



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

N° d'ordre :

N° de série :

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي

Université Echahid Hamma Lakhdar EL-OUED

كلية علوم الطبيعة والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

THEME

**Contribution à l'étude phytochimique de la partie
aérienne de *Salvia chudaei***

Présenté par :

M. AMRIOUI Nacereddine & M. NOGHAG Lazhari

Devant le jury composé de :

Président : **M. LAICHE A.T.** M.C.B, Université Echahid Hamma Lakhdar D'El-Oued.

Examinatrice: **M^{me}. RAMDANE F.** M.C.B, Université Echahid Hamma Lakhdar D'El-Oued.

Promoteur : **M. TLILI M.L.** M.A.A, Université Echahid Hamma Lakhdar D'El-Oued.

- Année universitaire 2018/2019 -

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

قَالُوا سُبْحَانَكَ لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا مَا عَلَّمْتَنَا إِنَّكَ أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ

سورة البقرة الآية 32



Dédicace

*Merci Allah (mon dieu) de m'avoir donné la
capacité d'écrire tout de rêve et de bonheur
de lever mes mains
Vers le ciel et de dire "ya kayoum".*

*Je dédie ce modeste travail à celle qui m'a donné la vie,
le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon
bonheur et ma réussite, à ma mère **NOUAR RAID**A.*

*A mon père **AMRIOU MOHAMED**, qui a été mon
ombre durant toutes les années des études, et qui a
veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me
donner l'aide et à me protéger.*

*A M. **TLILI Mohammed Laid**, qu'il a fait preuve
d'une patience et a été un grand apport pour la
réalisation de ce travail ses conseils ses orientations ainsi
que son soutien moral et scientifique. Son
encadrement était de plus exemplaire.*

*Et aussi M. **DEROUICHE Samir** pour son suivi et ses
conseils. Aussi pour son soutien, son
attention, son qualités humaines. À tout le
membre de ma famille grande et petite. A
mes très chers amis : **LAZHARI** (binôme).
À tous mes proches, mes camarades de
promotion.*



NACEREDDINE



*Je Dédie ce modeste travail À
Pour le chef-d'œuvre merveilleux de Dieu qui est la lumière de
mes yeux dans ma vie et ta présence à mes côtés a toujours été
ma source de force pour affronter les différents obstacles. Ma
chère mère. **RAMDANI NADJET***

*À la chose la plus précieuse que j'ai, Tu as toujours été à mes côtés pour
me soutenir et m'encourager. Mon Cher Père **NOGHAG ALI***

*A leurs yeux, ma joie et leur joie dans ma vie, mes sœurs, Mes grand-
mères et mes tantes.*

*A M. TLILI Mohammed Laid, qu'il a été un grand apport pour la
réalisation de ce travail ses conseils ses orientation ainsi que son soutien
moral et scientifique. Son encadrement était de plus exemplaire.*

*À mes professeurs et enseignants qui ont suivi mes études et mes études
tout au long de ma carrière académique.*

À mes collègues de l'université, et tous mes amis

À l'ami qui a supporté avec moi les difficultés de notre

NACEREDDIN

Travail À tous ceux-ci j'ai consacré ce mémoire

LAZHARI



Remerciements

Avant de commencer nous remercions avant tout Allah tout puissant, de nous avoir donné le courage, la patience et la chance d'étudier et suivre de chemin de la science.

Nous tenons en premier lieu à remercier notre encadreur M. TLILI Mohammed Laid, pour nous avoir fait confiance, son disponibilité et pour avoir nous orienter avec justesse tout au long de notre cheminement, son patience, ses encouragements et ses conseils. Nous soulignons particulièrement son sens de la pédagogie et son humanisme.

Nous exprimons nos vifs remerciements à M. LAICHE A. T, pour L'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire.

Mes remerciements vont aussi à Mme. RAMDANE Farah, pour avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

Nous tenons également à remercier tous les enseignants de la faculté des sciences de la nature et de la vie de Université Echahid Hamma Lakhdar - EL OUED, spécialement les enseignants qui ont contribué à notre formation en BIOCHIMIE. Nos remerciements vont également à tous les membres des Laboratoires biochimiques.

Très grande merci à Bessei A., Boughezala M.A., M^{elle}. Kadri Mounira et tous les étudiants de notre section BIOCHIMIE Appliqué.

Résumé

L'objectif visé par notre étude, consiste en l'étude phytochimique de la partie aérienne de *Salvia chudaei* (Lamiaceae) de la région de Tamanrasset. Ainsi que sur l'évaluation de l'activité antioxydante, antimicrobienne et l'activité anti-hémolytique des globules rouges.

Cette plante subit à une extraction par macération (éthanol) pour obtenir l'extrait éthanolique. Le rendement d'extraction de *Salvia chudaei* est d'environ 29,64%.

Concernant le dosage quantitatif des polyphénols, on remarque que la quantité chez la plante de *Salvia chudaei* 87.16 Mg EAG/g d'extrait. Par ailleurs, le dosage des flavonoïdes par la méthode d' AlCl_3 a révélé une teneur 15,39 Mg EQ /g d'extrait. Et la teneur des tanins condensés donne une valeur 16,17 Mg EC /g d'extrait.

Les résultats de l'activité antioxydante en utilisant le test DPPH montre que l'extrait possède un pouvoir antioxydant important, présentant la valeur d' IC_{50} 1,28 mg/ml. En parallèle, les résultats de l'activité anti-hémolytique des composés phénoliques de la plante étudiée contre H_2O_2 révèlent que cet extrait exerce un pouvoir anti-hémolytique moyen par rapport l'effet de l'acide ascorbique.

Les résultats de l'activité antimicrobienne indiquent que l'extrait possède une activité antimicrobienne remarquable sur les souches ciblées (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria innocua* et *Fusarium culmorum*), avec la souche fongique est la plus sensible avec une zone de d'inhibition de $13 \pm 0,66$ mm, par contre la souche bactérienne *Staphylococcus aureus* est la plus résistante de l'ordre de $8,66 \pm 0,44$ mm de zone d'inhibition.

Mots-clés : *Salvia chudaei*, extrait éthanolique, polyphénols, antioxydant, antimicrobienne, anti-hémolytique

Liste des figures

N°	Titre des figures	Page
01	<i>Salvia chudaei</i> Battandier & Trabut	8
02	Feuilles de <i>Salvia chudaei</i>	9
03	Fleurs de <i>Salvia chudaei</i>	9
04	Répartition de <i>Salvia chudaei</i> dans les montagnes sahariennes	9
05	Structure du noyau phénol	11
06	Acide benzoïque	13
07	Acide cinnamique	14
08	Structure de base des flavonoïdes	15
09	Structure des tanins hydrolysables	18
10	Structure générale de tanins condensés	18
11	Structures chimiques de lignine	19
12	Structure d'une molécule de coumarine	19
13	Structure chimique de stilbène	20
14	Extracteur de Soxhlet	21
15	Effets biologiques des polyphénols	27
16	Protocole d'extraction des composés phénoliques	34
17	Structure du radical DPPH et DPPH réduit	36
18	Protocole d'évaluation de l'activité antimicrobienne d'un extrait végétal	40
19	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux	43
20	Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux.	44
21	Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tannins condensé	45
22	Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le test DPPH	45

23	Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique pour le test DPPH	46
24	Pourcentage d'inhibitions de l'extrait éthanolique de <i>Salvia chudaei</i> contre le radical libre DPPH.	46
25	Histogramme des résultats de concentrations inhibitrices 50 % de DPPH	47
26	Effet de l'extrait de <i>Salvia chudaei</i> sur la <i>Salmonella typhi</i>	48
27	Effet de l'extrait de <i>Salvia chudaei</i> sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	48
28	Effet de l'extrait de <i>Salvia chudaei</i> sur <i>Escherichia coli</i>	49
29	Effet de l'extrait de <i>Salvia chudaei</i> sur <i>Staphylococcus aureus</i>	49
30	Effet de l'extrait de <i>Salvia chudaei</i> sur <i>Listeria innocua</i>	50
31	Effet de l'extrait de <i>Salvia chudaei</i> sur la souche <i>Fusarium culmorum</i>	51
32	comparaison le pouvoir antimicrobienne de l'extrait éthanolique sur les souches testé a la dose 5 mg/ml	52
33	Pourcentage anti-hémolytique d'acide ascorbique	53
34	Pourcentage anti-hémolytique d'extrait éthanolique	53
35	Pouvoir anti-hémolytique de l'extrait éthanolique de concentration 1 mg /ml	54

Liste des photos

N°	Titre des photos	Page
01	Poudre de la plante <i>Salvia chudaei</i> Batt. & Trab	28
02	Milieux des cultures (gélose Mueller Hinton, Saboroud et gélose nutritive).	32
03	Antibiotiques IPM10 et CIP5.	32
04	Stérilisation les disques à L'autoclave	38

Liste des tableaux

N°	Titre des tableaux	Page
I	Quelques espèces d'intérêt pharmacologique de la famille des Lamiaceae	5
II	Activités biologiques des composés phénoliques de quelques plantes de genre	7
III	Classification des composés phénoliques	12
IV	Différents classes des flavonoïdes	15
V	Souches microbiennes ciblées	29

LISTE DES ABREVIATIONS

- **Abs** : absorbance.
- **AlCl₃** : Trichlorure d'aluminium.
- **ATCC**: American type culture collection.
- **C°** : Degré Celsius.
- **CLIP** : Collection Institute Pasteur.
- **Da** : Dalton.
- **DMSO**: Diméthyle sulfoxyde.
- **DO** : Densité Optique.
- **DPPH**: 2,2-diphényl-1-picryl hydrazyl.
- **EC₅₀ (IC₅₀)** : concentration inhibitrice à 50 %.
- **FeCl₃**:Trichlorure de fer.
- **FVT**: Flavonoïdes totaux.
- **H₂O₂**: Peroxyde d'hydrogène.
- **m/v**: masse/volume.
- **Méch** : Masse sèche de l'échantillon végétal en g.
- **Mext** : Masse de l'extrait après évaporation du solvant en g.
- **Mg EAG/ g E** : Milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait.
- **Mg EC/ g E** : Milligramme d'équivalent catéchine par gramme d'extrait.
- **Mg EQ/ g E** : Milligramme d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait.
- **mg/ml**: milligramme/ millilitre.
- **mm**: millimètre.
- **nm** : nanomètre.
- **OMS** : Organisation Mondiale de la Santé.
- **P/V** : Poids /Volume.
- **PPT**: Polyphénols totaux.
- **ROS**: Espèces réactives oxygénées.
- **TC**: Tanins Condensé.
- **tr/min** : Tour par minute.
- **UV**: Ultraviolet.
- **V/V**: Volume/Volume.
- **µl**: microlitre.

SOMMAIRE

Dédicaces
Remerciement
Résumé et mots-clés
Liste des figures
Liste des photos
Liste des tableaux
Introduction
Première Partie Synthèse Bibliographique

Chapitre 1 Généralités sur l'espèce *Salvia chudaei*

1.1. Famille des Lamiaceae	3
1.1.1. Chimie des Lamiaceae	3
1.1.2. Intérêt nutritionnel et pharmacologique	3
1.1.3. Toxicité	4
1.2. Genre <i>Salvia</i>	5
1.2.1. Présentation	5
1.2.2. Propriétés pharmacologiques des <i>Salvia</i>	6
1.3. Espèce <i>Salvia chudaei</i> Battandier&Trabut	8
1.3.1. Position systématique	8
1.3.2. Répartition géographique	9
1.3.3. Utilisation traditionnelle	10
1.3.4. Travaux antérieurs sur la plante	10

Chapitre 2 Généralités sur les composés phénoliques

2.1. Les polyphénols	11
2.1.1. Classification des composés phénoliques	12
2.1.2. Biosynthèse des composés phénoliques	13
2.2. Polyphénols monomériques (Les phénols simples)	13
2.2.1. Acides phénoliques	13
2.2.2. Flavonoïdes	14
2.2.2.1. Structure chimique et classification	14

2.2.2.2. Classification des flavonoïdes	15
2.2.2.3. Quelques propriétés des flavonoïdes	16
2.2.2.4. Activités biologiques des flavonoïdes	16
2.3. Polyphénols sous forme de polymères	17
2.3.1. Tanins.....	17
2.3.2. Lignines	18
2.3.3. Coumarines	19
2.3.4. Stilbènes.....	20
2.4. Méthodes d'extractions des composés bioactifs à partir des plantes	20
2.4.1. Les méthodes classiques	20
2.4.2. Les méthodes alternatives	22
2.5. Propriétés biologiques des polyphénols	23
2.6. Rôle des polyphénols dans les plantes.....	26

Deuxième partie Etude expérimentale

Chapitre 1 Matériels et Méthodes

1.1. Matériels	28
1.1.1. Matériels biologique	28
1.1.1.1. Matériel végétal.....	28
1.1.1.2. Microorganismes ciblées.....	28
1.1.2. Matériels de laboratoire	31
1.1.3. Réactifs chimiques et solvants	31
1.1.4. Milieux de culture	31
1.1.4. Antibiotiques (ATB) en disque.....	32
1.2. Méthodes	33
1.2.1. Extraction des composés phénoliques	33
1.2.2. Détermination de rendement.....	33
1.2.3. Analyse quantitative.....	35
1.2.3.1. Dosage de polyphénols totaux (PPT)	35
1.2.3.2. Dosage de Flavonoïdes (FVT)	35
1.2.3.3. Dosage de tanins condensés (TC)	35
1.2.4. Activités biologiques	36
1.2.4.1. Activité antioxydante (test DPPH).....	36

1.2.4.2. Activité antimicrobiene	37
1.2.4.3. Activité anti-hémolytique.....	41
1.3 Analyses Statistiques	42

Chapitre 2 Résultat et Discussions

2.1. Résultats	43
2.1.1. Rendement d'extraction des composés phénoliques	43
2.1.2. Dosage des composées phénoliques	43
2.1.2.1. La teneur en polyphénols totaux (PPT)	43
2.1.2.2. La teneur des Flavonoïdes (FVT).....	44
2.1.2.3. La teneur des tanins condensé (TC)	44
2.1.3. Evaluation l'activité antioxydante	45
2.1.4. Evaluation Activité antimicrobien	47
2.1.5. Evaluation Activité anti-hémolytique	52
2.2. Discussion.....	55
Conclusion.....	63
Références Bibliographiques.....	65
Annexes	

Introduction

Depuis très longtemps, les plantes médicinales jouent un rôle déterminant dans la conservation de la santé des hommes et dans la survie de l'humanité (**Iserin, 2001 ; Machiex et al., 2005**). Selon l'organisation Mondiale de la Santé (OMS), plus de 4000 sont des plantes médicinales, ce qui constitue 90% de la médecine traditionnelle en Afrique (**OMS, 2003**). L'Algérie dispose d'une grande diversité floristique en particulier saharienne spontanée à des utilisations thérapeutiques très intéressantes (**Hamzaa et al., 2010**). Tamanrasset est une région montagneuse du Sahara méridional algérien, où les plantes médicinales suscitent un intérêt aussi bien par les habitants que par les scientifiques (**Benchelah et al., 2004**).

Actuellement les industriels développent de plus en plus de procédés mettant en œuvre des extraits et des principes actifs d'origine végétale. Parmi ces nouveaux composés potentiellement intéressants, les antioxydants, tels que les polyphénols, qui ont été particulièrement étudiés en raison de leur utilisation dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires pour leurs effets bénéfiques pour la santé (**Hirasa et Takemasa, 1998**), nombreuses études ont démontré la capacité des composés phénoliques pour protéger les globules rouges contre les stress oxydatifs cette activité s'appelle anti-hémolytique (**Valente et al., 2010**). Aussi que les polyphénols jouent un rôle de protection des plantes contre les invasions microbiennes, et présentent d'autres mécanismes d'action de lutte contre les champignons, bactéries et virus. Ces propriétés antifongiques et antivirales trouvent de nombreuses applications en médecine humaine (**Xia et al., 2011**).

Selon des statistiques récentes, on estime que deux tiers des médicaments actuels ont une origine naturelle (**Morel, 2011**), obtenus par hémi-synthèse, à partir d'un pharmacophore ou par modification des produits naturels. Seul un tiers des médicaments commercialisés possède donc une origine purement synthétique (**Verpoorte et al., 2002**).

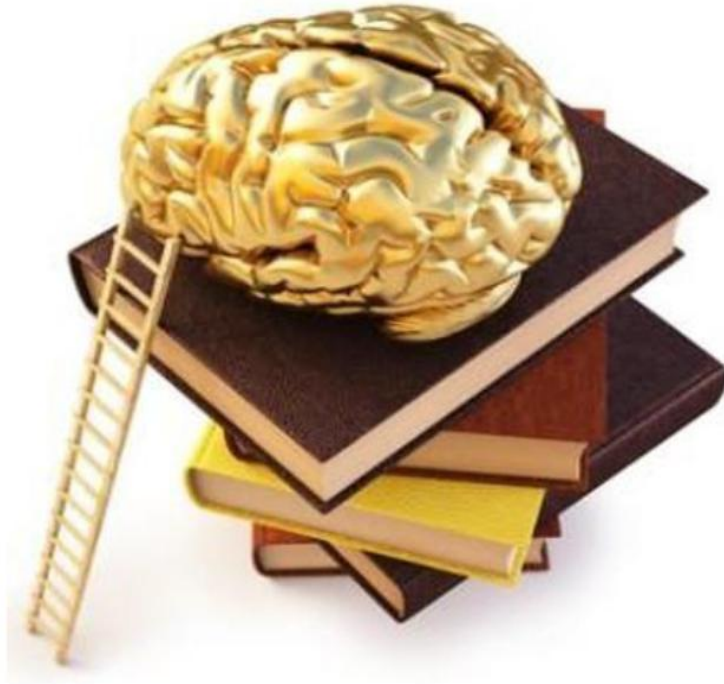
Les extraits bruts, naturels de ces composés et l'isolement à partir des plantes utilisées en médecine traditionnelle, peuvent être des ressources de nouveaux médicaments (**Karmakar et al., 2011**). Ainsi, les plantes peuvent être considérées comme des réservoirs de molécules bioactives encore peu explorées. Les substances naturelles et les plantes en particulier représentent, entre autres, une immense source des composés phénoliques (acide phénolique, flavonoïdes, flavonols, tannins condensés...) (**Karmakar et al., 2011**).

L'objectif visé par notre étude, consiste à l'étude phytochimique de la partie aérienne de *Salvia chudaei* de la région de Tamanrasset. Ainsi que sur l'évaluation de l'activité antioxydante, antimicrobienne et anti-hémolytique des globules rouges.

Cette étude a été divisée en deux parties, dans la première partie nous présentons une synthèse bibliographique qui regroupe deux chapitres dont le premier concerne la description

de plante *Salvia chudaei* et le deuxième chapitre englobe les généralités sur les composés phénoliques. La deuxième partie est expérimentale consacrée à la présentation des travaux pratiques va divise en deux chapitre, dans le premier chapitre décrit les matériels et les méthodes utilisées dans ce travail qui porte sur : extraction de l'extrait éthanolique par macération et détermination la teneur de polyphénols totaux, de flavonoïdes et de tanin enfin évaluation d'activité antioxydante par le test de piégeage du radical DPPH, l'activité antimicrobien et hémolytique des globules rouges de extrait phénoliques de *Salvia chudaei*. Le deuxième chapitre englobe l'analyse et l'interprétation des résultats obtenus, enfin une conclusion.

Première partie



Synthèse Bibliographique

Chapitre 1
Généralités sur l'espèce
Salvia chudaei

1.1. Famille des Lamiaceae

La famille Lamiaceae (Labiatae) est composée de 236 genres et 7136 espèces, et l'une des premières à être distinguées par les botanistes (**Pistrick, 2002 ; Alice et al., 2016**), ceci par la particularité de ses caractères. Ce sont généralement des plantes herbacées odorantes, à tiges quadrangulaires, feuilles en général, opposées sans stipules. Le plus souvent hermaphrodites, les fleurs pentamères (**Meyer et al., 2004**) sont généralement réunies en cymes axillaires plus ou moins contractées simulant souvent des verticilles, ou encore condensées au sommet des tiges, et simulant des épis fruit constitué par 4 akènes plus ou moins soudés par leur face interne (**Messaili, 1995**).

- Une corolle gamopétale irrégulière à deux lèvres, la supérieure formée de deux pétales, l'inférieure de trois ;
- Quatre étamines dont deux plus longues ;
- Ovaire de deux carpelles recoupés par une cloison et comprenant ainsi quatre loges à une graine chacun (tétra chaine) ;
- Des feuilles opposées et, souvent, une tige de section carrée. (**Hammoudi, 2015**).

Ces caractères varient selon les genres : corolle presque régulière (*Mentha*) ou unilabiée (*Teucrium*) ; deux étamines (*Salvia*) (**Quezel et Santa, 1963 ; Ozenda, 1977**).

Elles sont surtout des plantes méditerranéennes (**Carrubba et al., 2006**), qui ne se rencontrent guère que dans la région présaharienne et dans l'étage supérieur du Hoggar, sauf les trois espèces *Marrubium deserti*, *Salvia aegyptiaca* et *Teucrium polium* qui sont plus largement répandues (**Ozenda, 1977**).

La famille des Lamiaceae est très importante dans la flore algérienne, mais certains genres sont de détermination délicate en raison de la variabilité extrême des espèces (**Quezel et Santa, 1963**).

1.1.1. Chimie des Lamiaceae

La famille des Lamiaceae est très étudiée du point de vue chimique, ce qui a permis d'isoler un grand nombre de substances connues pour leurs diverses activités biologiques, telles que les huiles essentielles, les terpenoïdes, les composés phénoliques et les flavonoïdes (**Naghibi et al., 2005**).

1.1.2. Intérêt nutritionnel et pharmacologique

Cette famille est l'une des principales sources de légumes et de plantes médicinales du monde entier. Les espèces de *Mentha*, *Thymus*, *Salvia*, *Origanum*, *Coleus* et *Ocimum* sont utilisées comme des légumes, des arômes alimentaires et dans l'industrie du bois (*Tecton*). En

culture ornementale d'intérieur, on retrouve quelques espèces du genre *Satureja* (*Satureja hortensis*), crosne de *Tubifera*, *Salvia* et *Coleus* (Meyer *et al.*, 2004 ; Messaili, 1995).

Notons également que plusieurs espèces de cette famille sont utilisées en médecine traditionnelle et moderne, comme *Lavandula*, *Teucrium*, *Thymus* et *Salvia* (Naghibi *et al.*, 2005). Plusieurs travaux, réalisés *in vitro* et *in vivo*, rapportent des résultats Intéressants pour certaines molécules antioxydants d'origine végétale telles que les dicatéchols, la curcumine, les tri terpènes pentacycliques et les flavonoïdes (Hasani *et al.*, 2007 ; Gabrieli *et al.*, 2005 ; Djeridane *et al.*, 2007 ; Lopez *et al.*, 2007).

Dans la pharmacopée traditionnelle africaine, les plantes de la famille Lamiaceae sont utilisées comme diurétique, anti-syphilitique, anti-diarrhéique, cicatrisante, antiseptique et dans le traitement de nombreuses affections telles que les problèmes intestinaux ou encore le météorisme (ballonnement du ventre, dû à des gaz). De nombreuses espèces de cette famille ont confirmé leur intérêt pharmacologique dans la littérature et qui peuvent être citées à titre indicatif dans le tableau I (Naghibi *et al.*, 2005).

1.1.3. Toxicité

La plante peut être toxique sous toutes ses formes fraîche et sèche, jeune ou en fleur (Ozenda, 1977). Les études scientifiques montrent que les huiles essentielles peuvent présenter une certaine toxicité. Il faut cependant remarquer que celle-ci varie selon la voie d'exposition et la dose prise (concentration) concernent principalement des enfants et en dehors du cadre classique d'utilisation. Ces expositions se fait par ingestion, par contact, par inhalation qui peut induire ou aggraver des problèmes respiratoires (une diminution de la fonction pulmonaire et une augmentation de la sensation de poitrine oppressée, une respiration sifflante augmenter l'asthme chez les populations sensibles). Le manque évident de données sur la toxicité des huiles pour l'homme invite cependant à la prudence quant aux conclusions à tirer (Ba et Settour, 2018).

Tableau I : Quelques espèces d'intérêt pharmacologique de la famille des Lamiaceae
(Naghbi *et al.*, 2005)

Nom scientifique	Nom vernaculaire	Activité pharmacologique
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Romarin / Herbe aux couronnes / Encensier	Insecticide, anti-nociceptive, antioxydant, diurétique
<i>Lavetula stoechas</i>	Lavette à toupet	Anti-convulsante, calmante, antispasmodique
<i>Thymus vulgaris</i>	Thym commun / Farigoule	Anti-inflammatoire, fongicide, provoque l'agrégation de plaquettes, Antispasmodique.
<i>Satureja khuzistanica</i> Jamzad	Marzeh Khuzestani	Anti hyper lipidémique, antidiabétique, antioxydant
<i>Melissa officinalis</i> L.	Barangbo Badranjbuyeh Yerbabuena	Relaxant, activités antimicrobiennes, agglutination du récepteur antioxydant, anti-inflammatoire, antiviral (Anti-HIV), cytotoxique, analgésique.
<i>Nepeta cataria</i> L.	Alaf-egorbehdashti	Activités antimicrobiennes et répulsives
<i>Ocimum basilicum</i> L.	Reyhan.	Activités antimicrobiennes Antioxydant et anti-inflammatoire
<i>Zhumeria majdae</i>	Albacar	Anti-nociceptive et anti-inflammatoire

1.2. Genre *Salvia*

1.2.1. Présentation

Salvia vient du mot latin "Salvare", qui veut dire : Guérir, sauver. C'est une plante magique qui sauve des vies humaines (Fellah *et al.*, 2006). Le genre *Salvia* (Sauge) fait partir des genres les plus importants de la famille des Lamiaceae, comprenant près de 900 espèces réparties dans le monde entier. L'Algérie compte 23 espèces du genre *Salvia* (Quezel et Santa,

1963).

Cette sauge se présente comme un arbrisseau vivace très rameux, de couleur gris bleuté, due aux poils la couvrant entièrement. Elle mesure environ 30 à 40 cm de haut et possède des tiges très feuillues. Les feuilles sont étroites et allongées, crispées sur la marge. A l'extrémité des tiges, les inflorescences en épis portent de longs poils laineux qui masquent les petites fleurs bleu pâle. La plante entière dégage une odeur puissante et agréable, un peu camphrée (**Sahki et al., 2004**) .

1.2.2. Propriétés pharmacologiques des *Salvia*

Le genre *Salvia* est très utilisé en pharmacopée traditionnelle. Divers usages dans le traitement de certains des maladies comme le rhume, bronchite, douleurs, infections et hémorragie (**Bahadori et Mirzaei, 2015**).

Ces plantes sont utilisées pour traiter les infections microbiennes, les symptômes associés aux cancers la diarrhée, les maladies des yeux (**Abdulhamid et al., 2013 ; Kamatou et al., 2008**).

Les activités biologiques pour lesquelles ces espèces sont utilisées sont très diverses, on peut citer : l'activité anti cholinestérase, antibactérienne, antioxydante, antifongique, anti-inflammatoire et anticancéreuses (**Perry et al., 2003 ; Kamatou et al., 2010 ; Tepe et al., 2005 ; Kan et al., 2007 ; Kotan et al., 2008 ; Li et al., 2009 ; Hu-Quan et al., 2009**). Antidiabétique, antispasmodique et antiseptique. En outre, les espèces peuvent être utilisées en tant qu'alternative de conservation des denrées alimentaires traditionnelles (**Abdulhamid et al., 2013 ; Kahraman et al., 2010**).

On peut citer quelque exemple de ces espèces :

- Les racines de *Salvia miltiorrhiza* et de *S. grandifolia* sont utilisées pour traiter les maladies cardiovasculaires.
- *Salvia officinalis* (la sauge) : Cette espèce présente plusieurs activités biologiques dont une activité antidiabétique, anticancéreuse, antiinflammatoire, antivirale. Elle a également des effets sur les problèmes nerveux et cardiovasculaires (**Bouaziz et al., 2009**).
- *Salvia spinosa* Cette sauge est utilisée pour le traitement de la diarrhée, les troubles urinaires et pour les pieux et douleurs de l'estomac (**Bahadori et al., 2015**).
- *Salvia fruticosa* a des effets sur diverses maladies de la peau, du sang, et les maladies infectieuses, ainsi que des maladies de l'appareil digestif, circulatoire, respiratoire, et des systèmes de l'ostéome musculaires. Elle est également utilisée comme une herbe hypoglycémique et contre les inflammations, l'hépatite et la tuberculose (**Abdulhamid**

et al., 2013).

- L'espèce *Salvia divinorum* est utilisée sous forme d'infusion soit comme un tonique, soit comme un remède pouvant guérir divers maux. La feuille peut être appliquée sur le front du patient comme un cataplasme utilisée comme : diurétique, contre la diarrhée, l'anémie, les rhumatismes et les maux de tête (**Siebert, 1994**).

Tableau II résume les composés phénoliques majeur présenté dans des quelques genre de *Salvia*, et son activité biologique.

Tableau II : Activités biologiques des composés phénoliques de quelques plantes de genre *Salvia* (**Khenfer et al.**, 2016).

Espèces	Composés phénoliques	Activités biologiques
<i>Salvia officinalis</i> L.	Acide gallique, Acide caféique, Aciderosmarinique , Acides phénoliques.	Antioxydante
<i>S. africana</i> – <i>Caerulea</i>	Acide caféique Acide rosmarinique Acide carnosique	Antioxydante (ABTS, DPPH) et Anti-inflammatoire
<i>S. africana-lutea</i>	Acide rosmarinique Acide carnosique	
<i>S. albicaulis</i>	Acide caféique Acide rosmarinique Carnosole	
<i>S. virgata</i> , <i>S. nemorosa</i> , <i>S. officinalis</i> , <i>S. sclarea</i> <i>S. persica</i> , <i>S. reuterana</i> <i>S. cereal</i>	Composé sphénoliques	Antioxydante
<i>S. bulleyana</i> , <i>S. campanulata</i> <i>S. castanea</i>	Acide caféique, Aciderosmarinique Acide salvianolique	Antioxydante

1.3. Espèce *Salvia chudaei* Battandier & Trabut

Cette sauge se présente comme un arbrisseau vivace très rameux, de couleur gris bleuté. Elle mesure environ 30 à 40 cm de haut et possède des tiges striées très feuillues. Les feuilles sont étroites et allongées, crispées sur la marge. A l'extrémité des tiges, les inflorescences en épis portent de longs poils laineux qui masquent les petites fleurs d'un bleu pâle. La plante entière dégage une odeur puissante et agréable, un peu camphrée (**Ozenda, 1977**).

- ✓ Nom Tamahaq : Awhihat.
- ✓ Nom vernaculaire (Français) : Sauge sauvage.
- ✓ Nom arabe : Tagroufte (**Hammiche et Maiza, 2006**).



Figure 01 : *Salvia chudaei* Battandier & Trabut (**Hammoudi, 2015**).

1.3.1. Position systématique

La taxonomie de *Salvia chudaei* selon (**Quezel et Santa, 1963**) :

Règne : Plantae.

Classe : Dicotylédones

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Salvia*

Espèce : *Salvia chudaei* Battandier & Trabut



Figure 02 : Feuilles de *Salvia chudaei*
(Hammoudi, 2015).



Figure 03 : Fleurs de *Salvia chudaei*
(Hammoudi, 2015).

1.3.2. Répartition géographique

Espèce caractéristique de la souche d'endémisme continentale insulaire des montagnes sahariennes ; Ses aires de répartition sont le Hoggar, Tassili, Tibesti assez commune dans le secteur du Sahara central et dans les Oueds rocailleux (Quezel et Santa, 1963 ; Le Houerou, 1995) ou dans d'autres à sables grossiers. On la rencontre par petites colonies aussi bien en altitude, à Dider ou dans les oueds de l'ouest, qu'au pied du plateau (Sahki et Sahki, 2004 ; Benchelah *et al.*, 2011).

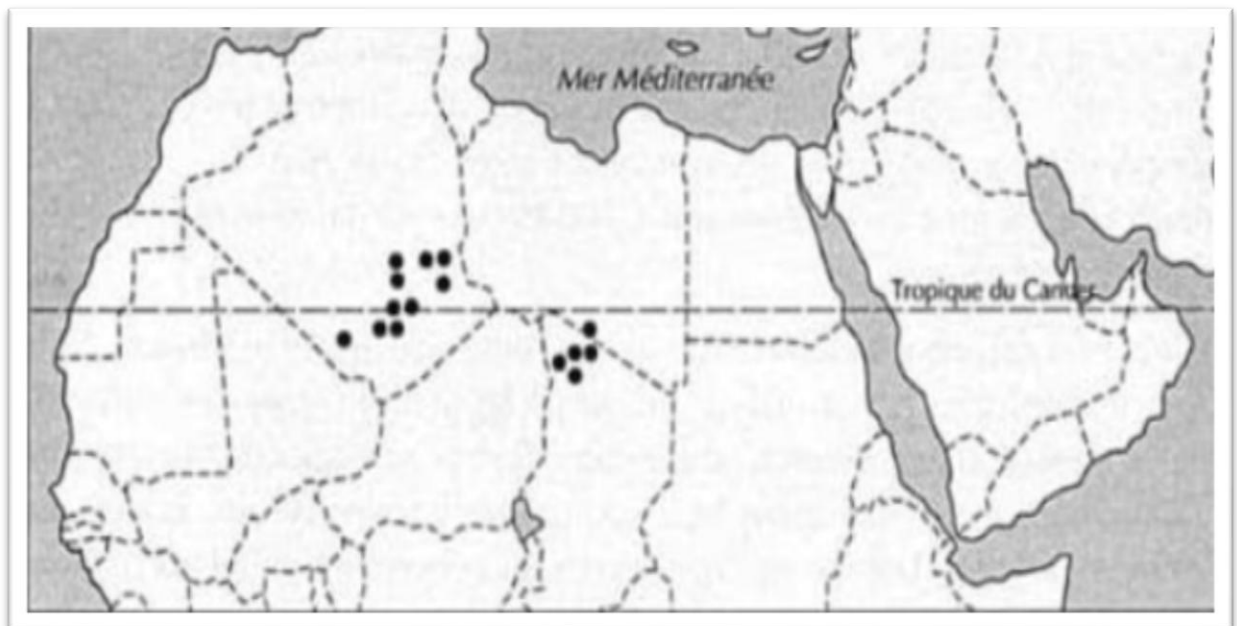


Figure 04 : Répartition de *Salvia chudaei* dans les montagnes sahariennes (Jean-pierre, 2001).

1.3.3. Utilisation traditionnelle

C'est une plante qui dégage une odeur agréable. Elle a des usages médicaux et culinaires multiples. *Salvia chudaei* est utilisée pour les douleurs abdominales, les spasmes et les règles douloureuses, dysménorrhée (**Hammiche et Maiza, 2006**), Elle est utilisée contre les rhumatismes et pour soulager les ulcères d'estomac. Elle peut être agréablement le thé des Touaregs. En cuisine, on l'ajoute à certains plats en condiment, à la viande ou aux bouillies de mil. Il s'agit aussi d'un pâturage possible (**Ozenda, 1977 ; Sahki et Sahki, 2004 ; Benchelah et al., 2011**).

1.3.4. Travaux antérieurs sur la plante

D'après la littérature consultée, il y a deux études sur les composés phénoliques de *Salvia chudaei* dans l'Algérie, le premier travail sur l'extraction des composés phénoliques par deux méthodes, la première est assistée par ultrasons avec une optimisation des conditions d'extraction (solvant, % de solvant, temps, température), et la seconde a été réalisée par macération dans des solvants de polarité croissante. Chaque extrait a été caractérisé par sa couleur, son rendement par rapport à la drogue sèche, son contenu phénolique total et flavonoïde total. Les résultats ont montré que les conditions optimales se sont avérées être l'éthanol comme solvant, une durée de 40 min et une température de 15 °C. Le potentiel antiradicalaire des extraits a été déterminé par quatre méthodes différentes : le test de DPPH, le FRAP, l'ABTS et le test de Phosphomolybdate. Les tests biologiques effectués dans ce travail ont montré un effet antimicrobien remarquable sur les différentes souches microbiennes testées : *Staphylococcus aureus* ATCC 27923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Proteus mirabilis* ATCC 39452, *Enterobacter cloacae* ATCC 13047, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 et *Candida albicans*. (**Hammoudi, 2015**). Est un deuxième travail sur les activités antioxydant (par le test de DPPH et le test d'acide β -carotène-linoléique), antimicrobienne (contre 9 bactéries et une levure) et aussi l'activité cytotoxique de l'extrait hydrométhanolique des parties aériennes de *Salvia chudaei* (**Krimat et al., 2015**).

Chapitre 2

Généralités sur les composés phénoliques

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées par les plantes autotrophes (**Boudjouref, 2011**). Ce sont caractérisés généralement par de faible concentration dans les tissus végétaux (généralement quelques pourcents du carbone total, si on exclue la lignine de cette catégorie) (**Newman et Cragg, 2012**), aussi n'exercent pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de la plante (**Guignard, 1996**).

Biosynthétisés à partir de métabolites primaires et jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement, contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème. En 1987 Plus de 8500 métabolites secondaires sont déjà connus. Les plus grands groupes sont les alcaloïdes, les terpénoïdes, les stéroïdes et les composés phénoliques. Ils présentent une énorme valeur économique (en particulier pour l'industrie pharmaceutique et la cosmétique) (**Peeking et al., 1987**).

2.1. Les polyphénols

L'appellation « polyphénols » ou « composés phénoliques » regroupe un vaste ensemble de plus de 8 000 molécules, divisées en une dizaine de classes chimiques, qui présentent toutes un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) (Figure 05) (**Hennebelle et al., 2004**).

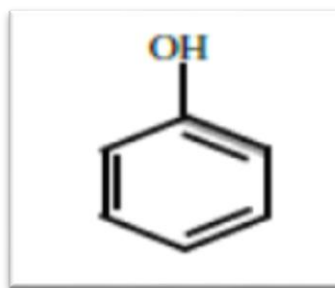


Figure 05 : Structure du noyau phénol (**Achat, 2013**).

Les principales classes de composants phénoliques sont : les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique, acide chlorogénique), les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins, et les coumarines (**King et Young, 1999 ; Tapiero et al, 2002**). Les polyphénols sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racine, tiges, feuilles, fleurs, fruits (**Boizot et Charpentier, 2006**).

Les composés phénoliques interviennent dans différents aspects de la vie de la plante, ils sont ainsi impliqués dans la physiologie de la plante (lignification, interactions symbiotiques...), dans les mécanismes de défenses de la plante (interactions biotiques et abiotiques) ou en conduisant la coloration des fleurs. Par ailleurs ils sont bénéfiques pour

l'homme vis-à-vis de certaines maladies de par leur action sur le métabolisme humain et leur propriété antioxydante (**Michel, 2011**).

2.1.1. Classification des composés phénoliques

La classification de ces substances a été proposée par (**Harborne, 1980**). On peut distinguer les différentes classes des polyphénols en se basant d'une part, sur le nombre d'atomes constitutifs et d'autre part, sur la structure de squelette de base, principales classes sont largement répandues (**Macheix *et al.*, 2006**), le tableau III présente les différents classe des composés phénoliques.

Tableau III : Classification des composés phénoliques (**Vermerris et Icholson, 2007**).

Structure	Classe
C6	Phénol simple
C6-C1	Acide phénolique et composante liée
C6-C2	Acetophenone et acide phenylacetique
C6-C3	Acide cinnamique, aldéhyde cinnamyle et alcool cinnamyle
C6-C2	Coumarine, isocoumarine et chromone
C15	Chalcones, aurones, dihydrochalcones
C15	Flavanes
C15	Flavones
C15	Flavonones
C15	Flavonoles
C15	Anthocyanidines
C15	Anthocyanines
C30	Biflavonyls
C6-C1-C6, C6-C2-C6	Benzophenones, xanthones, stilbenes
C18	Quinones
Lignans, neolignans	Betacyanines
Lignin	Dimers ou oligomers
Tannins	Oligomers ou polymers
Phlobaphenes	Polymers

2.1.2. Biosynthèse des composés phénoliques

Les polyphénols sont synthétisés par de deux voies biosynthétique (voie de Shikimate et voie des phénylpropanoïdes).

2.1.2.1. La voie de Shikimate

C'est souvent la voie de biosynthèse des composés aromatiques, elle joue un rôle critique pour contrôler le métabolisme de la voie de phénylpropanoïde (**Laaboudi, 2012**).

2.1.2.2. La voie des phénylpropanoïdes

La voie de phénylpropanoïde commence par la phénylalanine (Phe) qui fournit en plus des principaux acides phénoliques simples, coumarines, isoflavonoïdes, flavonoïdes, acide salicylique, des précurseurs de lignine, qui est quantitativement le second biopolymère le plus important après la cellulose (**Harrar, 2012**) De plus la diversité structurale des composés polyphénoliques due à cette double origine biosynthétique, est encore accrue par la possibilité d'une participation simultanée des deux voies dans l'élaboration de composés d'origine mixte (**Martin et Tsitohaina, 2002**).

2.2. Polyphénols monomériques (Les phénols simples)

2.2.1. Acides phénoliques

Les acides phénoliques, ou acides phénols ont une fonction acide et plusieurs fonctions phénols, Ils sont incolores et plutôt rares dans la nature (**Haslam, 1994**). Ils se divisent en deux classes : les dérivés de l'acide benzoïque (les acides hydroxycinnamiques) et les dérivés de l'acide cinnamique (les acides hydroxybenzoïques) (**Pandey et Rizvi, 2009**).

2.2.1.1. Acide phénols dérivés d'acide benzoïque

Sont des hydroxybenzoïques et ont une structure générale de base de type (C6-C1) (figure 06), ces molécules existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides (**Harrar, 2012**). Les plus répandus sont : l'acide salicylique et l'acide gallique (**Bruneton, 1999**).

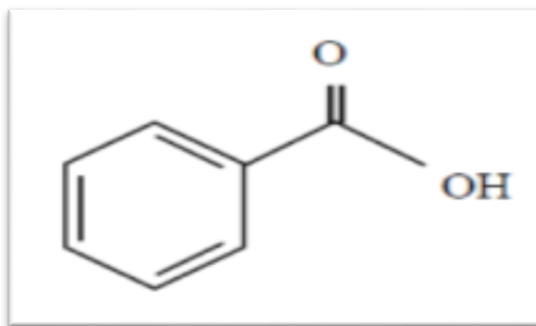


Figure 06 : Acide benzoïque (Pawlowska *et al.*, 2006).

2.2.1.2. Acide phénols dérivés d'acide cinnamique

Les acides phénols dérivés de l'acide cinnamique (figure 07) sont souvent estérifiés. Les plus courants sont l'acide cinnamique, l'acide caféïque, l'acide férulique, l'acide p-coumarique et l'acide synaptique (Haslam, 1994).

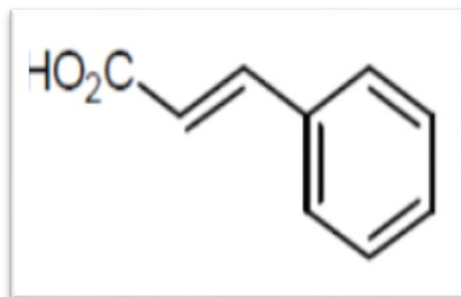


Figure 07 : Acide cinnamique (Gorham, 1977).

2.2.2. Flavonoïdes

Le terme flavonoïde (de flavus, « jaune » en latin) sont les principaux métabolites secondaires végétaux (Ralston *et al.*, 2005). Ils constituent un grand groupe de composés phénoliques ayant une structure benzo- γ -pyrone et sont omniprésents dans les plantes. Ils sont synthétisés par voie des phénylpropanoïdes (Winkel-Shirle, 2000). Ils se trouvent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycosides, en général dans toutes les plantes vasculaires, ou ils peuvent être localisés dans divers organes comme les racines, les tiges, les feuilles, les fleurs et les fruits (Havsteen *et al.*, 2002). Plus de 4000 variétés de flavonoïdes ont été identifiés, dont beaucoup sont responsables des couleurs attrayantes de fleurs, de fruits, et des feuilles (Nijveldt *et al.*, 2001 ; Batra & Sharma, 2013).

Les flavonoïdes ont été désignés sous le nom de vitamine P, en raison de leur efficacité à normaliser la perméabilité des vaisseaux sanguins, cette dénomination fut abandonnée lorsqu'on se rendit compte que ces substances ne correspondaient pas à la définition officielle des vitamines, il devient clair que ces substances appartiennent aux flavonoïdes (Harrar, 2012).

2.2.2.1. Structure chimique et classification

Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune, par conséquent, il possède tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone, constitué de deux noyaux aromatiques (noyaux A et B) et d'un hétérocycle central C (figure 08) (Erdman *et al.*, 2007).

La nature chimique des flavonoïdes dépend de leur classe structurale, de degré d'hydroxylation et de méthylation, de degré de polymérisation, des substitutions et des conjugaisons sur le cycle C c'est-à-dire la présence : de double liaison C2-C3, du groupe 3-O et la fonction 4-oxo (Yaol *et al.*, 2004).

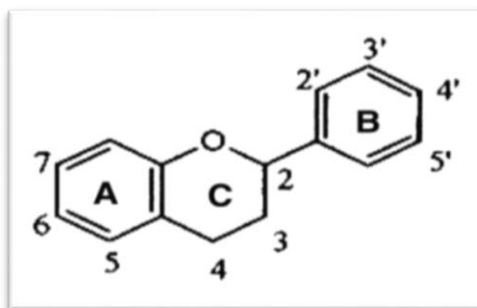


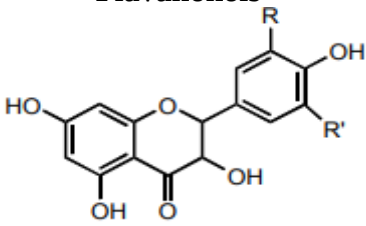
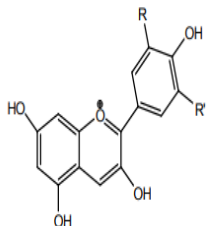
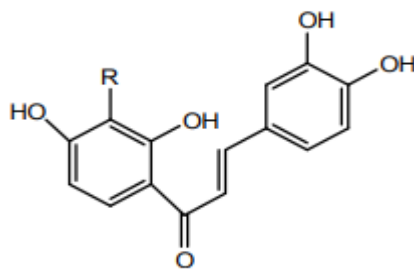
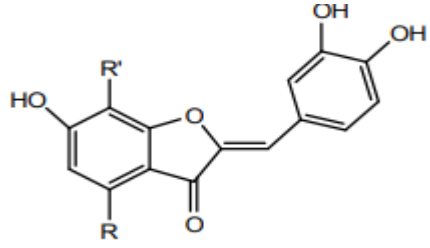
Figure 08 : structure de base des flavonoïdes (Erdman *et al.*, 2007; Stefk, 2011).

2.2.2.2. Classification des flavonoïdes

Le tableau IV présenté les différents classes des flavonoïdes.

Tableau IV : Différents classes des flavonoïdes (Nkhili, 2009).

Flavonols $R=R'=H$: Kaempférol $R=OH, R'=H$: Quercétine $R=OCH_3, R'=H$: Isorhamnétine $R=R'=OH$: Myricétine	Flavones $R=R'=H$: Apigénine $R=OH, R'=H$: Lutéoline $R=R'=OCH_3$: Tricine
Flavan-3-ols $R=R'=H$: Afzélechine $R=OH, R'=H$: Catéchine $R=R'=OH$: Gallocatéchine	Flavanones $R=H$: Naringénine $R=OH$: Eriodictyol

Flavanonols  R = OH, R' = H: Taxifoline R = OH, R' = OH: Ampéloptol	Anthocyanes  R = R' = H : Pélagonidine R = OH, R' = H : Cyanidine R = OCH₃, R' = H : Péonidine R = R' = OH : Délphinidine R = R' = OCH₃ : Malvidine R = OH, R' = OCH₃ : Pétunidine
Chalcones  R = H : Butéine R = OH : Okanine	Aurones  R = R' = H: Sulphorétine R = OH, R' = H: Aureusidine R = H, R' = OCH₃: Leptosidine

2.2.2.3. Quelques propriétés des flavonoïdes

Les flavonoïdes protègent les plantes contre les radiations UV, elles sont également impliquées dans les processus de défense de la plante contre les infections bactériennes et virales. Agissent comme des pigments ou des Co-pigments. Peuvent moduler la distribution d'auxine, comme elles fonctionnent comme des signaux moléculaires de reconnaissance entre les bactéries symbiotiques et les légumineuses afin de faciliter la fixation de l'azote

Moléculaire. Agis sur la régulation de l'élongation des tiges et interviennent dans la maturité des fruits. Sont à l'origine des goûts amers et astringents afin de repousser les animaux herbivores (**Harrar, 2012**).

2.2.2.4. Activités biologiques des flavonoïdes

Comme cela a été démontré par de nombreux travaux, les flavonoïdes sont des molécules de défense contre les organismes pathogènes, leurs propriétés ont été exploitées pour leur un potentiel en thérapeutique contre les microorganismes. On leur reconnaît des activités antivirales, anti-tumorales, anti-inflammatoires, antiallergiques et anticancéreuses. Ils ont également des actions positives sur le diabète, les maladies d'Alzheimer et de Parkinson (**Saffidine, 2015**).

2.3. Polyphénols sous forme de polymères

2.3.1. Tanins

Les tanins sont des composés phénoliques complexes, hydrosolubles ayant un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da (**Kamra et al., 2006**). Ces composés naturellement produits par les plantes et se caractérisent par leur facilité à se combiner aux protéines (**Makkar, 2003 ; Mangan, 1988 ; Mcsweeney et al., 2001**). Grâce à la présence de plusieurs groupements hydroxyles phénoliques (**Khenaka, 2011**), Aussi à d'autre polymères organiques tels que des glucides, des acides nucléiques, des stéroïdes et des alcaloïdes, pour former avec eux des complexes stables (**Haslam, 1998**). Ils sont très répandus dans le règne végétal, mais ils sont particulièrement abondants dans certaines familles comme les *conifères*, les *Fagacée*, les *Rosacée* (**Ghestern et al., 2001**). Ils peuvent exister dans divers organes : l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines et les grains (**Khanbabae et Ree, 2001**). En général, ils sont subdivisés en deux groupes distincts en fonction du type de l'acide phénolique et du type de liaisons qui déterminent la taille et la réactivité chimique de la molécule (**Rira, 2006**).

2.3.1.1. Tanins hydrolysables

Sont des hétéro polymères (figure 09) possédant un noyau central constitué d'un polyol, il s'agit souvent d'un D-glucose ; comme leur nom l'indique, ces substances s'hydrolysent facilement en milieux acides et alcalins ou sous l'action d'enzymes (telle que la tannase), pour donner des glucides et des acides phénoliques (**Leinmüller et al., 1991**). Ils sont facilement scindés par les enzymes de tannases en oses et en acide phénol, selon la nature de celui-ci on distingue : les tanins galliques (Gallo tanins), ils donnent par l'hydrolyse des oses et de l'acide gallique et les tanins ellagiques (Ellagitanins), Ainsi sont scindés par les enzymes en oses et en acide ellagique (**Paris et Hurabielle, 1981**).

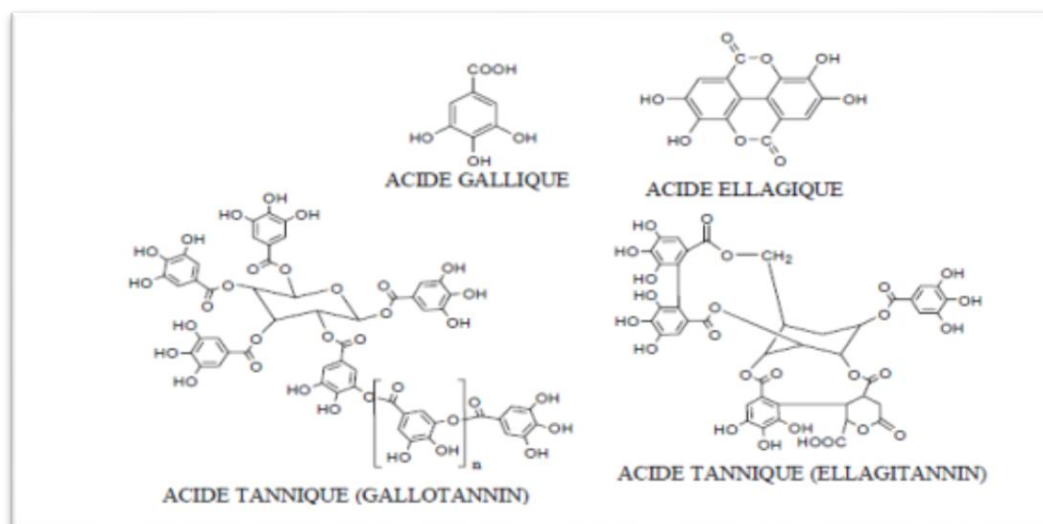


Figure 09 : Structure des tanins hydrolysables (Bruneton, 1999).

2.3.1.2. Les tanins condensés ou proanthocyanidols

Ce sont des tanins non hydrolysables (Dits catéchiques et proanthocyaniques), ils sont plus complexes que les tanins galliques (figure 10), ils possèdent un squelette phényl-2-chromane de flavonoïdes (Alilou, 2012). Il est admis aujourd'hui que ces tanins sont constitués par le mélange de produits de polymérisation oxydative de catéchines (flavan-3-ols) et de proanthocyanes (flavan-3,4-dioles), on peut les qualifier encore de tanins flavaniques (Richter, 1993).

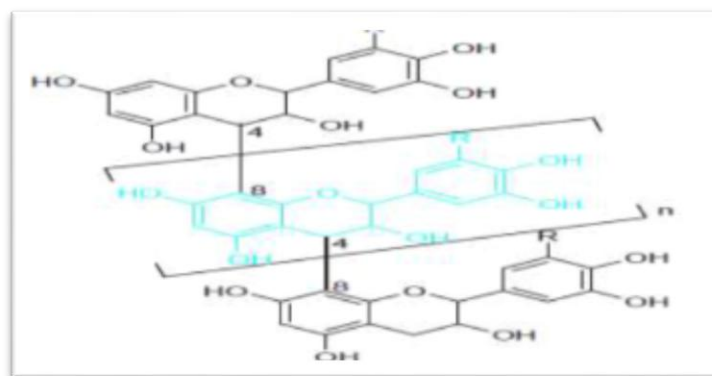


Figure 10 : Structure générale de tanins condensés (Gilbert et Norris, 1968).

2.3.2. Lignines

C'est l'un des polymères biosources les plus abondants sur Terre, elle constitue de 15 à 40% de la matière sèche des arbres et de 5 à 20% des tiges des plantes annuelles. C'est également le polymère aromatique naturel le plus abondant (figure 11) (Privas, 2013). Subissant les contraintes de la gravité, la lignine est apparue afin notamment de rigidifier les parois cellulaires (Cruz *et al.*, 2001).

Le rôle des lignines dans l'évolution des végétaux, ils forment une barrière mécanique, de goût désagréable, et réduisant la digestibilité des sucres de la paroi, les lignines participent à la résistance des plantes aux microorganismes et herbivores, la lignification est une réponse courante à l'infection ou la blessure (**Murry *et al.*, 1982**).

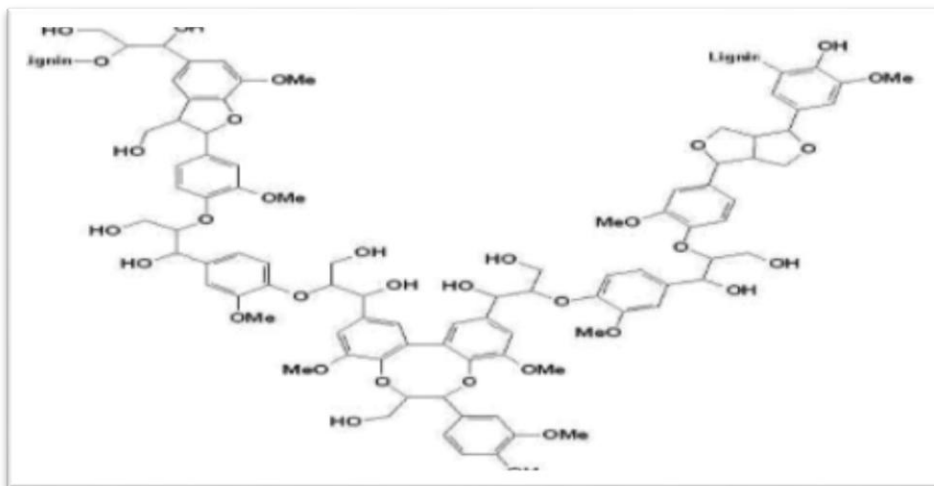


Figure 11 : Structures chimiques de lignine (**Scalbert et Williamson, 2000**).

2.3.3. Coumarines

Les coumarines (Figure 12) sont des molécules largement répandues dans tout le règne végétal, sont des 2H-1-benzopyran-2-ones, considérées comme étant les lactones des acides 2-hydroxy-7-cinnamiques (**Benayache, 2005**). Elles existent sous forme libre solubles dans les alcools et dans les solvants organiques ou les solvants chlorés ou encore liées à des sucres (hétérosides) sont plus ou moins solubles dans l'eau (**Bruneton, 1999**).

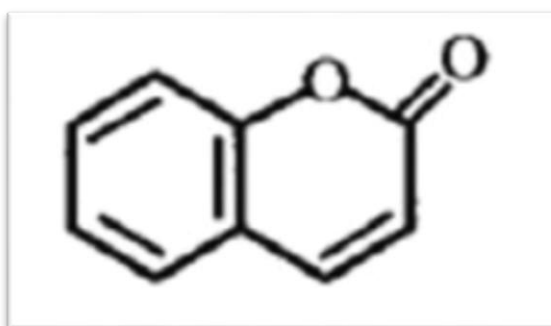


Figure 12 : Structure d'une molécule de coumarine (**Cowan, 1999**).

La coumarine et ses dérivés ont des actions phyto biologiques (**Hostettmann, 1992**), bactériostatiques et anti fongiques (**Rufini et Sampaolo, 1977**). Ils ont un effet antiœdémateux (**Hoult et Paya, 1996**).

2.3.4. Stilbènes

Les stilbènes (figure13) sont des composés phénoliques contenant au minimum deux noyaux aromatiques reliés par une double liaison, Le resvératrol et le ptérostilbène font partie de la famille des stilbènes et sont des composés synthétisés par la plante suite à un stress, Ces molécules peuvent s'oxyder sous l'action d'enzymes oxydase et les peroxydases (**Perret, 2001**).

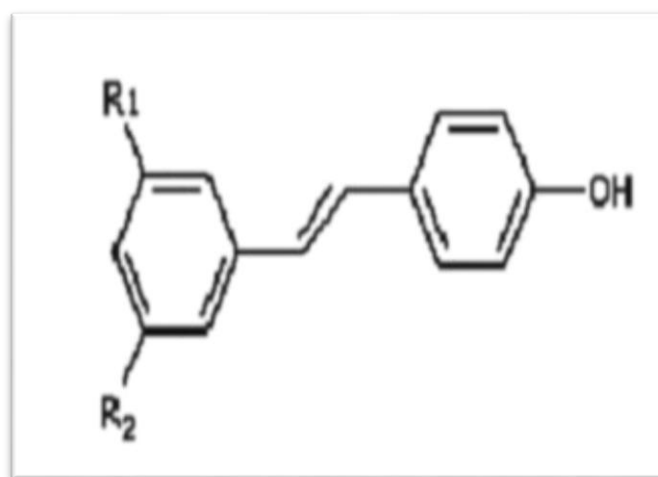


Figure 13 : Structure chimique de stilbène (Perret, 2001).

2.4. Méthodes d'extractions des composés bioactifs à partir des plantes

L'extraction est la séparation des parties actives de tissus végétaux ou animaux des composants inactifs ou inertes à l'aide de solvants sélectifs, traditionnellement l'eau, les huiles végétales ou les graisses animales. Les produits ainsi obtenus sont relativement impurs sous forme de liquides, semi-solides ou poudres exclusivement destinés à un usage oral ou externe. Il s'agit de préparations connues comme les tisanes et les huiles médicinales (**Handa, 2008**).

Les différentes méthodes d'extractions sont, les méthodes classiques et les méthodes alternatives.

2.4.1. Les méthodes classiques

Les techniques classiques pour l'extraction par solvants de molécules actives à partir des matrices végétales sont basées sur le choix du solvant couplé à la température et/ou à l'agitation. Les techniques classiques existantes permettant d'extraire ces principes actifs incluent : Soxhlet, l'hydro-distillation et la macération avec un mélange alcool-eau ou une graisse chaude (**Luque de Castro et al., 1998**).

2.4.1.1. Macération

La macération est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple. Elle consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant avec ou sans agitation, à température ambiante ou à température élevée pour une durée déterminée. Cette technique est basée sur la solubilité de composés bioactifs dans un solvant d'extraction et elle est influencée par une série de facteurs incluant la nature du matériel végétal, la concentration en solutés de l'échantillon, la nature du solvant, la durée d'extraction. La macération commence avec le choix d'un solvant d'extraction adéquat. Après une étape de diffusion du solvant à l'intérieur des cellules végétales le processus continue avec la solubilisation de composés bioactifs qui vont migrer de la matrice végétale vers le solvant environnant jusqu'à ce que l'équilibre de partage de concentration soit atteint (**Handa, 2008**).

2.4.1.2. L'extraction par Soxhlet

L'extraction par Soxhlet est une méthode simple et convenable permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à l'épuisement complet du soluté dans la matière première.

Le Soxhlet est composé d'un corps en verre, dans lequel est placée une cartouche en papier-filtre épais (une matière pénétrable pour le solvant), d'un tube siphon et d'un tube de distillation. Dans le montage, l'extracteur est placé sur un ballon contenant le solvant d'extraction. Le ballon est chauffé afin de pouvoir faire bouillir son contenu. La cartouche contenant le solide à extraire est insérée dans l'extracteur, au-dessus duquel est placé un réfrigérant servant à liquéfier les vapeurs du solvant. Au fil des cycles, le solvant s'enrichit en substances extraites jusqu'à épuisement de l'échantillon en substances d'intérêt. (Figure 14) (**Grigonis, 2005**).

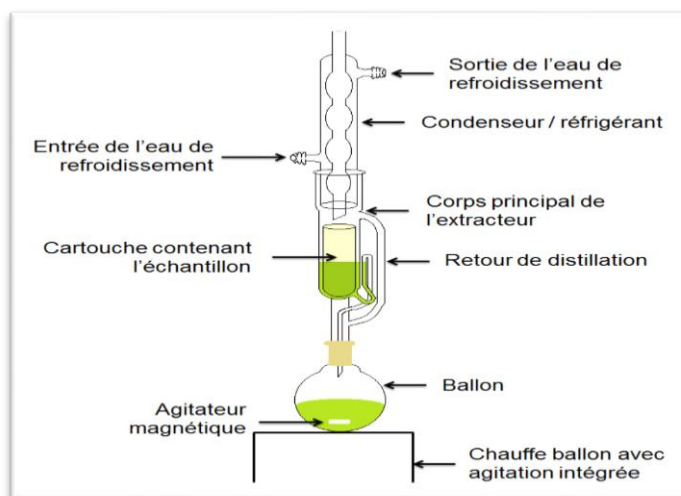


Figure14 : Extracteur de Soxhlet (Grigonis, 2005).

2.4.2. Les méthodes alternatives

L'extraction de molécules issues du matériel végétal ou ligneux par les techniques conventionnelles se révèle être une étape souvent délicate et très longue qui nécessite une consommation importante de solvant. Cela a pour conséquence d'engendrer des dégradations des matières traitées (à chaud par exemple) et de diminuer le rendement d'extraction. Une demande croissante de nouvelles techniques d'extraction permettant de réduire à la fois, le temps d'opération, la consommation de solvant et la quantité d'effluents. Les techniques modernes telles que l'extraction assistée par micro-ondes ou ultrasons, l'extraction par fluide supercritique et l'extraction par solvant accélérée sont des techniques rapides et efficaces pour extraire des composés chimiques des matrices solides de plantes. Ces techniques peuvent fonctionner à haute température et/ou haute pression améliorant nettement la but de palier la cinétique d'extraction (**Wang et al., 2006**).

2.4.2.1. Extraction assistée aux ultrasons

L'extraction par ultrasons est une méthode simple, efficace et peu coûteuse. Ses avantages les plus significatifs sont liés à l'augmentation du rendement d'extraction et une accélération de la cinétique par rapport à une extraction classique. Elle permet de travailler à des températures relativement basses et d'éviter la thermodestruction des composés. Cette technique est facile à mettre en œuvre. Comme le Soxhlet, l'extraction par ultrasons permet d'utiliser une large gamme de solvant afin d'obtenir différents composés naturels. Cependant, l'effet de l'extraction par ultrasons sur le rendement et la cinétique d'extraction est lié à la nature de la matrice végétale (**Kiriamiti, 2003**).

L'ultrason fait référence aux ondes sonores qui génèrent des vibrations mécaniques dans un solide, un liquide ou un gaz. À la différence des ondes électromagnétiques, les ondes sonores peuvent se propager dans une matière et elles impliquent des cycles d'expansion et de compression lors de la propagation dans le milieu. L'expansion peut créer des bulles qui se forment, se développent et s'effondrent dans un liquide. Près d'une surface solide, l'effondrement de cavité est asymétrique et produit un jet de liquide à grande vitesse (**Benamor, 2008**).

2.4.2.1. L'extraction assistée par microondes

L'extraction assistée par microondes est un processus par lequel l'énergie microonde accélère l'extraction. Ce traitement accélère la rupture des cellules en provoquant une augmentation rapide de la température et de la pression interne dans les parois des cellules végétales (**Jawad et al., 2012 ; Inoue et al., 2010**).

Au cours du traitement par microonde, le chauffage provoque la rupture des liaisons hydrogène faibles par la rotation dipolaire des molécules. Une quantité considérable de pression s'accumule à l'intérieur du biomatériau, qui modifie les propriétés physiques des tissus biologiques et améliore la porosité de la matrice biologique. Ceci permet une meilleure pénétration du solvant d'extraction à travers la matrice (**Yeoh et al., 2008 ; Kratchanova et al., 2004**) et facilite l'extraction des composés entre autre les composés phénoliques (**Mandal et al., 2007**).

Elle utilise de plus petites quantités de solvant, n'est pas couteuse et est considérablement rapide. Cependant, la température opératoire de cette technique est relativement haute (100 – 150 °C), ce qui pose des problèmes quand il s'agit de l'extraction d'antioxydants. Les autres inconvénients de cette technique sont d'une part le rendement faible lorsque les solutés ou les solvants sont apolaires et d'autre part le besoin de l'étape postérieure de filtration ou de centrifugation pour éliminer le résidu solide de l'extrait (**Wang et al., 2006**).

2.5. Propriétés biologiques des polyphénols

Les recherches récentes sur les composés phénoliques en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussées, en raison de leurs divers propriétés physiologiques, comme les activités antiallergique, anti-atherogénique, anti-inflammatoire, hépato-protective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, anti-thrombotique, cardio-protective et vasodilatatoire (**Middleton et al., 2000 ; Ksouri et al., 2007**). Les effets bénéfiques des polyphénols intéressent particulièrement deux domaines : la phytothérapie et l'hygiène alimentaire (**Leong et Shui, 2002**).

2.5.1. Activité antioxydant

L'activité antioxydante des polyphénols assure une meilleure conservation des denrées alimentaires en empêchant la peroxydation lipidique. Dans l'industrie cosmétique, les composés phénoliques trouvent leur application pratique en luttant contre la production des radicaux libres néfastes pour la santé et la beauté de la peau. En phytothérapie, même si certaines indications sont communes à plusieurs classes (les propriétés vasculo-protectrices, sont par exemple aussi bien attribuées aux flavonoïdes qu'aux anthocyanes, tanins et autres coumarines), chaque classe chimique semble être utilisée pour des bénéfices spécifiques (**Hennebelle et al., 2004**).

C'est admis que la capacité antioxydante de plusieurs fruits est due à la présence des flavonoïdes, en fait, la plus part des constituants polyphénoliques montre un pouvoir

antioxydant élevé en comparant avec les autres antioxydants connus : vitamine C, vitamine E, et β -carotène (**Vinson, 1995**).

La consommation des composés phénoliques se traduit par une augmentation transitoire de la capacité antioxydante du plasma dans les heures qui suivent le repas. Parvenus au niveau des artères, ils préviennent l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (Low Density Lipoproteins ou LDL). En limitant leur incrustation dans les parois des artères (**Manallah, 2012**).

2.5.2. Activités antimicrobien

Les plantes ont une capacité intrinsèque à synthétiser des métabolites secondaires dont certains sont des composés aromatiques de types phénols. Ces composés jouent un rôle de protection des plantes contre les invasions microbiennes, et présentent d'autres mécanismes d'action de lutte contre les champignons, bactéries et virus. Ces propriétés antifongiques et antivirales trouvent de nombreuses applications en médecine humaine (**Xia et al., 2011**).

Il a été reporté que les raisins *Vitis vinifera* possèdent des propriétés pharmacologiques importantes, en particulier des activités antimicrobiennes grâce à la présence de nombreux polyphénols, notamment d'acide gallique, d'acide hydroxycinnamique, de flavanols, de flavonols, et de tanins (**Nassiri-Asl et Hosseinzadeh, 2009**). Les composés, appartenant aux acides phénoliques, les plus représentatifs de ces effets sont les acides cinnamiques et caféiques. On les retrouve présents dans le thym et la téragone. Ces composés sont particulièrement efficaces contre de nombreuses souches de bactéries, de champignons et de virus (**Cheng et al., 2008**).

Les possibilités de guérison qu'offrent les flavonoïdes sont exploités depuis très longtemps. Hippocrate prescrivait un baume de propolis contre les plaies et les ulcères. Des siècles plus tard, les propriétés antimicrobiennes de la propolis ont été attribuées aux composés de la catégorie des flavonols et flavanones. En effet, avec leur aptitude à inhiber la germination des spores de plantes pathogènes, ils sont d'excellents candidats pour lutter contre les champignons pathogènes chez l'Homme (**Cushnie et Lamb, 2005**). Les flavonols issus de fractions de propolis ont également montré des effets significatifs dans la lutte contre l'herpès simplex virus de type 2 ou HSV-2, sexuellement transmissible, et qui est considéré comme un facteur de haut risque pour la transmission du VIH (**Khan et al., 2005**).

La capacité des tanins à créer des complexes avec les protéines par des liaisons hydrogènes, des liaisons hydrophobes ou des liaisons covalentes, leur permet alors de désactiver les adhésions microbiennes, enzymatiques et les enveloppes cellulaires transportant les protéines des microorganismes (**Cowan, 1999**).

2.5.3. Effets anti-trombotique et vasodilatatoires

Les polyphénols agiraient aussi en inhibant l'agrégation plaquettaire impliquée dans le phénomène de thrombose qui peut conduire à l'occlusion des artères (**Manach *et al.*, 2005**). Ils sont regroupés dans la catégorie de veinotoniques et des vasculo-protecteurs (**Ghosh *et al.*, 2009**). Un certain nombre de molécules polyphénoliques sont également en cours des études cliniques, comme des hypotenseurs (**Martin et Andriantsitohaina, 2002**). De nombreux travaux suggèrent que les polyphénols participent à la prévention des maladies cardiovasculaires (**Manach *et al.*, 2005**).

2.5.4. Effet antiallergique

Ces effets sont attribués à l'influence des flavonoïdes sur la production de l'histamine. En effet, les flavonoïdes inhibent les enzymes, telles que l'AMP cyclique phosphodiesterase et l'ATPase Ca^{2+} dépendante, responsables de la libération de l'histamine à partir des mastocytes et des basophiles. Par exemple, l'ATPase Ca^{2+} dépendante dégrade l'ATP produisant ainsi de l'énergie afin de faciliter l'absorption du calcium par les membranes cellulaires, ce qui favorise la libération de l'histamine stockée dans les vésicules. En inactivant cette enzyme, la quercétine a montré un potentiel d'action supérieur à celui du cromoglycate de sodium utilisé comme médicament en empêchant la libération de l'histamine et d'autres substances endogènes qui causent l'asthme (**Nkhili, 2009**).

2.5.5. Activité anti-inflammatoire

L'action des flavonoïdes d'un extrait de citron sur la perméabilité membranaire fut le premier effet pharmacologique connu de ces composés, il y a plus de 50 ans (**Sartori-Thiel, 2003**).

Les études sur les flavonoïdes issus de plantes utilisées traditionnellement restent encore très répandues car, bien que l'inflammation soit un phénomène normal d'autodéfense de l'organisme contre des blessures, elle est parfois incontrôlée dans les maladies auto-immunes (arthrite rhumatoïde) ou lorsqu'elle est liée aux réponses allergiques (asthme) (**Benavente-Garcia et Castillo, 2008 ; Conforti *et al.*, 2008**).

Dans la famille des stilbènes, le resvératrol, a montré des propriétés antiinflammatoires *in vivo* et *in vitro*. Les recherches se tournent actuellement vers la synthèse de produits à base de resvératrol dans le but de diminuer l'utilisation de médicaments synthétiques (**Udenigwe *et al.*, 2008**).

2.5.6. Effet anti-ulcère

Dans des expériences réalisées sur des rats, il a été démontré que la quercétine et la naringénine jouent un rôle important dans la réduction de l'ulcère et la protection des cellules gastriques. Il a été suggéré que la quercétine exerce son activité *via* un mécanisme complexe impliquant la production du mucus, le piégeage des radicaux libres et également l'inhibition de la production leucotriènes. D'autres études ont permis d'établir une relation étroite entre les propriétés anti-ulcère de la quercétine, la naringénine, la rutine et le kaempférol, et la production de PAF (*Platelet Activating Factor*) qui est un agent ulcérogène potentiel. En effet, il s'est avéré que la réduction des dommages gastro-intestinaux est due probablement à l'inhibition du PAF par ces flavonoïde (Nkhili, 2009).

2.5.7. Effet anticancéreux

La catéchine qui est présenté dans tous les types de thé et en particulier dans le thé vert, a montré une activité anti-tumorale. Une telle activité est attribuée à la capacité de ce flavonoïde à inactiver l'action de la P-glycoprotéine qui est impliquée dans la résistance phénotypique des cellules cancéreuses. Les flavonoïdes ont montré des effets protecteurs contre les cancers de la prostate, du côlon et du poumon (Nkhili, 2009).

2.6. Rôle des polyphénols dans les plantes

Une des fonctions majeures des flavonoïdes est de contribuer à la couleur des plantes notamment à celle des fleurs. Or, c'est par la couleur de ses fleurs que la plante exerce un effet attracteur sur les insectes et les oiseaux pollinisateurs, assurant par ce biais une étape fondamentale de sa reproduction. On peut également noter que les flavonoïdes, en repoussant certains insectes par leur goût désagréable, peuvent jouer un rôle dans la protection des plantes. Les flavonoïdes montrent d'autres fonctions intéressantes dans le contrôle de la croissance et du développement des plantes en interagissant d'une manière complexe avec les diverses hormones végétales de croissance. Certains d'entre eux jouent également un rôle de phytoalexines, c'est-à-dire de métabolites que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries. D'autre part, les composés phénoliques possèdent souvent une activité antimicrobienne (Ghedadba *et al.*, 2015).

Ainsi, il a été montré que les catéchines des feuilles du thé inhibent la croissance de micro-organismes en altérant des fonctions membranaires des pathogènes, les détruisant à plus ou moins long terme (Fukai *et al.*, 1991). La figure 15 résume général des effets biologiques des polyphénols.

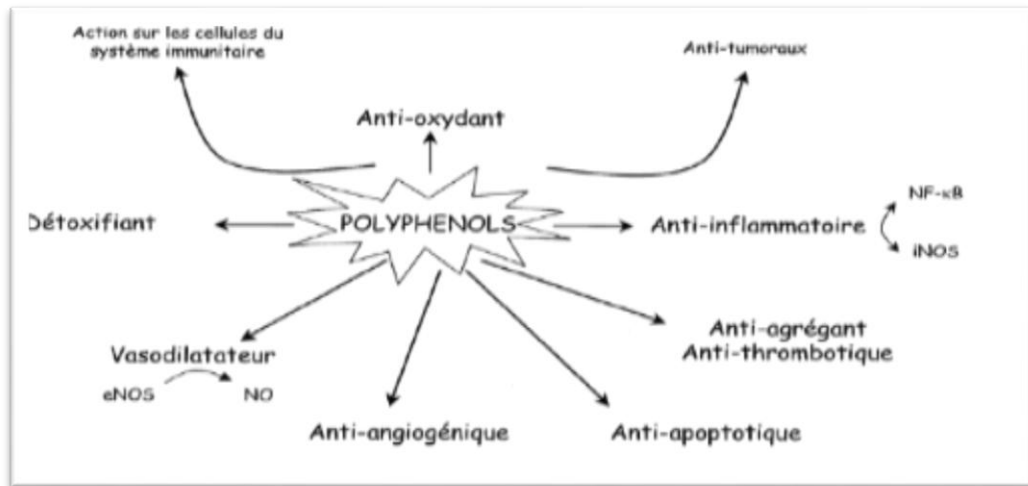


Figure 15 : Effets biologiques des polyphénols (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

Deuxième partie



Etude expérimentale

Chapitre 1

Matériels et Méthodes

1.1. Matériels

1.1.1. Matériel biologique

1.1.1.1. Matériel végétal

La plante *Salvia chudaei* Batt. & Trab. Est récoltée à région de Tamanrasset (Hoggar centre) au printemps en 2018. La partie aérienne séchée à l'abri de la lumière et de l'humidité, à température ambiante. Le séchage de cette plante a été effectué dans un endroit sec et à l'abri des rayons solaires presque de 20 jours en moyenne, puis le broyage, la conservation de la plante séchée dans une bouteille de verre dans le réfrigérateur (Photo 1).



Photo 01 : Poudre de la plante *Salvia chudaei* Batt. & Trab

1.1.1.2. Microorganismes ciblées

Les souches microbiennes utilisées dans cette recherche pour l'activité antimicrobienne sont des souches référencées, Ces souches obtenues de l'Institut de Pasteur en Algérie pour les bactéries, et la souche fongique *Fusarium culmorum* provenant du laboratoire des Produits Bioactifs et la Valorisation de la Biomasse de l'ENS Alger. Sont conservées dans le réfrigérateur dans des tubes à visser contenant milieu nutritive jusqu'à l'utilisation.

Tableau V : Les souches microbiennes ciblées.

Espèce microbienne	Taxonomie	Caractéristiques
<i>Salmonella typhi</i> ATCC 14028	Règne : Bactérie Classe : Gammaproteobacteria Ordre : Entérobactérie Famille : Enterobacteriaceae Genre : Salmonella Espèce : <i>Salmonella typhi</i> (Weill, 2008)	bacille à Gram négatif, anaérobie facultatif, habituellement mobiles grâce à une ciliature péritriche, mais des mutants immobiles peuvent exister (Bourgeois et Mescle, 1996). responsables de la fièvre typhoïde humaine Les Salmonelles sont en général considérées comme pathogènes bien que leur virulence et leur pouvoir pathogène varient énormément (Rodier, 2009).
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8737	Règne : Bactérie Ordre : Enterobacterales Famille : Enterobacteriaceae Genre : Escherichia Espèce : <i>Escherichia coli</i> (Sabri, 2008).	Bacilles à Gram négatif, mobiles, non sporulés. Aéroanaérobies, sensibles aux β -lactamines avec une résistance à l'amoxicilline, l'amoxicilline + l'acide clavulanique et Céfaltine. provoquent une infection urinaire, bactériémie, infection respiratoire, certain infections tissulaires et septicémies (Teixeira et al., 2007).
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Règne : Bacteria Classe : Bacilli Ordre : Bacillales Famille : Staphylococcaceae Genre : Staphylococcus Espèce : <i>Staphylococcus aureus</i> (Yves et Michel, 2009)	cocci à Gram positif, immobiles et disposées en amas, acquiert facilement des résistances aux antibiotiques et en particulier à la pénicilline, à la méthicilline ¹ (MRSA), et aux fluoroquinolones mais sensible au B-lactamines, responsables d'infections graves communautaires et nosocomiales, d'infections des plaies, de la peau et du sang, des abcès, ostéites, otites, infections urinaires, endocardites, gastroentérites et infection pulmonaires.

		(Hart et Shears, 2002 ; Perry <i>et al.</i> , 2004).
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	Règne : Bacteria Classe : Gammaproteobacteria Ordre : <i>Pseudomonadales</i> Famille : Pseudomonadaceae Genre : Pseudomonas Espèce : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Chaker, 2012).	bacille à Gram négatif, mobile aérobie, non capsulé, Agent pathogène opportuniste actif, résistance à l'ampicilline, céphalothine, triméthoprime et acide nalidixique. provoque des infections nosocomiales, sous forme d'infections urinaires, d'infections du sang, des plaies et de l'appareil respiratoire (Lambin et German, 1969 ; Perry <i>et al.</i>, 2004).
<i>Listeria innocua</i> CLIP 74915	Règne : Bacteria Classe : Bacilli Ordre : Bacillales Famille : Listeriaceae Genre : Listeria Espèce : <i>Listeria innocua</i> (Kaouache, 2011).	bacille à Gram positif, régulier, non sporulant, de 0,4 à 0,5 Mm de diamètre sur 0,5 à 2 Mm de longueur, aux extrémités arrondies, quelques cellules peuvent être incurvées. Les cellules sont isolées ou regroupées en courtes chaînes, elles font parfois des angles V, entre elles, non acidoalcoolo résistantes, non capsulées, aérobies anaérobies facultatifs (Kaouache, 2011).
<i>Fusarium culmorum</i> (Provenant du laboratoire des Produits Bioactifs et la Valorisation de la Biomasse de l'ENS Alger)	Règne : fungi Classe : Ascomycètes Ordre : Hypocreales Famille : Nectriacées Genre : Fusarium Espèce : <i>Fusarium culmorum</i> (Aoki et Donnel, 1999).	Le principal caractère morphologique des <i>Fusarium</i> est la présence de macroconidies fusiformes et cloisonnées. Sur milieux usuels le thalle, il donne un mycélium plus ou moins aérien. De couleur rarement blanche ou crème, il peut être ochracé ou plus souvent de colorations vives : rose, rouge ou violet (Aoki et Donnel, 1999).

1.1.2. Matériels de laboratoire

- ❖ Balance électronique ;
- ❖ Etuve (Memmert et LABTECH LTB -060M) ;
- ❖ Rotavapeur Buchi R-200 ;
- ❖ Spectrophotométrie UV-Visible ;
- ❖ Autoclave ;
- ❖ Balance analytique ;
- ❖ pipettes Pasteur ;
- ❖ Réfrigérateur ;
- ❖ Seringue de 5 ml ;
- ❖ Micropipettes ;
- ❖ Boîtes de pétrie ;
- ❖ Bec Benzène ;
- ❖ Ecouvillon stérile.

Un certain nombre d'accessoires et petit matériel spécifique est utilisé dans le cadre de cette étude : Spatule, Coton, Papier à filtre, gants et masques pour manipulation des produits dangereux et différents types de verrerie (béchers, fioles jaugées, Ballons, pipettes graduées, tubes à essais, Erlenmeyers, burette...).

1.1.3. Réactifs chimiques et solvants

Dans cette étude nous avons utilisé :

- ❖ Ethanol (C_2H_5OH).
- ❖ Diméthyle sulfoxyde (DMSO).
- ❖ L'eau physiologique.
- ❖ Eau distillée.
- ❖ Acide gallique.
- ❖ Vitamine C (Acide ascorbique).
- ❖ Catéchine.
- ❖ 2,2-diphényle-1-picryl hydrazyl (DPPH).
- ❖ Carbonate de sodium (Na_2CO_3).
- ❖ Trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) 2%.
- ❖ Vanilline ($C_8H_8O_3$).
- ❖ Méthanol (CH_3OH).
- ❖ Acide hydrochlorique (HCL).
- ❖ L'eau oxygénée (H_2O_2).
- ❖ Trichlorure de fer ($FeCl_3$)
- ❖ Quercétine.
- ❖ Folin-Ciocalteu.

1.1.4. Milieux de culture

On utilise gélose nutritive, Mueller Hinton et Saboroud (photo 02) pour l'étude de la sensibilité des souches bactériennes et levure à différentes concentrations d'extraits éthanolique.



Photo 02 : Milieux des cultures (gélose Mueller Hinton, Saboroud et gélose nutritive)

(<https://www.technilab-dz.com>)

1.1.4. Antibiotiques (ATB) en disque

Pour valoriser l'activité antibactérienne on utilise l'antibiotique IMIPNENEM (10 µg/disque) et CIPROFLOXACINE (5 µg/disque) (photo 03), pour faire le contrôle positif et le DMSO pour contrôle négatif.

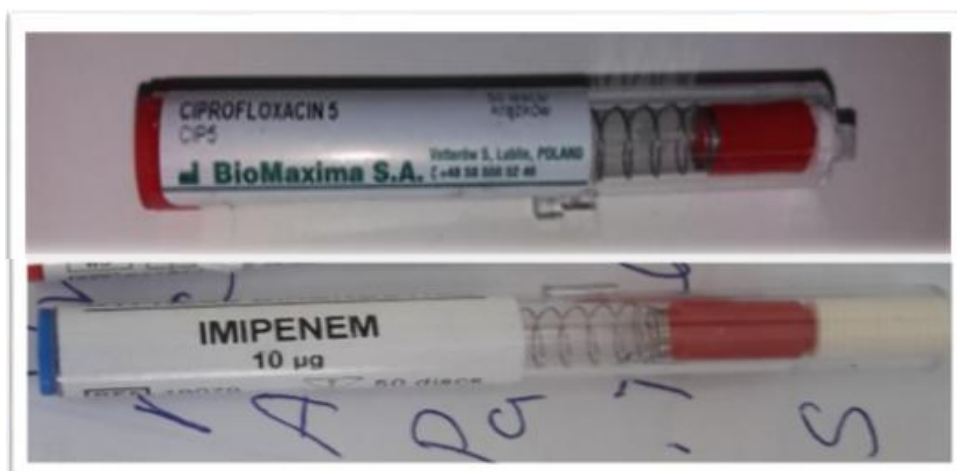


Photo 03 : Les antibiotiques IPM10 et CIP5.

Notre travail de recherche a été réalisé au sein du laboratoire pédagogique de faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Echahid Hamma Lakhdar d'EL-Oued.

1.2. Méthodes

1.2.1. Extraction des composés phénoliques

La macération est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple. Elle consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant sans ou avec agitation, L'opération bien que généralement longue et a rendement souvent médiocre, est utilisée dans le cas d'extraction de molécules thermosensibles (**Leybros et Fremeaux, 1990**).

Afin d'extraire les polyphénols de partie aérienne de plante étudiée par macération, nous avons adopté le protocole décrit par **Romani et al., (2006)**, la poudre végétale est mises à macérer dans un mélange éthanol/eau (7:3 V/V) à un rapport de 1/5 (P/V), Cette macération est répétée 3fois avec renouvellement de solvant. L'extrait hydro-alcoolique est récupéré après filtration à l'aide d'un papier filtre N 01, l'éthanol est éliminé du filtrat par évaporation sous pression réduite dans un rotavapeur, puis séché à l'étuve à une température ne dépasse pas 40°C, et conservé jusqu'à l'utilisation (Figure 16) (**Talbi et al., 2015**).

1.2.2. Détermination de rendement

Le rendement d'extrait a été calculé par la formule suivante

$$R (\%) = 100 (M_{ext}/M_{éch})$$

Où :

R : est le rendement en %.

M_{ext} : est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en g.

M_{éch} : est la masse sèche la plante en g (**Falleh et al., 2008**).

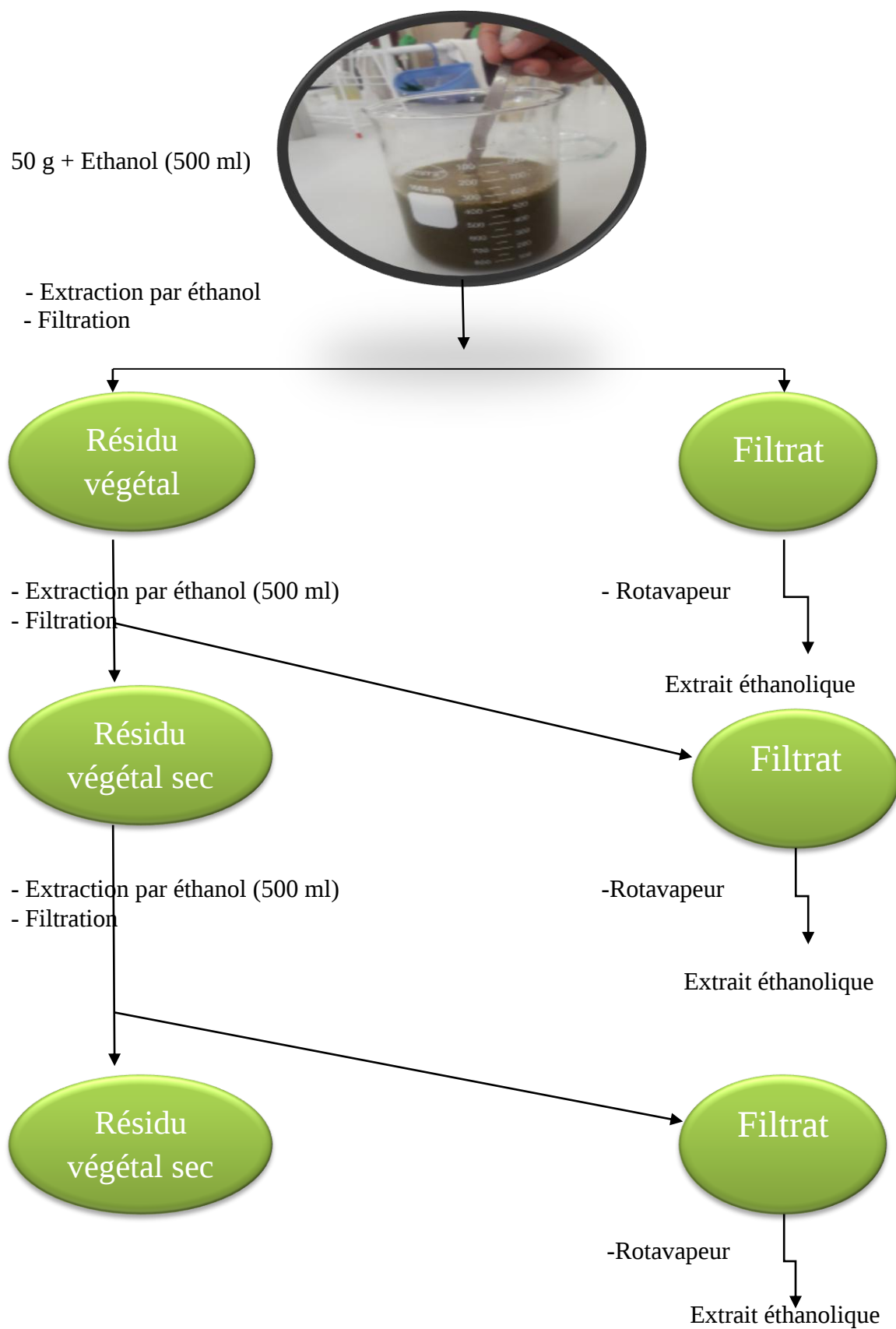


Figure 16 : Protocole d'extraction des composés phénoliques.

1.2.3. Analyse quantitative

1.2.3.1. Dosage de polyphénols totaux (PPT)

Les polyphénols sont estimés par la méthode de Folin Ciocalteu (**Wong et al., 2006**). Ce dosage repose sur le réactif de Folin Ciocalteu qui est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. L'oxydation des phénols réduit ce réactif en un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle au taux de composés phénoliques oxydés (**Boizot et Charpentier, 2006**).

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué selon la méthode de Folin-Ciocalteu (FC) : 100 µl d'extrait sont mélangés avec 500 µl du réactif FC et 400 µl de Na₂CO₃ à 7,5 % (m/v). Le mélange est agité et incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant dix minutes et l'absorbance est mesurée à 760 nm par un spectrophotomètre UV (Perkin Elmer). Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique par gramme d'extrait (Mg EAG/g E). Ont utilisé la courbe d'étalonnage de l'acide gallique comme référence.

1.2.3.2. Dosage de Flavonoïdes (FVT)

Le dosage des flavonoïdes contenus dans les extraits de *Salvia chudaei* a été effectué par une méthode basée sur la formation de complexe entre les composés phénoliques et le trichlorure d'aluminium AlCl₃ (méthode colorimétrique) (**Bahorun et al., 1996**). Les complexes produits sont de couleur jaune absorbent dans le visible à 430 nm. Le flavonoïde utilisé comme référence dans cette méthode est la quercétine.

On met 1 ml d'extrait et on ajoute à 1 ml d'AlCl₃ à 2%; puis le mélange est vigoureusement agité, l'ensemble est incubé à l'ombre à la température ambiante pendant 10 minutes, l'absorbance est lue à 430 nm. La quantification des flavonoïdes se fait en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée par un flavonoïde standard quercétine (0-0,05 mg/ml), et sont exprimées en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait (Mg EQ/g E).

1.2.3.3. Dosage de tanins condensés (TC)

Le dosage des tanins condensés dans les extraits de *Salvia chudaei* est effectué selon la méthode de **Schofield et al., (2001)**.

Ce dosage est basé sur la fixation du groupement aldéhydique de vanilline sur le carbone 6 du cycle A de la catéchine pour former un complexe chromophore rouge qui absorbe la lumière à 500 nm.

A 400 µl de chaque échantillon ou standard, on ajoute 3 ml d'une solution de vanilline (4% dans le méthanol), et 1,5 ml d'acide hydrochlorique concentré. Le mélange est incubé

durant 15 min et l'absorbance est lue à 500 nm. Les concentrations des tanins condensés sont déduites à partir des gammes d'étalonnage établies avec la catéchine (0-0,5 mg/ml), et sont exprimées en milligramme d'équivalent catéchine par gramme d'extrait (Mg EC/g E).

1.2.4. Activités biologiques

1.2.4.1. Activité antioxydante (test DPPH)

➤ Le Principe

Afin d'étudier l'activité antiradicalaire des différents extraits, nous avons utilisé la méthode basée sur le DPPH• (2,2-diphényle-1-picryl hydrazyl) comme un radical relativement stable, selon le protocole décrit par **Mansouri et al., (2005)**. Le test consiste à mettre le radical DPPH (de couleur violette), en présence des molécules dites antioxydantes afin de mesurer leur capacité à le réduire. La forme réduite (2,2-diphényle-1-picryl hydrazyl : de couleur jaune) (figure 17) n'absorbe plus à 515 nm, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants (**Sanchez-Moreno, 2002**).

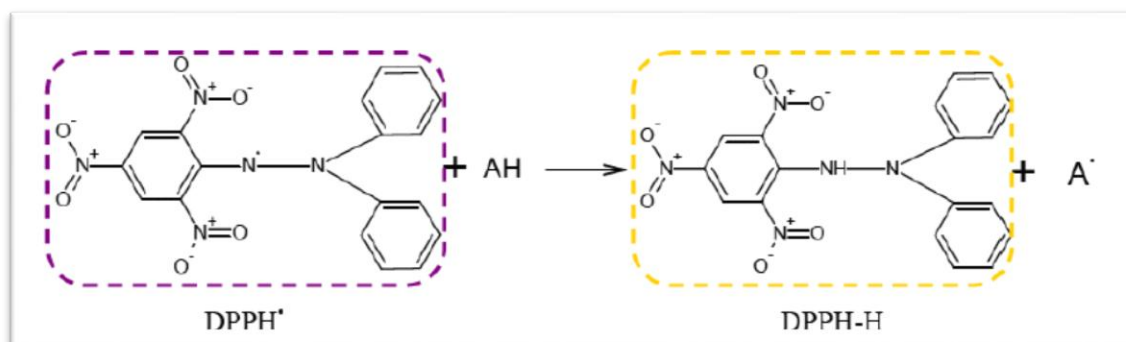


Figure 17 : Structure du radical DPPH et DPPH réduit (Alam et al., 2013)

➤ Mode opératoire

L'activité antioxydante des différents extraits est mesurée par la méthode décrite par **Brand-William et al., (1995)**. Pour chaque extrait, Un volume de 1,95 ml de la solution de DPPH (0.1mM) est mélangé avec 50 µl d'extrait ou des antioxydants standards (acide ascorbique/acide gallique). Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est lue à 517 nm. Le pourcentage de l'activité anti-radicalaire est calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Activité antiradicalaire (\%)} = [(Ac - At) / Ac] \times 100$$

Ac : Absorbance du contrôle.

At : Absorbance d'extrait ou standard.

➤ Calcul des IC₅₀

IC₅₀ (concentration inhibitrice de 50 %) est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH•. Les valeurs d'IC₅₀ sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition=f (concentrations)]. (**Ouldyerou et al., 2018**).

1.2.4.2. Activité antimicrobienne

Évaluation l'activité antimicrobienne des différentes concentrations (0.5 mg/ml, 1mg/ml 2.5mg/ml, 5mg/ml) de l'extrait éthanolique par la méthode de diffusion en milieu gélosé (antibiogramme) (**Treki et al., 2009**). Cette technique repose sur l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque contenant l'extrait de la plante (**Bssaibis et al., 2009**), dans le milieu de culture contre cinq souches bactériennes et une levure :

- ✓ *Escherichia coli*.
- ✓ *Staphylococcus aureus*.
- ✓ *Salmonella typhi*.
- ✓ *Listeria innocua*.
- ✓ *Pseudomonas aeruginosa*.
- ✓ *Fusarium culmorum*.

➤ Conservation des souches

Les souches microbiennes identifiées précédemment sont conservées dans des boîtes contenant de la gélose nutritive à 4°C.

➤ Le repiquage

Le repiquage des souches microbiennes a pour objectif l'obtention d'une culture pure et jeune. Elle est réalisée par la méthode des stries. Les souches sont alors repiquées à partir des boîtes de conservation sur un nouveau milieu gélose nutritive. Les cultures sont incubées à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 h.

➤ Préparation des dilutions des extraits (concentration)

Différentes concentrations (0.5 mg/ml, 1mg/ml 2.5mg/ml, 5mg/ml) d'extrait éthanolique de *Salvia chudaei* ont été préparées par DMSO (**Meddour et al., 2013**).

➤ Préparation des disques

Le principe de cette méthode est d'utiliser des disques de papier Whatman n°3 de 6 mm de diamètre. Ensuite ils sont mis dans un tube à essai, et stérilisés à l'autoclave (120 C° pendant 15 min) (photo 04) et conserver jusqu'à l'utilisation.



Photo 04 : Stérilisation les disques à L'autoclave.

➤ Préparation le milieu de la culture

On met la stérilisation et la surfusion de milieu de culture (Muller Hinton et milieu Saboroud pour la levure) à l'aide d'autoclave pendant 15 min à 121°C, puis on le verser dans les boîtes de Pétri à 4 mm de hauteur et on laisse quelques minutes jusqu'à la solidification (Harrar, 2012).

➤ Préparation de l'inoculum

- A partir d'une culture pure de 18 h des souches microbienne à tester sur milieu d'isolement, racler par une pipette Pasteur, quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques ;
- Décharger l'anse dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9 %, bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0.5 MacFarland (D.O de 0.15 lue à 625 nm) (Choi *et al.*, 2006) ;
- L'ensemencement doit se faire en moins en quelques min après la préparation de l'inoculum (Djelloul-Daouadji, 2010) ;

➤ Ensemencement

- La culture se fait dans un milieu stérile en présence de bec benzène ;
- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension microbienne (il évite la contamination du manipulateur et de la paillasse) ;
- L'essorer en le pressant fermement, en tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum ;
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas ;

- Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de Pétrie de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose (**Djelloul-Daouadji, 2010 ; Rahal, 2011**).

➤ **Application des disques d'antibiogramme**

En effet de chaque dilution on prélève 10 µl et on la met dans les disques. (Dans chaque boîte quatre 4 disques ont été réalisées à différentes concentrations des extraits, les disques doivent être espacés de 24 mm, centre à centre). La boîte de contrôle, réalisée pour l'expérience, est une boîte ensemencée contenu 3 disques, deux contrôle positif IPM10/CIP5 et l'autre de contrôle négatif par DMSO (**Delaldja & Saadoudi, 2017**).

Il faut Presser chaque disque à l'aide d'une pince bactériologique stérile pour s'assurer de son application. Une fois appliqué, le disque ne doit pas être déplacé (**Rahal, 2011**).

➤ **Incubation et Lecture**

Après incubation 18-24 heures à 37°C pour les souches bactériennes et 48 h pour la champignon dans l'étuve, Les résultats sont observés, en mesurant les diamètres d'inhibition (**Boudjouref, 2011**).

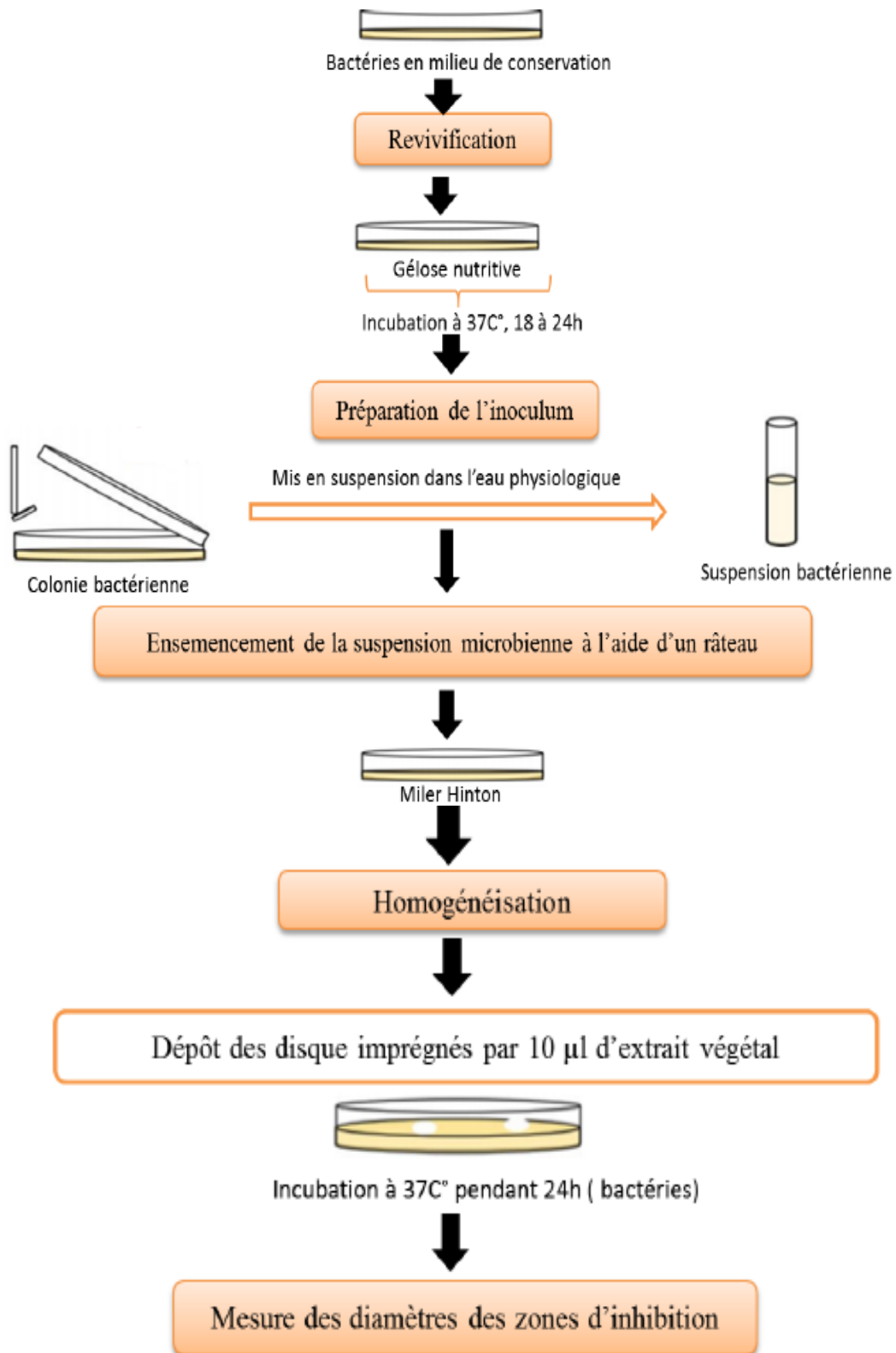


Figure 18 : Protocole d'évaluation de l'activité antimicrobienne d'un extrait végétal.

1.2.4.3. Activité anti-hémolytique

➤ Le Principe

Cette activité est basée sur le pouvoir d'extrait phénolique de *Salvia chudaei* a empêché la destruction des globules rouges contre l'agression des radicaux libres. Le test hémolyse a été réalisé par méthode d'**Abirami et al., (2014)**. Ce test permet de suivre l'évolution positive ou négative d'une prescription, sur l'état de défense de l'individu vis avis des radicaux libre un globule rouge pour résiste à cette agression jusqu'à ce que la membrane soit modifié et que la cellule laisse échapper son contenu (**Maamri, 2008**). La lyse de cellule sanguine est induite par des générateurs de radicaux libres qui perturbent la membrane plasmique (peroxyde d'hydrogène H₂O₂, trichlorure de Fer FeCl₃). (**Chouikh, 2015**).

➤ Mode opératoire

Selon la méthode d'**Abirami et al., (2014)**, le sang humain utilisé dans ce test est obtenu par prélèvement veineux d'un volontaire non-fumeur.

- ❖ Le sang collecté dans un tube héparine (anticoagulant EDTA), il est dilué par l'eau distillée et centrifugé à 3000 cycles / min pendant 10 minutes ;
- ❖ Après élimination du plasma, 1 ml de culot avec 1 ml de l'eau distillé est centrifugé pendant 10min de vitesse 3000 cycles /min ;
- ❖ On mettre 40 µl de surnagent avec 2 ml de notre extrait ou l'acide ascorbique (standard) et incubé pendant 5 min à 37 ° C, on ajoute 40 µl d'eau oxygénée, et 40 µl trichlorure de fer et 40 µl d'acide ascorbique ;
- ❖ Puis le mélange est incubé pendant une heure dans l'étuve à 37 °C, et centrifugé a une vitesse de 700 cycles / min pendant 10 min ;
- ❖ Enfin absorbance de surnagent est mesuré à 540 nm.

Le pouvoir anti-hémolytique est exprimé par le pourcentage d'inhibition :

$$\% \text{ d'hémolyse} = (\text{Abs contrôle} / \text{Abs échantillon}) \times 100$$

Où:

- ✓ % d'hémolyse: pourcentage d'hémolyse.
- ✓ Abs contrôle : absorbance du contrôle (par l'eau distillé)
- ✓ Abs échantillon : absorbance de l'échantillon ou de l'acide ascorbique

1.3 Analyses Statistiques

Dans cette étude nous avons utilisé le test statistique par le logiciel EXCEL (version 2013). Toutes les expériences ont été faites en triple, les résultats sont donnés sous forme de moyennes avec son écart-types.

Chapitre 2

Résultats et Discussion

2.1. Résultats

2.1.1. Rendement d'extraction des composés phénoliques

L'extrait phénolique de la partie aérienne par macération présentent un aspect pate jaune marron, le rendement est calculé par rapport au poids de la matière sèche du *Salvia chudaei*, l'extrait par macération représenté 29.64 %.

2.1.2. Dosage des composées phénoliques

2.1.2.1. La teneur en polyphénols totaux (PPT)

La teneur en polyphénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrique adaptée de (Wong *et al.*, 2006) avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (Mg EAG/g E). Cette teneur est calculée en utilisant l'équation de la régression linéaire d'acide gallique est le standard le plus souvent employé dans cette méthode (Figure 19).

$$y = 2,5164x + 0,0332$$

$$R^2 = 0,994$$

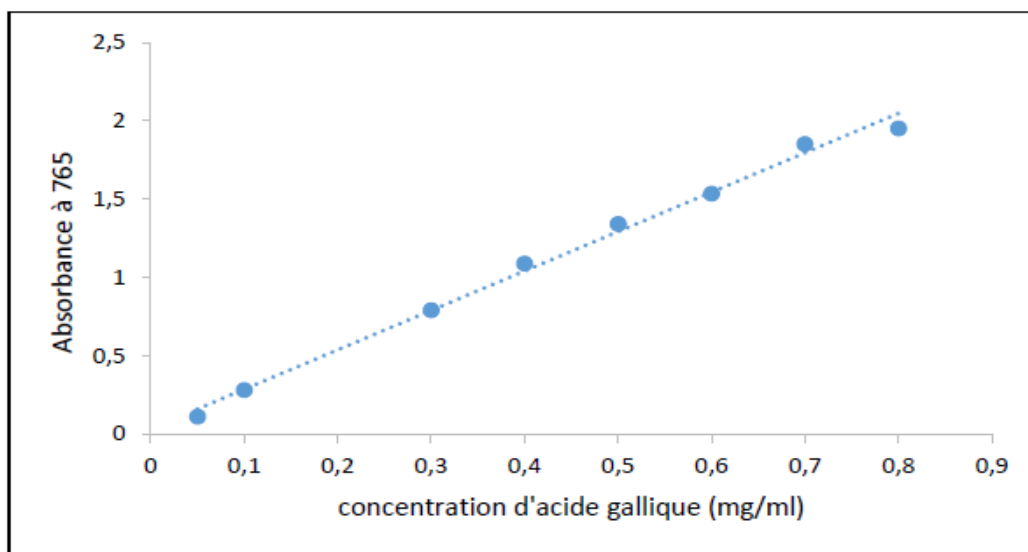


Figure 19 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.

À partir de la courbe d'étalonnage (Figure 21), la concentration des polyphénols totaux de l'extrait éthanolique de *Salvia chudaei* par macération est égale 87.16 ± 1.95 Mg EAG/g E.

2.1.2.2. La teneur des Flavonoïdes (FVT)

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) (Bahorun *et al.*, 1996). L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 430 nm. La courbe d'étalonnage de quercétine représentés dans figure 20, ayant l'équation :

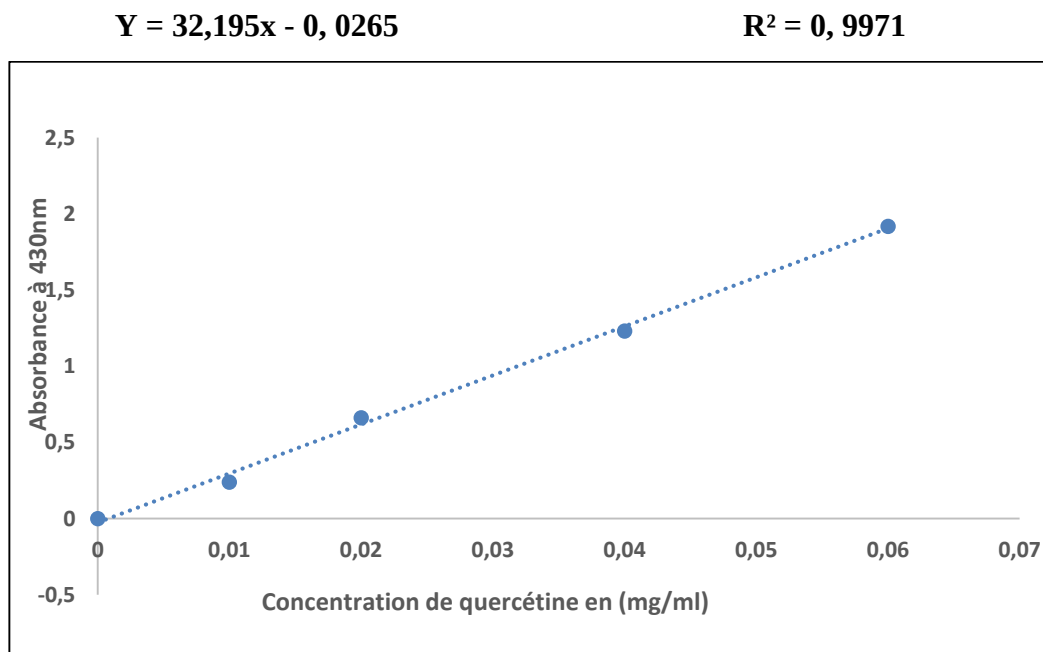


Figure20 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux.

À partir de la courbe d'étalonnage de quercétine, les résultats de la teneur en flavonoïde de la partie aérienne du *Salvia chudaei* montrent que les flavonoïdes à savoir une moyenne de $15,39 \pm 0.9$ Mg EQ /g E.

2.1.2.3. La teneur des tanins condensé (TC)

La quantification des tanins a été effectuée par une méthode adaptée par Schofield *et al.*, (2001). Une courbe d'étalonnage est réalisée en utilisant la catéchine. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent de la catéchine par gramme d'extrait (Mg EC/g E). Le taux des tanins de l'extrait éthanolique ont été obtenu à partir de la courbe d'étalonnage (Figure21), en utilisant l'équation de la régression linéaire :

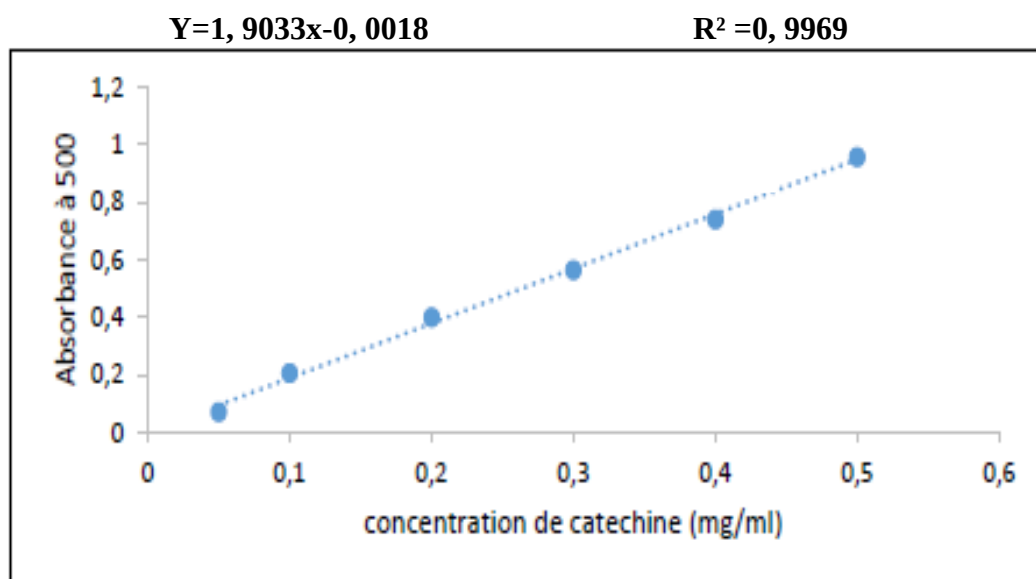


Figure 21 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tannins condensés.

Les résultats présentés dans la figure 23, montrent que la teneur en tannins condensés de l'extrait de *Salvia chudaei* est de $16,17 \pm 8,08$ Mg EC /g E.

2.1.3. Evaluation l'activité antioxydante

Afin d'étudier l'activité antiradicalaire de notre extrait, nous avons utilisé la méthode basée sur le DPPH• (2,2-diphényle-1-picryl hydrazyl) comme un radical relativement stable, qui possède une bande d'absorbance à 517 nm.

La capacité antioxydante de l'extrait de la plante étudiée a été déterminée et comparées aux activités des composés anti-radicalaires des étalons, acide gallique (figure 22) et acide ascorbique (figure 23). La mesure de l'activité antioxydant de notre extrait est mentionnée dans la figure 24.

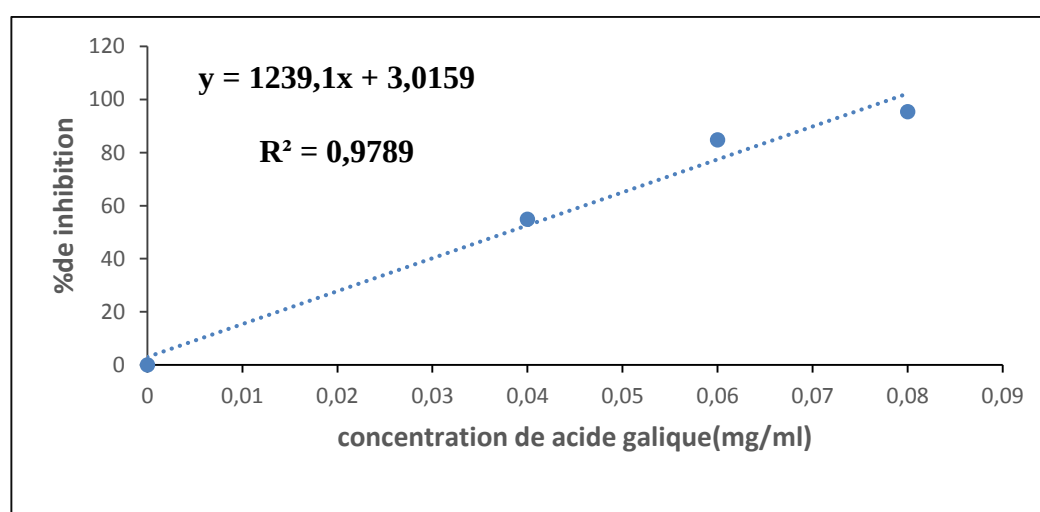


Figure22 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le test DPPH.

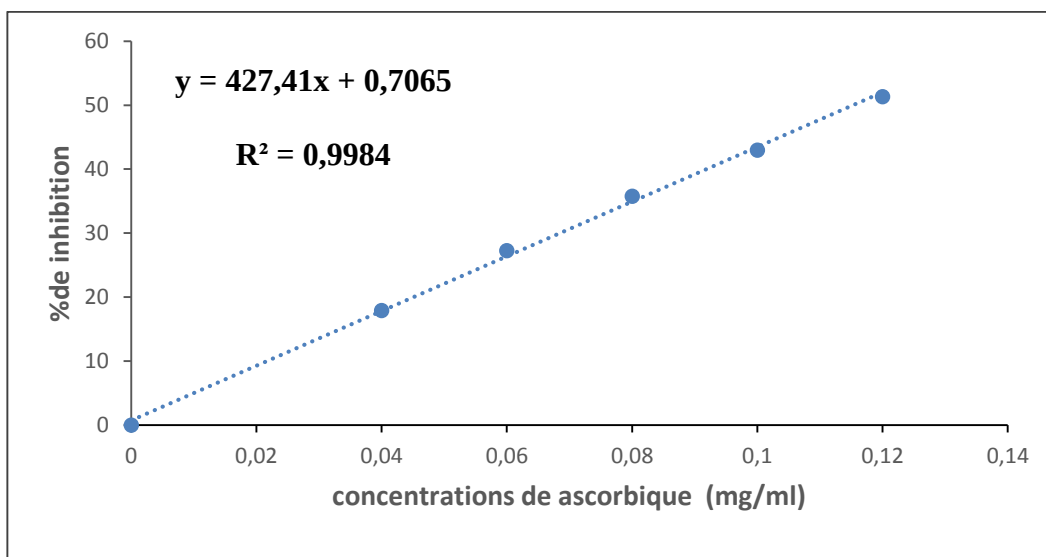


Figure23 : Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique pour le test DPPH.

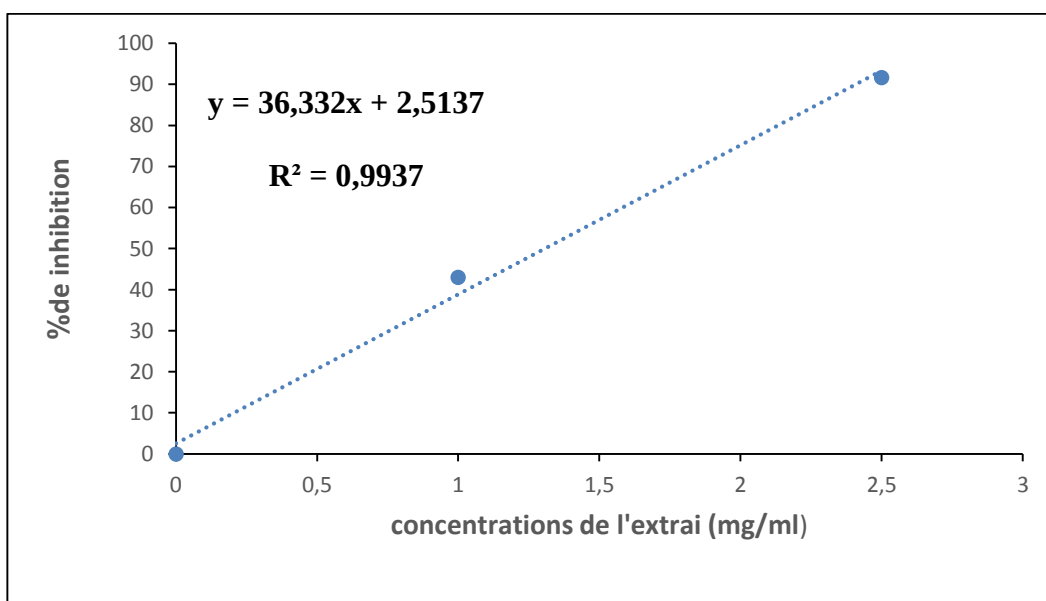


Figure 24 : Pourcentage d'inhibitions de l'extract éthanologique de *Salvia chudaei* contre le radical libre DPPH.

Les résultats obtenus pour le test de DPPH, exprimés en termes de concentration inhibitrice de 50 % des radicaux (IC_{50}), sont présentés dans la figure 25.

A des fins comparatives, deux antioxydants standards sont utilisés, l'acide gallique et l'acide ascorbique, ils ont montré une activité antiradicalaire puissante avec des IC_{50} de l'ordre de $0,037 \pm 0,001$ mg/ml et $0,116 \pm 0,001$ mg/ml respectivement, plus l'activité antioxydant de notre extrait est fort avec IC_{50} de l'ordre de $1,28 \pm 0,013$ mg/ml.

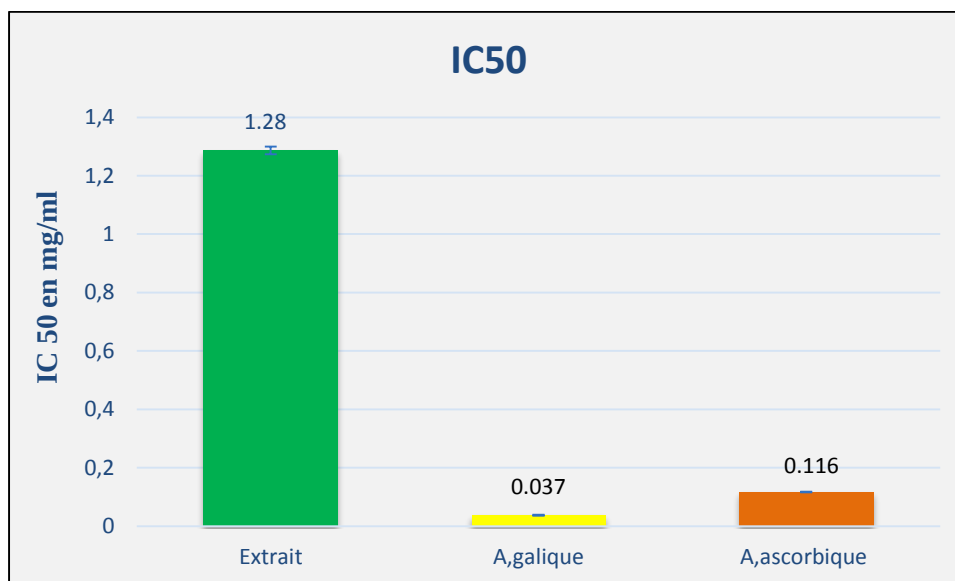


Figure 25 : Histogramme des résultats de concentrations inhibitrices 50 % de DPPH.

2.1.4. Evaluation Activité antimicrobien

Nous avons étudié *in vitro* le pouvoir antimicrobien d'extrait isolé de *Salvia chudaei* par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide, Mueller- Hinton pour les bactéries et Sabouraud pour le champignon.

L'activité antimicrobien des extraits a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition (mm) autour des disques contenant les extraits à tester vis-à-vis de cis germes pathogènes qui sont : *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria innocua* et *Fusarium culmorum*.

Les souches testées ont montré des sensibilités différentes aux antibiotiques standards Utilisés : Imipnenem (IPM10) et Ciprofloxacine (CIP5).

Le DMSO a été testé comme solvant (contrôle négative), les résultats montrent que le solvant est approprié et ne présente aucun effet sur la croissance normale des toutes souches microbiennes.

2.1.4.1. Pouvoir antimicrobien contre *Salmonella typhi*

Les résultats obtenus sont représentés par l'histogramme suivant (figure26) :

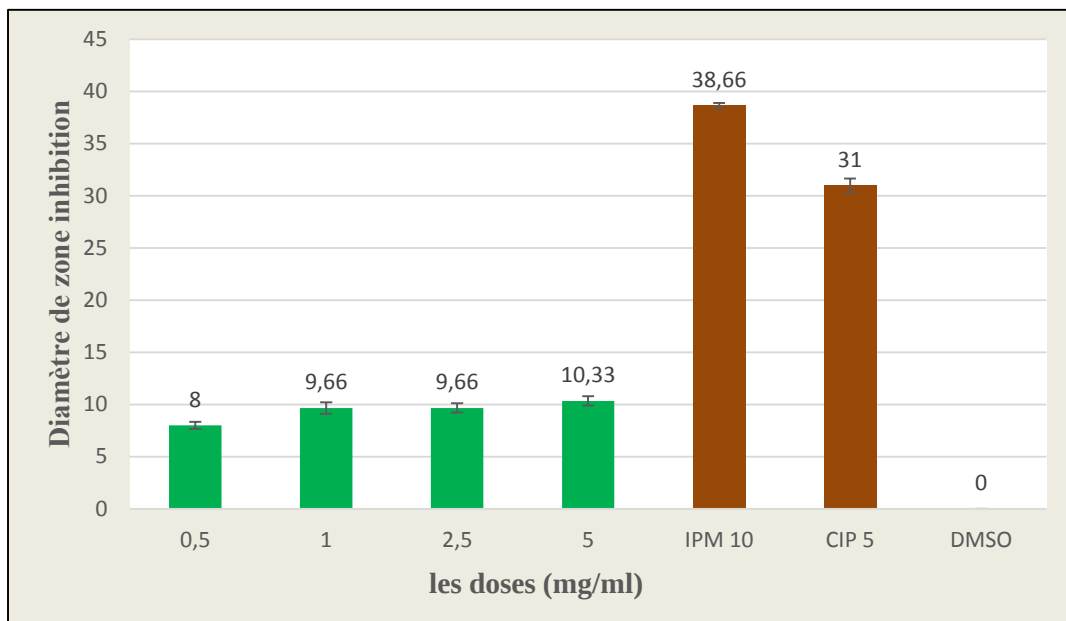


Figure 26 : Effet de l'extrait de *Salvia chudaei* sur la *Salmonella typhi*.

D'après ces résultats, on observe un effet moyen de notre extrait de *Salvia chudaei* sur la souche bactérienne *Salmonella typhi* avec une zone maximale d'inhibition égale (10.33 ± 0.44) mm à concentration 5 mg/ml, et que le concentration 0.5 mg/ml présent une minimale zone d'inhibition de l'ordre de 8 ± 0.33 mm, par apport les antibiotiques imipnenem et ciprofloxacine qui présentent des effets antibactériennes puissants avec des zones d'inhibitions de 38.66 ± 0.22 mm et 31 ± 0.66 mm respectivement.

2.1.4.2. Pouvoir antimicrobien contre *Pseudomonas aeruginosa*

La figure 27 présent les résultats obtenus de l'effet de l'extrait de *Salvia chudaei* sur *Pseudomonas aeruginosa*.

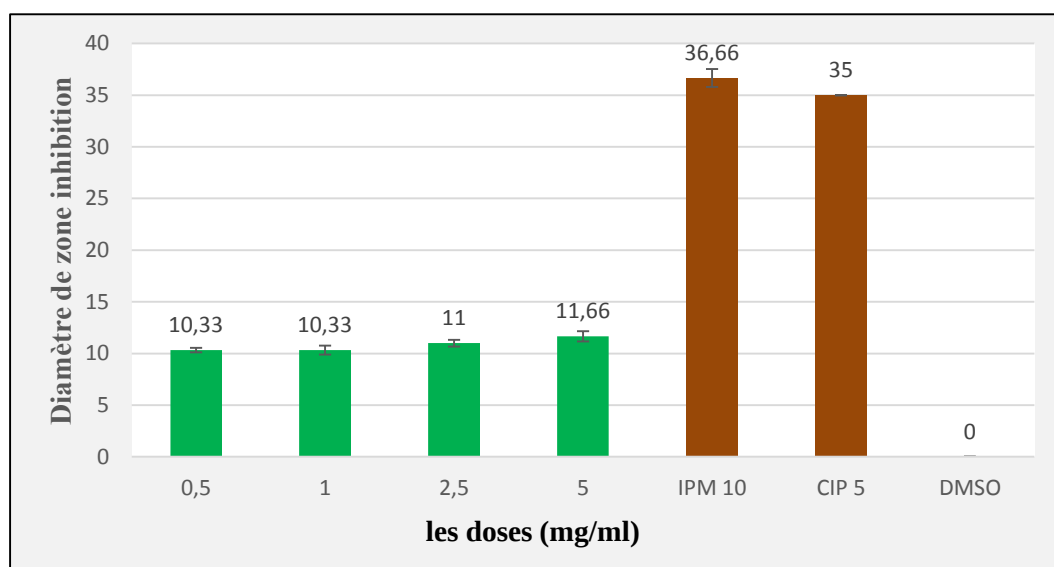


Figure 27 : Effet de l'extrait de *Salvia chudaei* sur *Pseudomonas aeruginosa*.

Après l'observation ces résultats, on trouve un effet remarquable de l'extrait éthanolique de *Salvia chudaei* sur *Pseudomonas aeruginosa* avec une zone maximale d'inhibition égale $11.66 \pm 0,5$ mm à concentration 5 mg/ml, par contre les antibiotiques imipenem et ciprofloxacine qui présentent des effets antibactériens puissants avec des zones d'inhibitions maximales égale $36.66 \pm 0,88$ mm et 35 ± 0 mm, respectivement.

2.1.4.3 Pouvoir antimicrobien contre *Escherichia coli*

Les résultats obtenus sont représentés par l'histogramme suivant (figure 28) :

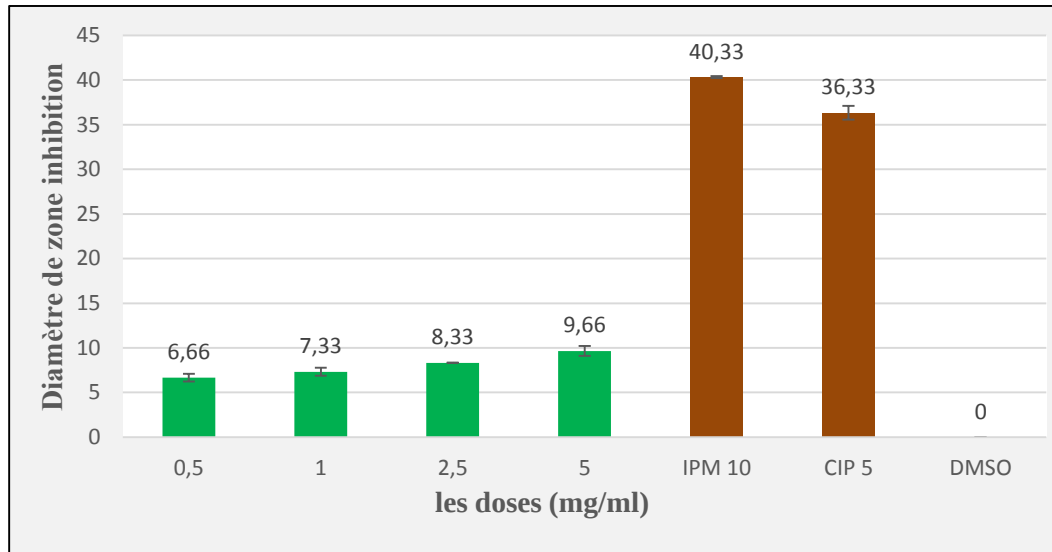


Figure 28 : Effet de l'extrait de *Salvia chudaei* sur *Escherichia coli*.

La lecture de ces résultats révèle que les antibiotiques de références utilisés, qui présentent des forts effets antibactériens contre *Escherichia coli*. Par contre un effet moyen de l'extrait de *Salvia chudaei* de l'ordre de 9.66 ± 0.55 mm à concentration 5 mg/ml.

2.1.4.4. Pouvoir antimicrobien contre *Staphylococcus aureus*

Les résultats obtenus sont représentés par l'histogramme suivant (figure 29) :

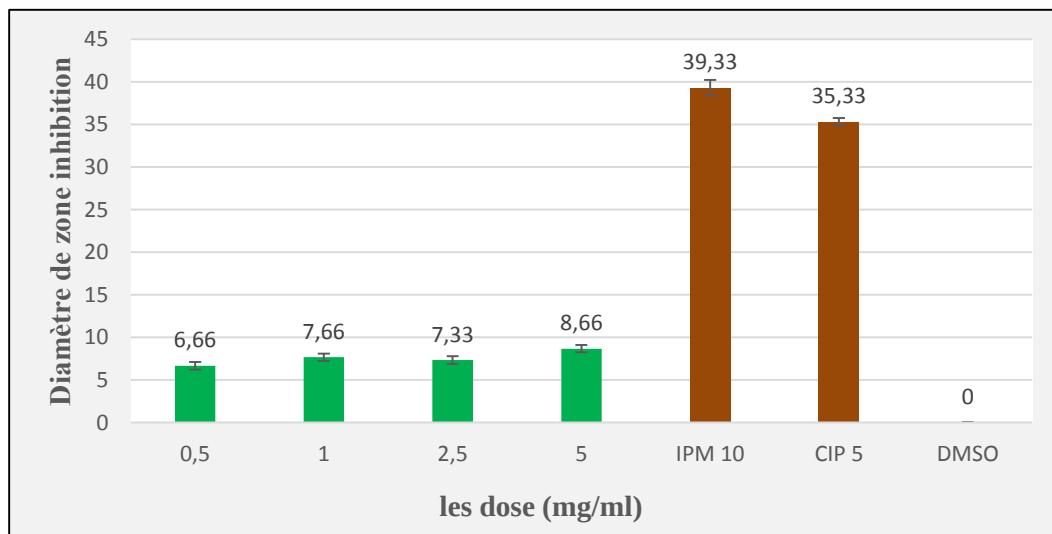


Figure 29 : Effet de l'extrait de *Salvia chudaei* sur *Staphylococcus aureus*.

D'après la figure31, les antibiotiques imipnenem et ciprofloxacine présentent des effets antibactériens puissants.

L'effet de l'extrait de *Salvia chudaei* contre *Staphylococcus aureus* montre des zones d'inhibitions de $6,66 \pm 0,44$ mm jusqu'à $8,66 \pm 0,44$ mm.

2.1.4.5. Pouvoir antimicrobien contre *Listeria innocua*

La figure 30 présent les résultats obtenus de l'effet de notre l'extrait sur *Listeria innocua*.

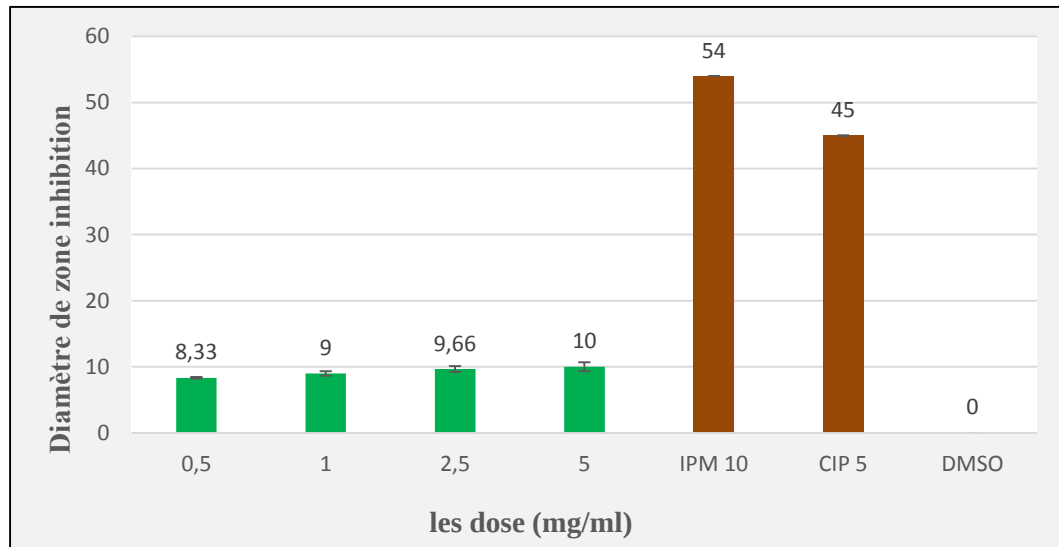


Figure 30 : Effet de l'extrait de *Salvia chudaei* sur *Listeria innocua*.

Après l'observation de la figure32, on trouve un effet moyen de l'extrait de *Salvia chudaei* *Listeria innocua* avec zone d'inhibition est égale $10 \pm 0,66$ mm à concentration 5 mg/ml.

Par contre les antibiotiques imipnenem et ciprofloxacine présentent des effets antibactériens avec une zone d'inhibition 54 ± 0 mm, 45 ± 0 mm, respectivement.

2.1.4.6. Pouvoir antimicrobien contre *Fusarium culmorum*

Les résultats obtenus sont représentés par l'histogramme suivant (figure 31).

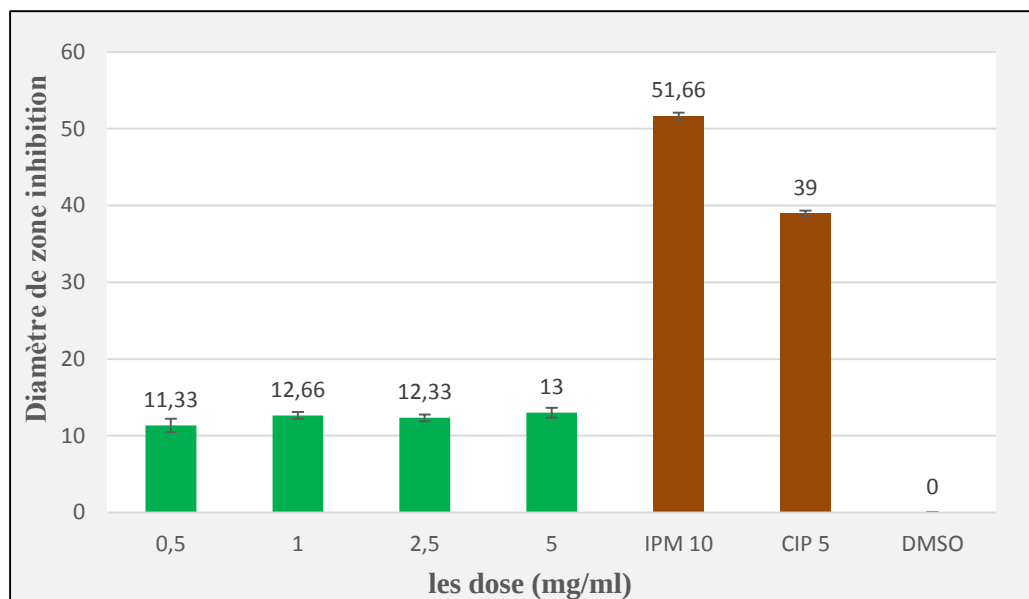


Figure 31 : Effet de l'extrait de *Salvia chudaei* sur la souche *Fusarium culmorum*.

La figure 33 présente que le pouvoir antifongique des imipenem et ciprofloxacine est très important de l'ordre de $51,66 \pm 0,44$ mm et $39 \pm 0,33$ mm de diamètre respectivement. Et une bonne pouvoir antifongique de l'extrait de *Salvia chudaei* égale $13 \pm 0,66$ mm par la concentration 5 mg/mm.

2.1.4.7. Etude comparative de l'effet antimicrobien de l'extrait de *S. chudaei* sur les souches testées

Dans cette histogramme (figure 32) nous avons comparé les résultats de la sensibilité microbienne des ce cis souche testé en présence notre extrait éthanolique a la dose 5 mg/ml.

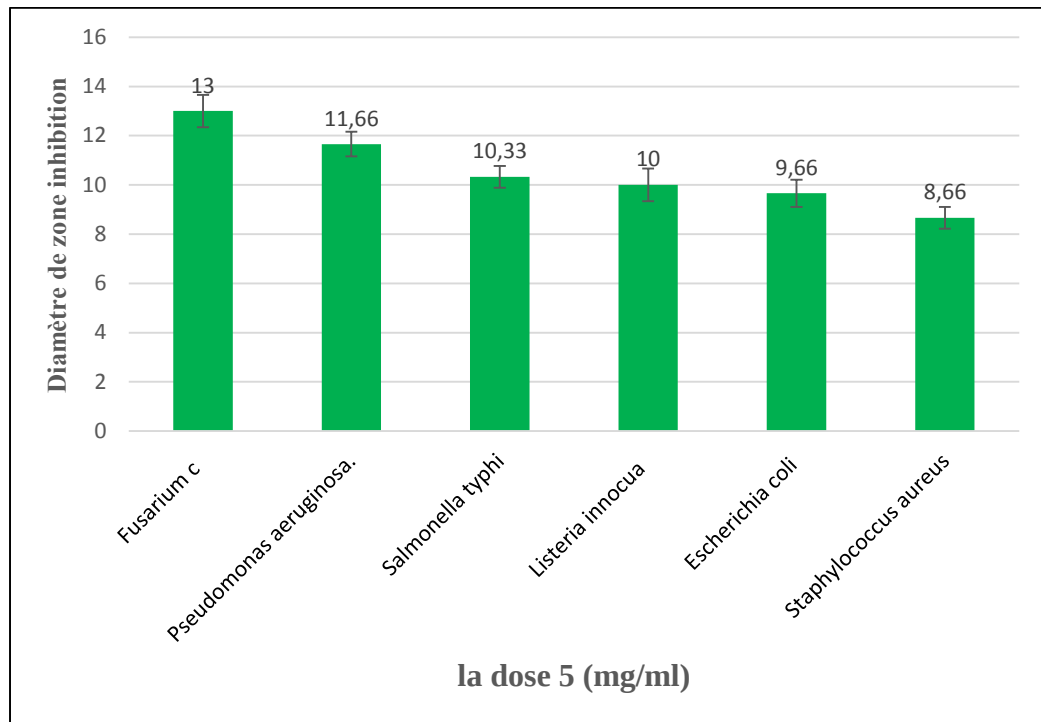


Figure 32 : comparaison le pouvoir antimicrobienne de l'extrait éthanolique sur les souches testé a la dose 5 mg/ml.

D'après l'histogramme (figure 32), la souche fongique est le plus sensible de zone de $13 \pm 0,66$ mm, et les souches bactériennes montrent des zones d'inhibition moyennes, avec la souche *Staphylococcus aureus* est le plus résistant de l'ordre de $8,66 \pm 0,44$ mm.

2.1.5. Evaluation Activité anti-hémolytique

Le test d'hémolyse ou KRL (Kit Radicaux Libres) est réalisé sur des érythrocytes humains, permet de refléter de façon globale le potentiel de défense d'un individu vis-à-vis d'une agression aux radicaux libres selon le protocole de **Abirami et al., (2014)**. Dans ce test l'acide ascorbique utilise comme standard, les résultats obtenus sont représentés dans les figures 33 et 34.

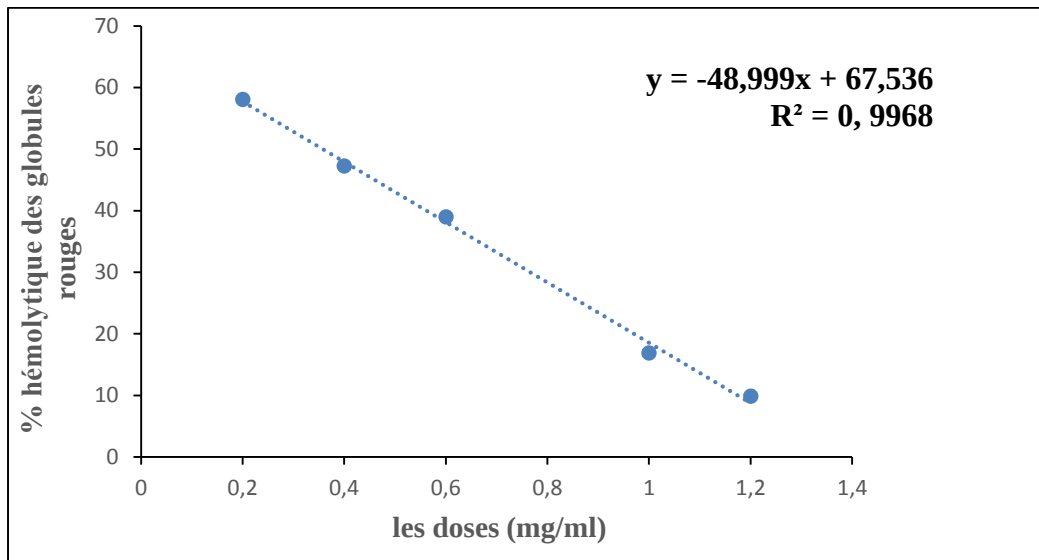


Figure 33 : Pourcentage anti-hémolytique d'acide ascorbique.

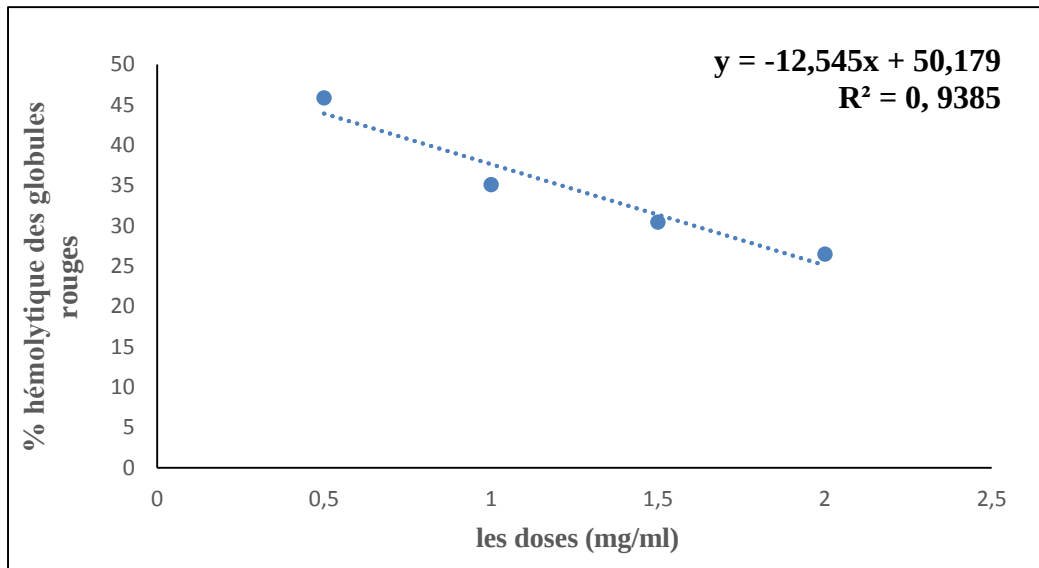


Figure 34 : pourcentage anti-hémolytique d'extrait éthanolique.

D'après les figures 33 et 34, on observe un ajustement inverse entre les différentes doses d'extrait et pourcentage hémolytique de globule rouges.

L'effet inhibiteur d'hémolyse des l'extrait et l'acide ascorbique de la concentration 1 mg/ml sont différents (figure 35), l'acide ascorbique présente un effet anti-hémolytique plus important que l'extrait éthanolique.



Figure 35 : pouvoir anti-hémolytique de l'extrait éthanolique de concentration 1 mg /ml.

2.2. Discussion

Dans notre étude, nous avons déterminés le rendement d'extraction des composés phénoliques à partir de partie aérienne de la plante *Salvia chudaei* (*Lamiaceae*) par macération, le dosage des composés phénoliques totaux (PPT), flavonoïdes totaux (FVT) et tanins condensé (TC) ont également été mesurés. Pour compléter l'analyse phytochimique d'extraît éthanolique nous avons évalué la capacité antioxydante *in vitro* par test DPPH et l'activité antimicrobienne sur cis souches et l'activité anti-hémolytique des globules rouges.

Selon **Hammoudi et al., (2017)**, le rendement de l'extraît éthanolique de *Salvia chudaei* a concentration de solvant éthanolique 80 % donne un résultat 17.2 % est faible par apport notre rendement.

Dans une étude concernant d'autres espèces de mêmes famille *Lamiaceae* menée par **Tamert et Latreche, (2015)**, sur les rendements des extraits éthanolique, ils ont été noté que les extraits éthanolique des *Origanum vulgare*, *Thymus serpyllum* et *Phlomis crinita* possèdent des rendements très faible 1.28 g, 4.33 g et 3.20 g respectivement.

D'après **Senol et al., (2010)** montrent que les rendements d'extraction les plus importants sont obtenus pour le méthanol, suivi du dichlorométhane et enfin de l'acétate d'éthyle, pour les différentes espèces de *Salvia* (*S. adenocaulon*, *S. adenophylla*, *S. divaricata*, *S. spinosa*, *S. virgata*, *S. staminea*, *S. potentillifolia*).

Les rendements varient d'une méthode d'extraction à une autre et d'une partie de la plante à une autre. Cette différence est expliquée par la diffusion du solvant dans la poudre des plantes dans l'étape de macération et probablement à la nature et la polarité des solvants utilisés pour l'extraction (**Naczki et Shahidi, 2004 ; Barroso et al., 2014**). En général, les rendements les plus élevés sont obtenus avec les solvants polaires tels que l'eau, le méthanol et l'éthanol (**Markom et al., 2007; Iloki-Assanga et al., 2015**).

Les résultats de dosage de polyphénols montrent que l'extraît éthanolique est très riche en polyphénols (87.16 ± 1.95 Mg EAG /g E), ces résultats sont confirmé par **Matkowski et al., (2008)** pour une extraît d'éthyle acétate de *Lamium maculatum* $70,8 \pm 8.8$ mg EAG /g MS et *Galeopsis Tetrahit* 85.6 ± 5.9 Mg EAG /g MS. par contre la teneur en polyphénols *Ballota nigra* 339.0 ± 11.4 Mg EAG /g MS est très élevé.

Les résultats trouvés par **Hammoudi, (2015)** (42.73 ± 1.91 Mg EAG/g MS) sont moins important que nos résultats.

Le choix du système de solvant d'extraction est très important dans la détermination des teneurs en polyphénols totaux (**Tirichine, 2010**).

La distribution des métabolites secondaires peut changer pendant le développement de la plante. Ceci peut être lié aux conditions climatiques hostiles (la température élevée, exposition solaire, sécheresse, salinité) qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols. En effet, la teneur phénolique d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétiques) et extrinsèques (conditions climatiques, les pratiques culturelles, la maturité à la récolte et les conditions de stockage) (**Falleh et al., 2008**), aussi dépendent à l'organe analysé, et solvants qui sont utilisés (**Tirichine, 2010**), et les conditions d'échantillonnage (**Schlesier et al., 2002**), les différentes maladies qui peuvent affecter la plante (**Park et Cha, 2003**)

Le contenu phénolique d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs, citons la température et le temps. Notons que l'augmentation de la température favorise l'extraction en améliorant à la fois la solubilité du corps dissous et le coefficient de diffusion. Cependant, une température trop élevée, peut également induire la dégradation de quelques composés phénoliques (**Ya-Qin et al., 2008**).

Néanmoins, plusieurs chercheurs ont attiré l'attention à la possibilité de l'oxydation des composés phénoliques si le temps d'extraction est long, ce qui peut mener à l'inverse des résultats escomptés (teneurs très basses) (**Nazck et Shahidi, 2004 ; Nazck et Shahidi, 2006 ; Chirinos et al., 2007 ; Drużyńska et al., 2007; Yap et al., 2009**).

Les résultats de dosage de flavonoïdes montrent que l'extrait éthanolique possède une quantité importante en flavonoïdes ($15,39 \pm 0.9$ Mg EQ /g E), ces résultats sont moins importants par rapport aux résultats publiés par **Hammoudi et al., (2017)**, des extraits éthanoliques de partie aérienne et souterraine (0.062 ± 0.0005 Mg ER/mg MS, 0.03 ± 0.0003 Mg ER/mg MS respectivement). D'après **Nazemiyeh et al., (2006)** montre que le genre *Salvia* est riche en flavonoïdes.

Les taux des flavonoïdes peuvent être dus à l'augmentation du métabolisme de ces composés en réponse aux conditions climatiques extrêmes de ces plantes sahariennes (**Djeridane et al., 2006**).

D'après **Lu et al., (2006)** et **Vanamala et al., (2006)**, et **Klimczak et al., (2007)**, la variabilité des teneurs en flavonoïdes dans l'orange de la plante est influencée par plusieurs facteurs dont l'origine génétique, le degré de maturation, le mode de conservation.

La concentration des flavonoïdes dans les extraits de la plante est liée à la solubilité qui dépend non seulement de la polarité du solvant d'extraction mais aussi du nombre et de la position des groupements hydroxyles libres, au poids moléculaire et de la glycosylation (**Mohammed et Atik, 2011 ; Iloki-Assanga et al., 2015**).

La teneur de tanins de l'extrait éthanolique de *Salvia chudaei* ($16,17 \pm 8.08$ Mg EC /g E) est préférable que les teneurs des tanins des quatre plantes médicinales récolté de la région de Tamanrasset (*Asteriscus graveolens*, *Cymbopogon schoenanthus* L, *Panicum turgidum* et *Pituranthos scoparius*) **Hadouchi et al., (2016)**.

Les travaux faites par **Mahmoudi et al., (2012)**, sur *Cynara scolymus* L montrent que la décoction est plus efficace pour l'extraction des tanins 3,05 Mg EC/g MS que la macération 2,35 Mg EC/g MS. L'eau enregistre les teneurs les plus élevées en tanins condensés 4,09 Mg EC /g MS que l'éthanol et l'acétone 2,59 et 2,29 Mg EC /g MS respectivement. En revanche, le méthanol extrait faiblement les tanins 1,83 Mg EC /g MS.

En accord avec les résultats de nombreux chercheurs qui ont indiqués que l'eau enregistre les teneurs les plus élevées en tanins condensés suivie par l'éthanol et l'acétone soient en moyenne et le méthanol extrait faiblement les tanins quel que soit le mode d'extraction, mais le problème est que l'eau et l'acétone, spécialement à hautes températures, extraient aussi des substances indésirables comme les protéines, les lipides et les colorants non phénoliques qui causent des interférences lors de dosage des tanins. Ou, les teneurs en tanins condensés peuvent être variables aussi en raison de plusieurs facteurs tels que : la sensibilité des tanins à des plusieurs voie de dégradation (l'oxydation, la lumière...), le stade de maturité des fruits, les conditions culturales, climatiques, pédologiques ou le stress de prédation (**Julkumen-Titto, 1985**).

L'extraction des tanins condensés dépend de leur nature chimique, du solvant utilisé et des conditions de l'extraction (**Chavan et al., 2001**). L'augmentation de la température favorise d'une part la diffusion et la solubilité des substances extraites, d'autre part elle détruit certaines substances fragiles (**Jokić et al., 2010**).

Test les antioxydants réduits décolorent le radical DPPH, en le transformant en un composé jaune le diphenyl picryl hydrazine. L'ampleur de la réaction dépendra de la Capacité des antioxydants à donner l'hydrogène (**Ardestani et Yazdanparast, 2007**).

Plusieurs facteurs influent sur le potentiel antioxydant et la cinétique de réduction, notamment les conditions de la réaction (temps, rapport Antioxydant/DPPH•, type de solvants, pH) et le profil phénolique en particulier (**Songklanakarinn, 2004**). l'activité antioxydante dépend non seulement de la concentration, mais également de la structure et la nature des antioxydants (**Falleh et al., 2008**).

Nos résultats a permis de déterminer la capacité de notre extrait à neutraliser le radical stable DPPH présent dans le milieu réactionnel. La valeur d'IC₅₀ diminue avec l'augmentation du contenu de polyphénols et de flavonoïdes, ce qui se traduit par des activités antioxydantes

très élevées dans les extraits riches en polyphénols. Ces résultats corroborent les résultats déjà mentionnés auparavant dans la littérature (**Wong et al., 2006 ; Arab et al., 2014**).

L'extrait éthanolique de *Salvia chudaei* possède une pouvoir anti radicalaire remarquable que le standard testé, ces résultats approuvent l'efficacité antioxydante de cette plante.

Notre extrait montré une activité antioxydante plus forte que l'extrait d'éthanolique de *Salvia chudaei* avec une valeur d'IC₅₀ est de 5.53 ± 0.311 mg/ml, et l'extrait d'acétate d'éthyle présent un pouvoir très puissant de valeur d'IC₅₀ est 0.28 ± 0.20 mg/ml (**Hammoudi, 2015**).

En générale les plantes médicinales riche en polyphénols usitées dans les pharmacopées traditionnelles possèdent des propriétés antioxydantes (**Speroni et al., 2000**). Les phénols sont des composés organiques qui contiennent un groupe hydroxyle lié directement à l'anneau aromatique et l'H-atome du groupe hydroxyle peut emprisonner des radicaux de peroxy, empêchant d'autres composés à oxyder (**Nguyen et al., 2003**).

La plupart des études expliquent la variation du potentiel antioxydant en fonction des solvants d'extraction selon leur polarité (**Teh et al., 2014 ; Yang et al., 2008**).

La méthode d'extraction peut être expliquée que les compositions et la teneur en composés phénoliques et respectivement l'activité antioxydante sont différents pour les différents organes des plantes (**Kahkonen et al., 1999**). Parce que la plante, tout comme tout être vivant, consomme beaucoup d'énergie au cours de son développement, les feuilles, en particulier qui sont le siège des réactions chloroplastiques, enregistrent une forte consommation d'oxygène et produisent donc par conséquent des radicaux libres (**Avlessi et al., 2004**). En plus, la phase de maturation de la plante dont observées des différences de la teneur en polyphénols entre jeunes et vieilles feuilles de différentes matrices végétales (**Sawa et al., 1999**).

L'acide ascorbique est un nutriment très abondant dans les légumes et les fruits tels que les agrumes (citrus limon), est le principal antioxydant hydrosoluble, il existe sous deux formes, la forme réduite (acide ascorbique) et la forme oxydée (l'acide dehydroascorbique) (**Lee et al., 2004**).

Les acides phénoliques (acide phénol dérivé d'acide benzoïque comme l'acide gallique) agissent comme donneurs de protons ou d'électrons et chélatent les métaux de transition (**Blokhina et al., 2003**).

L'acide gallique est le composé le plus actif dans les tests DPPH et FRAP par comparaison avec d'autres anti oxydants (**Schlesier et al., 2002**).

Les résultats obtenus dans ce travail, montrent que l'extrait éthanolique de la partie aérienne (feuille) du *Salvia chudaei* possède une pouvoir antimicrobienne remarquable par rapport les antibiotiques de références imipenem et ciprofloxacine, ces résultats sont en accord avec les résultats des (**Gali-Muhtasib et al., 2000 ; Kan, 2007 ; Stagos et al., 2013**), qui ont montré la plus part de genre *Salvia* possède un effet inhibitrice contre la croissance microbienne.

Les polyphénols jouent un rôle de protection des plantes contre les invasions microbiennes, et présentent d'autres mécanismes d'action de lutte contre les champignons, bactéries et virus. Ces propriétés antifongiques et antivirales trouvent de nombreuses applications en médecine humaine (**Xia et al., 2011**).

Il a été rapporté par **Hammoudi et al., (2017)** que l'extrait éthanolique de *Salvia chudaei* présente un effet remarquable par rapport l'effet de notre extrait à concentration 1 mg/ml sur *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et sur *Pseudomonas aeruginosa*.

D'autres études réalisées par **Krimat et al., (2015)** montre que la souche gram positive est la plus sensible (*Staphylococcus aureus* 13 mm zone d'inhibition), que la souche gram négative (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* de l'ordre de 9 mm et 0 mm respectivement) pour l'extrait méthanolique de la dose 100 mg/ml de *Salvia officinalis* (*Lamiaceae*). Par contre nos résultats révèlent un pouvoir antibactérien inverse.

D'après **Toty et al., (2013)** l'extrait aqueux de l'écorce *Harungana madagascariensis* possède une faible pouvoir antibactérien contre *Salmonella typhi* par rapport notre extrait. Cette différence est généralement à cause de la différence chimique entre les familles des plantes médicinales (**Kumar et al., 2012**).

Selon **Barchan et al., (2015)** montre que l'extrait méthanolique des espèces *Mentha pulegium* L, présente une inhibition forte sur *Listeria monocytogenes* (> 12 mm). Et que les extraits aqueux possèdent un faible effet (< 8 mm) à concentration 50 mg/ml.

D'après **Bougandoura et Bendimerad, (2012)**, le pouvoir antifongique de l'extrait méthanolique (40 mg/ml) révèle une activité inhibitrice très importante, ces résultats sont similaires avec nos résultats.

Selon les études de **Gortzi et al., (2007)**, la plus part des plantes de la famille *Lamiaceae* connues pour leurs composés phénoliques, ont été prouvées actives contre une variété de micro-organismes.

Certaines études ne révèlent aucune activité antimicrobienne sélective vis-à-vis les bactéries gram (+) ou gram (-) (**Guesmi et Boudabous, 2006**). Mais dans plusieurs travaux ont mis en évidence la grande sensibilité des bactéries gram (+) par rapport aux gram (-)

(Falleh *et al.*, 2008 ; Hayouni *et al.*, 2007 ; Turkmen *et al.*, 2007 ; Shan *et al.*, 2007 ; Kone *et al.*, 2004), Ceci peut s'attribuer à la différence dans les couches externes des bactéries gram (-) et gram (+) (Georgantelis *et al.*, 2007).

La paroi des bactéries gram négative des *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* et *Escherichia coli* est très riche en lipopolysaccharides, qui empêchent les molécules comme les terpènes hydrophobes d'adhérer à celle-ci. D'ailleurs, ces microorganismes sont mobiles, il est probable que ces bactéries se soient déplacées profondément dans la gélose, et par conséquent elles s'échappent ainsi à l'action des métabolites contenus dans les extraits.

La plus grande résistance de *Staphylococcus aureus* du gram positive vis-à-vis des extraits peut être expliquée par la présence de certains composants comme l'acide teichoïque et quelques liens entre les divers composants donnent au polymère fortement réticulé de parois cette résistance (Perry *et al.*, 2004 ; Beernesh *et al.*, 1967), d'après ce qu'est rapporté par Basli et Chibane, (2012), la paroi des bactéries gram (+) est riche en protéines tandis que chez les souches gram (-), elle est surtout composée en lipopolysaccharides (LPS), la membrane extérieure de ces dernières constitue une barrière efficace à la diffusion des molécules antibactériennes. Le LPS, grâce à ses charges négatives de surface, empêche la diffusion des molécules hydrophobes, et les protéines excluent le passage des molécules hydrophiles de poids moléculaire élevé. Alors que les bactéries gram (+) sont moins protégées contre les agents antibactériens, le peptidoglycane n'entrave que la diffusion des molécules supérieures à plus de 50 000 D (Hogan et Kolter, 2002).

Ces activités observées sont par ailleurs expliquées par la présence des composés tels que les alcaloïdes, les tanins, les flavonoïdes dont les propriétés antimicrobiennes ont déjà été démontrées (Bouزيد, 2011). Tels que les différentes classes de polyphénols essentiellement les tanins et les flavonoïdes peuvent augmenter la toxicité des extraits envers les microorganismes. Cette toxicité est en fonction du site et du nombre de groupements hydroxyles présents sur le composé phénolique (Harrar, 2012). les phénols peuvent être absorbés à la paroi cellulaire, ce qui conduit à une rupture de la structure et de la fonction de la membrane (Hayrapetyan *et al.*, 2012).

En outre, il est évident que l'augmentation de l'hydroxylation conduit à une augmentation de la toxicité. L'effet antimicrobien de ces phénols peut être expliqué par l'inhibition de la croissance bactérienne suite à leur adsorption sur les membranes cellulaires, l'interaction avec les enzymes et les effecteurs ou la privation en substrats et ions métalliques (Dhaouadi *et al.*, 2010).

(Chabot *et al.*, 1992) rapportent que les flavonoïdes qui sont caractérisés par l'absence du groupement hydroxyle sur le noyau B présentent une activité antimicrobienne plus élevée que ceux ayant le groupe-OH. D'autre part, (Moris *et al.*, 1987) ont montré que les flavonoïdes les plus substitués par le groupement hydroxyle libre sont impliqués dans l'activité antimicrobienne en particulier les molécules trihydroxylées en C3', C4', C5' sur le noyau B et hydroxylé en C3 (3-OH). Pour cela nous pouvons conclure que l'activité antimicrobienne des extraits dépend non seulement des composés phénoliques mais, aussi de la présence de différents métabolites secondaires à effet antifongique tels que les stéroïdes, les saponosides et les huiles essentielles qui ont par ailleurs déjà été signalés par plusieurs auteurs (Morris *et al.*, 1997 ; Yousef et Tawil 1980 ; Bajpai *et al.*, 2007).

Aussi l'activité antimicrobienne et donc anti-infectieuse des flavonoïdes a été démontrée par de nombreuses études. Cette activité est due principalement à la capacité de ces molécules à inhiber l'expression de l'ADN et la synthèse de certaines enzymes et protéines membranaires des microorganismes (Ulanowska *et al.*, 2006).

La capacité des tanins à créer des complexes avec les protéines par des liaisons hydrogènes, des liaisons hydrophobes ou des liaisons covalentes, leur permet alors de désactiver les adhésions microbiennes, enzymatiques et les enveloppes cellulaires transportant les protéines des microorganismes (Cowan, 1999).

L'étude de l'effet protecteur d'extrait phénolique des parties aérienne de la plante étudiée contre l'hémolyse oxydative induite par le H₂O₂ montre un pouvoir hémolytique remarquable que le standard testé (acide ascorbique). Ces résultats sont presque compatibles avec les résultats de test de DPPH.

D'après Alia et Saadoun, (2016), les résultats de la pouvoir anti-hémolytique de *Genista saharae* Coss. & Dur, sont similaire à nos résultats.

L'acide ascorbique s'est avéré l'antioxydant primaire dans le plasma (Frei, 1990). Il est classé parmi les antioxydants les plus puissants connus et est classé comme un composé hydrosoluble, il peut agir alors contre la propagation radicalaire, Il a été démontré que l'interaction de l'hémoglobine avec H₂O₂ produit des espèces réactives de l'oxygène et induit la peroxydation lipidique (D'souza et Prabhu, 2006).

Les érythrocytes constituent un modèle cellulaire très adéquat pour l'étude du stress oxydant. En raison de leurs facilités d'isolement, leurs simplicités, la richesse de leurs membranes en acides gras polyinsaturés et la concentration cellulaire élevée en oxygène et en

hémoglobine, ces cellules sont extrêmement susceptibles aux endommagements oxydatifs (**Arbos *et al.*, 2008 ; Cimen, 2008 ; Wajeman *et al.*, 1992**).

Grâce à l'interaction des globules rouges avec l'extrait, il a été constaté que l'extrait conférait un pourcentage de protection des globules sanguins contre la décomposition, ce qui protégeait contre les radicaux libres la capacité des composés phénoliques à les protéger des dommages causés par le stress oxydatif. Cela peut également être dû à la présence de flavonoïdes au sein des membranes cellulaires, site de l'oxydation lipidique (**Valente *et al.*, 2010**), et le type de flavonoïdes présents dans l'extrait joue également un rôle important, c'est-à-dire que tous les extraits contiennent des flavonoïdes moins polaires. Augmentation de la facilité de leur passage vers la couche phospholipidique de la membrane et donc augmentation de la proportion de protection contre les radicaux libres (**Ksouri *et al.*, 2008**)

Selon **Ranga *et al.*, (2014)**, les ROS agit pour oxyder les glycolipides de l'acides gras insaturés dans la membrane plasmique (**Usha et Yogish, 2016**), créant ainsi une différence de latence entre les milieux intracellulaire et extracellulaire, (**Callen et Perasso, 2005 ; Maillet & Lemullos, 2006**), permettant une augmentation la perméabilité de l'eau dans les globules rouges (**Judith, 2005**), et créant ainsi la lyse cellulaire conduisant à la libération de contenu les globules rouges dans le milieu extracellulaire (**Dolci & Panteghini, 2014 ; Lippi *et al.*, 2006**).

Les valeurs de l'activité antioxydante peuvent être attribuées à la quantité, à la qualité et à l'efficacité fonctionnelle des composés phénoliques des échantillons étudiés, **Bo Abdallah, (2011)**, a notés que les phénols et les flavonoïdes augmentent la possibilité de protéger les biofilms en empêchant leur oxydation par les radicaux libres. **Kalaivani *et al.*, (2011)**, ont noté que les composés phénoliques un rôle comme capteurs des radicaux libres, ou inhibiteurs des agents oxydants ou indicateurs d'activation les enzymes responsables de la détoxification.

Delmas-Beauvieux *et al.*, (1995) mentionnent que la présence d'extraits de la plantes est renforcée est significativement plus résistant aux érythrocytes des oxydants et peut être attribué au confinement de la plante aiguë sur deux types de glycosides. La lutéoline-7-O-rhamnoside et le lutéoline-7-O-glucoside la partie non glucidique est la lutéoline, est un flavonoïde largement répandue dans le règne végétale et est connu pour ses efficacités biologiques (**López-Lzzaro, 2009**).

Conclusion

Dans le but de la valorisation d'une plante de la famille Lamiacées issue de la région de Tamanrasset, en l'occurrence *Salvia chudaei*, nous avons effectué l'extraction éthanolique par macération. Les composés phénoliques des parties aériennes misent en évidence un travail permettant pour contribuer à la l'activité biologique de polyphénols.

L'extraction de la partie aérienne de la plante a permis d'obtenir un rendement 29.64 %. La teneur en composés phénoliques de plante estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu est 87.16 ± 1.95 Mg EAG/g d'extrait, le dosage des flavonoïdes par la méthode d' AlCl_3 a révélé une teneur $15,39 \pm 0.9$ Mg EQ /g d'extrait. Et la teneur des tanins condensé donne une valeur $16,17 \pm 8.08$ Mg EC /g d'extrait. Ces résultats fait apparaitre que l'extrait brut de la partie aérienne de *Salvia chudaei* peuvent être considérés comme une source éventuelle de cette classe de métabolites secondaires.

Les résultats de l'activité antioxydante en utilisant le test DPPH montre que l'extrait possède un pouvoir antioxydant important, présentant la valeur d' IC_{50} 1,28 mg/ml. En parallèle, les résultats de l'activité anti-hémolytique des composés phénoliques de la plante étudiée contre H_2O_2 révèlent que cet extrait exerce un pouvoir anti-hémolytique moyen par apport l'effet de l'acide ascorbique.

Les résultats de l'activité antimicrobien indiquent que l'extrait possède une activité antimicrobienne remarquable sur les souches ciblés (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria innocua* et *Fusarium culmorum*), avec la souche fongique est le plus sensible de zone de d'inhibition $13 \pm 0,66$ mm, par contre la souche bactérienne *Staphylococcus aureus* est le plus résistant de l'ordre de $8,66 \pm 0,44$ mm de zone d'inhibition.

L'ensemble de ces résultats obtenus *in vitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement active, une étude *in vivo* est souhaitable, pour obtenir une vue plus approfondie sur les activités antioxydante, antimicrobienn et l'activité hémolytique des globules rouges de cette plante.

*Références
bibliographiques*

- ✚ **Abdulhamid, A., Giweli1, A.M., Džamić, M.S., Ristić, M.S., Janačković, P., & Marin P.D. (2013).** The chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of *salvia fruticosa* growing wild in Libya. Arch. Biol, Sci, Belgrade, 65 (1):321-329.
- ✚ **Abirami, A., Gunasekaran, N. & Perumal S. (2014).** *In vitro* antioxidant, anti-diabetic, cholinesterase and tyrosine inhibitory potential of fresh juice from *Citrus hystrix* and *C. maxima* fruits. Food Science and Human Wellness, (03): 18-22.
- ✚ **Achat, S. (2013).** Polyphénols de l'alimentation : Extraction, pouvoir antioxydant et avec des ions métalliques .Thèse de doctorat en science .Université A. Mira-Bejaia.211p.
- ✚ **Alam, M.D. N., Bristi, N.J. & Rafiquzzaman M. d. (2013).** Review on in vivo and in vitro methods of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21: 143-152.
- ✚ **Alia, F., Saadoun, N. (2016).** Contribution au suivi du contenu phénolique et à l'étude de l'activité antioxydante de la plante génitale saharae coss. & dur dans la région d'Oued Souf au cours des différentes étapes de la croissance. Université de Echahid Hamma Lakhdar Valley. 110 pages.
- ✚ **Alice, T., Mariella, L., Rita, M., Haana, M., Tania, S., Paolo, V., Anna, M., Alberto, P. (2016).** Lamiaceae phenols as multifaceted compounds: bioactivity, industrial prospects and role of "positive-stress". *Industrial Crops and Products*, 83: 241-254.
- ✚ **Alilou, H. (2012).** Etude phytochimique et antifongique de deux plantes du Sud du Maroc : *Asteriscus graveolens* subsp. *odorus* (Schousb.) Greuter et *Asteriscus imbricatus* (Cav) DC. Thèse de Doctorat en sciences. Université Ibn Zohr. Agadir, Maroc. 215p.
- ✚ **Aoki, T., Donnel, K. (1999).** Morphological and molecular characterization of *Fusarium pseudograminearum* sp. Nov. formerly recognized as the Group 1 population of *F. graminearum*. *Mycologia*. 91:597-609.
- ✚ **Arab, K., Bouchenak, O., Yahiaoui, K. (2014).** Etude phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle et des composés phénoliques du pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus* L.). *Journal of Fundamentals Applied Sciences*. 6(1): 79-93.
- ✚ **Arbos, K.A., Claro, L.M., Borges, L., Santos, C.A.M., Weffort-Santos, A.M. (2008).** Human erythrocytes as a system for evaluating the antioxidant capacity of vegetable extracts. *Nutrition Research*, 28: 457-463.

- ✚ **Ardestani, A. & Yazdanparast, R. (2007).** Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. *Food Chem.* 104: 21-29.
- ✚ **Avlessi, F., Dangou, J., Wottov, D., Alitonou, G.A., Aohounhloue, D.K. & Menut C. (2004).** Composition chimique, propriétés antimicrobienne et activités sur les tiques de l'huile d'*Eucalyptus tereticornis* Sm. *J. Chimie.* Vol. (7): 1057-1061.
- ✚ **Ba, K. & Settour, H. (2018).** Contribution à la caractérisation biologique des fractions de l'extrait éthanolique de *Salvia chudaie* .Mém . Master Académique. Université Echahid Hamma Lakhdar -EL OUED.62p.
- ✚ **Bahadori, M.B., & Mirzaei, M. (2015).** Cytotoxicity, antioxidant activity, total flavonoid and phenolic contents of *Salvia urmiensis* Bunge and *Salvia hydrangea* DC, Ex Benth. Research, *Journal of Pharmacognosy.* 2: 27-32.
- ✚ **Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, J. C. & Pinkas, M. (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations.*Journal of Arzneimittel-Forschung.* 46: 1086-1089.
- ✚ **Bajpai, V.K., Rahman, A. & Kang, S.C., (2007).** Chemical composition and anti-fungal properties of the essential oil and crude extracts of *Metasequoia glyptostroboides* Miki ex Hu. Ind. Crop. Prod. 26: 28- 35.
- ✚ **Barchan, A., Bakkali, M., Arakrak, A. & Laglaoui, A. (2015).** Effet antibactérien et anti-biofilm de trois espèces de *Mentha* : *Mentha spicata*, *Mentha pulegium* et *Mentha piperita*. Phytothérapie pp : 1-8.
- ✚ **Barrosoa, M.R., Barros, L., Dueñas, M., Carvalho, A.M., Santos-Buelga, C., Fernandes, I.P., Barreiro, M.F. & Ferreira, I.C.F.R., (2014).** Exploring the antioxidant potential of *Helichrysum stoechas* (L.) Moench phenolic compounds for cosmetic applications: Chemical characterization, microencapsulation and incorporation into a moisturizer. Ind Crops Prod 53:330–336.
- ✚ **Basli A. & Chibane, M. (2012).** Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie : *Origanum glandulosum* Desf. Phytothérapie. 10: 2–9.
- ✚ **Batra, P. & Sharma, A. K. (2013).** Anti-cancer potential of flavonoids: recent trends and future perspectives. 3(6), 439-459.
- ✚ **Beernes, H., Buttiaux, R. & Tacquet, A. (1967).** Manuel de techniques bactériologiques. 2ème Ed. Paris. 572p.

- ✚ **Benamor, B. (2008).** Maitrise de l'Aptitude Technologique de la Matière Végétale dans les Opérations d'Extraction de Principes Actifs ; Texturation par Détente Instantanée Contrôlée DIC. Thèse de Doctorat, Université de La Rochelle. Français. 187p.
- ✚ **Benavente-Garcia, O. & Castillo, J. (2008).** Update on use and properties of citrus flavonoids: New findings in anticancer, cardiovascular, and anti-inflammatory activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56(15): 6185-6205.
- ✚ **Benayache, F. (2005).** Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires d'espèces du Genre *Genista* (Fabaceae) : *G. saharae*, *G. ferox*. Thèse de Doctorat en chimie organiques. Université Mentouri- Constantine. Algérie. 199 p.
- ✚ **Benchelah, A C., Bouzian, H., Maka, M. (2011).** Fleurs du Sahara, Voyage ethnobotanique avec les Touaregs du Tassili. Edition Ibis press, paris. ISBN 978-236122-021-117.255P.
- ✚ **Benchelah, A.C., Bouzian, H., Maka, M. (2004).** Fleurs du Sahara, arbres et arbustes, voyage au cœur de leurs usages avec les Touaregs du Tassili. *Phytothérapie*. 6: 191-197.
- ✚ **Blokhina, O., Virolainen, E. & Fagerste, D. K.V. (2003).** Antioxidants, Oxidative Damage and Oxygen Deprivation Stress: a review. *Annals of Botany*, 91: 179-194.
- ✚ **Boizot, N. & Charpentier, J.P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour d'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, Le Cahier des Techniques de l'INRA, pp : 79-82.
- ✚ **Bou Abdullah, S. (2011).** Etude de certains effets biologiques extraits du théier vert *Camellia sinensis* sur l'activité anti-oxydante et l'activité antibactérienne. Master of Science, Université Montessori de Constantine. 78 pages.
- ✚ **Bouaziz, M., Thabet, Y., Sami, S., Dhouib, A. (2009).** Disinfectant properties of essential oils from *Salvia officinalis* L cultivated in Tunisia. *Food and chemical toxicology*, 47: 2755-2760.
- ✚ **Boudjouref, M. (2011).** Etude de l'activité antioxydant et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Thèse de Magister en Biochimie. Université Ferhat Abbas, Sétif. Algérie. 99 p.
- ✚ **Bougandoura, N. & Bendimerad, N. (2012).** Effet Antifongique Des Extraits Aqueux Et méthanolique De *Satureja calamintha* ssp. (*Nepeta*) briq. *Revue des Bio Ressources* Vol. (2) : 1-7.

- ✚ **Bourgeois, C.M., Mescle, J.F., (1996).** Microbiologie alimentaire : aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Edition Lavoisier .pp 5- 6.
- ✚ **Bouزيد, W., Yahia, M., Abdeddaim, M., Aberkane, M.C & Ayachi, A. (2011).** Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de *l'Aubepine monogyne*. *Lebanese Science Journal*, Vol. (12) : 59-69.
- ✚ **Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. (1995).** Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm Wiss Technology*. Vol. (28) :25-30.
- ✚ **Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie. Plantes médicinales. Ed. Technique et Documentation. 3ème Ed, Paris. France. 1120p.
- ✚ **Bssaibis, F. Et Al. (2009).** Activité antibactérienne de *Dittrichia viscosa* L. ; Rev. Microbiol. Ind. San et Environn. Vol. 3(1): 44-55.
- ✚ **Callen, J. C. & Perasso, R. (2005).** Biologie cellulaire des molécules aux organismes. DUNOD, Paris, 500 p.
- ✚ **Carrubba, A., La Torre, R., & Zaffuto, G. (2006).** Exploitation of native labiatae in Sicily. *Acta Horticultura*. (723): 111–116.
- ✚ **Chabot, S., Bel-Rhlid, R., Chênevert, R. & Piché, Y. (1992).** Hyphal growth promotion in vitro of the VA mycorrhizal fungus, *Gigaspora margarita* Becker & Hall, by the activity of structurally specific flavonoïd compounds under CO2-enriched condition. *New Phytol*; 122: 461-467.
- ✚ **Chaker, H., (2012).** Régulation de l'adaptation de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* à son hôte : implication des métabolites du tryptophane. THÈSE Pour obtenir le grade de Docteur. université de Grenoble.272p.
- ✚ **Chavan, U.D., Shahidi, F., Naczsk M. (2001).** Extraction of condensed tannins from beach pea (*Lathyrus maritimus* L.) as affected by different solvents. *Food Chemistry*, 75: 509-512.
- ✚ **Cheng, S.S., Liu, J.Y., Chang, E.H. & Chang, S.T. (2008).** Antifungal activity of cinnam aldehyde and eugenol congeners against wood-rot fungi. *Bio resource Technology*. 99 (11): 5145-5149.
- ✚ **Chirinos, R., Rogez, H., Campos, D., Pedreschi, R. & Larondelle, Y. (2007).** Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) tubers. *Journal of Separation and Purification Technology*, 55: 217-225.

- ✚ **Choi, Y.M., Noh, D.O., Cho, S.Y., Suh, H.J., Kim, K.M. & Kim, J.M. (2006).** Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *LWT - Food Science and Technology*. 39: 756-761.
- ✚ **Chouikh, A., Mekki, M. & Adjal, E.H. (2015).** Effects of extraction methods on antibacterial activity of different extracts of *calligonum comosum* l'her.growing in Sahara Algerian. *International journal of recent scientific research*, 6 (4): 3534-3536.
- ✚ **Cimen, M.Y.B. (2008).** Free radical metabolism in human erythrocytes. *Clinica Chimica Acta*, 39: 1-11.
- ✚ **Conforti, F., Sosa, S., Marrelli, M., Menichini, F., Statti, G. A., Uzunov, D., Tubaro, A. & Loggia, R. D. (2008).** In vivo anti-inflammatory and in vitro antioxidant activities of Mediterranean dietary plants. *Journal of Ethnopharmacology*. 116(1): 144-151.
- ✚ **Cowan, M. M. (1999).** "Plant products as antimicrobial agents." *Clinical Microbiology Reviews* 12(4): 564-582.
- ✚ **Cruz, J.M., Dominguez, J.M., Dominguez, H. & Parajo, J.C. (2001).** Antioxidant and antimicrobial effects of extracts from hydrolysates of 06 lignocellulosic materials. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 49(5):2459-2464.
- ✚ **Cushnie, T.P.T. & Lamb, A.J. (2005).** Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 26(5): 343-356.
- ✚ **D'souza, H. P., Prabhu, R. H. (2006).** *In vitro* inhibition of lipid peroxidation in fish by turmeric (*Curcuma longa*). *Ind. J. Clin. Biochem*. 29: 305-312.
- ✚ **Delaldja, I. & Saadoudi, H. (2017).** Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire et l'activité biologique de la plante *Pistacia Lentiscus L.* Mémoire du diplôme de Master Académique en Biodiversité et Physiologie Végétale, Université MOHAMED BOUDIAF - M'SILA, Algérie. 37p.
- ✚ **Delmas-Beauvieux, M.C., Combe, C., Peuchant, E., Carbonneau, M.A., Dubourg, L., De Precigout, V., Aparicio, M. & Clerc, M. (1995).** Evaluation of red blood cell lipoperoxidation in hemodialysed patients during erythropoietin therapy supplemented or not with iron. *Nephron*, 69: 404–410.
- ✚ **Dhaouadi, K., Raboudi, F., Estevan, C., Barrajon, E., Vilanova, E., Hamdaoui, M. et Fattouch, S. (2010).** Cell viability effects and antioxidant and antimicrobial activities of Tunisian date syrup (Rub El Tamer) polyphenolic extracts. *J. Agric Food Chem*, Vol. (59): 402-406.

- ✚ **Djelloul-Daouadji, S. (2010).** Détection de Biofilm a Staphylocoques sur Cathéters Veineux. Thèse de Magister en Biologie Moléculaire et Cellulaire. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen. Algérie. 77 p.
- ✚ **Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P. & Vidal, N., (2006).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97: 654–660.
- ✚ **Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Vidal, N., Lesgards, J.F., Stocker, P. (2007).** Screening of some A Algerian medicinal plants for the phenolic compounds and their antioxidant activity, *European Food of Research and Technology*, 224: 801-809.
- ✚ **Dolci, A. & Panteghini, M. (2014).** Harmonization of automated hemolysis index assessment and use: Is it possible?. *Clinica Chimica Acta*, 432-438.
- ✚ **Drużyńska, B., Stepniewska, A. & Wolosiak, R. (2007).** The influence of time and type of solvent on efficiency of the extraction of polyphenols from green tea and antioxidant properties obtained extracts. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 6: 27-36.
- ✚ **Erdman, J.R. J. W., Balentine, D., Arab, L., Beecher, G., Dwyer, J. T., Folts, J., Harnly, J. Hollman, P., Keen, C. L., Mazza, G., Messina, M., Scalbert, A., Vita, J., Williamson, G. & Burrowes, J. (2007).** Flavonoids and Heart Health: Proceedings of the ILSI North America Flavonoids Workshop. *The Journal of Nutrition* jn.nutrition.org, 137, 718-737.
- ✚ **Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C. (2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities, *C. R. Biologies*. Vol. (331): 372-379.
- ✚ **Fellah, S., Romdhane, M., Abderraba, M. (2006).** Extraction et étude des huiles essentielles de la *Salvia officinalis* cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie, *Journal de la Société Algérienne de Chimie*, 16(2) :193-202.
- ✚ **Frei, B., Kim, M.C. & Ames, B.N. (1990).** Ubiquinol-10 is an effective lipid-soluble antioxidant at physiological concentrations, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 87(12) :4879-4883.
- ✚ **Fukai, K., Ishigami, T. & Hara, Y., (1991).** Antibacterial activity of tea polyphenols against phytopathogenic bacteria. *Agricultural and Biological Chemistry*. 55(7): 1895-1897.
- ✚ **Gabrieli, C.N., Kefalas, P.G., Kokkalou, E.L. (2005).** Antioxidant activity of flavonoids from *Sideritis raeseri*. *Journal of Ethnopharmacology*, 96: 423–428.

- ✚ **Gali-Muhtasib, H. Hilan, C. & Khater, C. (2000).** Traditional uses of *Salvia libanotica* (East Mediterranean sage) and the effects of its essential oils. *Journal of Ethnopharmacology*. 7: 513–520.
- ✚ **Georgantelis, D., Ambrosiadis, L., Katikou, P., Blekas, G., & Georgakis, S. A., (2007).** Effect of Rosemary extract, chitosan and α -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4 °C. *Meat Science*, 76(1), 172-181.
- ✚ **Ghedadba, N., Hambaba, L., Ayachi, A., Aberkane, M. C., Bousselsela, H. & Oueld-Mokhtar, S. M. (2015).** Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé. *Phytothérapie*, 13:118-129.
- ✚ **Ghestern, A., Seguin, E., Paris, M. & Orecchioni, A.M. (2001).** Le préparateur en Pharmacie. 2ème ed. Ed. Tec et Doc, Paris. France. 275p.
- ✚ **Ghosh, D. & Scheepens, A. (2009).** Vascular action of polyphenols. *Molecular Nutrition & Food Research*. 53(3) : 322 – 331.
- ✚ **Gilbert, B. L. & Norris, D. M. (1968).** A chemical basis for bark beetle (scolytus) distinction between host and non-host trees. *J Insect physiol.* Vol. (14): 1063-1068.
- ✚ **Gorham, J. (1977).** Lunularic acid and related compounds in liverworts, algae and hydrangea. *Photochemistry*. Vol. (16):249-253.
- ✚ **Gortzi, O., Lalas, L., Chinou, L. & Tsaknis, J. (2007).** Evaluation of the Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Origanum dictamnus* Extracts before and after Encapsulation in Liposomes. *Molecules* 2007, 12, 932-945.
- ✚ **Grigonis, P.R., Venskutonis, B., Sivik, M., Sandahl, D. & Eskilsson, C.S. (2005).** Comparison of different extraction techniques for isolation of antioxidants from sweet grass (*Hierochloëodorata*), *The Journal of Supercritical Fluids*, 33 (3): 223-233.
- ✚ **Guesmi, A. & Boudabous, A., (2006).** Activité antimicrobienne de cinq huiles essentielles associées dans les produits de thalassothérapie. *Revue des Régions Arides*, numéro spécial. pp. 224-230.
- ✚ **Guignard, J. I. (1996).** Biochimie végétale. Ed. Masson, Paris. France. 274 p.
- ✚ **Haddouchi, F., Chaouche, T.M. & Halla, N. (2016).** Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. *Phytothérapie*. pp. 1-9.
- ✚ **Hamliche, V., & Maiza, K. (2006).** Traditional medicine in Central Sahara: Pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. *Journal of Ethnopharmacology*. 105: 358-367.

- ✚ **Hammoudi, R. (2015).** Activités biologiques de quelques métabolites secondaires extraits de quelques plantes médicinales du Sahara méridional algérien. Thèse de Doctorat en Sciences Biologiques. Université Kasdi Merbah, Ouargla. Algérie. 152 p.
- ✚ **Hammoudi, R., Dehak, K., Sanon, S., Mahfoud, H.M. & Didi, O. M. (2017).** In Vitro antimalarial, Antimicrobial and Antioxidants Activities of *Salvia chudaei* Batt. & Trab. (Lamiaceae) Extracts. *Der Pharma Chemica*, 9(2) : s82-89.
- ✚ **Hammoudi, R., Dehak, K., Tlili, M.L., Khenfer, S., Medjouel, M. & Mahfoud H.M. (2017).** Biological activities of phenolic extracts of a medicinal plant, endemic to the Algerian Sahara: *Salvia chudaei* Batt. & Trab. *International Journal of Biosciences*, Vol. 11, No. 3, pp. 108-115.
- ✚ **Hammoudi, R., Siham, K., Maroua, M., Tlili, M.L & Mahfoud, H.M. (2017).** Optimization of extraction conditions for phenolic compounds from *Salvia chudaei*. *Lebanese Science Journal*. Vol. 18, No. 2: 234-243.
- ✚ **Hamzaa, N., Berkea, B., Chezea, C., Aglib, A.N., Robinsona, P., Ginc, H., Moorea, N. (2010).** Prevention of type 2 diabetes induced by high fat diet in the C57BL/6J mouse by two medicinal plants used in traditional treatment of diabetes in the east of Algeria. *Journal of Ethnopharmacology*, 128: 513–518.
- ✚ **Handa, S.S. (2008).** An Overview of Extraction Techniques for Medicinal and Aromatic Plants. Ed. International Centre for Science and High Technology (ICS-UNIDO), Trieste. Italy. Pp 21-54.
- ✚ **Harborne, J.B. (1980).** Plant Phenolics: Encyclopedia of Plant Physiology. *New series*. Vol. (8) : 329-402.
- ✚ **Harrar, A.E.N., (2012).** Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Thèse de Magister Biochimie et physiologie expérimentale, Université Ferhat Abbas, Sétif. Algérie. 73 p.
- ✚ **Hart, T., Shears, P. (2002).** Atlas de poche de Microbiologie. Flammarion Médecine Sciences. Paris. 313p.
- ✚ **Hasani, P., Yasa, N., Vosough-Ghanbari, S., Mohammadirad, A., Dehghan, G., Abdollahi, M. (2007).** In vivo antioxidant potential of *Teucrium polium*, as compared to a-tocopherol. *Acta Pharm.* 57: 123–129.
- ✚ **Haslam, E. (1994).** Natural polyphénols (vegetable tannins) : Gallique Acide métabolisme. *Nat. Prod.* Vol. (11): 41-66.
- ✚ **Haslam, E. (1998).** Practical Polyphenolics: From Structure to Molecular Recognition and Physiological Action. Ed. Cambridge University Press, Cambridge. UK. 422p.

- ✚ **Havsteen, B. H. (2002).** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics*, 96, 67-202.
- ✚ **Hayouni, E.A, Abedrabba, M., Bouix, M. & Hamdi, M. (2007).** The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry*, 105: 1126–1134.
- ✚ **Hayrapetyan, H., H. W. C. & Beumer, R. R., (2012).** Inhibition of *Listeria monocytogenes* by pomegranate (*Punica granatum*) peel extract in meat paté at different temperatures. *Food Control*, 23: 66-72.
- ✚ **Hennebelle, T., Sahpaz, S. & Bailleul, F. (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*. Vol (1) : 3-6.
- ✚ **Hirasa, K., Takemasa, M. (1998).** Spice science and technology. Ed. Marcel Dekker. New York. 232p.
- ✚ **Hogan, D. & Kolter, R. (2002).** Why are bacteria refractory to antimicrobials? *Current Opinion in Microbiology*, 5: 472–477.
- ✚ **Hostettmann, K. (1992).** Les plantes sources de médicaments phlébotropes, la lettre de la phlébologie. Ed. Zyma SA, Nyon. Switzerland. 25p.
- ✚ **Hoult, J. R. S. & Paya, M. (1996).** Pharmacological and Biochemical actions of simple coumarine: Natural Products with Therapeutic potential. *Gen Pharmacol*. Vol (27) : 711-722.
- ✚ **Hu-Quan, C., You-Jin, Y., Youn-Chul, K. (2009).** *Salvia miltiorrhiza* Bunge and its active component cryptotanshinone protects primary cultured rat hepatocytes from acute ethanol-induced cytotoxicity and fatty infiltration, *Food and Chemical Toxicology*, 4: 98-103 .
- ✚ **Iloki-Assanga, S.B., Lewis-luján, L.M., Lara-Espinoza, C.L., Gil-Salido, A.A., Fernandez-Angulo, D., Rubio-Pino, J.L. & Haines, D.D. (2015).** Solvent effects on phytochemical constituent profiles and antioxidant activities, using four different extraction formulations for analysis of *Bucida buceros* L. and *Phoradendron californicum*. *BMC Res. Notes*, 8: 396.pp.1-14.
- ✚ **Inoue, T., Tsubaki, S., Ogawa, B., Onishi, K. & Azuma, J.I. (2010).** Isolation of hesperidin from peels of thinned Citrus unshiu fruits by microwave-assisted extraction. *Food Chemistry*. 123: 542-547.

- ✚ **Iserin, P. (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales, Larousse VUEF. 2ème Ed. Vol. 14. Paris. 335p.
- ✚ **Jawad, A. & Langrish, T.A.G. (2012).** Optimization of total phenolic acids extraction from mandarin peels using microwave energy: The importance of the Millar direction. *Journal of Food Engineering*, 109: 162-174.
- ✚ **Jean-pierre, L. (2001).** Introduction à la flore d'Afrique. Ed, cirad, ibis press, 155p.
- ✚ **Jokić, S., Velić, D., Bilić, M., Bucić-Kojić, A., Planinić, M. & Tomas S. (2010).** Modeling of the process of solid-liquid extraction of total polyphénols from soybeans. *Czech J. Food Sci.*, 28(3): 206-212.
- ✚ **Judith, M. D. (2005).** Etude phytochimique et pharmacologique de *Cassia nigricans* Vahl (Caesalpiniaceae) utilisé dans le traitement des dermatoses au Tchad. Thèse de doctorat. Université de Bamako, Mali, pp 212.
- ✚ **Julkunen-Titto, R. 1985.** Phenolic constituent in the leaves of northern willows: Methods for the analysis of certain phenolics. *J. Agric. Food Chem.*, 33 (2), pp. 213–217.
- ✚ **Kahkonen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S. & Heinonen, M. (1999).** Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. (47): 3954-3962.
- ✚ **Kahraman, A., Celep, M., & Dogan, M. (2010).** Anatomy, trichome morphology and palynology of *Salvia chrysophylla* Stapf (Lamiaceae). *South African Journal of Botany*. 76:187-195.
- ✚ **Kalaivani, T., Rajasekaran, C. & Mathew, L. (2011).** Free radical scavenging, cytotoxic, and hemolytic activities of active antioxidant compound ethyl gallate from leaves of *Acacia nilotica* (L.) Wild. Ex. Delile Subsp. Indica (benth.) Brenan. *Journal of Food Science*, 76 (6): 144-149.
- ✚ **Kamatou, G.P.P., Vanzyl, I., Vanvuuren, S.F., Figueirido-Barroso, G., Pedro. & Viljoen, P. (2008).** Seasonal Variation in essential oil composition, oil toxicity and the biological activity of solvent extracts of three south African *Salvia* Species. *South African*. 74: 230-237.
- ✚ **Kamatou, G.P.P., Viljoen, A.M., Steenkamp, P. (2010).** Antioxidant, anti-inflammatory activities and HPLC analysis of South African *Salvia* species, *Food Chemistry*, 119: 684-688.

- ✚ **Kamra, D.N., Agarwal, N., Chaudhary, L.C. (2006).** Inhibition of Ruminal Methanogenesis by Tropical Plants Containing Secondary Compounds. *International Congress Series*. Vol. (1293): 156–163.
- ✚ **Kan, Y., Gokbulut, A., Kartal, M., Konuklugil, B., & Yilmaz, G. (2007).** Development and Validation of a LC Method for the Analysis of Phenolic Acids in Turkish Salvia Species. *Chromatographia Supplement*, 66: 147–152.
- ✚ **Kaouache, S. (2011).** Evaluation et taxonomie numérique de la flore *Listeria spp.* Dans un environnement d'élevage bovin. Mémoire de Magister en Ecologie Microbienne. Université Mentouri Constantine. 67p.
- ✚ **Karmakar I., Dolai N., Saha P., Sarkar N., Bala A., Kanti P. (2011).** Scavenging activity of *Curcuma caesia* rhizome against reactive oxygen and nitrogen species. *Orient Pharmacology Experimental médecine*, 11:221-228.
- ✚ **Khan M.T.H., Ather A., Thompson K.D. & Gambari R. (2005).** Extracts and molecules from medicinal plants against herpes simplex viruses. *Antiviral Research*. 67(2): 107-119.
- ✚ **Khanbabae, K. & Ree, T.R. (2001).** Tannins: Classification and Defenition. *Journal of Royal Society of Chemistry*. Vol. (18) : 641-649.
- ✚ **Khenaka, K. (2011).** Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l'ovin. Thèse de Magister En Microbiologie Appliquée. Université Mentouri- Constantine. Algérie. 81p.
- ✚ **Khenfer, S., & Medjouel, M. (2016).** Optimisation des condit ions d'extraction des composés phénoliques d'une plante médicinale de la région sud du Sahara Algérien. Mém. Master Académique. Université KASDI MERBAH OUARGLA. 73p.
- ✚ **King, A. & Young, G. (1999).** Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *J of the American dietetic association*.99:213-218.
- ✚ **Kiriamiti, K.H. (2003).** Extraction de pyréthrine par CO2 liquide et supercritique. Thèse de doctorat : Génie des procédés : Toulouse. INPT.169p.
- ✚ **Klimczak, I., Malecka, M., Szlachta, M. & Gliszczynska-Swiglo, A. (2007).** -Effect of storage on the content of polyphenols; vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. *Journal of Food Com position and Analysis*, 20: 313-322.
- ✚ **Kone, W.M., Kamanzi, A.K.K., Terreaux, C., Hostettmann, K., Traoré, D. & Dosso, M. (2004).** Traditional Medicine in North Côte d'Ivoire: screening of 50 medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 93: 43–49.

- ✚ **Kotan, A.C.R., Kordali, S., Kesdek, M., Kaya, Y., Kilic, H. (2008).** Antimicrobial and insecticidal activities of essential oil isolated from Turkish *Salvia hydrangea* DC, ex Benth, *Biochemical Systematics and Ecology*, 36: 360-368.
- ✚ **Kratchanova, M., Pavlova, E. & Panchev, I. (2004).** The effect of microwave heating of fresh orange peels on the fruit tissue and quality of extracted pectin. *Carbohydrates Polymers*. 56: 181-185.
- ✚ **Krimat, S., Dob, T., Toumi, M., Kesouri, A., Noasri, A. (2015).** Assessment of phytochemicals, antioxidant, antimicrobial and cytotoxic properties of *Salvia chudaei* Batt. Et Trab. Endemic medicinal plant from Algeria. *J. Mater. Environ. Sci.*, 6 (1):70-78.
- ✚ **Ksouri R., Megdiche W., Debez A., Falleh H., Grignon C., Abdelly C. (2007).** Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant Physiol. Biochem.*, 45: 244-249.
- ✚ **Kumar, A., Kumar, A., Thakur, P., Patil, S., Payal, C., Kumar, A. & Sharma, P. (2012).** Antibacterial activity of green tea (*Camellia sinensis*) extracts against various bacteria isolated from environmental sources. *Recent Res Sci Technol*. 4(1) : 19-23.
- ✚ **Laaboudi, W. (2012).** L'extraction des composés phénoliques à partir des zestes d'agrumes et l'étude de leur activité antiradicalaire. Mém. Master Sciences et Techniques. Laboratoire de Biotechnologie [LB] de la Faculté des Sciences Dhar El Mahraz. 60p.
- ✚ **Lambin, S., German, A. (1969).** Précis de microbiologie. Tome 1.2Ed. Masson, Paris.671p.
- ✚ **Le Houerou, H.N. (1995).** Bioclimatologie et biogéographie des steppes arides du Nord de l'Afrique Diversité biologique, développement durable et désertisation. Options méditerranéennes. Série B, études et recherches. Edition de l'IAM. Montpellier (CIHEAM) France. 8. 396 p.
- ✚ **Lee, J., Koo, N. & Min, D.B. (2004).** Re active oxygen species, aging; and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*: 21-32.
- ✚ **Leinmüller, E, Steingass, H, Menke, Kh. (1991).** Tannins in feeds for ruminants. II Effects on rumen metabolism in vitro. *Übersichten zur Tierernährung*. Vol. (19) :45–70.
- ✚ **Leong, L. P. and Shui, G. (2002).** An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chemistry* 76 (1) : 69-75.

- ✚ **Leybros, J. & Fremeaux, P. (1990).** Extraction solide-liquide aspects théoriques. Techniques de l'ingénieur, *Génie des procédés*. Vol. (2J2780) : J2780.1-J2780.22.
- ✚ **Li, Y.G., Liu L.M., Hu, Z.B, Wang, Z.T. (2009).** Advancement in analysis of *Salvia miltiorrhizae* Radix ET Rhizoma (Danshen). *Journal of Chromatography A*. 1216(11): 1941– 1953.
- ✚ **Lippi, G., Salvagno, G. L., Montagnana, M., Brocco, G. & Guidi, G. C. (2006).** Influence of hemolysis on routine clinical chemistry testing. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 44 (3): 311.
- ✚ **Lopez, V., Akerreta, S., Casanova, E., Garcia-Minna, J M., Yolanda, Caverro R. & Calvo, M. I. (2007).** In Vitro Antioxidant and Antirhizopus Activities of Lamiaceae Herbal Extracts. *Plant Foods Hum Nutr*. Vol. 62: 151–155.
- ✚ **López-Lzzaro, M. (2009).** Distribution and biological activity of the flavonoid luteolin. *Mini-review in medicinal chemistry*, Vol 9: 31-59.
- ✚ **Lu, Y., Zhang, C., Bucheli, P. & Wei, D. (2006).** Citrus Flavonoïds in Fruit and Traditional Chinese Medicinal Food Ingredients in China. *Journal of Plant Foods for Human Nutrition*. 61(2):57-65.
- ✚ **Luque, de Castro, M.D. & Garcia-Ayuso, L.E. (1998).** "Soxhlet extraction of solid materials: An outdated technique with a promising innovative future." *Analytica Chimica Acta*. 369(1-2): 1-10.
- ✚ **Maamir, S. (2008).** Etude de *pistacia altantica* de deux régions de sud algérien : dosage des lipides, dosage des polyphénols essais antileishmaniens. Mémoire de magister En Biologie, Université M'hamed Bougarz, Boumerdes.108p.
- ✚ **Macheix J.J., Fleuriet A., Sarni-Manchado P., (2006).** Les Polyphénols en agroalimentaire. Ed. Tec et Doc, Paris. France. PP : 1-28.
- ✚ **Mahmoudi, S., Khali, M. & Mahmoudi, N. (2012).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). « Nature & Technologie ». B- Sciences Agronomiques ET Biologiques. PP .35-40.
- ✚ **Maillet, M. & Lemulloy, M. (2006).** Biologie cellulaire : l'essentiel du cours, 350 QCM et QROC corrigés. Le PCEM en QCM . Paris. 618P.
- ✚ **Makkar, H.P.S. (2003).** Effects and Fate of Tannins in Ruminant Animals, Adaptation to Tannins, And Strategies to Overcome Detrimental Effects of Feeding Tannin-Rich Feeds. *Small Ruminant Research*. Vol. (49): 241-256.
- ✚ **Manach, C., Mazur, A. & Scalbert, A. (2005).** Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases. *Current Opinion in Lipidology*. 16(1): 77–84.

- ✚ **Manallah, A. (2012).** Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea* L. Pour obtenir le Diplôme de magister, Option : Biochimie Appliquée. Université Ferhat Abbas- Sétif. 87p.
- ✚ **Mandal, V., Mohan, Y. & Hemalatha, S. (2007).** Microwave assisted extraction-An innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. *Pharmacognosy Reviews*. 1: 7-18.
- ✚ **Mangan, J. L. (1988).** Nutritional Effects of Tannins in Animal Feeds. *Nutr. Res. Rev.* Vol. (1): 209-231.
- ✚ **Mansouri, A., Embarek, G., Kokkalou, E. & Kefalas P. (2005).** Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*); *Food Chemistry*. 89: 411-420.
- ✚ **Markom, M., Hasan, M., Daud, W., Singh, H. & Jahim, J. (2007).** Extraction of hydrolysable tannins from *Phyllanthus niruri* Linn. : Effects of solvents and extraction methods. *Separation Purif. Technol.*, 52: 487-496.
- ✚ **Martin, S., Tsitohaina, R. (2002).** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*. Vol. (51) : 304-315.
- ✚ **Matkowski, A., Tasarz, P. & Szypuła, E. (2008).** Antioxidant activity of herb extracts from five medicinal plants from *Lamiaceae*, subfamily *Lamioideae*. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 2(11), pp. 321-330.
- ✚ **Mcsweeney, C.S., Palmer, B., Mcneill, D.M. & Krause, D.O. (2001).** Microbial interaction with tannins: nutritional consequences for ruminants. *Animal Feed Science and Technology*. Vol. (91) : 83-93.
- ✚ **Meddour, A., Yahia, M., Benkiki, N., Ayachi, A. (2013).** Étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur du *Capparis Spinosa* L. *Lebanese Science Journal*. Vol. (14) : 49-60.
- ✚ **Messaili, B. (1995).** Botanique, systématique des spermaphytes. OPU (Ed).Alger. 91p.
- ✚ **Meyer, S., Reeb, C., Bosdeveix, R. (2004).** Botanique Biologie et Physiologie Végétales. Ed. Maloine, Paris. 462p.
- ✚ **Michel, T. (2011).** Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification : Application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaë rhamnoides*). Thèse Docteur de l'université d'Orléans. Université D'ORLÉANS. 286p.

- ✚ **Middleton E., Kandaswami C., Theoharides T. (2000).** The effects of plants flavonoids on mammalian cells: Implication for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological reviews*, 52: 673-751.
- ✚ **Mohammedi, Z. & Atik, F. (2011).** Impact of solvent extraction type on total polyphénols content and biological activity from *Tamarix aphylla* (L.) Karst. *International Jouranl of Pharma and Bio Sciences*, 2(1): 609-615
- ✚ **Morel S. (2011).** Etude phytochimique et évaluation biologique de *Derris ferruginea* Benth. (Fabaceae). Thèse de doctorat. Université d'Angers, 265p.
- ✚ **Moris, A., Nishino, C., Enoki, N. & Tawata, S. (1987).** Antibacterial activity and mode of action of plant flavonoids against *Proteus vulgaris* and *Staphylococcus aureus*. *Phytochemistry*; 26: 2231- 2234.
- ✚ **Morris, J.A., Khettry, A. & Seitz, E.W. (1997).** Antimicrobial activity of aroma chemicals and essential oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*; 56: 595-603.
- ✚ **Murry, R. D. H., Mendez, J. & Brown, S. A. (1982).** The natural coumarins Occurrence Chemistry and Biochemistry. Ed. Chichester John Wiley and Sons, UK. New York. England. 702 p.
- ✚ **Naghibi, F., Mosaddegh, M., Mohammadi Motamed S. & Ghorbani, A. (2005).** Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2(1): 63-79
- ✚ **Nassiri-Asl, M. & Hosseinzadeh, H. (2009).** Review of the pharmacological effects of *Vitis vinifera* (grape) and its bioactive compounds. *Phytotherapy Research*. 23(9): 1197-1204.
- ✚ **Nazck, M., Shahidi, F. (2004).** Extraction and analysis of phenolics in food. *J Chromatogram A*. 1054(1-2): 95-111.
- ✚ **Nazck. & Shahidi, F. (2006).** Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41: 1523-1542.
- ✚ **Nazemiyeh, H., Shoeb, M., Movahhedineh, N., Kumarasamy, Y., Talebpour, A.H., Delazar, A., Nahar, L., Sarker, S.D. (2006).** Phenolic compounds and their glycosides from *Stachys schischegleevii* (Lamiaceae). *Biochemical Systematic and Ecology*, 34: 721-723.
- ✚ **Newman, D.J. & Cragg, G.M. (2012).** Natural Products as Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. *J. Nat. Prod.* Vol. (75): 311-335.

- ✚ **Nguyen, M.T., Kryachko, E.S., Vanquickenborne, L.G. (2003).** General and theoretical aspects of phenols. In: Rappoport Z (Ed) the Chemistry of Phenols. John Wiley et Sons Ltd, Chichester, West Sussex, UK, pp 1–198
- ✚ **Nijveldt, R. J., Nood, E. V., Hoorn, D., Boelens, P., Norren, K. & Leeuwen, P., (2001).** Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential application. *American Society for Clinical Nutrition*, 74, 418-425.
- ✚ **Nkhili, E-Z. (2009).** *Polyphénols De l'Alimentation : Extraction, Interactions Avec Les Ions Du Fer Et Du Cuivre, Oxydation Et Pouvoir Antioxydant*. Thèse De Doctorat En Sciences Des Aliments, Université Cadi Ayyad, Marrakech. Maroc. 27. 327 P.
- ✚ **Ouldyerou, K. (2018).** Eude phytochimique et activité antioxydante de quelques plantes antidiabétique au niveau de la wilaya de mascara. *Journal of Advanced Research in Science and Technology*, 5(1), 670-679.
- ✚ **Ozenda, P. (1977).** Flore du Sahara. 2ème ED. CNRS. Paris.622p.
- ✚ **Pandey, K.b. & Rizvi, S.I. (2009).** Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxydative Médecine and Cellular Longevity*. Vol. 2 (5) : 270 – 278.
- ✚ **Paris, M., Hurabielle. (1981).** Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. .Ed. Masson, Paris. France. 339 p.
- ✚ **Park, H.J. & Cha, H.C. (2003).** Flavonoids from leaves and exocarps of the grape Kyoho. *Korean journal of biological society*. 7: 327-330.
- ✚ **Pawlowska, A.M., De Leo, M. & Braca, A. (2006).** Phenolics of *Arbutus unedo* L. (Ericaceae) fruits: Identification of anthocyanins and gallic acid derivatives. *J. Agric. Food Chem*. Vol. 54 (26): 10234-10238.
- ✚ **Peeking, A., Picand, B., Hacene, K., Lokiec, F. & Guerin, P. (1987).** Oligomères procyanidoliques (Endotélon) et système lymphatique. *Artères et Veines. Publications médicales AGCF*. Vol. (6) : 512-513.
- ✚ **Perret, C. (2001).** Analyse de tanins inhibiteurs de la stilbène oxydase produite par *Botrytis cinerea*. Thèse de Doctorat .Université de Neuchâtel. Suisse. 184 p.
- ✚ **Perry, J.J., Staley, J.T. & Lory, S., (2004).** Microbiologie. Cours et questions de révision. Ed. Dunod. Paris. 890 p.
- ✚ **Perry, N. S., Bollen, C., Perry, E.K., Ballard, C. (2003).** *Salvia* for dementia therapy: review of pharmacological activity and pilot tolerability clinical trial, *Pharmacol. Biochem. Behav*, 75: 651–659.

- ✚ **Pistrick, K., (2002).** Notes on neglected and underutilized crops Current taxonomical overview of cultivated plants in the family's Umbelliferae and Labiatae. Genetic Resources and Crop Evolution, 49: 211-225.
- ✚ **Privas, E. (2013).** Matériaux ligno-cellulosiques «Élaboration et Caractérisation laboration ». Thèse de Doctorat en Science et génie des matériaux, L'École Nationale Supérieure des Mines, Paris. France. 166 p.
- ✚ **Quezel, P., & Santa, S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed, CNRS. Paris. Tom. 2: 793p.
- ✚ **Rahal K. (2011).** Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle National Selon les recommandations de l'OMS ; Alger, Algérie. 116p.
- ✚ **Ralston, L., Subramanian, S., Matsuno, M. & Yu O. (2005).** Partial Reconstruction of Flavonoid and Isoflavonoid Biosynthesis in Yeast Using Soybean Type II Chalcone Isomerases and I. *Plant Physiology*, 137(4), 1375-1388.
- ✚ **Ranga, Rao, A., Phang, Siew, M., Sarada, R. & Ravishankar, G. A. (2014).** Astaxanthin: Sources, extraction, stability, biological activates and its commercial applications – A review. *Mar. Drugs.*, 12 (1): 130.
- ✚ **Richter, G. (1993).** Métabolisme des végétaux. Physiologie et Biochimie. Ed. Presses Polytechniques et Universitaire, Romandes. Suisse. 526 p.
- ✚ **Rira, M., (2006).** Effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique du microbiote ruminal d'ovins. Thèse de Magister en biochimie et microbiologie appliquées, Université Mentouri Constantine, Algérie. 94 p.
- ✚ **Rodier, J., Legube, B., Merlet, N. (2009).** L'analyse de l'eau, 9 ème édition, Ed. Dunod p.1579.
- ✚ **Romani, A. et al. (2006).** Analysis of condensed and hydrolysable tannins from commercial plant extracts. *J Pharm Biomed Anal*, 41(2): 415-20.
- ✚ **Rufini, L. & Sampaolo, G. (1977).** Plants Off. Aromi. Saponi. *Cosmétol. Aerosol.* Vol. (59):9-75.
- ✚ **Sabri. (2008).** Etude sur l'importance relative des transporteurs des cations divalents du zinc, fer et manganèse dans la virulence des souches extra-intestinales pathogènes d'Escherichia coli (ExPEC).Thèse de doctorat en biologie .Institut National de la Recherche Scientifique. Université du Québec. Canada.262p.
- ✚ **Saffidine, K. (2015).** Etude Analytique Et Biologique Des Flavonoïdes Extraits De *Carthamus Caeruleus L.* Et De *Plantago Major L.* Thèse De Doctorat, Université Ferhat Abbes, Sétif. 64p.

- ✚ **Sahki, A., Sahki, R. (2004).** Le Hoggar promenade botanique. Espèces herbacées. Edition Esope, p 311.
- ✚ **Sanchez-Moreno, C., (2002).** Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems; *International Journal of Food Science and Technology*. 8 :121-137.
- ✚ **Sartori-Thiel, A., (2003).** Activités antimicrobiennes d'extraits végétaux enrichis en polyphénols. Thèse de doctorat en Sciences et agronomie. Chimie, Avignon. 177p.
- ✚ **Sawa, T., Nakao, M., Ono, K. & Maeda, H. (1999).** Alkylperoxyl radical-scavenging activity of various flavonoids and other phenolic compounds, implication for the antitumor promoter effect of vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. (47): 397-402.
- ✚ **Scalbert, A. & Williamson, G. (2000).** Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *Journal of Nutrition*. Vol. (130): 2073-2085.
- ✚ **Schlesier, K., Harwat, M., B.hm, V. & Bitsch, R. (2002).** Assessment of antioxidant activity by using different in vitro methods, *Free Radical Res*; 36(2): 177–87.
- ✚ **Schofield, P., Mbugua, D.M. & Pell A.N. (2001).** Analyses of condensed tannins. *Anim. Feed Sci. Technol.* 91: 21-40.
- ✚ **Senol, F., Orhan, I., Celep, F., Kahraman, A., Dogan, M., Yilmaz, G. & Sener, B., (2010).** Survey of 55 Turkish *Salvia* taxa for their acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant activities. *Food Chemistry*, 120: 34-43.
- ✚ **Shan, B., Cai, Y.Z., Brooks, J.D. & Corke, H. (2007).** The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International J. Food Microbiology*, 117: 112- 119.
- ✚ **Siebert, D. J. (1994).** *Salvia divinorum* and Salvinorin A: new pharmacologic findings, *Journal of Ethnopharmacology*, 43: 53-56.
- ✚ **Songklanakarin, J. (2004).** The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. Songklanakarin *Journal of Science and Technology*, 26, 211-219.
- ✚ **Speroni, E., Scartezzini, P., (2000).** Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity. *J. Ethnopharmacol.* Vol. (71): 23– 43.
- ✚ **Stagos, D., Portesis, N., Spanou, C., Mossialos, D., Aligiannis, N., Chaita, E., Panagoulis, C., Reri, E., Skaltsounis, L., Tsatsakis, A.M. & Kouretas, D. (2013).** Correlation of total polyphenolic content with antioxidant and antibacterial activity of

- 24 extracts from Greek domestic Lamiaceae species. *Food and Chemical Toxicology*, 50: 4115–4124.
- ✚ **Stefek M., (2011).** Natural Flavonoids as Potential Multifunctional Agents in Prevention of Diabetic Cataract. *Interdisciplinary. Toxicology*, 4(2) 69-77.
 - ✚ **Talbi, H., Boumaza, A., El-Mostafa, K., Talbi J. & Hilali A. (2015).** Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa L.* (Evaluation of antioxydant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigella sativa L.*). *Mater. Environ. Sci*, 6 (4) :1111-1117.
 - ✚ **Tamert, A. & Latreche, A. (2015).** Activité antioxydante des extraits de six Lamiaceae aromatiques. *Phytothérapie*. Pp1-8.
 - ✚ **Tapiero, H., Tew, K.D., Nguyen, B.G. & Mathé, G. (2002).** Polyphenol do they play a role in the prevention, of the human pathologies? *Biomed.pharmacother.* 56: 200-207.
 - ✚ **Teh, S.S., Bekhit, A.E. & Birch, J. (2014).** Antioxidative polyphenols from defatted oilseed cakes: effect of solvents. *Antioxidants* 3(1):67–80.
 - ✚ **Teixeira, L.M., Carvalho, M., Dasiqueira, G., Facklam, R.R., (2007).** Enterococcus. In P. R. Murray (Ed.), *Manual of Clinical Microbiology*. pp. 430-442.
 - ✚ **Tepe, B., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M., Polissiou, M., 2005.** Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae), *Food Chemistry*. 90: 333–340.
 - ✚ **Tirichine, H.S. (2010).** Etude ethnobotanique, activité antioxydante et analyse phytochimique de quelques cultivars de palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*) du Sud-Est algérien. Thèse de Magister en Biologie. Université d'Oranes-Es Senia, Oran Algérie. 88 p.
 - ✚ **Toty, A. A., Guessennd, N., Bahi, C., Kra, A. M., Otokore, D. A. & Dosso, M. (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 : 12 – 21.
 - ✚ **Treki, A.S., Merghem, R., Dehimat, L. (2009).** Etude phytochimique et Évaluation de l'activité antibactérienne d'une Labiée : *Thymus hirtus*. *Sciences & Technologie*. Vol. (29) : 25-29.
 - ✚ **Turkmen, N., Velioglu, Y. S., Sari, F., Polat, G. (2007).** Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. *Molecules*, 12: 484-496.

- ✚ **Udenigwe, C.C., Ramprasath, V.R., Aluko, R.E. & Jones, P.J.H. (2008).** Potential of resveratrol in anticancer and anti-inflammatory therapy. *Nutrition Reviews*. 66(8): 445-454.
- ✚ **Ulanowska, K., Traczyk, A., Konopa, G., Wegrzym, G. (2006).** Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DND, RNA and protein synthesis in some bacterial strains. *Arch. Microbiol*, Vol. 184 (5), 271-278.
- ✚ **Usha. & Yogish. (2016).** Hemolytic index – A tool to measure hemolysis in vitro. *IOSR Journal of Biotechnology and Biochemistry*, 2 (2): 49.
- ✚ **Valente, M.J., Baltazar, A.F., Henrique, R., Estevinho, L. & Carvalho, M. (2010).** Biological activities of Portuguese propolis: protection against free radical-induced erythrocyte damage and inhibition of human renal cancer cell growth in vitro, *Food Chem Toxicol*. 49: 86–92.
- ✚ **Vanamala, J., Reddivari, L., Yoo, K.S., Pike, L.M. & Patil, B.S. (2006).** Variation in the content of bioactive flavonoids in different brands of orange and grapefruit juices. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19: 157-166.
- ✚ **Vermerris, W, & Nicholson, R. (2007).** Phenolic Compound Biochemistry. Ed, Springer : U.S.A. 288p.
- ✚ **Verpoorte R., Cotin A., Memelink J. (2002).** Biotechnology for the production of plant secondary metabolites. *Phytochemistry Reviews*, 1 (1):13-25.
- ✚ **Vinson, J.A., Dabbagh, Y.A., Serry, M.M., Jang, J. & Agric, J. (1995).** Plant Flavonoids, Especially Tea Flavonols, Are Powerful Antioxidants Using an in Vitro Oxidation Model for Heart Disease. *Food Chem*. 43(11) : 2800- 2802.
- ✚ **Wajeman, H., Lantz, B. & Girot, R. (1992).** Les maladies du globule rouge INSERM. Paris. 516p.
- ✚ **Wang, L. & Weller, C.L., (2006).** Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science and Technology*. 17:300-312.
- ✚ **Weill, F. X. (2008).** Salmonella : épidémiologie, typage et résistance aux antibiotiques. *Revue francophone des laboratoires*. N°400 :37-47.
- ✚ **Winkel-Shirley, B. (2000).** Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. *Current Opinion in Plant Biology*, 5, 218-223.
- ✚ **Wong, C.C., Li H.B., Cheng, K.W. & Chen F. (2006).** A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chem*. 97: 705-711.

- ✚ Xia, E.Q., Deng, G.F., Guo, Y. J. & Li, H.B. (2011). Biological activities of polyphenols from grapes. *International Journal of Molecular Sciences*. 11(2): 622 -646.
- ✚ Yang, J., Guo, J. & Yuan, J. (2008). In vitro antioxidant properties of rutin. *Swiss Society of Food Science and Technology*. (41):1060–1066.
- ✚ Yaol, H., Jiangy, M., SHI, J., Tomas-Barberan, F.A., Datta, N., Singanusong, R. & Chen, S.S. (2004). Flavonoids in Food and Their Health Benefits. *Plant. Food Hum. Nutr*, Vol (59): 113-122.
- ✚ Yap, C.F., C.W. Ho., Wan Aida, W.M., Chan, S.W., Lee, C.Y., Leong, Y. S. (2009). Optimization of Extraction Conditions of Total Phenolic Compounds from Star Fruit (*Averrhoa carambola* L.) Residues. *Sains Malaysiana*, 38(4): 511-520.
- ✚ Ya-Qin, M., Xing-Qian, Y., Zhong-Xiang, F., Jian-Chu, C., Gui-Hua, X. & Dong-Hong, L. (2008). Phenolic Compounds and Antioxidant activity of extracts from ultrasonic treatment of Satsuma Mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) Peels. *J. Agric. Food Chem.*, 56, No. 14: 5682-5690
- ✚ Yeoh, S., Shi, J. & Langrish, T.A.G. (2008). Comparisons between different techniques for water based extraction of pectin from orange peels. *Desalination*. 218: 229-237.
- ✚ Yousef, R.T. & Tawil, G.G. (1980). Antimicrobial activity of volatile oils. *Die Pharm*. 35: 698- 701.
- ✚ Yves, L. L., Michel, G. (2009). *Staphylococcus aureus*. Lavoisier.300p.

Références électroniques

- ✚ OMS (Organisation Mondiale de la Santé) (2003). Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation relatives à la médecine traditionnelle, 31-35p.
- ✚ <https://www.techniclab-dz.com>

Annexes

Annexe : Matériels utilisés

Balance analytique
(Photo originale).



Evaporateur de type Rotavapor BUCHI
Heating bath R-210
(Photo originale).



Autoclave (TIMO)
(Photo originale).



Etuve (Memmert) **(photo originale).**



spectre photomètre
(Photo originale).



Bain marie
(Photo originale).



ملخص

الهدف من دراستنا هو الدراسة الفيتوكيميائية والفاعلية البيولوجية (المضاد للأكسدة، المضادة للميكروبات والمضادة لإمهاة كريات الدم الحمراء) للجزء الهوائي لمستخلص نبات تغرفت (*salvia chudaei*). المحصودة من منطقة تمنراست (الجزائر).

هذا المستخلص تم الحصول عليه بواسطة تقنية النقع في الايثانول حيث كان المردود حوالي 29.64 %. وكذلك كان ناتج تقدير كمية الفينولات 87.16 مع مكافئ من حمض الغاليك/غ من مستخلص، وبخصوص الفلافونويدات باستخدام طريقة ثلاثي كلور الالمنيوم قدرت كميته بحوالي 15.39 مغ مكافئ من الكرسيتين/غ من المستخلص والتانينات أعطت مقدار 16.17 مغ مكافئ من الكاتشين/غ من المستخلص.

تظهر النتائج أن المستخلص يملك القدرة مضادة للأكسدة في اختبار جذر الحر (DPPH)، توضح أن المستخلص يملك فاعلية مضادة للأكسدة مهمة، حيث بلغت قيمة IC_{50} 1.28 مغ/مل. بالمقابل، النتائج النشاطية المضادة لتحلل كريات الدم الحمراء للمستخلص الفينولي لنبات المدروس ضد الجذور الحرة للماء الأكسجيني (H_2O_2)، أظهرت فاعلية متوسطة مضادة لي التحلل بواسطة المرجع (فيتامين C) بنسبة 16.86 % بلمقارنة مع المستخلص النباتي بنسبة 35.13 % في تركيز 1 مغ/مل.

نتائج النشاط المضاد للميكروبات يبين أن المستخلص لديه نشاطية ضد الميكروبات ملحوظة وجود ضد سلالات الميكروبات المستهدفة (*Salmonella*, *P. aeruginosa*, *E. coli*، *Staphylococcus aureus*, *typhi*، *Listeria innocua* et *Fusarium culmorum*)، حيث السلالة الفطرية (*Fusarium culmorum*) هي الأكثر حساسية بقطر تثبيط 0.66 ± 13 مم، وعلى العكس أظهرت حساسية سلالة المكورات العنقودية الذهبية (*Staphylococcus aureus*) هي الأكثر مقاومة بقطر تثبيط 0.44 ± 8.66 مم.

الكلمات مفتاحية: *Salvia chudaei*، مستخلص الإيثانول، الفينولات، مضاد للأكسدة، مضاد للميكروبات، مضاد انحلال خلايا الدم الحمراء.

Résumé

L'objectif visé par notre étude, consiste en l'étude phytochimique de la partie aérienne de *Salvia chudaei* (Lamiaceae) de la région de Tamanrasset. Ainsi que sur l'évaluation de l'activité antioxydante, antimicrobienne et l'activité anti-hémolytique des globules rouges.

Cette plante subit à une extraction par macération (éthanol) pour obtenir d'extrait éthanolique. Le rendement d'extraction de *Salvia chudaei* est d'environ 29,64%.

Concernant le dosage quantitatif des polyphénols, on remarque la quantité chez la plante de *Salvia chudaei* 87.16 Mg EAG/g d'extrait. Par ailleurs, le dosage des flavonoïdes le dosage des flavonoïdes par la méthode d' AlCl_3 a révélé une teneur 15,39 Mg EQ /g d'extrait. Et la teneur des tanins condensés donne une valeur 16,17 Mg EC /g d'extrait.

Les résultats de l'activité antioxydante en utilisant le test DPPH montre que l'extrait possède un pouvoir antioxydant important, présentant la valeur d' IC_{50} 1,28 mg/ml. En parallèle, les résultats de l'activité anti-hémolytique des composés phénoliques de la plante étudiée contre H_2O_2 révèlent que cet extrait exerce un pouvoir anti-hémolytique moyen par rapport à l'effet de l'acide ascorbique.

Les résultats de l'activité antimicrobienne indiquent que l'extrait possède une activité antimicrobienne remarquable sur les souches ciblées (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria innocua* et *Fusarium culmorum*), avec la souche fongique est la plus sensible de zone de d'inhibition $13 \pm 0,66$ mm, par contre la souche bactérienne *Staphylococcus aureus* est la plus résistante de l'ordre de $8,66 \pm 0,44$ mm de zone d'inhibition.

Mots-clés : *Salvia chudaei*, extrait éthanolique, polyphénols, antioxydant, antimicrobienne, anti-hémolytique

Abstract

The objective of our study is evaluating phytochemical of the aerial part of *Salvia chudaei* (Lamiaceae) in the region of Tamanrasset. As well as evaluating the activity antioxidant, antimicrobial and anti-hemolytic activity of red blood cells. This plant is extracted by maceration (ethanol) to get ethanol extract. The extraction yield were 29.64 %.

The results of the quantitative polyphenols show that our plant *Salvia chudaei* is 87.16 Mg EAG/g extract. In addition, the dosage of flavonoids by the method of AlCl_3 revealed tenure is 15.39 Mg EQ/g extract. Moreover, the content of tannins condensé gives value 16.17 Mg EC/g extract.

About the results of the antioxidant activity using the DPPH test shows that the extract possesses significant antioxidant power, presenting the value of IC_{50} 1.28 mg/ml. In parallel, the anti-hemolytique activity of the phenolic compounds of the plant studied

against H_2O_2 findings this excerpt has interesting anti-hemolytique average by the effect of Ascorbic acid intake.

The antimicrobial activity results indicate that the extract has a remarkable antimicrobial activity on the targeted strains (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria innocua* et *Fusarium culmorum*), with the fungal strain is the most sensitive area of inhibition 13 ± 0.66 mm, however the bacterial strain *Staphylococcus aureus* is the most resisting enforcement of 8.66 ± 0.44 mm of inhibition zone.

Keywords: *Salvia chudaei*, ethanol extract, polyphenols, antioxidant, antimicrobial, anti-hemolytique.