. arabica subsp. inuloides*, les fractions n-butanoliques et acétate d'éthyle semblent être riches en matière des PPT. Dans le temps que les teneurs les plus faibles enregistrées étaient des extraits méthanoliques des fleurs ($63,79 \pm 2.00$ mg EAG/g) et des tiges ($21,84 \pm 3,70$ mg EAG/g).

Selon (GHEDADBA *et al.*, 2015), le contenu phénolique dans les extraits dépend de la polarité du solvant utilisé dans l'extraction. D'autres facteurs peuvent aussi intervenir : le pH, la température, le nombre des étapes d'extraction, le rapport solvant/solide et la taille des particules dans le milieu d'extraction (ABAZA *et al.*, 2011 ; LAFKA *et al.*, 2007).

De ce qui précède, nous pouvons juger notre choix de procédé d'extraction et des solvants judicieux en tenant compte les résultats des études antérieurs menées sur l'espèce *P. arabica subsp. inuloides*.

(AL-HAJJ *et al.*, 2014) qui ont travaillé sur les extraits méthanolique, éthanolique et éther diéthylique des feuilles ; ont rapporté des concentrations inférieures de celles qu'on a les enregistré avec la même partie de la plante (91.2 ± 09.5 mg EAG/ g ES, 89.9 ± 0.61 mg EAG/ g ES et : 64.9 ± 07.1 mg EAG/ g ES respectivement).

En outre, lors des travaux de (FADEL *et al.*, 2020) qui ont procédé à l'extraction à travers la macération, la fraction acétate d'éthyle de la partie aérienne semblait être la plus riche en composés phénoliques (316.56 ± 188.51 mg EAG/ g ES), pendant que les extraits butanolique et méthanoliques ont présenté des teneurs non négligeables avec des valeurs égales à 248.19 ± 41.40 mg EAG/ g ES et 129.79 ± 77.75 mg EAG/ g ES respectivement. Néanmoins nos fractions de la partie aérienne révèlent être plus concentrées en matière phénolique.

I.2 TENEURS EN FLAVONOÏDES

Les teneurs en flavonoïdes ont été calculés en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de catéchine **Figure 9**. Les résultats obtenus sont rapportés en milligramme équivalent catéchine par gramme d'extrait sec (mg EC / g ES), et regroupés dans le **Tableau 7**.

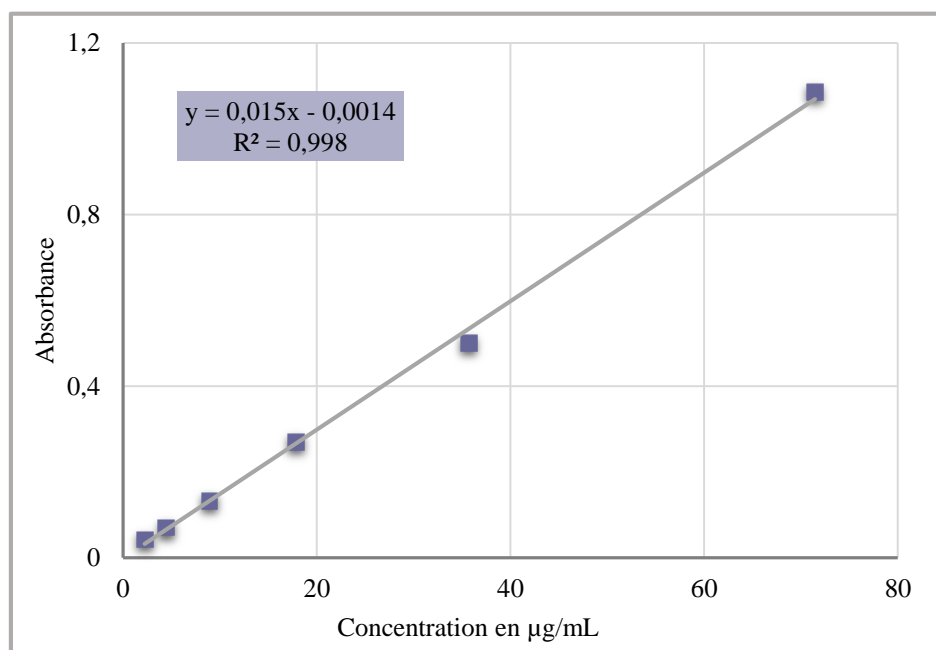


Figure 9 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes

Chez *S. argentea*, seulement les fractions acétate d'éthyle qui présentent des concentrations non négligeables en flavonoïdes avec des teneurs de l'ordre de $191,4 \pm 4,86$ mg EC/ g ES pour les feuilles et $129,15 \pm 17,8$ mg EC/ g ES pour les racines. Ces valeurs sont plus importantes que celles enregistrées par (ORHAN *et al.*, 2013), ($123,55 \pm 0,52$ mg EQ / g ES avec la partie aérienne et $35,82 \pm 4,35$ mg EQ / g ES avec la partie racinaire). Tandis que les extraits méthanoliques de (TEHAMI *et al.*, 2016) paraissent plus riches en flavonoïdes que les nôtres, dont ils ont rapporté des concentrations de $59,97 \pm 0,21$ mg EC / g ES dans les feuilles, et de $31,22 \pm 0,49$ mg EC / g ES dans les racines.

Chez l'espèce *P. arabica subsp. inuloides*, la teneur la plus élevée en flavonoïdes a été enregistrée avec la fraction acétate d'éthyle des feuilles ($442,96 \pm 18,99$ mg EC/ g ES). Alors que les concentrations les plus faibles ont été celles des extraits méthanoliques des tiges ($2,66 \pm 0,18$ mg EC/ g ES) et des fleurs ($12,61 \pm 2,39$ mg EC/ g ES). On constate que les tiges ne servent pas à être la partie de la plante où se concentrent ces molécules préférentiellement.

Lors de leurs travaux, (EL-HAJJ *et al.*, 2014), ont obtenu une teneur de 75 ± 85.7 mg EQ/ g ES de l'extrait méthanolique des feuilles. Alors que, (FADEL *et al.*, 2020) ont rapporté des valeurs de l'ordre de 159.93 ± 18.50 mg EQ/ g ES, 396.85 ± 0.33 mg EQ/ g ES et 125.32 ± 22.89 mg EQ/ g ES avec les extraits méthanolique, acétate d'éthyle et butanolique de la partie aérienne de la même espèce. Ces résultats sont bel et bien inférieurs à les nôtres.

I.3 TENEURS EN TANINS CONDENSES

Les teneurs en tanins condensés ont été calculés en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de catéchine **Figure 10**. Les résultats obtenus sont rapportés en milligramme équivalent catéchine par gramme d'extrait sec (mg EC / g ES), et regroupés dans le **Tableau 7**.

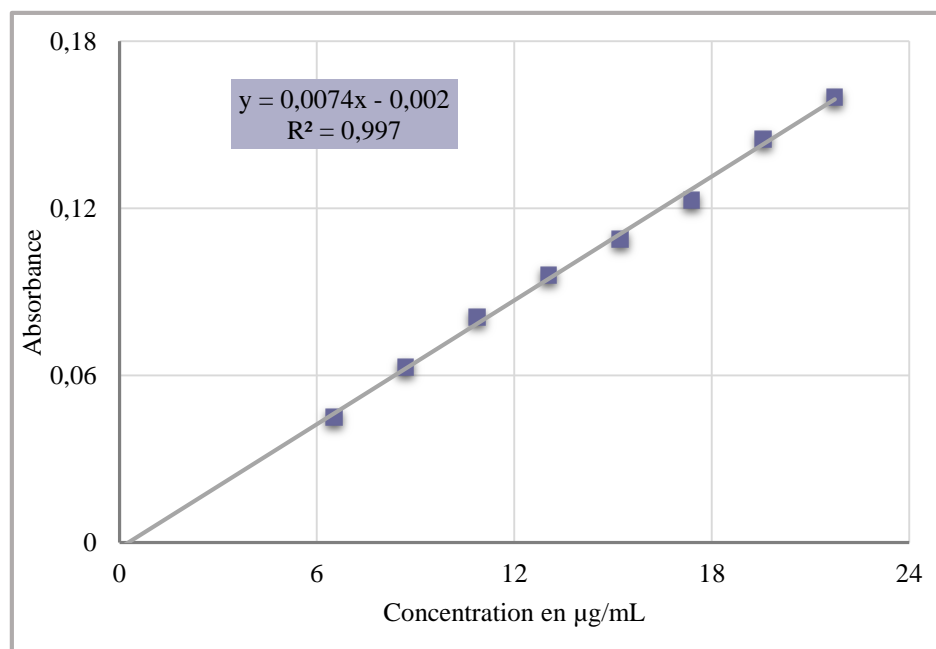


Figure 10 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés

Notre fraction acétate d'éthyle des racines de *S. argentea* est la plus concentrée en TC, avec une teneur de $873,63 \pm 0.00$ mg EC/ g ES. Tandis que la teneur la plus faible est celle obtenue avec l'extrait méthanolique des feuilles ($5,63 \pm 1,25$ mg EC/ g ES).

(TEMAHI *et al.*, 2016) ont rapporté des teneurs en TC des extraits méthanoliques des racines et des feuilles inférieures à celles qu'on a les trouvé (5.58 ± 0.13 mg EC/ g ES et 3.70 ± 0.09 mg EC/ g ES respectivement).

Chez *P. arabica subsp. inuloides*, les fractions n-butanolique et acétate d'éthyle des tiges renferment la quantité la plus importante des TC ($935,77 \pm 146,10$ mg EC/ g ES et $817,92 \pm 196,6$ mg EC/ g ES respectivement). Alors que, les extraits méthanoliques sont les moins concentrés.

Notre espèce paraît plus riche en TC que celle indigène du Yémen. (EL-HAJJ *et al.*, 2014), ont rapporté une teneur de l'extrait méthanolique des feuilles de l'ordre de 0.66 ± 0.07 mg EAG/ g ES.

De ces résultats, on constate que les TC se concentrent différemment dans les tissus végétaux.

III. EVALUATION *IN VITRO* DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE

L'activité antioxydante *in vitro* de nos extraits a été évaluée par deux méthodes à savoir le test de DPPH et la technique de réduction du fer.

III.1 CAPACITE DE PIEGEAGE DU RADICAL LIBRE DPPH*

Le radical DPPH est généralement l'un des substrats les plus utilisés pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale et la simplicité de l'analyse (BOZIN *et al.*, 2008).

La détermination du pourcentage d'inhibition du DPPH* a été faite selon l'équation mentionnée au-dessus. Les courbes représentantes de l'évolution de % I en fonction de variations de concentration ont été tracées, dont à des fins comparatives on a vu de l'utilité de rassembler les courbes de différentes fractions appartiennent à la même partie du plante dans le même repère accompagnées avec celle de l'acide ascorbique *Annexe 1* et *Annexe 3*.

Les valeurs de l'IC50 déterminées par extrapolation à partir de ces courbes sont rapportées en microgramme par millilitre ($\mu\text{g/mL}$) et regroupées dans le *Tableau 8*.

Tableau 8 : Valeurs de l'IC50 des extraits méthanoliques et ses différentes fractions des deux espèces: *S. argentea* et *P. arabica subsp. inuloides* ; exprimées en $\mu\text{g/mL}$, accompagnée de l'IC50 de l'acide ascorbique

	<i>S. argentea</i>		<i>P. arabica subsp. inuloides</i>		
	Racines	Feuilles	Feuilles	Tiges	Fleurs
Ext MeOH	$58,09 \pm 6,474$ $R^2 = 0,995$	$108,78 \pm 0,001$ $R^2 = 0,990$	$35,92 \pm 2,61$ $R^2 = 0,998$	$295,73 \pm 11,89$ $R^2 = 0,999$	$96,97 \pm 4,32$ $R^2 = 0,999$
Ext ACeOH	$2,39 \pm 0,00$ $R^2 = 0,999$	$8,76 \pm 0,00$ $R^2 = 0,997$	$27,97 \pm 1,54$ $R^2 = 0,999$	$55,12 \pm 1,15$ $R^2 = 0,993$	$31,97 \pm 6,86$ $R^2 = 0,995$
Ext ButOH	$6,92 \pm 0,00$ $R^2 = 0,979$	$22,92 \pm 0,00$ $R^2 = 0,985$	$6,96 \pm 0,62$ $R^2 = 0,997$	$26,87 \pm 0,39$ $R^2 = 0,997$	$30,22 \pm 3,01$ $R^2 = 0,999$
IC 50 de l'acide ascorbique = $2,59 \pm 0,12$ $\mu\text{g/mL}$ avec $R^2 = 0,999$					

Chez *S. argentea* la fraction acétate d'éthyle des racines semble avoir l'activité antioxydante la plus importante, avec une IC50 = $2,39 \pm 0,00$ $\mu\text{g/mL}$ comparable avec celle de l'acide ascorbique ($2,59 \pm 0,12$ $\mu\text{g/mL}$). Les fractions acétate d'éthyle des feuilles et butanolique des racines présentent à leur tour une capacité anti-radicalaire importante mais qui est moins puissante que celle de l'acide ascorbique

avec des valeurs IC₅₀ égales à $8,76 \pm 0,00 \mu\text{g/mL}$ et $6,92 \pm 0,00 \mu\text{g/mL}$ respectivement. Cependant la fraction butanolique des feuilles montre une activité non négligeable avec $\text{IC}_{50} = 22,92 \pm 0,00 \mu\text{g/mL}$.

Il y en a eu que peu d'études antérieures menées sur *S. argentea*, parmi seulement une dont les auteurs ont choisi de travailler sur la fraction acétate d'éthyle. (ORHAN *et al.*, 2013) se sont limités au calcul des % I avec trois concentrations d'extrait croissantes, dont ils ont rapporté des % I égaux à $29,71 \pm 1,49$ % et $17,19 \pm 0,21$ % avec les extraits acétate d'éthyle de la partie aérienne et la partie racinaire respectivement à une concentration de $1000 \mu\text{g/mL}$. Tandis qu'ils ont obtenu des % I égaux à $51,5 \pm 0,37$ % et $57,9 \pm 0,95$ % avec les extraits éthanoliques des feuilles et des racines respectivement à la même concentration. L'activité rapportée lors de cette étude est largement inférieure à celle révélée lors de nos travaux.

D'autre part, (BEN FARHAT *et al.*, 2013) lors d'une étude comparative de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de la partie aérienne de plusieurs espèces de genre *Salvia*, ont conclu que l'espèce *S. argentea* possède la plus faible activité anti radicalaire avec une IC₅₀ varie entre $33,85 \pm 0,05 \mu\text{g/mL}$ et $77,07 \pm 0,09 \mu\text{g/mL}$; dont ils ont fait deux récoltes à deux régions différentes en Tunisie. Ces résultats montrent une capacité de réduire le DPPH' supérieure à celle qu'on a l'obtenu avec le même solvant ($108,78 \pm 0,001 \mu\text{g/mL}$).

Les résultats dont (TEMAHI *et al.*, 2016) ont obtenu, montrent une capacité de piégeage du radical libre DPPH' par extrait méthanolique des feuilles supérieure à celle de notre espèce ($45,42 \pm 0,46 \mu\text{g/mL}$). En revanche, il parait que notre extrait des racines avec le même solvant est plus actif ($216,89 \pm 0,20 \mu\text{g/mL}$).

Bien que nos extraits méthanoliques révèlent une activité antioxydante minime par rapport ce que les travaux antérieurs ont rapporté avec le même solvant, nos fractions acétate d'éthyle et butanolique ont montré l'activité la plus puissant chez l'espèce *S. aegentea* tout en référant à la littérature. De même une capacité anti-radicalaire comparable voir supérieure à celle enregistrée chez *S. officinalis*, dont les travaux de (BEN FARHAT *et al.*, 2013) qu'on a déjà cité, ont tenu les extraits méthanoliques de sa partie aérienne pour être les plus actifs dans le genre *Salvia* avec des valeurs IC₅₀ égales à $3,37 \pm 0,04 \mu\text{g/mL}$, $7,32 \pm 0,03 \mu\text{g/mL}$ et $8,69 \pm 0,02 \mu\text{g/mL}$ (trois récoltes de trois régions).

Chez *P. arabica subsp. inuloides*, la fraction n-butanolique des feuilles montre l'activité antioxydante la plus importante, dont on a enregistré une IC₅₀ égale à $6,96 \pm 0,62 \mu\text{g/mL}$. Pendant que les extraits n-butanoliques des tiges et des fleurs, acétate d'éthyle des feuilles et des fleurs et méthanolique des feuilles présentent une capacité anti radicalaire non négligeable, marquée par des IC₅₀ de l'ordre de : $26,87 \pm 0,39 \mu\text{g/mL}$, $30,22 \pm 3,01 \mu\text{g/mL}$, $27,97 \pm 1,54 \mu\text{g/mL}$, $31,97 \pm 6,86 \mu\text{g/mL}$ et $35,92 \pm 2,61 \mu\text{g/mL}$ respectivement.

En jetant un œil sur la littérature, la fraction acétate d'éthyle de la partie aérienne de l'espèce *P. arabica subsp. inuloides* poussant à Béchar_ Algérie ; et qui était la sujette des travaux de (FADEL *et al.*, 2020), relève la valeur IC50 la moins élevée correspondant au potentiel anti radicalaire le plus important (IC50 = 14.41 ± 4.16 µg/mL). Bien que cette valeur soit inférieure à ce qu'on a enregistré avec le même solvant, elle est plus importante que la valeur IC50 de la fraction butanolique des feuilles qui s'avère être la plus active dans notre collection d'extraits.

Outre cela, notre extrait méthanolique des feuilles semble être plus actif en terme de capacité de piégeage du DPPH' que celui de la même espèce qui pousse en Yemen (IC50 = 85.47 ± 3.15 µg/mL) (EL-HAJJ *et al.*, 2016)

L'activité anioxydante dépend de plusieurs facteurs, par exemple : la concentration des extraits, la méthode d'évaluation, la sensibilité des antioxydants à la température de l'essai et la nature hydrosoluble ou liposoluble de l'antioxydant (KADRI *et al.*, 2011 ; GHEDADBA *et al.*, 2014 ; LAFKA *et al.*, 2013). Ce qui peut donner une explication de cette variation dans nos résultats.

III.2 CAPACITE DE REDUCTION DU FER

Les courbes représentantes de l'évolution de l'absorbance en fonction de variations de concentration ont été tracées, dont à des fins comparatives on a vu de l'utilité de rassembler les courbes de différentes fractions appartiennent à la même partie du plante dans le même repère accompagnées avec celle de l'acide ascorbique *Annexe 2* et *Annexe 4*.

Les valeurs de l'EC50 déterminées par extrapolation à partir de ces courbes sont rapportées en microgramme par millilitre (µg/mL) et regroupées dans le *Tableau 9*.

Tableau 9 : Valeurs de l'EC50 des extraits méthanoliques et de ses différentes fractions des deux espèces : *S. argentea* et *P. arabica subsp. inuloides* ; exprimées en µg/mL, accompagnée de l'EC50 de l'acide ascorbique

	<i>S. argentea</i>		<i>P. arabica subsp. inuloides</i>		
	Racines	Feuilles	Feuilles	Tiges	Fleurs
Ext MeOH	81.63 ± 0.00 R ² = 1	1071.33 ± 92.51 R ² = 0.996	$9,35 \pm 1,07$ R ² = 0,988	$189,41 \pm 15,49$ R ² = 0,994	$49,60 \pm 0,96$ R ² = 0,996
Ext ACeOH	7.39 ± 0.84 R ² = 0.996	14.78 ± 0.00 R ² = 0.999	$23,39 \pm 2,55$ R ² = 0,992	$43,17 \pm 2,17$ R ² = 0,998	$28,68 \pm 2,32$ R ² = 0,991
Ext ButOH	10.13 ± 3.49 R ² = 0.986	30.13 ± 6.16 R ² = 0.995	$15,29 \pm 4,69$ R ² = 0,999	$19,56 \pm 0,94$ R ² = 0,999	$27,15 \pm 1,71$ R ² = 0,999
EC50 de l'acide ascorbique = $1.76 \pm 0,1$ µg/ mL avec R ² = 0.998					

Chez *S. argentea*, la fraction acétate d'éthyle des racines présente la valeur EC50 la plus faible ($7.39 \pm 0.84 \mu\text{g/mL}$) ce qui correspond au pouvoir réducteur du fer le plus puissant dans notre collection d'extraits. Alors que, les fractions butanolique des racines et acétate d'éthyle des feuilles montrent aussi un pouvoir de réduction du fer important ; traduit par des EC50 de l'ordre de $10.13 \pm 3.49 \mu\text{g/mL}$ et de $14.78 \pm 0.00 \mu\text{g/mL}$ respectivement, mais ces valeurs restent supérieures à l'EC50 enregistrée avec l'acide ascorbique lors de notre pratique ($1.76 \pm 0.1 \mu\text{g/mL}$). L'extrait méthanolique des feuilles semble être le moins actif avec l'EC50 la plus élevée ($1071.33 \pm 92.51 \mu\text{g/mL}$).

De facto, les travaux antérieurs n'ont pas attaché une importance à la détermination de l'EC50 ce qui nous a empêché de comparer nos résultats avec ce que la littérature a rapporté.

Chez *P. arabica subsp. inuloides*, hormis l'extrait méthanolique des tiges (EC50 = $189,41 \pm 15,49 \mu\text{g/mL}$), les différentes fractions paraissent avoir une capacité de réduction du fer modérée voir bonne. L'extrait méthanolique des feuilles a été marqué par le potentiel réducteur le plus notable avec une EC50 de l'ordre $9,35 \pm 1,07 \mu\text{g/mL}$. Entretemps, toutes nos EC50 obtenues lors de nos travaux sont plus élevées que celle de l'acide ascorbique (EC50 = $1.76 \pm 0.1 \mu\text{g/mL}$)

D'autre part, l'activité réductrice chez ce genre a été rapportée par nombreuses études, Parmi celle de (ZEFZOUFI *et al.*, 2020) et de (LOUGRAIMZI *et al.*, 2020) , qui ont travaillé sur les huiles essentielles extraites à partir des racines de l'espèce *P. odora* et de la partie aérienne de l'espèce *P. incisa*, indigènes du Maroc. Les valeurs EC50 obtenues étaient de l'ordre de $16.39 \pm 0.15 \mu\text{g/mL}$ et $87.21 \pm 3.1 \mu\text{g/mL}$ respectivement.

Selon (Yang *et al.*, 2008), la capacité réductrice d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle. Chez *S. argentea*, nos résultats obtenus avec le test FRAP s'accordent avec ceux obtenus avec le test DPPH, ce qui démontre une bonne activité antioxydante.

III.3 CORRELATION ENTRE LA TENEUR EN COMPOSES PHENOLIQUES ET L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE

Par l'analyse des coefficients de corrélation, nous pouvons suggérer la présence d'une forte corrélation linéaire positive entre la teneur des extraits appartient à l'espèce *S. argentea* en polyphénols totaux et son potentiel antioxydant **Tableau 10**, ce qui est en accord avec la littérature.

(KAMATOU *et al.*, 2009), qui ont mené une étude sur nombreuse espèces appartient au genre *Salvia* indigènes de l'Afrique de sud, constatent que les composés phénoliques sont partiellement voire totalement responsable de l'activité antioxydante observée chez ces espèces.

Nombreuses études ont pu démontrer la présence d’une corrélation entre la composition phénoliques et l’activité antioxydante des extraits végétaux (*MOKHTAR et al., 2021*). Ce potentiel est dû à la capacité des polyphénols de donner des atomes d’hydrogène aux radicaux libres (*ARYAL et al., 2019*). Cela est dictée par sa structure chimique, en particulier le cycle benzénique et le nombre et la position des groupements OH (*ALAM ZEB, 2020 ; RICE-EVANS et al. 1995*), dont les hydrogènes de ces groupements sont susceptibles d’être cédés aux radicaux libres (*RICE-EVANS et al. 1995 ; CESAR et al., 2007*), tandis que le cycle benzénique est responsable de la stabilité des molécules antioxydantes lors de cette réaction (*ALAM ZEB, 2020*)

Tableau 10 : Coefficients de corrélation Pearson entre la teneur en composés phénoliques et l’inverse des valeurs d’IC50 et EC50

	<i>S. argentea</i>		<i>P. arabica subsp. inuloides</i>	
	DPPH*	FRAP	DPPH*	FRAP
La teneur en polyphénols totaux	0,959* P = 0,002	0,959* P = 0,002	0,179 P = 0,644	0,072 P = 0,854
La teneur en flavonoïdes	0,465 P = 0,353	0,489 P = 0,325	0,476 P = 0,195	0,218 P = 0,218
La teneur en tanins condensés	0,961* P = 0,002	0,783 P = 0,065	0,104 P = 0,789	-0,025 P = 0,950

* corrélation significative ($p \leq 0.05$)

IV. EVALUATION *IN VITRO* DE L’ACTIVITE ANTIBACTERIENNE

La méthode de diffusion est l’une des plus anciennes approches de détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques et demeure l’une des méthodes les plus utilisées en routine. (*JEHL et al., 2019*)

Le diamètre des zones d’inhibition a été mesuré en millimètre (mm) selon les recommandations dictées par (*JEHL et al., 2019*). Les résultats sont consignés dans le **Tableau 11**.

La souche était déclarée résistante lorsque le diamètre mesuré était inférieur à 8 mm. Elle était dite sensible lorsqu’il était compris entre 9 et 14 mm, très sensible ; entre 15 et 19 mm et extrêmement sensible ; supérieur à 20 mm. (*PONCE et al., 2003 ; AFFI KAKOU et al., 2020*).

Tableau 11 : Diamètres des zones d'inhibition

Souche bactérienne	Espèce				
	<i>S. argentea</i>		<i>P. arabica subsp. inuloides</i>		
	Racines	Feuilles	Feuilles	Tiges	Fleurs
<i>Bacillus subtilis</i>	14,42±1,54	6,00±0,00	7,33±0,21	6,83±0,40	10,08±0,42
<i>Bacillus cereus</i>	9,50±0,22	6,50±0,22	12,33±0,17	6,83±0,17	12,75±1,23
<i>Staphylococcus aureus</i>	6,00±0,00	6,00±0,00	14,75±0,80	6,00±0,00	6,00±0,00
<i>Enterococcus faecalis</i>	14,25±1,94	14,83±1,38	12,00±0,73	8,00±0,00	11,33±0,42
<i>Echerichia coli</i>	6,00±0,00	6,00±0,00	6,00±0,00	6,00 ± 0,00	7,17±0,17
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12,33±0,42	12,67±1,53	6,00±0,00	9,83±1,01	14,33±1,19

Nos résultats se montrent hétérogènes, dont l'intensité de l'effet antibactérien est lié à la fois à la souche bactérienne et à l'extrait testé. Cela peut être expliqué à la fois par les caractères qualitatifs et quantitatifs des composés présents dans nos extraits. (BASLI *et al.*, 2012)

Chez *S. argentea*, l'extrait des racines a marqué la meilleure activité antibactérienne. Tandis que, chez *P. arabica subsp. inuloides*, c'est l'extrait des fleurs qui s'est manifesté le plus puissant.

Les *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 étaient les plus sensibles à nos extraits, dont les diamètres des zones d'inhibition de croissance mesurés dans les cultures de ces deux souches étaient plus en moins importants **Tableau 11**. Par ailleurs, *Echerichia coli* ATCC 25912 semble être résistante aux composés présents dans nos échantillons.

Il est à noter, qu'il y en a que peu d'études qui ont entamé la thématique de l'évaluation de l'activité antibactérienne des deux espèces *S. argentea* et *P. arabica subsp. inuloides*. Parmi, une récente menée par (BENABDESSLEM *et al.*, 2020), sur les extraits aqueux, éthanoliques et méthanoliques des feuilles de *S. argentea* récoltées de la région de Saida_ Algérie. Ils ont rapporté une bonne activité antibactérienne avec les extraits méthanoliques à une concentration de 100 mg / mL. Les diamètres des zones d'inhibition de croissance d'*Enterococcus faecalis* ATCC 49452, de *Bacillus subtilis* ATCC 6633 et de *Bacillus cereus* ATCC 11778 mesurés étaient de l'ordre de 10 mm, de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 était de 20 ± 2.1 mm. Ces résultats s'accordent avec les nôtres.

Tandis qu'ils ont trouvé les souches *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Escherichia coli* ATCC 25922 sensibles aux extraits de cet espèce avec des diamètres des zones d'inhibition de l'ordre de 10 mm, alors que nos souches paraissaient résistantes.

Nous rappelons que des facteurs géographiques, climatiques et génétiques peuvent influencer l'accumulation des métabolites secondaires dans les tissus végétaux, en synthétisant des quantités différentes et/ou types différents de ces composés. (*LAMIEN-MEDA et al., 2010 ; SHAHIDI et al., 1995*).

D'autre part, lors de la même étude, ils ont pu montrer que les extraits éthanoliques et aqueux sont plus actifs sur ces bactéries. (*Cowan, 1999*) a expliqué cela, dont il constate que l'activité antibactérienne des substances actives d'origine végétale dépend surtout de la nature des bactéries Gram⁺ ou Gram⁻ et aussi de la méthode d'extraction réalisée.

En outre ; (*AL-HAJJ et al., 2016*) ont considéré que les extraits méthanoliques des feuilles de *P. arabica subsp. inuloides* ont un puissant potentiel antibactérien vis-à-vis les deux souches *Bacillus subtilis* ATCC 6633 et *Staphylococcus aureus* 6538.

On peut attribuer cette activité de nos extraits partiellement voir complètement à leur composition en matière phénolique, où un grand nombre de données décrivent les propriétés antimicrobiennes de ces métabolites secondaires.

Les mécanismes avec lesquels les polyphénols exercent leur action sont divers ; essentiellement liés aux groupements OH attachés au cycle phénol. L'aromaticité peut être également responsable de cet effet. (*ALIBI et al., 2021*).

Selon (*RENZETTI et al., 2020*), l'activité antibactérienne des catéchines résulte d'une variété de mécanismes qui peuvent être classés dans les groupes suivants :

- i.** Inhibition des facteurs de virulence (toxines et matrice extracellulaire) ;
- ii.** Rupture de la paroi cellulaire et de la membrane cellulaire ;
- iii.** Inhibition des enzymes intracellulaires ;
- iv.** Stress oxydatif ;
- v.** Dommages à l'ADN ;
- vi.** Chélation du fer ;

Ils constatent que ces mécanismes fonctionnent simultanément avec une importance relative différente selon la souche bactérienne.

Par ailleurs, les acides phénoliques diffusent à travers la membrane bactérienne et acidifient le cytoplasme, entraînant la mort cellulaire. (*HIRSHFIELD et al., 2003 ; ALIBI et al., 2021*).

Alors que pour les tanins, le mode d'action antimicrobien peut être lié à leur capacité d'inactiver les adhésines microbiennes, les enzymes et les protéines de transport de l'enveloppe cellulaire. (COWAN, 1999 ; VILJOEN *et al.*, 2003).

D'autre part, on a pu discerner que nos extraits sont plus efficaces sur les bactéries à Gram positif que les bactéries à Gram négatif. Cela peut être expliqué par l'architecture de la membrane bactérienne (PUUPPONEN-PIMIÄ *et al.*, 2005 ; HOGAN *et al.*, 2002) ; dont les bactéries à Gram négatif ont une couche supplémentaire qui joue un rôle essentiel dans la protection de l'environnement hostile sans compromettre les échanges nécessaires au maintien de la vie cellulaire. (DELCOUR, 2009 ; MOKHTAR *et al.*, 2021).



CONCLUSION
ET
PERSPECTIVES

La médecine traditionnelle constitue un recours d'une large part de la population pour se soigner des affections diverses.

Lors du présent travail, on a essayé de contribuer à l'évaluation *in vitro* du potentiel biologique des molécules extraites à partir de deux espèces : *Salvia argentea* et *Pulicaria arabica subsp. inuloides* ; largement utilisées dans la phytothérapie.


Nos résultats montrent une excellente activité antioxydante de *Salvia argentea* ; dont on a pu établir une relation de corrélation entre la concentration en composés phénoliques et l'intensité de cet effet. *Pulicaria arabica subsp. inuloides* a présenté quant à elle un potentiel anti radicalaire non négligeable.

Une capacité d'inhibition de la croissance bactérienne de ces espèces a été mise en évidence vis-à-vis une gamme de six souches bactériennes pathogènes, dont seulement *Echerichia coli* ATCC 25912 qui s'est manifesté résistante.

Notre travail peut être complété par :

1. Une étude analytique approfondie de deux espèces en vue d'identifier, caractériser et sépare les molécules responsables de l'activité antioxydante et antibactérienne ;
2. La mettre en évidence des structures chimiques de principes actifs permet d'élucider la relation structure - activité et de déterminer si l'effet biologique est dû à une seule molécule ou au mélange ;
3. Evaluer le degré de toxicité des substances bioactives isolées ;

En effet, d'apporter des réponses à ces questions est un premier pas dans le trajet de l'exploitation de ces molécules au profit des industries pharmaceutique et agro-alimentaire.



RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- ABAZA, L., YOUSSEF, N. B., MANAI, H., HADDADA, F. M., METHENNI, K., et ZARROUK, M. (2011). Chétoui olive leaf extracts: Influence of the solvent type on phenolics and antioxidant activities. *Grasas Y Aceites* 2011, 62, 96–104.
- AFFI KAKOU, B., BENIE, A., N'GUESSAN, A. H., FERNIQUE, K. K., GUESSENND, N. K., et BEKRO, Y. (2020). Analyse phytochimique, activité antibactérienne des extraits hydro-méthanoliques des tiges de *Ximenia americana*, espèce de Côte d'Ivoire sur *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 14(9): 3429-3440, December 2020. DOI : <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v14i9.36>.
- ALAM, Z. (2020). Concept, mechanism, and applications of phenolic antioxidants in foods. *J Food Biochem.* 2020;00:e13394. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13394>.
- AL-HAJJ, N. Q. M., ALGABR, M. N., RAZA, H., OMAR, K. A., AL-FARGA, A., WANG, H., et THABIT, R. (2016). Isolation and identification of the phenolic compounds from *Pulicaria inuloides* and their antibacterial and antioxidant activities. *European Academic Research - Vol. III, Issue 10 / January 2016*.
- AL-HAJJ, N. Q. M., WANG, H., GASMALLA, M. A. A., MA, C., THABIT, R., et al. (2014). Chemical Composition and Antioxidant Activity of the Essential Oil of *Pulicaria Inuloides*. *Journal of Food and Nutrition Research*, 2014, Vol. 2, No. 5, 221-227. DOI :10.12691/jfnr-2-5-3.
- ALIBI, S., CRESPO, D., et NAVAS, J. (2021). Plant-Derivatives Small Molecules with Antibacterial Activity. *Antibiotics* 2021, 10, 231. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10030231>.
- ALI-RACHEDI, F., MERAGHNI, S., TOUAIBIA, N., et SABRINA M. (2018). Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa Atropurpurea sub.* *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, Vol. 87, articles, 2018, p. 13 -21.
- ANDRZEJ L. D., DOROTA, W., et MALGORZATA, O. (2012). On practical problems in estimation of antioxidant activity of compounds by DPPH method (Problems in estimation of antioxidant activity). *Food Chemistry* 131 (2012) 1037–1043. DOI:10.1016/j.foodchem.2011.09.067.
- ANHE, F. F., DESJARDINS, Y., PILON, G., DUDONNE, S., GENOVESE, M. I., LAJOLO, F. M., et MARETTE, A. (2013). Polyphenols and type 2 diabetes : A prospective review. *Pharma. Nutrition* 1,105-114.

- ARYAL, S., BANIIYA, M. K., DANEKHU, K., KUNWAR, P., GURUNG, R., et KOIRALA, N. Total Phenolic Content, Flavonoid Content and Antioxidant Potential of Wild Vegetables from Western Nepal. *Plants* 2019, 8, 96.
- ASSAEED, A., ELSHAMY, A., EL GENDY, A., DAR, B., AL-ROWAILY, S., et ABD- ELGAWAD, A. (2020). Sesquiterpenes-rich essential oil from above ground parts of *Pulicaria somalensis* exhibited antioxidant activity and allelopathic effect on weeds. *Agronomy* 10(3) : 399.
- BALASUNDRAM, N., SUNDRAM, K., et SAMMAN, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agro industrial by-products : Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*. 99 : 191–203.
- BARAN, P., ÖZDEMİR, C., et AKTAS, K. (2008). The morphological and anatomical properties of *Salvia argentea* L. (*Lamiaceae*) in Turkey. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 4(6), 725-733.
- BARAN, P., ÖZDEMİR, C., et AKTAS, K. (2010). Structural investigation of the glandular trichomes of *Salvia argentea*. *Biologia* 2010, 65, 33–38.
- BASLI, A., CHIBANE, M., MADANI, K., et OUKIL, N. (2012). Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie : *Origanum glandulosum* Desf. *Phytothérapie* (2012) 10:2–9. DOI10.1007/s10298-012-0683-9.
- BAUDIN, B. (2015). Stress oxydant et protections antioxydantes. *Revue francophone des laboratoires* N °522.
- BENABDESSLEM, Y., HACHEM, H., KAHLOULA, K et SLIMANI, M. (2017). Ethnobotanical Survey, Preliminary Physico Chemical and Phytochemical Screening of *Salvia argentea* (L.) Used by Herbalists of the Saïda Province in Algeria. *Plants* 2017, 6, 59 ; Doi:10.3390/plants6040059.
- BENABDESSLEM, Y., HACHEM, K., KAHLOULA, K., et SLIMANI, M. (2018). An ethnopharmacological study of *Salvia argentea* used by the local people of Saida in northwestern Algeria. *South Asian Journal of Experimental Biology*, 8(4), 149-153.
- BENABDESSLEM, Y., HACHEM, K., KAHLOULA, K., BELAKREDAR, A., et SLIMANI, M. (2020). *In Vitro* Antimicrobial Activity of Aqueous, Ethanolic and Methanolic Leaves Extracts from *Salvia argentea*. *Sys Rev Pharm* 2020 ; 11(11):1683-1691.

- BEN FARHAT, M., LANDOULSIA, A., CHAOUCH-HAMADAA, R., SOTOMAYORC, J. A., et JORDAN, M. J. (2013a). Characterization and quantification of phenolic compounds and antioxidant properties of *Salvia* species growing in different habitat. *Industrial Crops and Products*. 2013, 49, 904-914.
- BEN FARHAT, M., LANDOULSIA, A., CHAOUCH-HAMADAA, R., SOTOMAYORC, J. A., et JORDAN, M. J. (2013b). Profiling of essential oils and polyphenolics of *Salvia argentea* and evaluation of its by products antioxidant activity. *Industrial Crops and Products*. 2013, 47, 106-112.
- BONDET, V., BRAND-WILLIAMS, W., et BERSET, C. (1997). Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH_ free radical method. *LWT - Food Science and Technology*, 30, 609–615.
- BOUYAHYA, A., BAKRI, Y., ET-TOUYS, A., TALBAOUI, A., KHOUHLAA, A., CHARFI, S., ABRINI, J., et DAKKA, N. (2017). Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*. DOI 10.1007/s10298-017-1118-z.
- BOZIN, B., MIMICA-DUKIC, N., SAMOJLIK, I., GORAN, A., et IGIC, R. (2008). Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum L., Alliaceae*), *Food Chemistry*, 111 : (2008) P. 925-929
- BRUNETON, J. (1999). *Phytochimie. Plantes médicinales. Pharmacognosie*. 3eme édition, Paris, France. pp :125165.
- CHANET, A., MILENKOVIC, D., DEVAL, C., POTIER, M., CONSTANS, J., MAZUR, A., BENNETAU- PELISSERO, C., MORAND, C., et BERARD, A. M. (2012a). Naringin, the major grapefruit flavonoid, specifically affects atherosclerosis development in diet-induced hypercholesterolemia in mice. *Journal of Nutritional Biochemistry* 23, 469-477.
- CHAUDHARY, A. S. (2016). A review of global initiatives to fight antibiotic resistance and recent antibiotics discovery. *Acta Pharm Sin B* 6:552–6.
- CLEBSCH B., et BARNER, C.D. (2003). *The new book of Salvias*. Timber Press, Portlan, 115-117.
- COUTINBO, A. P., AGUIAR, C. F., BANDEIRA, D. S., et DINIS, A. M. (2011). Comparative pollen morphology of the species of *Pulicaria* (*Asteraceae, Inuleae, Inulinae*) and its taxonomic significance, *Plant Syst Evol* 297:171-183,(2011).
- COWAN, M. M. (1999). *Plants products as antimicrobial agents*. *Clin Microbiol Rev* 12: 564–82

- CUVIER, F. (1826). Dictionnaire Des Sciences Naturelles, Éditeur. F. G. Levrault, STRASBOURG, p 94, (1826), Numérisé (2006).
- DAI, J., et MUMPER, R. J. (2010). Plant phenolics : extraction, analysis and their antioxydant and anticancer propeties. *Molecules*. 15 (10): 7313-52.
- D'ARCHIVIO, M., FILESI, C., DI BENEDETTO, R., GARGIULO, R., GIOVANNINI, C., et MASELLA, R. (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali-dell'Istituto-Superiore-di Sanità*. 43(4) : 348-361.
- DEEPSHIKHA GUPTA. (2015). Methods for determination of antioxidant capacity : a review. *IJPSR*, 2015; Vol. 6(2): 546-566. DOI : 10.13040/IJPSR.0975-8232.6 (2).546-66.
- DELCOUR, A. H. (2009). Outer Membrane Permeability and Antibiotic Resistance. *Biochim. Biophys. Acta Proteins Proteomics* 2009, 1794, 808–816.
- DEPLANQUE, D., GELE, P., PETRAULT, O., et al. (2003). Peroxisome proliferator-activated receptor-alpha activation as a mechanism of preventive neuroprotection induced by chronic fenofibrate treatment. *J Neurosci* 2003 ; 23 : 6264-71.
- DERBEL, S., et GHEDIRA, K. (2005). Phytothérapie et nutrition : Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie*. 1: 28-34.
- DJAHRA, A. B., BORDJIBA, O., et BENKHERARA, S. (2013). Extraction, séparation et activité antibactérienne des tanins de marrube blanc (*Marrubium vulgare L.*). *Phytothérapie* (2013) 11:348-352.
- EL-HACI, I. A., et ATTIK BEKKARA, F. (2016). Estimation du pouvoir antioxydant des differents extraits organiques d'*ecballium elaterium (l.)*. *Substances Naturelles et Innovations Thérapeutiques*.
- EL-HACI, I. A., DIDI, A., ATIK BEKKARA, F., et GHERIB, M. (2009). *In vitro* antioxidant activity and total phenolic contents in methanol crude extracts from the Algerian medicinal plant *Limoniastrum feei*, *Scientific Study & Research*, 10, 329-336.
- EVANS PH. (1993). Free radicals in brain metabolism and pathology. *Br Med Bull* 1993 ; 49 : 577-87.
- FADEL, H., BENSAID, S. O., CHALCHAT, J. C., FIGUEREDO, G., CHALARD, P., BENAYACHE, F., GHEDADBA, N. ZERIMECH, R., et BENAYACHE, S. (2020). Essential oil chemical

- characterization and antioxidant potential of *Pulicaria inuloides* from the southwest of Algeria. Chemistry Africa. <https://doi.org/10.1007/s42250-020-00151-6>.
- FENDRI, C., MECHRI, A., KHIARI, G., OTHMAN, A., KERKENI, A., et GAHA, L. (2006). Implication du stress oxydant dans la physiopathologie de la schizophrénie : revue de la littérature. L'Encéphale, 2006 ; 32 : 244-52, cahier 1.
- FLEURIET, A., JAY-ALLEMAND, C., et MACHEIX, J. J., (2005). Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaire romandes pp 121-216.
- FRAGA, C. G. (2007). Plant Polyphenols: How to Translate their in vitro Antioxidant Actions to *in vivo* Conditions. IUBMB Life, 59(4 – 5): 308 – 315, April –May 2007.
- FULBERT, J. C., et CALS, M. J., (1992). Les radicaux libres en biologie clinique : origine, rôle pathogène et moyen de défense. Path Biol 1992 ; 40 (1) : 66-77.
- GARCIA-LAFUENTE, A., GUILLAMON, E., VILLARES, A., et al. (2009). Flavonoids as anti inflammatory agents : implications in cancer and cardiovascular disease. Inflammation Research. 58: 537-552.
- GHEDADBA, N., BOUSSELSA, H., HAMBABA, L., et al. (2014). Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuries de *Marrubium vulgare* L. Phytothérapie 12: 15–24.
- GHEDADBA, N., HAMBABA, L., AYACHI, A., ABERKANE, M. C., BOUSSELSA, H., et OUELD- MOKHTAR, S. M. (2015). Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé. Phytothérapie (2015) 13:118-129. DOI : 10.1007/s10298-015-0944-4.
- GHEDIRA, K. (2005). Les flavonoïdes : structures, propriétés biologiques, rôles prophylactiques et emplois en thérapeutique. Phytothérapie. 04: 162-169.
- GIEDRAITIENE, A., VITKAUSKIENE, A., NAGINIENE, R, et al. (2011). Antibiotic resistance mechanisms of clinically important bacteria. Medicina 47:137–46.
- GOOSSENS, H., FERRECH, M., VANDER STICHELE, R., et al. (2005). Out patient antibiotic use in Europe and association with resistance: a cross-national database study. Lancet 365:579–87.

- HACHEM, K., BENABDESSLEM, Y., HOUARI ADLI, D., CHIKHI, A., et KAHLOULA, K. (2020). A Review on the Phytochemical Composition and the Traditional Medicinal Uses of *Salvia argentea* (Lamiaceae). *Sys Rev Pharm* 2020 ; 11(7):113-118.
- HANHINEVA, K., TÖRRÖNEN, R., BONDIA-PONS, I., PEKKINEN, J., KOLEHMAINEN, M., MYKKÄNEN, H., et al. (2010). Impact of dietary polyphenols on carbohydrate metabolism. *Int. J. Mol. Sci.* 11, 1365-1402.
- HELAL, N. M., IBRAHIMB, N. A., et KHATTAB, H. (2019). Phytochemical analysis and antifungal bioactivity of *Pulicaria undulata* (L.) methanolic extract and essential oil. *Egypt J Bot* 59(3):827–844.
- HIRSHFIELD, I.N., TERZULLI, S., et O'BYRNE, C. (2003). Weak organic acids : A panoply of effects on bacteria. *Sci. Prog.* 2003, 86, 245–269.
- HOGAN, D., et KOLTER, R. (2002). Why are bacteria referactory to antimicrobials. *Current opinion in Microbiology* 5 :272-4.
- JEHL, F., et al. (2019). Recommandations V.2.0 Mai 2019. Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Société Française de Microbiologie.
- JULKUNEN-TITTO, R. (1985). Phenolic constituents in the leaves of *northern willows* methods for the analysis of certain phenolics. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 1985, Vol. (33), page : 213.
- KADRI, A., ZARAI, A., BEKIR, A., et al. (2011). Chemical composition and antioxidant activity of *Marrubium vulgare* L essential oil from Tunisia. *Afr J Biotechnol* 10(19): 3908–14.
- KAMATOU, G. P. P., VILJOEN, A. M., et STEENKAMP, P. (2009). Antioxidant, anti inflammatory activities and HPLC analysis of South African *Salvia* species. *Food Chemistry*. DOI:10.1016/j.foodchem.2009.07.010.
- KANTI BHOOSHAN PANDEY et SYED IBRAHIM RIZVI. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative medicine and cellular longevity* 2 : 5, 270-278 ; November / December ; 2009. Landes Bioscience.
- KARAGÖZLER, A. A., ERDAG, B., EMEK Y. G., et UYGUM, D. A. (2008). Antioxidant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastata*. *Food Chemistry*, 111, 400-407.

- KARLSEN, A., RETTERSTOL, L., LAAKE, P., et al. (2007). Anthocyanins inhibit nuclear factor kappa B activation in monocytes and reduce plasma concentrations of pro-inflammatory mediators in healthy adults. *Journal of Nutrition*. 137: 1951-1954.
- KEMPF, I., et ZEITOUNI, S. (2012). Coût biologique de la résistance aux antibiotiques : analyse et conséquences. *Pathologie Biologie* 60 (2012) e9–e14. DOI:10.1016/j.patbio.2009.10.013.
- LAFKA, T. I., SINANOGLU, V., LAZOS, E. S. (2007). On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes. *Food Chem.* 2007, 104, 1206–1214.
- LAFKA, T. I., LAZOU, A. E., SINANOGLU, V. J., et LAZOS, E. S. (2013). Phenolic extracts from wild olive leaves and their potential as edible oils antioxidants. *Foods* 2013, 2, 18-31 ; Doi:10.3390/foods2010018.
- LAMIEN-MEDA, A., NELL, M., LOHWASSER, U., BORNER, A., FRANZ, C., et NOVAK, J. (2010). Investigation of Antioxidant and Rosmarinic Acid Variation in the Sage Collection of the Genebank in Gatersleben. *J. Agric. Food Chem.* 2010, 58, 3813–3819. DOI :10.1021/jf903993f.
- LEE, K. W., KIM, Y. J., LEE, H. J., et LEE, C. Y. (2003). Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *J. Agric. Food Chem.*, 2003, 51, 7292-7295.
- LINDEN et LORIENT, D. (1994). Pigments et arômes in Biochimie agro-industrielle : valorisation alimentaire de la production agricole. Ed : Masson. 338-340.
- LIU, J. (2005). Oleanolic acid and ursolic acid : Research perspectives. *Journal of Ethnopharmacology*, 100, 92–105.
- LOUGRAIMZI, L., et al. (2020). Chemical characterization and *in vitro* evaluation of the antioxidant and antibacterial activity of *Pulicaria incisa* (Lam.) DC. essential oil. *Nat. Volatiles & Essent. Oils*, 2020;7(2): 35-43. DOI: 10.37929/nveo.746549.
- MARSHALL, B. M., OCHIENG, D. J., et LEVY, S. B. (2009). Commensals : unappreciated reservoir of antibiotic resistance. *Microbe* 4:231–8.
- MOKHTAR, M., BOUAMAR, S., DI LORENZO, A., TEMPORINI, C., DAGLIA, M., et RIAZI, A. (2021). The Influence of ripeness on the phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of pumpkins (*Cucurbita moschata* Duchesne). *Molecules* 2021, 26, 3623. <https://doi.org/10.3390/molecules26123623>.

- MOURE, A., CRUZ, J. M., FRANCO, D., DOMINGUEZ, J. M., SINEIRO, J., DOMINGUEZ, H., NUNEZ, M. J., et PARAJO, J. C. (2001). Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*. 72:145-171.
- NGUYENA, V. T., BOWYERA, M. C., VUONGA, Q. V., VAN ALTENAA, I. A., et SCARLETT, C. J. (2015). Phytochemicals and antioxidant capacity of Xao tam phan (*Paramignya trimera*) root as affected by various solvents and extraction methods. *Industrial Crops and Products*, 67 : 192-200.
- OMS. (2020). Résistance aux antibiotiques. <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance>. (cite visité le : 15/07/2021).
- ORHAN I. E., SENOL, F. S., ERCETIN, T., KAHRAMAN, A., CELEP, F., AKAYDIN, G., SENER, B., et DOGAN, M. (2013). Assessment of anticholinesterase and antioxidant properties of selected sage (*Salvia*) species with their total phenol and flavonoid contents. *Industrial Crops and Products* 41 (2013) 21– 30.
- OUEDRAOGO, A. S., JEAN PIERRE, H., BANULS, A. L., OUEDRAOGO, R., et GODREUIL, S. (2017). Emergence et diffusion de la résistance aux antibiotiques en Afrique de l'Ouest : facteurs favorisants et évaluation de la menace. *Med Sante Trop* 2017 ; 27 : 147-154. DOI:10.1684/mst.2017.0678.
- OZTURK, M., AYDOGMUS-OZTURK, F., DURU, M. E., et TOPÇU, G. (2007). Antioxidant activity of stem and root extracts of *Rhubarb (Rheum ribes)* : An edible medicinal plant. *Food Chemistry*, 103, 623-630.
- PHONDANI, P. C., BHATT, A., ELSARRAG, E., et HERR, Y. A. (2018). Ethnobotanical magnitude towards sustainable utilization of wild foliage in Arabian Desert. *J Tradit Complement Med* 6:209–218.
- PONCE, A. G., FRITZ, R., DEL VALLE, C., et ROURA, S. I. (2003). Antibacterial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Society of Food Science and Technology (Elsevier)*, 36, (2003), 679-684.
- PUUPPONEN-PIMIÄ, R., NOHYNEK, L., HARTMAN-SCHMIDLIN, S., KÄHKÖNEN, M., HEINONEN, M., MATA-RIIHINEN, K., et al. (2005). Berry phenolics selectively inhibit the growth of intestinal pathogens. *J Appl Microbiol* 2005 ; 98:991–1000.
- QUEZEL, P., et SANTA, S. (1963). *New Flora of Algeria and the Southern Desert Regions*, vol. 1-2. CNRS, Paris.

- RAO, M. M., LAVIE, D. (1974). The constituents of *Ecballium elaterium*, phenolics as minor components. *Tetrahedron*, 30, 3309-3313.
- RENZETTI, A., BETTS, J. W., FUKUMOTO, K., et RUTHERFORD, R. N. (2020). Antibacterial green tea catechins from a molecular perspective : Mechanisms of action and structure–activity relationships. *Food Funct.* 2020, 11, 9370–9396.
- RICHTER G. (1993). Composés phénoliques in *Métabolisme des végétaux : physiologie et biochimie*. Ed Presse polytechnique et universitaire romande. Pp : 317-339.
- RICCOBONO, L., MAGGIO, A., ROSSELLI, S., ILARDI, V., SENATORE, F., et BRUNO, M. (2016). Chemical composition of volatile and fixed oils from of *Salvia argentea* L. (*Lamiaceae*) growing wild in Sicily. *Natural product research*, 30(1), 25-34.
- RICE-EVANS, C., et al. (1995) The relative antioxidant activities of plant- derived polyphenolic flavonoids, *Free Rad. Res.* 22, 375-383.
- RICE-EVANS, C., MILLER, N. J., et PAGANGA, G. (1996) Structure antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids, *Free Rad. Biol. Med.* 20, 933-956.
- RODRIGO, R., MIRANDA, A., et VERGARA, L. (2011). Modulation of endogenous antioxidant system by wine polyphenols in human disease. *clinica chimica acta* 412, 410-424.
- ROSSOLINI, G. M., et MANTENGOLI, E. (2008). Antimicrobial resistance in Europe and its potential impact on empirical therapy. *Clin Microbiol Infect* 2008 ; 14 (Suppl 6) : 2-8.
- SARNI-MANCHADO, P., et CHEYNIER, V. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. Ed Tec et Doc Lavoisier. pp : 02-11.
- SCALBERT, A., MANACH, C., MORAND, C., REMESY, C., et JIMENEZ, L. (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 45: 287-306.
- SCHOFIELD, P., MBUGUA, D. M., et Pell, A. N. (2001). Analysis of condensed tannins. A review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 2001, Vol. (91), page : 21.
- SHAHIDI, F., et NACZK, N. (1995). Food phenolics, sources, chemistry, effects, applications. Lancaster, PA : Technomic Publishing Co Inc, 1995.
- TEHAMI, W., KHERRAF, A., BOUFELDJA, W., DIF, M. M., DRA, A. G., ABBOUNI, B., et BENALI, M. (2016). Determination of primary and functional metabolites of *salvia argentea*

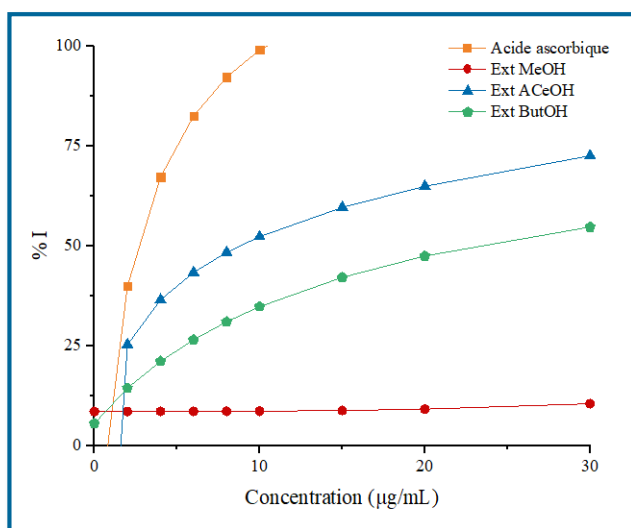
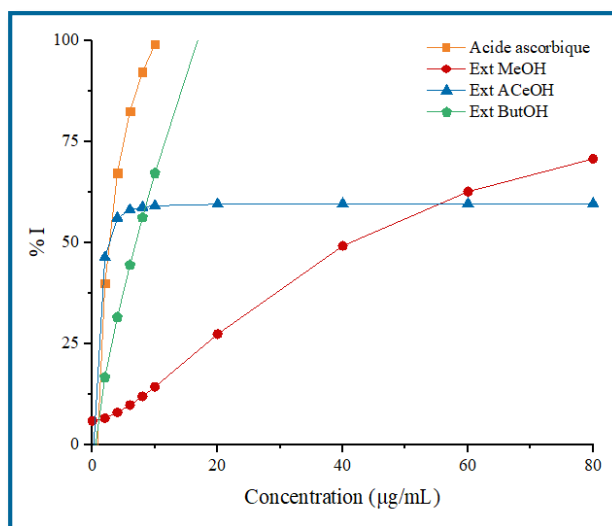
- and evaluation of its leaves and roots antioxidant activity. *Der Pharma Chemica*, 2016, 8(22):1-6.
- TOTY, A. A., et al., (2013). Évaluation in-vitro de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de l'écorce de tronc de *Harungana madagascariensis* sur la croissance de souches multi-résistantes. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, V 82, 2013, p. 12 – 21.15.
- VAMECQ, L., VALLEE, L., STORME, P., GELE, R., et BORDE, T. (2004). Les acteurs immédiats du stress oxydatif. *La Lettre du Pharmacologue - Volume 18 - n° 1 - janvier-février-mars 2004*.
- VERMERRIS, W., et NICHOLSON, R. (2006). *Isolation and Identification of Phenolic Compounds, Phenolic Compound Biochemistry*, Published by Springer, Dordrecht, 151-196.
- Viljoen, A., Van Vuuren, S., Ernest, E., et al. (2003). *Osmitopsis asteriscoides (Asteraceae)* _the antimicrobial and essential oil composition of cape _ Dutch remedy. *J Ethnopharmacol* 88: 137–43.
- WAKSMUNDZKA-HAJNOSM., et SHERMA, J. (2011). High performance liquid chromatography in phyto- chemical analysis. *chromatographic science series*. 477-478.
- Yang, J., Guo, J., et Yuan, J. (2008). *In vitro* antioxidant properties of rutin, *LWT*, 41, 1060-1066.
- ZEFZOUFI, M., FDIL, R., BOUAMAMA, H., MOUZDAHIR, A., SRAIDI, K., et ABOUZAIID, A. (2020). *Pulicaria odora* essential oil: a potential source of eco- friendly antioxidants and allelochemicals. *Mediterranean Journal of Chemistry* 2020, 10(6), 608-618.
- ZHISHEN, J., MENGCHENG, T., et JIANMING, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *J Food Chem*, 1999, Vol. (64), page : 555.

ANNEXES

_ ANNEXE 1 _

Pourcentages d'inhibition du DPPH' en fonction des concentrations de l'acide ascorbique et des extraits méthanoliques et leurs fractions acétate d'éthyle et n-butanoliques de l'espèce *S. argentea*.

(i)



(ii)

(i) Extraits des racines ;

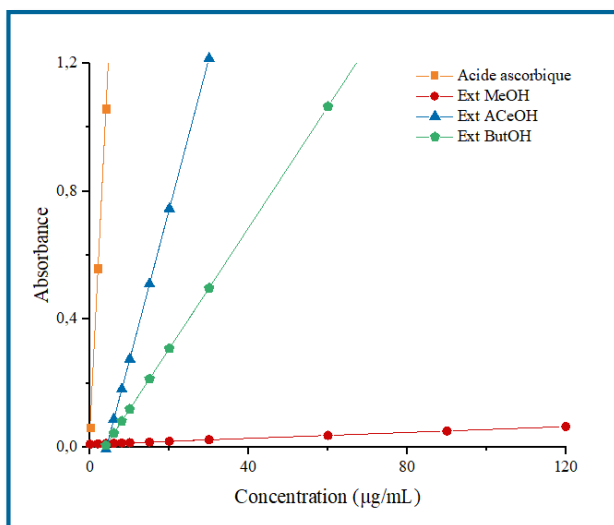
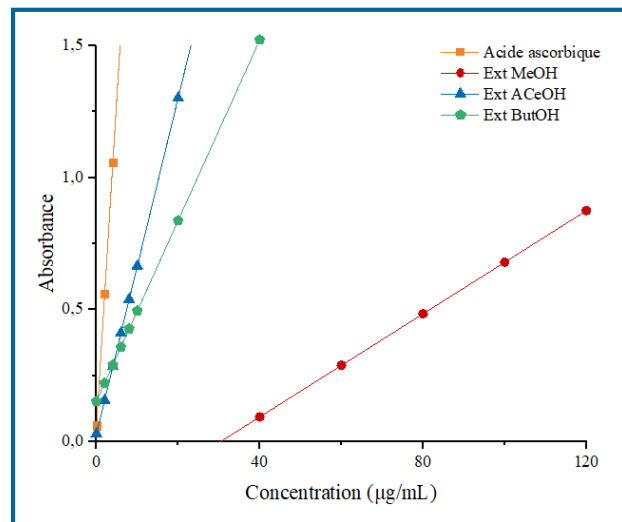
(ii) Extraits des feuilles.

Ext MeOH : Extrait méthanolique ;**Ext ACeOH** : Extrait acétate d'éthyle ;**Ext ButOH** : Extrait n-butanolique ;**% I** : Pourcentage d'inhibition du DPPH'

_ ANNEXE 2 _

Pouvoir réducteur du fer en fonction des concentrations de l'acide ascorbique et des extraits méthanoliques et leurs fractions acétate d'éthyle et n-butanoliques de l'espèce *S. argentea*.

(i)



(ii)

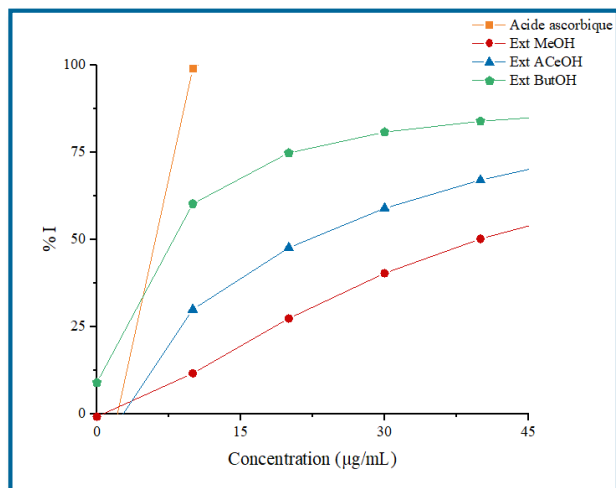
(i) Extraits des racines ;

(ii) Extraits des feuilles.

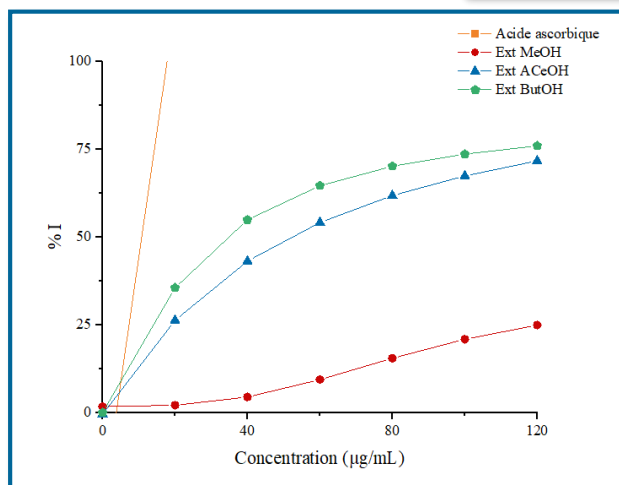
_ ANNEXE 3 _

Pourcentages d'inhibition du DPPH' en fonction des concentrations de l'acide ascorbique et des extraits méthanoliques et leurs fractions acétate d'éthyle et n-butanoliques de l'espèce *P. arabica subsp. inuloides*.

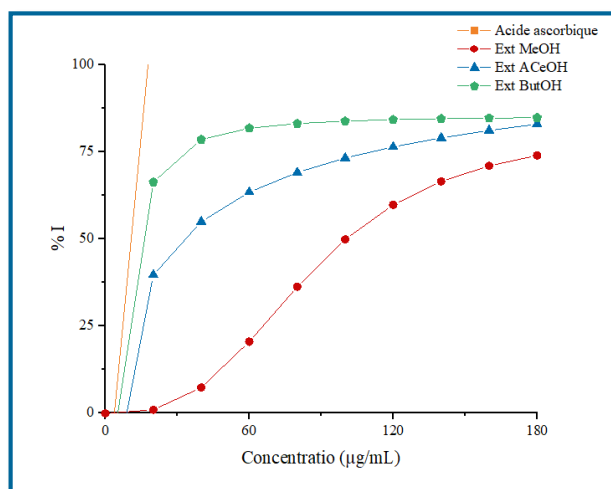
(i)



(ii)



(iii)



(i) Extraits des feuilles ;

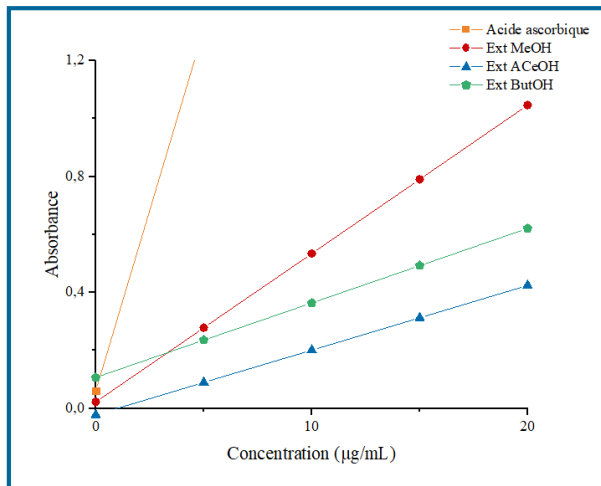
(ii) Extraits des tiges ;

(iii) Extraits des fleurs

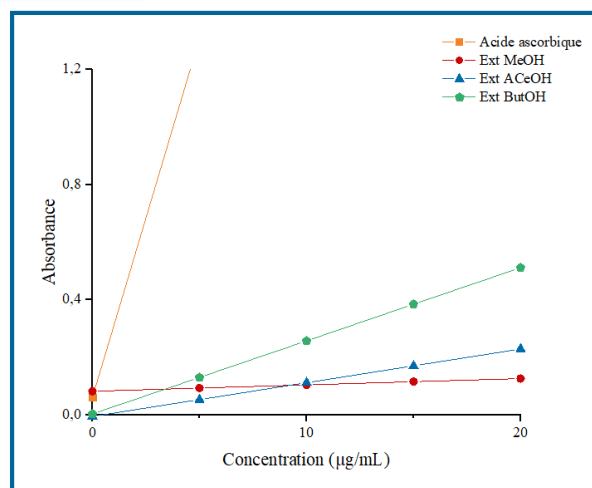
_ ANNEXE 4 _

Pouvoir réducteur du fer en fonction des concentrations de l'acide ascorbique et des extraits méthanoliques et leurs fractions acétate d'éthyle et n-butanoliques de l'espèce

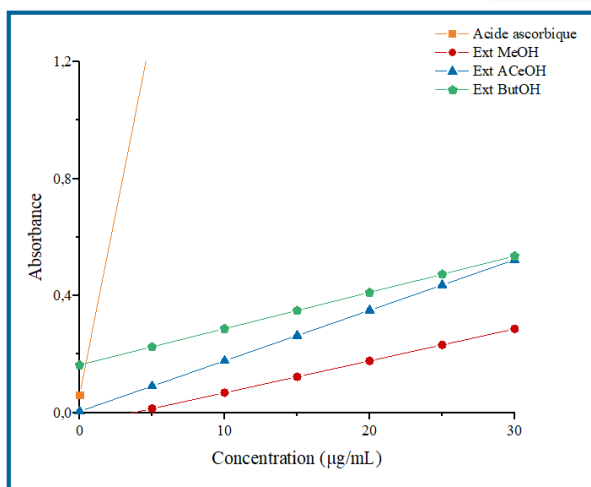
P. arabica subsp. inuloides.



(i)



(ii)



(iii)

(i) Extraits des feuilles ;

(ii) Extraits des tiges ;

(iii) Extraits des fleurs