République algérienne démocratique et populaire Ministère de l'enseignement supérieure et de la recherche scientifique UNIVERSITE BLIDA 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département des Biotechnologies



MEMOIRE DE MASTER

Spécialité : Système de Production Agro-écologique.

ETUDE DE QUELQUES ACTIVITES BIOLOGIQUES DE

SALVIA CHUDAEI DE TAMANRASSET.

Présenté par :

SMAILI Meriem Hanane et DAHMANI Fethia

Devant le jury composé de :

F. BOUCHENAK Maitre de conférence A, U. Blida 1 Présidente

Y. MOUASS Maitre assistante B, U. Blida 1 Examinatrice

F.Z. BENREBIHA Professeur, U. Blida 1 Promotrice

A. MELIANI Attachée de recherche, U. Blida 1 Co-Promotrice

Blida, 08 Septembre 2020.

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 le chemin de la science.

Nous tenons en premier lieu à remercier notre promotrice Madame
BENREBIHA F.Z. professeur à l'U. Blida 1 pour les conseils prodigués et sa
persévérance dans le suivi.

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à notre Co-promotrice M^{lle} MELIANI A. Attachée de recherche, U. Blida 1, pour tout l'effort fourni et pour nous avoir fait confiance, pour sa disponibilité et ses orientations avec justesse tout au long de notre cheminement, sa patience, ses encouragements et ses conseils.

Nous remercions Madame BOUCHENAK F., Maitre de conférence A, U. Blida1

Pour l'honneur de présider le jury de ce mémoire.

Nos remerciements vont aussi à Madame MOUASS M., Maitre assistante B, U.
Blida 1 d'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 l'université Blida 1.

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail à :

Ma chère mère,

Mon cher Père,

Pour leurs sacrifices et leurs précieux conseils qui m'ont conduit à la réussite dans tous ce que je fais.

Mon cher frère: Mohamed Amine.

Mes chères sœurs : Nour El Houda et Amina. Pour ses soutiens moraux et leurs conseils précieux tout au long de mes études.

Ma famille et ceux qui me sont chers,

Mes meilleures amies : Ferdous, Fella, Yasmine et Selma

Mes adorables amies : Maroua, Ikrame et Houria Pour leurs aides et supports dans les moments difficiles.

Mon binôme Fethia pour l'effort qu'elle a fait afin de réussir ce mémoire.

Mes proches et tous ceux qui m'ont aidé afin de réaliser ce travail, Ceux que j'aime et qui m'aiment.

Meriem Hanane.

DEDICACE

Je remercie ALLAH de m'avoir illuminé le chemin du savoir et de m'avoir donné la foi et le courage pour arriver jusqu'au là.

Je dédie ce présent travail premièrement et avant tout

Aux deux êtres, les plus chers sur cette terre, mes parents qui n'ont jamais cessé de me soutenir tout au long de mes études.

À mes sœurs Souad ; Saliha et Hanane.

À mes frères Toufèke et Youcef.

À mon adorable neveu Ritadj.

À toute la famille Dahmani et Fellague.

À mes amies Fatima, Zahia; Rahma; Saadia et Feriel.

À mes collègues d'université, et tous mes ami(e)s.

À mon binôme qui a supporté avec moi les difficultés de notre travail Meriem Hanane.

À ceux que j'aime du fond de cœur.

Résumé

L'objectif de cette étude consiste à évaluer l'activité antibactérienne et antioxydante de l'extrait aqueux de la partie aérienne de *Salvia chudaei* (Lamiaceae) de la région de Tamanrasset.

L'extraction de la partie aérienne de *Salvia chudaei* a été faite avec l'eau et a donné un rendement de l'ordre de 14.8 ± 0.06%. Le test phytochimique a montré que l'extrait aqueux est riche en flavonoïdes. L'activité antibactérienne a été étudiée vis-à-vis de quatre souches bactérriennes : *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* qui se sont toutes révélées sensibles à l'extrait aqueux étudié à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* qui s'est montrée résistante. Les résultats de l'activité antioxydante mesurée en utilisant le test de piégeage du radical diphénylpicrylhydrazyl (DPPH) montrent que l'extrait aqueux testé a une activité antioxydante importantes, comparée à l'antioxydant de référence Vit C.

Mots clés : Salvia chudaei, extrait aqueux, activité antibactérienne, activité antioxydante.

Abstract

The objective of this study is to evaluate the antibacterial and antioxidant activity of the aqueous extract of the aerial part of *Salvia chudaei* (Lamiaceae) from Tamanrasset.

The extraction of the aerial part of *Salvia chudaei* was done with water, which gave a yield around $14.8 \pm 0.06\%$. The phytochemical test showed that the aqueous extract is rich in flavonoids. The antibacterial activity was studied against four bacterial strains: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis* which were all found sensitive to the aqueous extract studied with the exception of *Pseudomonas aeruginosa* which has been shown to be resistant. The results of the antioxidant activity measured using the diphenylpicrylhydrazyl radical scavenging test (DPPH) show that the aqueous extract tested has a strong antioxidant activity, compared to the reference antioxidant Vit C.

Keywords: Salvia chudaei, aqueous extract, antimicrobial activity, antioxidant activity

الملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للبكتيريا ومضادات الأكسدة للمستخلص المائي للجزء الجوي من نبات تاقروفت من تمنر است.

تم استخلاص الجزء الهوائي من تاقروفت بالماء، والذي أعطى ناتجاً قرابة 14.8 ± 0.0 ٪. أظهر الاختبار الكيميائي النباتي أن المستخلص المائي غني بالفلافونويد. تمت دراسة النشاط المضاد للبكتيريا ضد أربعة سلالات ميكروبية: الإشريكية القولونية، الزائفة الزنجارية ، المكورات العنقودية الذهبية ، والعصيات الرقيقة التي تم العثور عليها جميعًا حساسة للمستخلص المائي الذي تمت دراسته باستثناء الزائفة الزنجارية التي ثبت أنها مقاومة. تُظهر نتائج نشاط مضادات الأكسدة التي تم قياسها باستخدام اختبار الكسح الجذري ثنائي الغينيل بيكريل هيدرازيل (DPPH) أن المستخلص المائي الذي تم اختباره له نشاط مضاد للأكسدة قوي، مقارنةً بمضاد الأكسدة المرجعي فيتامين س.

LISTE DES FIGURES

Numéro	Titre	
Figure 1.1	L'espèce Salvia chudaei Battandier & Trabut	
Figure 1.2	Feuilles de Salvia chudaei	6
Figure 1.3	Fleurs de Salvia chudaei	6
Figure 1.4	Répartition géographique de Salvia chudaei Batt et Trab	7
Figure 1.5	Structure du noyau phénol.	9
Figure 2.1	Figure 2.1 Localisation géographique de la zone d'étude wilaya de Tamanrasset	
Figure 2.2	gure 2.2 La plante de de Salvia chudaei Batt & Trab.	
Figure 2.3	La poudre de la plante Salvia chudaei Batt. & Trab.	16
Figure 2.4	Réaction de réduction du DPPH.	19
Figure 3.1 Le rendement moyen en extrait aqueux du Salvia chudaei.		23
Figure 3.2	Pourcentage d'inhibition de DPPH par la Vit C	26
Figure 3.3	Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'extrait aqueux du Salvia chudaei.	26
Figure 3.4	EC ₅₀ de l'extrait aqueux du <i>Salvia chudaei</i> et la Vit C.	27

LISTE DES TABLEAUX

Tableaux	Titre	Page
Tableau 1.1	La taxonomie de Salvia chudaie	5
Tableau 2.1	Souches bactériennes testées	16
Tableau 3.1	Taux d'humidité des tiges séchées du Salvia chudaei	22
Tableau 3.2	Le test phytochimique du Salvia chudaei.	23
Tableau 3.3	Inhibition du développement des souches bactériennes testées.	24

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS	
DEDICACE	
RESUME	
LISTE DES FIGURES	
LISTE DES TABLEAUX	
INTRODUCTION	
CHAPITRE 1 : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUES	3
I.1. GENERALITES SUR LA FAMILLE DES LAMIACEAE	3
I.2. PRESENTATION DE GENRE SALVIA	4
I.2.1. Historique	4
I.2.2 Etymologie	4
I.2.3 Nomenclature	5
I.2.4 Systématique	5
I.2.5 Description Botanique	5
I.2.6 Répartition géographique	7
I.2.7 Propriété et usage	8
I.3. LES METABOLITES SECONDAIRES	8
I.4. LES POLYPHENOLS	9
I.4.1 Structure chimique	9
I.4.2 Classification	10
I.4.3 Biosynthèse	10
I.4.4 Localisation et intérêt	10

I.4.5 Les principales classes	11
I.5. LES ACIDES PHENOLIQUES	11
I.5.1 Structure chimique	11
I.5.2 Classification	12
I.6. LES FLAVONOÏDES	12
I.6.1 Structure chimique	13
I.6.2 Classification	13
I.6.3. Biosynthèse	13
I.6.4. Localisation et distribution	13
I.7. PROPRIETES ET UTILISATIONS	13
CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES	15
II.1. ETUDE DE LA REGION	15
II.2. MATERIEL UTILISE	16
II.2.1. Matériel biologique	16
II.2.2 Matériel non biologique	17
II.3. METHODES D'ETUDE	17
II.3.1 Taux d'humidité	17
II.3.2 Préparation de l'extrait aqueux	18
II.3.3 Rendement	18
II.3.4 Tests phytochimiques	19
II.3.5 Activité antibactérienne	19
II.3.6 Activité antioxydante	20
II.4. ANALYSES STATISTIQUES	22
CHAPITRE III RESULTATS ET DISCUSSION	23

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE	
C. Liste des symboles et abreviations	
B. Etudes statistiques	
A. Materiel non biologique	
APPENDICE	
CONCLUSION	29
III.5. ACTIVITE ANTIOXYDANTE	26
III.4. ACTIVITE ANTIBACTERIENNE	25
III.3. TESTS PHYTOCHIMIQUES	24
III.2. RENDEMENT	24
III.1. TAUX D'HUMIDITE	23

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 régionmontagneuse du Sahara méridional algérien, où les plantes médicinales suscitent un intérêt aussi bien par les habitants que par les scientifiques (BENCHELAH et al., 2004).

Espèce *Salvia chudaei* caractéristique de la souche d'endémisme continentale insulaire des montagnes sahariennes, ces aires de répartition sont le Hoggar, Tassili, Tibesti, assez commune dans le secteur du Sahara central et dans les Oueds rocailleux citez déjà (**JEAN-PIERRE**, 2001). Plusieurs espèces de Salvia ont une importance économique en raison de leurs utilisations dans les industries pharmaceutiques, alimentaires et cosmétiques (**BAHADORI** et *al.*, 2015).

Le règne végétal représentant une source importante d'une grande variété de molécules bioactives, elles ont été mises à profit dans l'industrie alimentaire, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tanins, les terpènes et les flavonoïdes (BAHORUN et al., 1996). Les polyphénols, en particulier, sont doués de multiples vertus thérapeutiques. Ils jouent un rôle très important, principalement dans la lutte contre les cancers, les maladies cardiovasculaires et la peroxydation lipidique, expliquant ainsi leur grande utilisation dans la fabrication des médicaments. Ils interviennent aussi dans la protection des plantes contre les différentes attaques microbiennes (BRUNETON, 2009).

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).

Notre travail s'articule autour de 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, des fractions préparées.

Cette étude a été divisée en trois chapitres :

Dans le premier chapitre nous présentons une synthèse bibliographique qui regroupe deux parties dont la premier concerne la description de plante *Salvia chudaei* et la deuxième partier englobe les généralités sur les composés phénoliques.

Le deuxième chapitre est expérimental consacrée à la présentation des travaux pratiques personnels, on décrit les matériels et les méthodes utilisées dans ce travail qui porte sur : Préparation de l'extrait aqueux et détermination le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes dans les extraits. Enfin évaluation d'activité antioxydante par le test de piégeage du radical DPPH, l'activité antimicrobien d'extrait phénoliques de *Salvia chudaei*.

Le troisième chapitre englobe l'analyse et l'interprétation des résultats obtenus, enfin une conclusion.

CHAPITRE I

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUES

I.1. Généralités sur la Famille des lamiacéae :

La famille des lamiaceae (labiées) du latin labia (lèvre), est l'une des plus répandues dans le règne végétal (NAGHIBI et al., 2005). Les lamiaceae sont représentées par 236 genres et 7136 espèces, certains genres sont de détermination délicate en raison de la variabilité extrême des espèces (QUEZEL et SANTA, 1962). Cette famille est l'une des premières à être distinguées par les botanistes (PISTRICK 2002; ALICE et al., 2016)., mais particulièrement répandues depuis le Bassin méditerranéen jusqu'en Asie centrale (BOTINEAU 2010; MARTIN 2014).

La flore de l'Algérie, les lamiaceae sont représentées par 28 genres et 146 espèces, certains genres sont de détermination délicate en raison de la variabilité extrême des espèces (QUEZEL et SANTA 1962)., Signifiant que les fleurs ont une forme caractéristique à deux lèvres (NAGHIBI et al., 2005 ; COUPLAN 2000)., est une famille importante appartenant aux angiospermes dicotylédones, 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).

Cette famille est divisée en sept sous-familles : Ajugoideae, Lamioideae, Nepetoideae Prostantheroidea, Scutellarioideae, Symphorematoideae et Viticoideae (HARLEY et *al.*, 2004).

Un très grand nombre de genres de la famille lamiaceae sont riches en huiles essentielles, ce qui leur confère une importance économique et thérapeutique mais aussi, en composés phénoliques, tannins, flavonoïdes, iridoïdes glycolysés, quinones, coumarines, terpénoïdes, Saponines et dans certains cas, des pyridines et des alcaloïdes pyrrolidiniques (KUKLINSKI 2000; NAGHIBI et al., 2005). Et très étudiée du point de vue chimique, ce qui a permis d'isoler un grand nombre de substances connues pour leurs diverses activités biologiques, (NAGHIBI et al., 2005).

I.2. Présentation de genre Salvia :

I.2.1. Historique:

Le genre *Salvia* est un membre de la famille des Lamiaceae (**BAHADORI** *et al.*, **2015**) et contient plus de 959 espèces réparties à l'échelle mondiale (**ALICE** *et al.*, **2016**).

La flore Algérienne compte 23 espèces du genre salvia, dont une espèce endémique du Sahara central (QUEZEL et al., 1963). Elle a été découverte par deux explorateurs naturalistes E.F.Gautier et R.Chudeau après la soumission de Hoggar en 1902. Ces deux derniers, récoltent de nombreux végétaux dans les régions qu'ils parcourent et décrivent un certain nombre de nouveautés, parmi lesquelles une remarquable Sauge, "Salvia Chudaei". Ils donnent un aperçu déjà très instructif de flore des plaines et des basses montagnes du Sahara central. Ces plantes sont envoyées au Service botanique du Gouvernement général de l'Algérie en 1911 et en 1913, et ont fait l'objet de deux publications de BATTANDIER et TRABUT (BATTENDIER et al., 1913)., Dont certains sont économiquement importants car ils sont utilisés comme épice et aromatisant dans le domaine de la parfumerie et cosmétiques (MIGUEL et al., 2011; COLMENARES et al., 2006). Depuis l'antiquité, les espèces de Salvia ont été utilisées dans la médecine traditionnelle comme médicament contre les coliques, la diarrhée, fièvre, rhume, grippe, maladie du foie et problèmes abdominaux, et dans le traitement de la bronchite chronique, des attaques fébriles, rhumatisme, débilité sexuelle, ainsi que mentale et maladies nerveuses (MIGUEL et al., 2011; Al-JABER et al., 2012).

I.2.2. Etymologie:

Le nom *Salvia* dérive du latin « *salvere* » en référence aux propriétés curatives de la plante, qui était dans les temps anciens célébré **co**mme une herbe médicinale. Ce nom a été corrompu populairement "Sauge". Et qui manifeste des variations morphologiques et génétiques selon leurs origines géographiques (**MIRJALILI** et al., 2006).

I.2.3. Nomenclature:

❖ Nom scientifique : Salvia chudaei Batt & Trab.

❖ Nom français : La sauge de Sahara (ABEIER, 2007).

❖ Nom arabique : aouit, Tagroufte (HAMMICHE et MAIZA, 2006).

❖ Nom tamahag: Abhihawt (HAMMICHE et al., 2006).

I.2.4. Systématique :

La taxonomie de Salvia chudaie selon (QUEZEL et SANTA, 1963) est la suivante :

Tableau 1.1 : Taxonomie de *Salvia chudaie*.

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous Embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Gamopétales
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées
Genre	Salvia
Espèce	Salvia Chudaei Batt & Trab

I.2.5. Description Botanique:

C'est une plante vivace très rameuse, intégralement poilue d'un gris bleuté à tiges très feuillées avec une taille de 30 à 40 cm. C'est une plante à odeur pénétrante et agréable (OZENDA, 1983). La plante entière dégage une forte odeur agréable, un peu camphrée (SAHKI & SAHKI, 2004; BENCHELAH et *al.*, 2011; OZENDA, 1977).



Figure 1.1: L'espèce Salvia chudaei Battandier & Trabut (HAMMOUDI, 2015).

• Feuille:

Feuilles crénelées, longues et très étroites, souvent en fascicules (OZENDA.P, 1983).



Figure 1.2 : Feuilles de Salvia chudaei (HAMMOUDI, 2015).

• Fleur:

Les inflorescences sont en épis portant de longs poils laineux qui masquent de petites fleurs. Le calice est laineux et les pétales sont de couleurs bleu pâle de 5 à 8 mm de longueur.



Figure 1.3 : Fleurs de Salvia chudaei (HAMMOUDI, 2015).

• Fruit:

Le fruit est un akène lisse. Il est de couleur brun foncé ou noir. Ce dernier est de forme globuleuse (**TEUSCHER**, **2005**).

I.2.6. Répartition géographique :

Salvia chudaei est une espèce caractéristique de la souche d'endémisme continentale insulaire des montagnes sahariennes ou certaines d'entre elles : Hoggar, Tefedest, Tassili des Ajjer et Tibesti. On retrouve cette plante par petites touffes dans les sites de haute altitude superieur à 1200m comme : Idelis, Tazrouk, Tahifet, Tehrhananet et Tinsawak (JEAN-PIERRE, 2002).

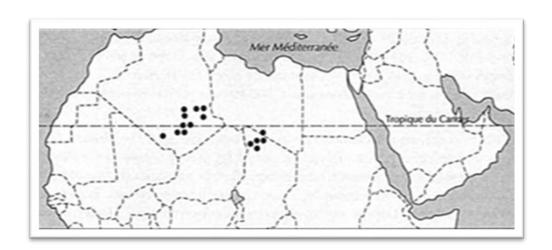


Figure 1.4 : Répartition géographique de Salvia chudaei Batt et Trab

(**JEAN-PIERRE**, 2002).

I.2.7. Propriété et usage :

C'est une plante qui dégage une odeur agréable. Elle a des usages médicinaux et culinaires multiples. (MAIZA *et al.*, 1993 ; HAMMICHE et MAIZA, 2006).

Salvia chudaei est utilisée comme un condiment (JOHANNES, 2006). Les femmes touaregs l'utilisent comme une sorte de pommade contre les coups de soleil et les boutons et également utilisée dans l'alimentation (les sauces, les condiments, les épices, les arômes et aussi pour parfume le thé des Touaregs et aux plats), et en décocté contre les rhumatismes, les ulcères d'estomac, dysfonctionnements urinaires, les spasmes et les maladies vénériennes (BURKILL, 1985). Ainsi contre les douleurs abdominales, la dysménorrhée et les gonorrhées (HAMMICHE et al., 2006) et dans l'agri-horticulture (fourrage) (BURKILL, 1985; OZENDA, 1977; SAHKI et SAHKIA, 2004; BENCHELAH et al., 2011; HAMMOUDI, 2015).

I.3. Les métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées parles plantes autotrophies (BOUDJOUREF, 2011). Ils sont caractérisés généralement par de faible concentration dans les tissus végétaux (NEWMAN & CRAGG, 2012)., aussi n'exercent pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de la plante (GUIGNARD, 1996).

Les métabolites secondaires sont des produits à structure chimique souvent complexe, on recense plusieurs milliers de métabolites, et sont classées selon leur appartenance chimique Parmi ces substances, on trouve les composés phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les saponosides, les terpénoïdes et stéroïdes et les alcaloïdes qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique (ISERIN, 2001; BELLOW, 2012). Ces derniers constituent un des plus grands groupes de métabolites secondaires avec près de 10000 à 12000 différentes structures qui représentent un groupe fascinant de produits naturels (ROBERTS et WINK, 1999; STOCKIGT et al., 2002).

On distingue classiquement quatre grandes catégories de métabolites secondaires chez les végétaux :

I.4. Les polyphénols :

Les polyphénols ou composés phénoliques sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux. Les composés phénoliques sont des substances présentes dans tous les végétaux (HARBORNE, 1980; BOIZOT et CHARPENTIER, 2006) et dans tous les organes de la plante (LEHOUT et LAIB, 2015). Ils 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 corduans la coloration des fleurs. Par ailleurs ils sont bénéfiques pour l'homme vis-à-vis de certaines maladies par leur action sur le métabolisme humain et leur propriété antioxydante (Michel, 2011).

I.4.1. Structure chimique:

L'élément structural fondamental qui caractérise les composés phénoliques est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside. Ils sont des dérivés non azotés dont le ou les cycles aromatiques sont principalement issus du métabolisme de l'acide shikimique ou /et de celui d'un poly acétate (BRUNETON 2009).

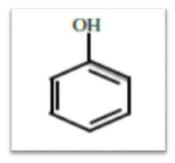


Figure 1.5: Structure du noyau phénol (ACHAT, 2013).

La structure des polyphénols naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés) (MACHEIX et al., 2005). Ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance, ou la production (NKHILI, 2009).

I.4.2. Classification:

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; AREF ET HEDED, 2015).

I.4.3. Biosynthèse:

Les polyphénols sont synthétisés par de deux voies biosynthétique :

- ➤ 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 phénylpropanoide (LAABOUDI, 2012).
- ➤ La voie des phénylpropanoides: La voie de phénylpropanoide 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).

I.4.4. Localisation et intérêt :

A l'échelle de la cellule, les composés phénoliques sont principalement répartis dans deux compartiments : les vacuoles et la paroi. Dans les vacuoles, les polyphénols sont conjugués, avec des sucres ou des acides organiques, ce qui permet d'augmenter leur solubilité et de limiter leur toxicité pour la cellule. Au niveau de la paroi, on trouve surtout de la lignine et des flavonoïdes liés aux structures pariétales. Les composés phénoliques sont synthétisés dans le cytosol. Une partie des enzymes impliquées dans la biosynthèse des phénylpropanoïdes est liée aux membranes du réticulum endoplasmique, où elles sont organisées en métabolons (BENARD, C 2009).

Au niveau tissulaire, la localisation des polyphénols est liée à leur rôle dans la plante et peut être très caractéristique. Au sein même des feuilles la répartition des composés est variable, par exemple les anthocyanes et les flavonoïdes sont majoritairement présents dans l'épiderme. Au niveau de la plante entière, il faut noter que certains composés ne sont accumulés que dans

des organes bien définis. Chez la pomme par exemple, les composés phénoliques interviennent au niveau de la coloration de la peau via les anthocyanes, et dans la qualité organoleptique de la chair, notamment pour l'amertume ou l'astringence (BENARD, C 2009). Les composés phénoliques jouent un rôle important dans le métabolisme de la plante mais aussi peuvent réagir dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (relations avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV). Toutes les catégories de composés phénoliques sont impliquées dans les mécanismes de résistance (DICKO, M. H., GRUPPEN, H., TRAORE, A. S., VORAGEN, A. G. J. & VAN BERKEL, W. J. H. 2006). Ils assurent la communication entres cellules, entre végétaux, entre végétaux et animaux (ROBERT, D. & CATESSON, A. M. 2000).

I.4.5. Les principales classes :

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).

I.5. Les 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).

I.5.1. Structure chimique:

Le terme d'acide-phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. En phytochimie, l'emploi de cette dénomination est réservé aux seuls dérivés des acides benzoïque et cinnamique (**BRUNETON**, 1993).

I.5.2. Classification:

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).

- Acide phénoliques dérivés de l'acide benzoïque : Les acides phénols en C6-C1, dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque, sont très communs, aussi bien sous forme libre que combinés à l'état d'ester ou d'hétéroside (BRUNETON 2009). Sont des hydroxybenzoiques et ont une structure générale de base de type (C6-C1). Les plus répandus sont : l'acide salicylique et l'acide gallique (BRUNETON, 1999).
- Acide phénoliques dérivés de l'acide cinnamique : La plupart des acides phénols en C6-C3 (acides p-coumarique, caféique, férulique, sinapique) ont une distribution très large. Ces composés sont rarement présents se forme libre, ils sont souvent sous forme estérifiées : Esters d'alcools aliphatiques et esters de l'acide quinique (l'acide chlorogénique). Ils peuvent également être amidifiés, ou combinés avec des sucres : ester du glucose, c'est le cas le plus fréquent, ou éther du glucose (BRUNETON 2009).

I.6. Les flavonoïdes :

Le terme flavonoïde provient du latin "flavus", signifiant "jaune" sont les principaux métabolites secondaires végétaux (RALSTON et al., 2005). Ils constituent le principal groupe des polyphénols 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).

Avec plus de 9000 composés différents. Largement répandus dans le règne végétal. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux, responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (HERNANDEZ 2009 ; WILSON 1987).

I.6.1. Structure chimique:

Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune, par conséquent, il possède tous un même squelette de base a quinze atomes de carbone, constitué de deux noyaux benzéniques (noyaux A et B) reliés par un cycle pyrane hétérocyclique (C) (BRUNETON 2009; KUMAR et al., 2013).

I.6.2. Classification:

Les principales classes des flavonoïdes sont : les flavonols, les flavones, les flavanones, les flavan-3-ols, les isoflavones et les anthocyanes, ilsvarient dans leurs caractéristiques structurelles par la diversité fonctionnelle autour de l'oxygénation de l'hétérocycle (BOUBEKRI, 2014).

I.6.3. Biosynthèse:

Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune dérivant de la voie de L'acide shikimique. Le précurseur de ces molécules est le 4-hydroxycinnamate-coenzyme Asynthétisé à partir de la phénylalanine (**BRUNETON**, **1999**).

I.6.4. Localisation et distribution :

Les flavonoïdes sont des pigments solubles dans l'eau. Dans la plupart des cas ils sont présents sous forme glycosidique dans les vacuoles des fleurs, des feuilles, des tiges ou des racines. Les flavonoïdes aglycones, notamment les flavonoïdes simples et poly méthyles, sont plutôt présents sous forme de cires dans les feuilles, les écorces, les bourgeons.

I.7. Propriétés et utilisations :

Les polyphénols sont des antioxydants qui ont plusieurs propriétés biologiques : antidiabétique, anticancéreuse, anti-inflammatoire, cardioprotectrice, antivirales antiasthmatique, antiseptique, hépato-protecteur, antifongique, antibactériennes, antivirales (KUMAR & PANDEY, 2013).

Les flavonoïdes peuvent agir sur le système vasculaire en limitant l'agrégation des plaquettes, et présenteraient des propriétés antitumorale par induction de l'apoptose et inhibition de la prolifération des lymphocytes T (HARBORNE & WILLIAMS, 2000 ; ARON

& KENNEDY, 2008). Notons que les flavonoïdes sont utilisés comme colorants dans les industries agroalimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques. En phytothérapie, les propriétés vasculoprotectrices, sont attribuées aux flavonoïdes (HENNEBELLE et al., 2004).

CHAPITRE II MATERIEL ET METHODES

II.1. Etude de la région :

Tamanrasset, une vaste terre aride, au milieu du Sahara algérien, elle est la capitale du Hoggar, elle reste la destination préférée du tourisme européen et surtout allemand. Sa superficie est de 619360 km². La ville de Tamanrasset est un axe incontournable des nomades et des touaregs qui arpentent les dunes, les regs du Sahara, du Mali au Niger passant par le Tchad et la Libye (ANDI, 2013).



Figure 2.1 : Localisation géographique de la zone d'étude wilaya de Tamanrasset. **(ANDI, 2013)**.

II.2. Matériel utilisé :

II.2.1. Matériel biologique :

Matériel végétal :

Notre étude a été réalisée sur des feuilles de *Salvia chudaei* Batt & Trab (Figure 2.2). La récolte s'est effectuée au mois de Mars 2020 dans la région de Tamanrasset.

Les échantillons ont été séchés dans un endroit sec, à température ambiante pendant une semaine pour éviter le développement des micro-organismes et à l'abri de la lumière afin de garder l'aspect biochimique des molécules.

Après la détermination du taux d'humidité, les feuilles ont été broyées, à l'aide d'un broyeur de type Medicalex. Une poudre fine est obtenue et conservée soigneusement dans des bocaux bruns et hermétiquement fermés. Les échantillons sont placés dans un endroit sec jusqu'à analyses (figure 2.3)

En se référant à QUEZEL & SANTA, l'identification botanique de la plante a été faite par les botanistes de l'Institut National de Recherche Forestière - INRF- Station de recherche pour la protection des zones arides, Tamanrasset (Algérie).



Figure 2.2 : La plante de de Salvia chudaei Batt & Trab.

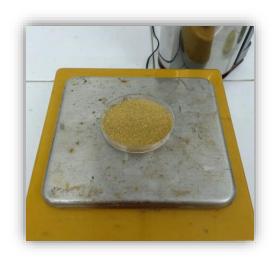


Figure 2.3 : La poudre de la plante Salvia chudaei Batt. & Trab.

> Micro- organismes :

L'activité antibactérienne a été réalisée sur quatre microorganismes référenciés par la norme internationale pharmacopée européenne.

Tableau 2.1 : Souches bactériennes testées.

Souches bactériennes				
Bactéries Gram négatif				
Escherichia coli	ATCC 10536			
Pseudomonas aeruginosa	ATCC 27853			
Bactéries Gram positif				
Staphylococcus aureus	ATCC 6538P			
Bacillus subtilis	ATCC 66333			

II.2.2. Matériel non biologique :

La verrerie, l'appareillage et les réactifs utilisés sont mentionnés dans l'Appendice A.

II.3. Méthodes d'étude :

II.3.1. Taux d'humidité:

Le taux d'humidité consiste à une perte de poids par dessiccation (LAZOUNI et al., 2007). Il est déterminé selon la méthode de (DJABALI & BARKAT 2012) :

Pour cela, 5 g de feuilles séchées de l'échantillon étudié est pesé dans des capsules puis placée à l'étuve de type Binder à 105 ± 5°C pendant 24 heures. A la sortie de l'étuve, les capsules sont refroidies dans un dessiccateur et pesées chaque 3 heures. L'opération est répétée plusieurs fois jusqu'à l'obtention d'un poids constant. La différence de poids observée représente le taux d'humidité. Il est calculé par la formule suivante :

$$H = \frac{(Pi - P)}{Pi}$$

H: Taux d'humidité en %.

Pi : Masse de l'échantillon avant séchage en étuve (g).

P: Masse de l'échantillon après séchage en étuve (g).

II.3.2. Préparation de l'extrait aqueux :

L'extrait aqueux (EAq) est préparé en suivant la méthode décrite par (**MBIANTCHA et ses collaborateurs**, **2011**), avec quelques modifications. La macération est faite avec 100g de la poudre des feuilles dans 1L de l'eau distillée tiède pendant 3jours. Une filtration sur coton hydrophile, puis sur papier Wattman N°3 a été effectuée. Pour l'évaporation de l'eau distillée, le filtrat est placé dans l'étuve à 45°C jusqu'à l'obtention d'un extrait, conservé par la suite à -4°C jusqu'à son utilisation.

II.3.3. Rendement:

Le rendement d'extraction (%) est calculé par la formule suivante (HARBORNE, 1998) :

R (%)= Rendement d'extraction.

m_{es}: Masse de l'extrait sec (ml).

m_v: Masse du matériel végétal utilisé (g).

 $Rdt(\%) = \frac{m_{es}}{m_v} \times 100$

II.3.4. Tests phytochimiques:

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de métabolites secondaires des plantes par des réactions qualitatives de caractérisation (**BENTABET & BOUCHERIT, 2014**). Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composés (**BOUTERAFAS** et *al.*, 2014).

❖ Les flavonoïdes :

Quelque gouttes d'acide chlorhydrique concentré et quelque milligramme de tournures de magnésium sont ajoutés à 0,5 ml de chaque extrait. La coloration rose –rouge ou jaune indique la présence des flavonoïdes (HADOUCHI et *al.*, 2016).

II.3.5. Activité antibactérienne :

Les tests de sensibilité et résistance antibactérienne ont été effectués selon la méthode de diffusion à partir des disques.

> Principe

Le principe de l'activité antibactérienne des extraits de plantes consiste à réaliser une culture microbienne sur milieu gélose nutritive, en présence de disques imbibés d'extrait de plante. Si ces derniers ont une activité antimicrobienne, on observera une zone d'inhibition autour du disque due à la diffusion des échantillons dans le milieu (PAREKH et al., 2007; DULGER et al., 2004; ROTA et al., 2008).

> Mode opératoire :

L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de *salvia chudaei*. Est évaluée par la technique de diffusion sur l'agar (méthode des disques) selon la méthode décrite par (**FALLEH** et al., 2008) vis-à-vis de quatre souches bactériennes (à Gram- : Escherichia *coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et à Gram+ : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilus*).

Les différentes espèces bactériennes sont d'abord repiquées par la méthode des stries dans des boites de Pétri contenant le milieu de gélose nutritive, puis incubées à 37 °C pendant 24 h.

Une ou plusieurs colonies de chaque culture pure sont prélevées et transférées dans l'eau physiologique à une turbidité équivalente à 0,5 McFarland ou à une DO de 0.08 à 0.10 à 625 nm. Un prélèvement à partir de cet inoculum sert à ensemencer de nouvelles boites de Pétri contenant le milieu de gélose nutritive par technique d'écouvillonnage. Des disques de papier

filtre de 6 mm de diamètre, stériles, sont chargés de 10 µl de l'extrait aqueux et placés à la surface de ces boites.

Les disques des contrôles négatifs sont imprégnés avec l'eau distillée. Les boites de Pétri sont incubées à 37°C pendant 24h. Les résultats sont exprimés en diamètres des zones d'inhibition produites autour des disques.

II.3.6. Activité antioxydante :

La méthode de piégeage du radical DPPH a été utilisée afin d'évaluer cette activité.

> Principe

Le DPPH est un radical libre stable de couleur violette, il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm, cette couleur disparait rapidement lorsque le DPPH•est réduit en diphényle picrylhydrazine par un composé à propriété antiradicalaire, entrainant ainsi une décoloration.

L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (**FADILI et** *al.***, 2017**).

Figure 2.4 : Réaction de réduction du DPPH• (MOLYNEUX, 2004).

Le radical DPPH· est l'un des substrats les plus utilisés généralement pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale et la simplicité de l'analyse.

Comme il n'existe pas de mesure absolue de la capacité antioxydante d'un composé, les résultats sont souvent portés par rapport à un antioxydant de référence comme l'acide ascorbique (Vitamine C).

La méthode utilisée pour l'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait aqueux de *Deverra scoparia* Coss. & Dur. Est celle proposée par (**SHARMA & al. 2013**) avec quelques modifications.

> Mode opératoire :

La solution de DPPH est obtenue en dissolvant 4 mg de la poudre dans 100 ml de l'éthanol absolu (EtOH). Les échantillons testés ont été préparés par dissolution dans l'éthanol (EtOH) à raison de 80 mg/ml. Ces solutions mères ont subi ensuite des dilutions pour arriver à des concentrations allant de 0,04 à 32 mg/ml. Le test s'effectue en mélangeant 1 ml de la solution précédente de DPPH (0,04%) avec 1 ml de l'extrait à tester à différentes concentrations.

L'antioxydant de référence ou le contrôle positif (Vit C) a été aussi préparé selon la même méthode à raison de 0,2 mg/ml. Le contrôle négatif est constitué de 1 ml de la solution DPPH et 1 ml de l'éthanol absolu (EtOH). Après une période d'incubation de 30 minutes, à une température du laboratoire (22 ± 2 °C) et à l'abri de la lumière et de l' O_2 atmosphérique, la mesure de l'absorbance a été effectuée à 517 nm (**SHARMA & BHAT, 2009**).

Les valeurs obtenues sont transformées ensuite en pourcentages d'inhibition en utilisant la formule proposée par (MARINOVA & BATCHVAROV, 2011) :

$$I\% = 100 \times {\it A blanc} - {\it A \'echantillon}/_{\it A blanc}$$

I%: Activité antioxydante.

A blanc : Absorbance du contrôle négatif.

A échantillon: Absorbance du composé à tester.

Le graphique de la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait permet de déterminer l'EC₅₀ exprimée en mg de substrat/ml de DPPH. C'est la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du DPPH• initial de 50% (POPOVICI et al., 2009; BARKAT & LAIB, 2012). Il peut être défini aussi comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH (ASGHAR & MASOOD, 2008; AMIT et al., 2010).

L'activité antioxydante est déduite graphiquement par la régression linéaire (SHARIFIFAR et *al.*, 2007 ; BOUGANDOURA & BENDIMERAD, 2013). Cette valeur est comparée à celle trouvée par l'antioxydant standard (Vit C).

II.4. Analyses statistiques :

Pour chaque test effectué, trois répétitions ont été faites. Les résultats des tests sont exprimés en moyenne ± SD (l'écart type) en utilisant le logiciel Excel 2013. La détermination de l'EC50 de l'activité antioxydante a été effectuée par le logiciel (Origin 8) (Appendice B).

CHAPITRE III

RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. Taux d'humidité:

La détermination du taux d'humidité des feuilles séchées à l'ombre, pendant une semaine de *Salvia chudaei* a révélé un taux égal à $10 \pm 0.05\%$ et (Tableau 3.1).

Tableau 3.1 : Taux d'humidité des feuilles séchées du *Salvia chudaei*.

Espèces	Salvia chudaei
Poids de la matière végétale avant séchage Pi (g).	5,01±00
Poids de la matière végétale après 3h de séchage P (g).	4,5±0,10
Le taux d'humidité de la matière végétale sèche H (%).	10±0,05

Selon la norme **ISO**, les résultats obtenus des échantillons séchés sont nettement inférieurs à 12%, cela montre que notre matière végétale a été séchée et conservée dans de bonnes conditions, ce qui rend, par conséquent, les résultats de nos analyses phytochimiques fiables.

En effet, la diminution de poids observée après séchage est exprimée par la diminution de l'humidité (MÜLLER & HEINDL, 2006).

III.2. Rendement:

Le rendement moyen en extrait, exprimés en ml par rapport à 100 g de matière végétale sèche, sont représentés par la figure 3.1.

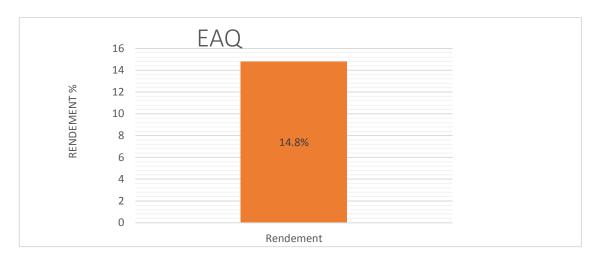


Figure 3.1 : Le rendement moyen en extrait aqueux du Salvia chudaei.

L'extrait aqueux de la partie aérienne de *Salvia chudaei* a donné un rendement d'environ $14.8 \pm 0.06\%$.

Selon (**HAMMOUDI** et *al.*, **2017**), le rendement de l'extrait éthanolique de *Salvia chudaei* a donné un résultat de 17.2 % ce qui signifie qu'il est fort par apport notre rendement.

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 (NAZCK & 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; iserI-ASSANGA et al., 2015).

III.3. Tests phytochimiques:

Le test phytochimique réalisé sur les feuilles séchées du *Salvia chudaei* a permis d'avoir les résultats présentés dans le tableau 3.2.

Tableau 3.2 : Le test phytochimique du *Salvia chudaei*.

Les composées	Les réactifs	Salvia chudaei
Les flavonoïdes	H2SO4	Positif

D'après le tableau 3.2, nous remarquons que l'extrait aqueux de *Salvia chudaei* est riche en flavonoïdes.

Les résultats obtenus sont en accord avec ceux trouvés par (**KRIMAT et** *al.*, **2015**), qui révèlent la présence des flavonoïdes et d'autres composés secondaires dans l'extrait hydro-alcoolique de *Salvia chudaei*.

D'après (NAZEMIYEH et al., 2006) montrent que le genre Salvia est riche en flavonoïdes.

III.4. Activité antibactérienne :

Les résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait testé sont mentionnés dans le tableau 3.3.

Tableau 3.3 : Inhibition du développement des souches bactériennes testées.

Concentration	Gram +		G	ram -
%	Staphylococcus	Bacillus	Escherichia	Pseudomonas
70	aureus	subtilus	coli,	aeruginosa
100	20	19	17	-
90	20	17	15	-
80	18	13	10	-
70	17	10	10	-
60	15	-	-	-
50	15	-	-	-
40	11	-	-	-
30	-	-	-	-
20	-	-		-
10	-	-	-	-

L'examen des résultats révèle que l'échantillon étudié a montré une activité antibactérienne contre la plupart des bactéries testées à l'exception de *Pseudomonas aeroginosa* qui s'est montrée résistante.

(KIRMAT et al., 2015) ont observé que les différents extraits de Salvia chudaei ont une activité antibactérienne.

Ces résultats sont en accord avec les résultats des (GALI-MUHTASIB et al., 2000 ; KAN, 2007 ; STAGOS et al., 2013), qui ont montré que là plus part du genre Salvia possède un effet inhibiteur contre la croissance microbienne.

(HAMMOUDI et al., 2017) ont rapporté que l'extrait éthanolique de Salvia chudaei présente un effet remarquable sur Staphylococcus aureus, Escherichia coli et sur Pseudomonas aeruginosa

Certaines études ne révèlent aucune activité antimicrobienne sélective vis-à-vis les bactéries gram (+) ou gram (-) (GUESMI & 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).

III.5. Activité antioxydante :

L'activité antioxydante exprime la capacité de réduction des radicaux libres. Le DPPH présente une coloration violette sombre mais lorsqu'il est piégé par des substances antioxydantes sa couleur vire vers le jaune pâle, le virage vers cette coloration et l'intensité de la coloration de la couleur de la forme libre en solution dépend de la nature, la concentration et la puissance de la substance antiradicalaire (**ROLLAND**, **2004**).

L'activité antioxydante de l'extrait est exprimée en EC₅₀, il définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du radical DPPH. Dans ce test nous avons utilisé l'acide ascorbique comme standard, les résultats obtenus (pourcentage d'inhibions I%) sont représentés dans les figures 3.2 et 3.3.

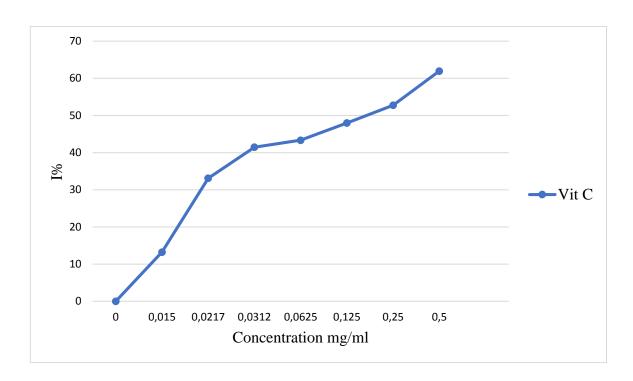


Figure 3.2: Pourcentage d'inhibition de DPPH par la Vit C.

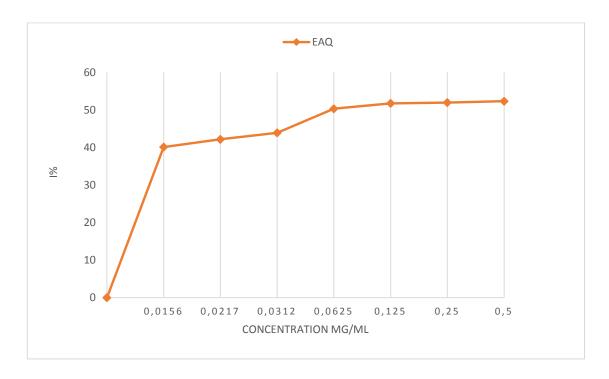


Figure 3.3 : Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'extrait aqueux du Salvia chudaei.

Les valeurs obtenues ont permis de tracer des courbes ayant une allure exponentielle avec présence d'une phase stationnaire qui signifie la réduction presque totale du DPPH· en sa forme non radicalaire.

La détermination des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations utilisées (Figures 3.2 et 3.3) ainsi les valeurs d'EC₅₀ sont obtenues à partir de ces courbes.

Le pourcentage d'inhibition augmente progressivement avec la concentration jusqu'à arriver à un plateau qui correspond à l'épuisement presque total du DPPH• présent dans le milieu.

L'EC₅₀ est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car elle exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%.

Les valeurs des EC₅₀ trouvées pour l'échantillon testé et la Vit c sont représentées dans les figures 3.4.



Figure 3.4 : EC₅₀ de l'extrait aqueux du *Salvia chudaei* et la Vit C.

D'après les résultats obtenus l'extrait de *Salvia chudaei* a représenté une valeur d'EC₅₀ égal à 0,06 mg/ml, ce qui signifie que l'extrait a un fort pouvoir antiradicalaire. Cette valeur est plus importante en comparaison avec celle de la Vit C (0,136 mg/ml).

Plus la valeur de l'EC₅₀ est faible, plus l'activité antioxydante d'un composé est appréciable.

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 (**SONGKLANAKARIN**, **2004**). L'activité antioxydante dépend non seulement de la concentration, mais également de la structure et la nature des antioxydants (**FALLEH et** *al.*, **2008**).

CONCLUSION

Dans le but de la valorisation d'une plante de la famille Lamiacées issue de la région de Tamanrasset, *Salvia chudaei*, nous avons testé l'activité antibactérienne et antioxydante de l'extrait aqueux de cette plante.

Au terme de ce travail, l'extrait des feuilles séchées de *Salvia chudaei* de la région de Tamanrasset a donné un rendement qui est de l'ordre de $14.8 \pm 0.06\%$.

Le test phytochimique montre que l'extrait contient des flavonoïdes.

L'activité antibactérienne a été étudiée vis-à-vis de quatre souches bactériennes : Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, Bacillus subtilis et Staphylococcus aureus qui se sont révélées sensibles à l'extrait à l'exception de Pseudomonas aeruginosa qui s'est montrée plus résistante.

Les résultats de l'activité antioxydante en utilisant le test DPPH montrent que l'extrait possède un pouvoir antioxydant important comparé à l'antioxydant standard : vitamine C.

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

APPENDICE A MATERIEL NON BIOLOGIQUE

VERRERIES	APPAREILS	REACTIFS
Bocaux.	Broyeur. Balance analytique.	Acide chlorhydrique
Capsules.	Etuve. Dessiccateur.	Tournures de magnésium
Flacons.	Spectrophotomètre (UV-visible).	DMSO.
Entonnoir.		Ethanol.
Flacons teintés.		DPPH. Vitamine C.
Béchers.		
Burette.		
Tubes à essai.		
Boites de pétri.		
Seringue.		

APPENDICE B

ETUDES STATISTIQUES

Calcul de la moyenne:

$$X = 1/n \sum_{1}^{n} xi$$

n : Nombre de répitions.xi : Valeurs observées.

Calcul de l'écart type:

$$S = \sqrt{\frac{1}{n} - 1\sum_{i}^{n}(xi - X)}$$

APPENDICE C

LISTE DES SYMBOLES ET ABREVIATIONS

ATCC: Américan Type Culture Collection. **CFU**: Unité Formant des Colonies. **DMSO**: Diméthylsulfoxide. **EAQ**: Extrait aqueux. **DPPH**: 2,2-diphényle-1picrylhydrazyle. **I%**: Pourcentage d'hinibition. EC₅₀: Concentration requise pour diminuer la concentration du DPPH de 50%. **ISO:** Organisation Internationale de Normalisation. **DO**: Densité optique. **g**: gramme. nm: Nanomètre. O2: Oxygène. %: pourcentage. ±: Plus au moins. -: Négatif. +: Positif. °C: degré Celsius.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

Abeier, O.K. (2007). Contribution à la caractérisation floristique de deux oueds de l'Ahaggar : oued Idèles et oued Tassakimt. Mémoire Ingéniorat Eco. Université Ouargla.pp:44-45.

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.

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.

Al-Jaber, H.I., mQudah, M.A., Barhoumi, L.M., Abaza, I.F., & Afifi, F.U. (2012). Essential oil composition of the aerial parts of fresh and air-dried Salvia palaestina Benth.

(Lamiaceae) growing wild in Jordan. Nat. Prod. Res., 26, 1179–1187.

Amit J., Paras S. & Kaushik S., "Evaluation of phenolic & Damp; flavonoid profile and screening of antioxidant activity of plant Croton sparsiflorusby bio-autographic method",

Journal of Pharmacy Research, V. 3, n°5, (2010), 1146-1148.

ANDI., 2013. Wilaya de Tamanrasset. Invest Algérie.

Aref, M., & Heded, M. (2015). Contribution à létude phytochimique, les activités biologiques (Antioxydante et Antibactérienne) d'une plante médecinale Cleome arabica L

(Région dOued Souf). Mém. Master. Université ECHAHID HAMMA LAKHDAR D'ELOUED, 82p.

Aron P. & KennedyJ.A., 2008. Flavan-3-ols: Nature, occurrence and biological activity. Molecular Nutrition Food Research 52(1):79-104

Asghar Z. Masood Z., "Evaluation of antioxidant properties of silymarin and its potential to inhibit peroxyl radicals in vitro", Pak. J. Pharm. Sci., V. 3, (2008), 249-254.

Bahadori, M., Valizadeh, H., Asghari, B., Dinparast, L., Moridi, F.M. (2015). Shahram Bahadori f Chemical composition and antimicrobial, cytotoxicity, antioxidant and enzyme inhibitory activities of Salvia spinosa L. Journal of Functional Foods, 18: 727-736.

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.

Barkat M. & Laib I., "Antioxidant activity of the essential oil from the flowers of Lavandula stoechas", Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy, V. 4, n°7, (2012), 96-101.

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..

Bellow S. 2012. Etude des composés phénoliques impliqués dans la réponse des feuilles de vigne au mildiou. Thèse doctorat en biologie de l'université Paris Sud. 117.

Bénard, C. (2009). Etude de l'impact de la nutrition azotée et des conditions de culture sur le contenu en polyphénols chez la tomate. Thèse de Doctorat : Université de NANCY.

Benchelah, A.C., Bouzian, H., Maka, M. (2004). Fleurs du Sahara, arbres et arbustes, voyage au coeur de leurs usages avec les Touaregs du Tassili. Phytothérapie. 6: 191-197.

Benchelah, A.C., Bouzian, H., Maka, M. (2011). Fleurs du Sahara, Voyage ethnobotanique avec les Touaregs du Tassili. Edition Ibis press, paris. ISBN 978-2-36122-021-1 17. 255p.

Bentabet, N., Boucherit-Otmani, Z., & Boucherit, K. (2014). Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de Fredolia aretioides de la région de béchar en algérie. Phytothérapie, 12, 364 – 371.

Boizot, N. & Charpentier, J.P. (2006). Méthode rapide dévalation du contenu en composés phénoliques des organes dun arbre forestier. Méthodes et outils pour dobservation et lévaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, Le Cahier des Techniques de l'INRA, pp : 79-82.

Botineau M. (2010). Botanique systématique et appliqué des plantes à fleurs. Tec & Doc Lavoisier (ed.). Paris. P. 1021.

Boubekri, C. (2014). Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de Solanum melongena par des techniques électrochimiques. Thèse Doctorat en sciences. Université Mohamed Khider – Biskra. 176p.

Boudjouref, M. (2011). Etude de lactivité antioxydant et antimicrobienne dextraits d'Artemisia campestris L. Thèse de Magister en Biochimie. Université Ferhat Abbes, Sétif. Algérie. 99 p.

Bougandoura N. & Bendimerad N., "Evaluation de l'activité antioxydante des extraitsaqueux et méthanolique de Satureja calamintha ssp.Nepeta (L.) Briq", Revue

Nature et Technologie, B-Sciences Agronomiques et Biologiques, n°09, (2013),14-19.

Bouterfas, Karim. zoheir, Mehdadi. DJamel, Benmansour. Meghit, Boumedien Khaled. Mohamed, Bouterfas. Ali, Latreche. Optimization of Extraction Conditions of Some Phenolic Compounds from White Horehound (Marrubium vulgare L.) Leaves. International Journal of Organic Chemistry (2014) 4292-308.

Bruneton J. (1993). Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants. Lavoisier (ed.). Paris. P. 241, 310.

Bruneton J., 1999.- Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. 3^{ème} édition. Technique et Documentation-Lavoisier, Paris, 915p.

Bruneton J. (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Tec & Doc Lavoisier (ed.). Paris. P. 1243.

Burkill H.M.,1985 - The useful plants of west tropical Africa, Vol 3.

Colmenares, N.G., Medina, E.G., & Usubillaga, A. (2006). Volatile constituents from the aerial parts of Salvia angulata H.B.K. of Venezuela. J. Essent. Oil Res., 18, 486–488.

Couplan F. (2000). Dictionnaire étymologie de botanique. Nestlé (ed.). Luisane. Paris. P. 283.

Dicko, M. H., Gruppen, H., Traoré, A. S., Voragen, A. G. J. Van Berkel, W. J. H.

(2006). Phenolic compounds and related enzymes as determinants of sorghum for food use. Biotechnology and Molecular Biology Review 1 (1), 21-38.

Djabali S. & Barkat M., 2012. Effet des extraits polyphénoliques sur la résistance à l'infestation fongique dans le grain d'haricot sec'', V. Microbiol. Ind. San. et Environn., V. 6, n°2, 174-191.

Dulger B, Gonuz A (2004). Antimicrobial activity of some Turkish medicinal plants. J. Pak. J. Boil. Sci. 7(9):1559-1562.

Fadili Kamal, Hannou Zerkani, Smail Amalich et Touriya Zair. phytochemical study and evaluation of antioxidant activity of leaves and fruits of Capparis spinosa L. 2017. American Journal of Innovative Research and Applied Sciences.110-116.

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.

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.

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. l. (1996). Biochimie végétale. Ed. Masson, Paris. France. 274 p.

Haddouchi F., Chaouche T. M. et Halla N. « Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. 2016. Phytothérapie. Lavoisier.1-9.

Hammiche, 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.

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.

Harborne J.B., 1998. Phytochemical methods, London. 3 rd Edn., Chapman and Hall, Ltd. pp. 1 - 302.

Harborne J.B., Williams C.A., 2000. Advances in flavonoid research since 1992 Phytochemistry, 55, pp. 481-504.

Harborne, **J. B.**, (1998). Phytochemical Methods: A guide to moderne techniques .of plant analysis. Ed 3. CHAPMAN & HALL, 202-209.

Harborne, **J.B.** (1980). Plant Phenolics : Encyclopedia of Plant Physiology. New series. Vol. (8) : 329-402.

Harley R.M., Atkins S., Budantsev A., Cantino P.H., Conn B., Grayer R., Harley (2004). Labiatae. Flowering Plants Dicotyledons. 167-275.

Harrar, A. (2012). Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de Rhamnus alaternus L. Mém. Magister. Université Ferhat Abbes. Sétif. 73p.

Haslam, E. (1994). Natural polyphénols (vegatable tannins) : Gallique Acide métabolisme. Nat. Prod. Vol. (11) : 41-66.

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.

Hennebelle T., Sahpaz S. and Bailleul F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. Phytothér.1: 3-6. herbacées. Edition Ésope.311 p.

Iloki-Assanga, S.B., Lewis-Iuján, L.M., Lara-Espinoza, C.L., Gil-Salido, A.A., Fernandez-Angulo, D., Rubio-Pino, J.L. & 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.

Iserin, P. (2001). Encyclopédie des plantes médicinales, Larousse VUEF. 2éme Ed. Vol. 14. Paris. 335p.

ISO,Organisation Internationale de Normalisation (ISO 662), "Corps gras d'origines animale et végétale, Détermination de la teneur en eau et en matières volatiles", (1998), 7.

Jean-Pierre et Librun .,2002- « Introduction à la flore d'Afrique »,France ,Pp : 71.

Jean-pierre, L. (2001). Introduction à la flore d"Afrique. Ed cirad, ibis press, 155p.

Johannes Nicolaisen.,2006- "ecology and Culture of the pastoral Tuareg", nationalmuseum, Pp 178-548.

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.

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 Expérimental médicine, 11:221-228.

King, A. & Young, G. (1999). Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. J of the American dietetic association.99:213-218.

- Kone, W.M., Kamanzi, A.K.K., Terreaux, C., Hostettmann, K., Traoré, D. & Samp; Dosso, M. (2004). Traditional Medicine in North Côte d'Ivoire: screening of 50 medicinal plants for antibacterial activity. Journal of Ethnopharmacology, 93: 43–49.
- 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) (2015) 70-78.
- **Kuklinski C. (2000).** Farmacognosia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Omega (ed.). Espagne. P. 528.
- **Kumar S. & Pandey A.K., 2013.** Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. The Scientific World Journal 2013(11-12).
- 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. Lavoisier (ed.). Paris. P. 1243.
- Lazouni H. A., Benmansour A., Taleb-bendiab S. A. & Chabane S. D., 2007. Composition des constituants des huiles essentielles et valeurs nutritives du Foeniculum vulgare Mill, Journal of Sciences & Technologie, V. 25, 7-12.
- **Lehout, R., & Laib, M.** (2015). Comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale : Artemisia herba alba, Mém. Master. Université des Frères Mentouri Constantine. 76p.
- Macheix J.J., Fleuriet A., Sarni-Manchado P., (2006). Les Polyphénols en agroalimentaire. Ed. Tec et Doc. Paris. France. PP: 1-28.
- Macheix, J., Fleuriet, A., & Jay–Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires dimportance économique. Ed Presses polytechnologiques et universitaires romandes. p4-5.
- Maiza K., Brac de la Perriere R.A., Hammiche V., 1993- Pharmacopée traditionnelle saharienne : Sahara septentrional. Actes du 2éme Colloque Européen d'Ethnopharmacologie et de la 11e Conférence Internationale d'Ethnomédecine, Heidelberg. March, 24-27 : 169-171.
- **Marinova G. & Batchvarov V.,** "evaluation of the methods for determination of the free radical scavenging activity by DPPH", Bulgarian Journal of Agricultural Science, V. 17, n°1, (2011), 11-24.
- 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 P. (2014). Les familles des plantes à fleurs dEurope : botanique systématique et utilitaire. Presses universitaires de Namur (ed.). P. 221.

Mbiantcha M, Kamanyi A, Teponno RB, Tapondjou LA, Watcho P, & Nguelefack TB., 2011. Analgesic and Anti-Inflammatory Properties of Extracts from the Bulbils of Dioscorea bulbifera L. var sativa. (Dioscoreaceae) in Mice and Rats. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 1-9.

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.

Miguel, G., Cruz, C., Faleiro, M.L., Simões, M.T.F., Figueiredo, A.C., Barroso J.G., & Pedro, L.G. (2011). Salvia officinalis L. essential oils: effect of hydrodistillation time on the chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities. Nat. Prod. Res., 25, 526–541.

Mirjalili, M., Peyman, S., Sonboli, A., & Vala, M. (2006). Essential oil of variation Salvia officinalis aerial parts during its phenological cycle. Chemistry of Natural Compounds, 42: 19-23.

Molyneux, **P.**, (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) forestimating antioxidant activity. Journal of Science Technology, 26(2), 211-219.

Morel S. (2011). Etude phytochimique et évaluation biologique de Derris ferruginea Benth. (Fabaceae). Thèse de doctorat. Université dangers, 265p.

MÜLLER, J. and HEINDL, A. 2006. Drying of medicinal plants. In Medicinal Aromatic Plants (R.J. Bogers, L.E. Cracker and D. Lange, eds.) pp.237–252, Springer, Berlin.

Naghibi F., Mosaddegh M., Mohammadimotamed M., Ghorbani A. (2005). Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology. Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 2: 63-79.

Nazck, M., Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. J Chromatogram A. 1054(1-2): 95-111.

Nazemiyeh, H., Shoeb, M., Movahhedin, 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.

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.

OMS (Organisation mondiale de la Santé) (2003). Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation relatives à la médecine traditionnelle, WOH/TRM/2000.1; annexe II : 31-35.

Ozenda, P., 1977- « Flore de Sahara »,2° édition du Centre National de la recherche Scientifique, Paris, p 622.

Ozenda.P,1983. « Flore du Sahara » (ed. 2). Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS.), Paris, Pp 622, 405.

Pandey, K.b. & Rizvi, S.I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. Oxydative Médicine and Cellular Longevity. Vol. 2 (5): 270 – 278.

Parekh J, Chanda SV (2007). In vitro antimicrobial activity and phytochemical analysis of some Indian medicinal plant, Turk. J. Biol. 31:53-58.

Pistrick K. (2002). Notes on neglected and underutilized crops Current taxonomical overview of cultivated plants in the family Umbelliferae and Labiatae, Genetic Resources and Crop Evolution. 49: 211-225.

Popovici C., Ilonka S. & Bartek T., "Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH", Revue de génie industriel, V. 4, (2009), 25-39.

Quezel P. & Santana S., 1963. Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertique Méridionales, Editions Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, Tome II, p 977.

Quezel P., Santa S. (1962-1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques Méridionales. Centre National de la Recherche Scientifique CNRS (ed.). Paris. P. 1170.

Quezel, P., Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed, CNRS. Paris. Tom. 2 : 793p.

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.

Robert, D. & Catesson, A. M. (2000). Biologie végétale : caractéristiques et stratégie évolutives des plantes. Organisation végétative. Wolters Kluwer France Edition, Volume2, p 320.

Roberts, MF., & Wink, M. (1999). Alkaloids - Biochemistry, Ecology, and Medicinal Applications. Book Reviews / Phytochemistry, 52, 1177 – 1180.

Rolland Y., "Antioxydants naturels végétaux", OCL., V. 11, n°6, (2004), 419-424.

Rota MC, Herrera A, Martinez RM, Sotomayor JA, Jordán MJ (2000). Antimicrobial activity and chemical composition of Thymus vulgaris, Thymus zygis and Thymus hyemalis essential oils, Food control. 19:681-687.

Sahki, A., & Sahki, R. (**2004).** Le Hoggar promenade botanique. Espèces herbacées. Edition Ésope.311 p.

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.

Sharififar F., Moshafi M. H., Mansouri S. H., Khodashenas M. & Khoshnoodi M.,

"In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic Zataria multiflora", Boiss. Food Control, V. 18, (2007), 800-805.

Sharma O. P. & Bhat T. K., "DPPHantioxidant assay revisited", Food Chem., V. 113, (2009), 1202-1205.

Sharma R. K., Sharma N., Samant S. S., Nandi S. K., & Dani L. M. S., "Antioxidant Activities in Methanolic Extracts of Olea Ferruginea Royle Fruits", International Journal

Of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics, V. 3, n°2, (2013), 154.

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.

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.

Stöckigt, J., Shaludks, Y., Unger, M., Gerasimenko, I., Warzecha, H, & Stöckigt, D. (2002). High- performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic electrospray ionization mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups. Review Journal of Chromatography A. 967: 85-113.

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.

Teuscher E., Anton L., abstein A., 2005. - « Plantes aromatiques, épices, aromates et huiles essentielles », Ed. Tec & Doc, Lavrosier, P 522.

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.

Verpoorte R., Cotin A., Memelink J. (2002). Biotechnology for the production of plant secondary metabolites. Phytochemistry Reviews, 1 (1):13-25.

Winkel-Shirley, B. (2000). Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. Current Opinion in Plant Biology, 5, 218-223.