



DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE

N°..... /SNV/2020

THÈSE

Présentée par

MAMACHE Walid

Pour l'obtention du diplôme de

DOCTORAT EN SCIENCES

Filière : Biologie

Option : Biochimie

THÈME

Effets pharmacologiques des extraits de quatre plantes du genre

Salvia : S. aegyptiaca, S. verbenaca, S. barrelieri et S. argentea

Soutenue publiquement le : 07 / 01 / 2021

DEVANT LE JURY

Président	Belhattab Rachid	Pr. UFA Sétif 1
Directeur	Amira Smain	Pr. UFA Sétif 1
Examineurs	Necib Youcef	Pr. UM Constantine 1
	Lalaoui Korichi	Pr. UM Constantine 1
	Ben Abdallah Hassiba	MCA UFA Sétif 1
	Mosbah Asma	MCA UM Constantine 1

Laboratoire de phytothérapie appliquée aux maladies chroniques

Remerciements

Je remercie tout d'abord Allah qui m'a donné la santé et le courage pour terminer ce travail.

Je tiens à présenter ma profonde gratitude et mes sincères remerciements au Professeur **Amira Smain** qui m'a fait bénéficier de son savoir et de ses conseils éclairés afin de perfectionner ce travail.

Mes sincères remerciements vont également aux membres du jury Pr. **Belhattab Rachid**, Pr. **Necibe Youcef**, Pr. **Lalaoui Korichi** et Dr. **Mosbah Asma** d'avoir accepté de juger mon travail.

Je tiens à remercier le directeur du Laboratoire de Phytothérapie Appliquée aux Maladies Chroniques (LPAMC) d'avoir acquérir mon sujet au niveau du laboratoire.

Je tiens à remercier et à présenter ma profonde gratitude et reconnaissance aux **Dr. Benabdallah Hassiba** et **Dr. Benchikh Fatima** qui m'ont guidé tout au long de ce travail et pour leurs aides et ses précieux conseils. Je les remercie également pour leur disponibilité et ses encouragements.

Je tiens à remercier et à présenter ma profonde gratitude et reconnaissance aux **Dr. Bensouici Chawki** et **Dr. Mebrek Saad** pour leurs aides, ses précieux conseils au sein de laboratoire de Biochimie au niveau du CRBt Constantine.

Toutes mes remerciements au Pr. **Muhammad Iqbal Chuadhary** directeur de ICCBS et PCMD université de Karachi, ainsi Pr. **Nouman Rasoul**, Dr. **Almas Jabeen**, Dr **Nuzhat Shehla** et Mlle **Kirane Fida** Je tiens à remercier les doctorantes **Locif Karima** et **Mehlous Soulef** pour leurs aides au niveau du laboratoire LPAMC.

Je tiens à remercier **Pr. Ouhida** et **Dr. Keraghel** pour leurs aides au niveau du laboratoire d'anatomie pathologique.

Le ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique est également remercié pour le support financier du projet de recherche.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à

** Ma femme pour sa patience et mon petit-fils El-Barae*

** Mes parents*

** Mes frères et ma sœur chacun par son nom.*

** Ma grande et ma petite famille.*

** A tous mes collègues de l'université.*

** A tous mes amis de près et de loin.*

** A mes amis-frères spécialement Benchikh Amor et*

Meziti Hicham.

*A tous ceux qui aiment la science et la recherche
scientifique.*

Walid

الملخص

تم اختبار مستخلصات الميثانول والمغلي المائي للجزء الهوائي لكل من *S. aegyptiaca*، *S. verbenaca*، *S. barrelieri* و *S. argentea* (SAR EM et SAR ED، SBA ED، SBA EM، SVR ED، SVR EM، SAE EM، SAE ED) لخصائصها كمضادات للأكسدة، مضادات لإنزيمات الزهايمر، مثبطات لإنزيمات مرض السكري، مضادات لارتباط السكر بالبروتين، مضادات الالتهاب، مضادات السرطان في الزجاجيات، كذلك حماية المعدة، تأثيرها على الإفراغ المعدي والعبور المعوي. تم تحديد الخواص المضادة للأكسدة لمستخلصات *S. argentea* باستخدام إزالة جذر DPPH، ABTS، فوق أكسد القلوي DMSO، وتبييض البيتا الكاروتين، القدرة الإرجاعية والنشاط المخلي للمعادن. أظهرت جميع المستخلصات قدرة عالية كمضادات الأكسدة مع أفضل أداء في ME. أظهرت مستخلصات *S. aegyptiaca*، *S. verbenaca*، *S. barrelieri* و *S. argentea* نشاطاً مثبطاً منخفضاً للأسيتيل كولين أستراز (AChE) ونشاطاً مثبطاً عالياً لبوتيريل كولين أستيراز (BChE)، بينما كان لمستخلص الميثانول من *S. aegyptiaca* أعلى نشاط مثبط على BChE ($71.60 \pm 4.33\%$ لـ 100 ميكروغرام/مل) مقارنة بالمستخلصات الأخرى. أظهر التأثير المثبط في الزجاجيات على إنزيمات السكري أن مستخلصات الميثانول تثبط إنزيم α -amylase بقدرة IC_{50} بـ 86 و 101 ميكروغرام/مل لكل من SAE و SVR على التوالي. في الجانب الآخر، قامت مستخلصات EM SAE، EM SVR و EM SAR بتثبيط إنزيم α -glucosidase بقدرة (IC_{50} بـ 97، 150، 112 ميكروغرام/مل على التوالي). أظهرت المستخلصات الأخرى نشاطاً أقل في كلا الإنزيمين. أظهرت جميع المستخلصات فعالية مضادة لارتباط السكر بالبروتينات بنسبة تثبيط أكبر من 69% لـ 2 مغ/مل. تم تسجيل أفضل فعالية باستخدام EM SBA مع IC_{50} 70 ميكروغرام/مل. باستثناء مستخلص EM SVR، أظهرت المستخلصات الأخرى نشاطاً مثبطاً عالياً للانفجار الالتهابي مع IC_{50} تراوحت بين 35 و 88 ميكروغرام/مل. لم يُظهر أي من المستخلصات المختبرة سمية خلوية ضد 3T3 أو خلايا HeLa. ومع ذلك، تم تسجيل زيادة طفيفة في تكاثر خلايا HeLa في وجود هذه المستخلصات. تسبب EM SAE، EM SBA، EM SAR في تأخير إفراغ المعدة بشكل كبير عند الفئران إلى 53%، 46% و 58% على التوالي. قد يكون هذا التأثير مرتبطاً بتثبيط المستقبلات الميسكارينية و/أو انزيم نيتريك أكسايد سنتاز. كما أظهرت جميع المستخلصات تأثيراً منخفضاً إلى متوسط على العبور المعوي. أحدثت معاملة الجرذان باستخدام 100، 200 و 400 مغ/كغ بواسطة EM SAE، ED، SAE، EM SVR و ED SVR حماية للمعدة (75 إلى 94%) ضد القرحة التي يسببها الإيثانول والتي كانت أكبر مقارنة بالأوميبرازول كمرجع إيجابي. يمكن ان ترتبط هذه الحماية بالارتفاع في مستويات المخاطية المعدية، البروتينات الكلية، الغليثائون و/أو تثبيط أكسدة الدهون وتعزيز نشاطية الكاتالاز.

كلمات مفتاحية: مضادات للأكسدة، مضادات انزيمات الكولين استيراز للزهايمر، تثبيط إنزيمات مرض السكري، الإفراغ المعدي والعبور المعوي، نشاطية ضد القرحة المعدة المحدثة بواسطة الإيثانول، *S. aegyptiaca*، *S. verbenaca*، *S. barrelieri* و *S. argentea*.

Résumé

Des extraits méthanoliques (EM) et décoctés (ED) des parties aériennes de *S. aegyptiaca*, *S. verbenaca*, *S. barrelieri* et *S. argentea* (EM SAE, ED SAE, EM SVR, ED SVR, EM SBA, ED SBA, EM SAR et ED SAR) ont été testés *in vitro* pour leur activités antioxydantes, anti-Alzheimer, inhibition des enzymes diabétiques, antiglycation, anti-inflammatoire, anticancéreuses, aussi bien que leurs effets protectifs de l'estomac, leurs effets sur la vidange gastrique et le transit intestinal. Les propriétés antioxydantes des extraits de *S.* ont été déterminées en utilisant le piégeage des radicaux DPPH, ABTS et du radical superoxyde alcalins DMSO, le blanchiment du β -carotène, le pouvoir réducteur et les tests d'activité de chélation des métaux. Tous les extraits ont montré une capacité antioxydante élevée avec une meilleure performance trouvée dans l'EM. Les extraits de *S. aegyptiaca*, *S. verbenaca*, *S. barrelieri* et *S. argentea* ont montré une faible activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase (AChE) et une activité inhibitrice élevée de la butyrylcholinestérase (BChE), tandis que l'EM SAE avait l'activité inhibitrice la plus élevée sur la BChE ($71,60 \pm 4,33\%$ pour $100 \mu\text{g} / \text{ml}$) par rapport aux autres extraits. L'effet inhibiteur *in vitro* sur les enzymes diabétiques a montré que les EM inhibaient l'enzyme α -amylase avec une CI_{50} de 86 et $101 \mu\text{g}/\text{ml}$ pour SAE et SVR, respectivement. D'autre part, l'EM SAE, l'EM SVR et l'EM SAR ont inhibé l' α -glucosidase d'une valeur d' CI_{50} de 97, 150 et $112 \mu\text{g}/\text{ml}$, respectivement. Les autres extraits ont présenté une activité plus faible sur les deux enzymes. Tous les extraits ont montré une activité antiglycation importante avec une inhibition de plus de 69% pour $2 \text{mg}/\text{ml}$, alors que la meilleure activité a été enregistrée avec l'EM SBA avec une IC_{50} de $70 \mu\text{g}/\text{ml}$. A l'exception de l'EM SVR, les autres extraits ont présenté une activité inhibitrice élevée de la flambé inflammatoire avec une CI_{50} comprise entre 35 et $88 \mu\text{g}/\text{ml}$. Les extraits testés n'ont aucune cytotoxicité contre les cellules 3T3 ou HeLa. Cependant, une faible prolifération de HeLa a été enregistrée en présence de ces extraits. Les EM SAE, EM SBA et EM SAR ont induit un retardement significatif de la vidange gastrique chez les souris à 53%, 46% et 58% respectivement. Ces effets peuvent être liés à l'inhibition des récepteurs muscariniques et/ou l'enzyme oxyde nitrique synthase. Tous les extraits ont un effet faible à modéré sur le transit intestinal. Le traitement des rats avec 100, 200 et $400 \text{mg}/\text{kg}$ de l'EM SAE, l'ED SAE, l'EM SVR et l'ED SVR protège l'estomac (75 à 94%) contre l'ulcère induit par l'éthanol (100%) et supérieur en comparaison avec l'oméprazole comme contrôle positif. Cette protection peut être liée à l'augmentation des niveaux du mucus gastrique, des protéines totales, du glutathion et/ou l'inhibition de la peroxydation lipidique et de l'augmentation de l'activité de la catalase.

Mots clé : anti-oxydant, anticholinestérase, anti-enzymes diabétique, vidange gastrique et transit intestinal, ulcère gastrique induit par l'éthanol, *S. aegyptiaca*, *S. verbenaca*, *S. barrelieri* et *S. argentea*

Abstract

S. aegyptiaca, *S. verbenaca*, *S. barrelieri* and *S. argentea* aerial part methanol and decoction extracts (ME SAE, DE SAE, ME SVR, DE SVR, ME SBA, DE SBA, ME SAR and DE SAR) were screened *in vitro* for their antioxidant, anti-Alzheimer, diabetic enzymes inhibition, antiglycation, anti-inflammatory, anticancer activities, as well as protective gastric effect, gastric emptying and intestinal transit. The antioxidant properties of *Salvia* extracts were determined using DPPH, ABTS and Alkaline DMSO superoxide radical scavenging, β -carotene bleaching, reducing power, and metal chelating activity assays. All extracts showed high antioxidant capacity with the best performance in the ME. The extracts of *S. aegyptiaca*, *S. verbenaca*, *S. barrelieri* and *S. argentea* showed a less inhibitory activity of acetylcholinesterase (AChE) and high inhibitory activity of butyrylcholinesterase (BChE), whereas, the methanol extract of *S. aegyptiaca* had the highest inhibitory activity on the BChE ($71.60 \pm 4.33\%$ for $100 \mu\text{g/ml}$) compared to the other extracts. *In vitro* inhibitory effect on diabetic enzymes showed that the methanol extracts inhibited α -amylase enzyme with IC_{50} value of 86 and 101 $\mu\text{g/ml}$ for SAE and SVR, respectively. On the other side, ME SAE, ME SVR and ME SAR inhibited α -glucosidase with IC_{50} value of 97, 150 and 112 $\mu\text{g/ml}$, respectively. The other extracts exhibited lower activity on both enzymes. All extracts showed antiglycation activity with a percentage inhibition over 69% for 2 mg/ml. The best activity was recorded with ME SBA with IC_{50} value of 70 $\mu\text{g/ml}$. Excepting ME SVR, the other extracts exhibited a high inhibitory activity on inflammatory burst with IC_{50} value that ranged between 35 et 88 $\mu\text{g/ml}$. None of the tested extract had a cytotoxicity effect against 3T3 or HeLa cells. However, low proliferation of HeLa was recorded in the presence for these extracts. ME SAE, ME SBA and ME SAR induced significative gastric emptying delay in mice to 53%, 46% and 58% respectively. These effects may be related to the inhibition of muscarinic receptors and/or nitric oxide synthase. All extracts had low to moderate effect on intestinal transit. Treatment of rats with 100, 200 and 400 mg/kg of ME SAE, DE SAE, ME SVR and DE SVR protected the stomach (75 to 94%) against ethanol (100%) induced ulcer and higher protection in comparison with omeprazole (positive control). This protection may be related to the augmentation of levels of gastric mucus, total protein, GSH levels and/or inhibition of lipid peroxidation and enhancement of catalase activity.

Keywords: anti-oxidant, anti-cholinesterase, anti-diabetic enzymes, gastric emptying, intestinal transit, ethanol induced gastric ulcer, *S. aegyptiaca*, *S. verbenaca*, *S. barrelieri* and *S. argentea*

Liste des Figures.

Figure 1. Histologie de la paroi intestinale	5
Figure 2. Présentation schématique de la paroi du tube digestif.....	5
Figure 3. Anatomie interne et externe de l'estomac	6
Figure 4. Mécanisme de la sécrétion de l'HCl par la cellule pariétale	7
Figure 5. Différentes efférences du système nerveux autonome	9
Figure 6. Différents neurones et leur fonction dans l'intestin grêle du cobaye	10
Figure 7. Principales voies d'entrée et de libération du calcium	14
Figure 8. Principales voies d'entrée et de libération du calcium	14
Figure 9. Cibles moléculaires de la PKA et la PKG pendant la relaxation du muscle lisse. ...	18
Figure 10. Rôle des canaux potassiques BK, SK et IK dans le contrôle de la contraction musculaire.....	19
Figure 11. Réseau des cellules interstitielles de Cajal.	25
Figure 12. Lame histologique: perte de substance muqueuse en profondeur dépassant la musculaire muqueuse	26
Figure 13. Induction de l'ulcère gastrique par l'éthanol.....	29
Figure 14. Représentation schématique des processus qui contribuent à la synthèse des espèces réactives de l'oxygène pendant la contraction musculaire	32
Figure 15. Morphologie de la plante <i>S. aegyptiaca</i>	38
Figure 16. Morphologie de la plante <i>S. verbenaca</i>	39
Figure 17. Morphologie de la plante <i>S. argentea</i>	40
Figure 18. Morphologie de la plante <i>S. barrelieri Etl.</i>	41
Figure 19. A. Chromatogramme ionique total de l'extrait méthanolique SAE.	56
Figure 19. B. Chromatogramme ionique total de l'extrait méthanolique SVR.....	57
Figure 19. C. Chromatogramme ionique total de l'extrait méthanolique SAR.....	58
Figure 19. D. Chromatogramme ionique total de l'extrait méthanolique SBA.....	59
Figure 20. Activité antiradicalaire contre le DPPH des différents extraits de plante du genre <i>Salvia</i>	65
Figure 21. Activité antiradicalaire contre l'ABTS des différents extraits de plante du genre <i>Salvia</i>	66
Figure 22. Activité antiradicalaire contre l'anion superoxyde des différents extraits de plante du genre <i>Salvia</i> par la méthode DMSO alcalin.	67

Figure 23. Evolution de l'absorbance du β -carotène en présence des différents extraits de plante du genre <i>Salvia</i> .	68
Figure 24. Activité antioxydante contre le blanchissement du β -carotène des différents extraits de plante du genre <i>Salvia</i> .	69
Figure 25. Chélation du fer ferreux des différents extraits de plante du genre <i>Salvia</i> par la méthode ferrozine.	70
Figure 26. Pouvoir réducteur des différents extraits de plante du genre <i>Salvia</i> par la méthode du bleu de Perl Prussien.	71
Figure 27. Pouvoir réducteur des différents extraits de plante du genre <i>Salvia</i> par la méthode du Phénanthroline.	72
Figure 28. Pouvoir réducteur du cuivre (CUPRAC) des différents extraits de plante du genre <i>Salvia</i> .	73
Figure 29. Inhibition de l'AChE des différents extraits de plante du genre <i>Salvia</i> .	74
Figure 30. Inhibition du BChE des différents extraits de plante du genre <i>Salvia</i> .	75
Figure 31. Inhibition de l'alphaglucosidase des différents extraits de plante du genre <i>Salvia</i> .	76
Figure 32. Inhibition de l'alpha amylase des différents extraits de plante du genre <i>Salvia</i> .	77
Figure 33. Activité anti glycation des différents extraits de plante du genre <i>Salvia</i> à 2 mg/ml.	78
Figure 34. Activité anti glycation des différents extraits de plante du genre <i>Salvia</i> .	79
Figure 35. Activité anti inflammatoire (flambé respiratoire) des différents extraits de plante du genre <i>Salvia</i> .	79
Figure 36. Cytotoxicité sur la lignée cellulaire 3T3 des différents extraits de plante du genre <i>Salvia</i> .	80
Figure 37. Cytotoxicité sur la lignée cellulaire HeLa des différents extraits de plante du genre <i>Salvia</i> .	81
Figure 38. Effet de <i>S. aegyptiaca</i> sur le transit intestinal des souris.	82
Figure 39. Mécanisme de l'effet de <i>S. aegyptiaca</i> sur le transit intestinal des souris.	83
Figure 40. Effet de <i>S. aegyptiaca</i> sur la vidange gastrique des souris.	84
Figure 41. Mécanisme de l'effet de <i>S. aegyptiaca</i> sur la vidange gastrique des souris.	84
Figure 42. Effet de <i>S. verbenaca</i> sur le transit intestinal des souris.	85
Figure 43. Mécanisme de l'effet de <i>S. verbenaca</i> sur le transit intestinal des souris.	86
Figure 44. Effet de <i>S. verbenaca</i> sur la vidange gastrique des souris.	87
Figure 45. Mécanisme de l'effet de <i>S. verbenaca</i> sur la vidange gastrique des souris.	87
Figure 46. Effet de <i>S. barrelieri</i> sur le transit intestinal des souris.	88

Figure 47. Mécanisme de l'effet de <i>S. barrelieri</i> sur le transit intestinal des souris.	89
Figure 48. Effet de <i>S. barrelieri</i> sur la vidange gastrique des souris.	90
Figure 49. Mécanisme de l'effet de <i>S. barrelieri</i> sur la vidange gastrique des souris.	90
Figure 50. Effet de <i>S. argentea</i> sur le transit intestinal des souris.	91
Figure 51. Mécanisme de l'effet de <i>S. argentea</i> sur le transit intestinal des souris.	92
Figure 52. Effet de <i>S. argentea</i> sur la vidange gastrique des souris.	93
Figure 53. Mécanisme de l'effet de <i>S. argentea</i> sur la vidange gastrique des souris.	93
Figure 54. Effet de <i>S. aegyptiaca</i> sur l'apparence de la muqueuse gastrique dans l'ulcère gastrique induit par l'éthanol.	95
Figure 55. Evaluation histopathologique de l'effet protecteur de <i>S. aegyptiaca</i> contre l'ulcère gastrique induit par l'éthanol (agrandissement x 100).	96
Figure 56. Effet de <i>S. aegyptiaca</i> sur la muqueuse gastrique dans l'ulcère gastrique induit par l'éthanol.	97
Figure 57. Effet de <i>S. aegyptiaca</i> sur la teneur du mucus gastrique.	98
Figure 58. Effet de <i>S. aegyptiaca</i> sur la teneur des protéines.	98
Figure 59. Effet de <i>S. aegyptiaca</i> sur l'activité de la CAT.	99
Figure 60. Effet de <i>S. aegyptiaca</i> sur le niveau de GSH.	100
Figure 61. Effet de <i>S. aegyptiaca</i> sur la peroxydation lipidique.	100
Figure 62. Effet de <i>S. verbenaca</i> sur l'apparence de la muqueuse gastrique dans l'ulcère gastrique induit par l'éthanol.	101
Figure 63. Evaluation histopathologique de l'effet protecteur de <i>S. verbenaca</i> contre l'ulcère gastrique induit par l'éthanol (agrandissement x 100).	102
Figure 64. Effet de <i>S. verbenaca</i> sur la muqueuse gastrique dans l'ulcère gastrique induit par l'éthanol.	103
Figure 65. Effet de <i>S. verbenaca</i> sur la teneur de la muqueuse gastrique.	103
Figure 66. Effet de <i>S. verbenaca</i> sur la teneur des protéines.	104
Figure 67. Effet de <i>S. verbenaca</i> sur l'activité de la catalase.	105
Figure 68. Effet de <i>S. verbenaca</i> sur le niveau de GSH.	106
Figure 69. Effet de <i>S. verbenaca</i> sur la peroxydation lipidique.	106

Liste des Tableaux

Tableau 1. Neurones entériques et leurs transmetteurs et récepteurs (Furness et Sanger, 2002).	21
Tableau 2. Classification scientifique du genre <i>Salvia</i> (Saleem and Idris, 2016)	36
Tableau 3. Contenu des polyphénols totaux, des flavonoïdes, des tannins, des caroténoïdes et de la chlorophylle des différentes espèces de <i>S. aegyptiaca</i> , <i>S. argentea</i> , <i>S. barrelieri</i> et <i>S.</i> <i>verbenaca</i>	54
Tableau 4. Composés bioactifs identifiés par QTOF ESI-MS/MS.....	60

Liste des abréviations

3T3: Cellules fibroblastes des souris	GEF: Guanyl exchange factor
5-HT: 5-hydroxytryptamine, sérotonine	GPx: Glutathione peroxydase.
ABTS: 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid	GRP: Gastrin releasing peptide
Abs: Absorbance	GSH: Glutathione réduit
ACh: Acétylcholine	H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène.
AChE: Acétylcholine esterase	HeLa: Cellules cancéreuses cervicales humaines.
AGE: Advanced Glycation End products	HNE: 4-hydroxy-2-nonenal
AINS: Anti-inflammatoires non stéroïdiens	HOONO: Peroxynitrite.
AlCl₃: Trichlorure d'aluminium	<i>H.pylori:</i> <i>Helicobacter pylori.</i>
BChE : Butyrylcholine esterase	ICC: Interstitial Cajal Cells
BK : Large conductance potassium channels	IL-6: Interleukine-6.
COX: Cyclo-oxygénase.	IMMC: Ileal migrating motor complex
CMC: Carbomethyl cellulose.	IP₃: Inositol 1,4,5 triphosphate
CMMC: Colonic migrating motor complex	L-NAME: N-méthyl-L-arginine ester
CUPRAC: cupric-reducing antioxidant capacity	L-NNA: NG-nitro-L-arginine
DAG: Diacylglycérol	MDA: Malondialdéhyde
DMSO: Diméthyl sulfoxyde	MLC₂₀: Myosine light chaine 20 KDa
DPPH: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl	MLCK: Myosine light chaine Kinase
DTNB: 5, 5'-dithio-bis acide 2-nitrobenzoïque.	MLCP: Myosine light chaine Phosphatase
ED: Extrait décocté	MMC: Migrating motor complex
EM: Extrait méthanolique	MTT: 3-[4, 5-diméthylthiazole-2-yl]-2, 5-diphényl-tétrazolium bromide
MYPT1: MLCP target subunit	.
NANC: Non adrenergic non cholinergic	
NADPH: Nicotinamide Adénine Dinucléotide	
Phosphate Réduit NO: Mono oxide d'azote.	
NBT²⁺: Nitro blue tetrazolium	
NO: Monoxyde d'azote radicalaire.	
NOS: Nitricoxide synthases.	
O₂⁻: Anion superoxyde.	
PGs: Prostaglandines.	

ROS: Reactive oxygen species.

SAE : *S. aegyptiaca*

SAR: *S. argentea*

SBA: *S. barrelieri*

SVR: *S. verbenaca*

SOD: Superoxyde dismutase.

TNF α : Facteur de nécrose tumorale α .

TBA: Acide thiobarbiturique

TCA: Trichloroacetic acid.

PBS: Tampon phosphate salin.

Sommaire

الملخص.....	
Résumé.....	
Abstract.....	
Liste des Figures.....	
Liste des Tableaux.....	
Liste des abréviations.....	
Introduction.....	1
I. Synthèse bibliographique	
1. Organisation du tube digestif.....	4
1.1. Estomac.....	6
1.1.1. Fonctions de l'estomac.....	6
1.1.2. Physiologie de la sécrétion acide.....	7
1.2. Innervation du tube digestif.....	7
1.2.1. Système nerveux.....	7
2. Motilité intestinale.....	12
2.1. Contraction du muscle lisse du tractus gastro-intestinal.....	13
2.2. Régulation de la contraction.....	14
2.2.1. Neurotransmetteurs de la contraction.....	19
2.2.2. Neurotransmetteurs de la relaxation.....	22
2.3. Cellules interstitielles de Cajal.....	24
3. Ulcère gastrique.....	25
3.1. Physiopathologie de l'ulcère gastrique.....	26
3.2. Facteurs pathogéniques de l'ulcère gastrique.....	26
3.3. Modèles expérimentaux de l'ulcère gastrique.....	27
3.4. Induction de l'ulcère gastrique par l'éthanol.....	28
3.5. Traitement de l'ulcère gastrique.....	29
4. Radicaux libres.....	29
4.1. Sources des ROS dans la cellule musculaire.....	30
4.2. Contrôle des radicaux libres par la cellule.....	31
4.2.1. Systèmes antioxydants enzymatiques.....	31
4.2.2. Systèmes antioxydants non enzymatiques.....	33
4.3. Effets du stress oxydatif.....	34
5. Famille des Lamiaceae et le genre <i>Salvia</i>	36

5.1.	Sauge arabique; <i>S. aegyptiaca</i>	37
5.2.	Sauge fausse-verveine; <i>S. verbenaca</i>	38
5.3.	Sauge argentée; <i>S. argentea</i>	39
5.4.	Sauge de l’Afrique du Nord; <i>S. barrelieri</i> Et	41

II. Matériel et méthodes

1.	Matériel.....	42
1.1.	Animaux	42
1.2.	Matériel végétal	42
2.	Méthodes	42
2.1.	Préparation des extraits.....	42
2.1.1.	Préparation des extraits méthanoliques	42
2.1.2.	Préparations des extraits aqueux	42
2.2.	Criblage des composés phytochimiques.....	43
2.2.1.	Dosage des composés phénoliques.....	43
2.2.2.	Dosage des flavonoïdes	43
2.2.3.	Dosage des tannins	43
2.2.4.	Dosages des chlorophylles totaux et caroténoïdes	43
2.3.	Analyse HPLC-QTOF MS/MS	44
2.4.	Evaluation de l’activité antioxydante <i>in vitro</i>	44
2.4.1.	Test de réduction du radical DPPH	44
2.4.2.	Test de réduction du radical ABTS	45
2.4.3.	Test du superoxyde DMSO alcalin.....	45
2.4.4.	Test du blanchissement de la β -carotène	45
2.4.5.	Test de chélation du fer (ferrozine)	46
2.4.6.	Test du pouvoir réducteur du $FeCl_3$	46
2.4.7.	Test du pouvoir réducteur (méthode du phénanthroline)	46
2.4.8.	Test de la réduction cuprique (CUPRAC).....	47
2.5.	Evaluation de l’activité anti enzymatique <i>in vitro</i>	47
2.5.1.	Inhibition du cholinestérase.....	47
2.5.2.	Inhibition de l’alpha-glucosidase.....	47
2.5.3.	Inhibition de l’alpha-amylase	48
2.6.	Activité anti glycation	48
2.7.	Activité anti-inflammatoire (flambé oxydative).....	48
2.8.	Test de cytotoxicité.....	49
2.9.	Test limite de toxicité aiguë.....	49

2.10.	Vidange gastrique et transit intestinal	50
2.11.	Ulcère gastrique induit par l'éthanol	51
2.11.1.	Dosage du mucus total dans l'estomac.....	51
2.11.2.	Préparation de l'homogénat.....	52
2.11.3.	Dosage des protéines totales gastriques.....	52
2.11.4.	Estimation de la peroxydation lipidique.....	52
2.11.5.	Dosage du glutathion réduit.....	52
2.11.6.	Estimation de l'activité de la catalase.....	53
3.	Analyses Statistiques	53

III. Résultats

1.	Criblage des composés phytochimiques.....	54
2.	Analyse HPLC des extraits.....	55
3.	Activité antioxydante <i>in vitro</i>	65
3.1.	Activité antiradicalaire contre le DPPH	65
3.2.	Activité antiradicalaire contre l'ABTS.....	65
3.3.	Activité antiradicalaire contre l'anion superoxyde.....	66
3.4.	Inhibition du blanchissement de la β -carotène	67
3.5.	Test de chélation du Fer ferreux (ferrozine).....	69
3.6.	Test du pouvoir réducteur (méthode du bleu de Perl prussien).....	70
3.7.	Test du pouvoir réducteur (méthode du phénanthroline)	71
3.8.	Test du pouvoir réducteur du cuivre.....	72
3.9.	Inhibition enzymatique <i>in vitro</i>	73
3.9.1.	Inhibition du cholinestérase.....	73
3.9.2.	Inhibition de l'alpha-glucosidase.....	76
3.9.3.	Inhibition de l'alpha-amylase	76
3.10.	Inhibition de la glycation.....	77
3.11.	Activité anti inflammatoire (flambé respiratoire).....	79
3.12.	Test de cytotoxicité.....	80
3.13.	Test de toxicité aigüe	81
3.14.	Transit intestinal et vidange gastrique	81
3.14.1.	Effets de <i>S. aegyptiaca</i>	82
3.14.2.	Effets de <i>S. verbenaca</i>	85
3.14.3.	Effets de <i>S. barrelieri</i>	88
3.14.4.	Effets de <i>S. argentea</i>	91
3.15.	Activité anti ulcéreuse	94

3.15.1.	Effet de <i>S. aegyptiaca</i> sur l'apparence macroscopique et histopathologique.....	94
3.15.2.	Effet de <i>S. aegyptiaca</i> sur l'ulcère gastrique induit par l'éthanol	97
3.15.3.	Effet sur la teneur total du mucus gastrique	97
3.15.4.	Effet sur la teneur de protéines	98
3.15.5.	Effet sur l'activité de la catalase	99
3.15.6.	Effet sur le niveau de GSH	99
3.15.7.	Effet sur la peroxydation lipidique	100
3.15.8.	Effet de <i>S. verbenaca</i> sur l'apparence macroscopique et histopathologique	101
3.15.9.	Effet de <i>S. verbenaca</i> sur l'ulcère gastrique induit par l'éthanol	102
3.15.10.	Effet sur la teneur total du mucus gastrique	103
3.15.11.	Effet sur la teneur de protéines	104
3.15.12.	Effet sur l'activité de la catalase	104
3.15.13.	Effet sur le niveau de GSH	105
3.15.14.	Effet sur la peroxydation lipidique	106
IV.	Discussion.....	107
V.	Conclusion et perspectives	123
VI.	Références Bibliographiques.....	125

Introduction

Le stress oxydatif et les espèces réactives de l'oxygène jouent un rôle majeur dans plusieurs troubles tels que la maladie d'Alzheimer, le diabète, le cancer et les troubles gastrointestinaux. Le stress oxydatif provoque un excès d'espèces réactives oxygène/azote conduisant à des dommages aux composants cellulaires (enzymes protéiques, lipides et acides nucléiques) qui peuvent avoir une conséquence directe dans les maladies neurodégénératives comme l'Alzheimer et les maladies métaboliques telles que le diabète. L'utilisation de médicaments inhibiteurs de l'acétylcholinestérase et la butyrylcholinestérase (AChE et BChE) est l'approche thérapeutique moderne préférée et la plus souhaitée pour contrôler les maladies neurodégénératives. Comme les principales enzymes impliquées dans les pathologies de la maladie d'Alzheimer sont l'AChE et la BChE, l'inhibition de chaque enzyme augmente la communication dans les voies cholinergiques et réduit les signes de cette maladie. L'utilisations des molécules synthétiques dans le traitement de la maladie d'Alzheimer telles que la galantamine et la rivastigmine ont des effets secondaires indésirables, y compris des troubles gastro-intestinaux, diarrhées, nausées, vomissements, perte d'appétit entraînant une perte de poids, larmoiement, respiration irrégulière, faiblesse musculaire et confusion. D'autre part, le traitement du diabète repose sur l'inhibition des enzymes glucidiques ainsi que d'autres mécanismes tels que la réduction du taux de glucose et le maintien des performances des cellules β . Il a été démontré que l'inhibition de l' α -amylase et de l' α -glucosidase est corrélée avec les augmentations du taux de glucose postprandial et réduit l'absorbance du glucose dans l'intestin, limitant l'excursion du glucose dans le plasma. Le contrôle de l'activité de ces enzymes diabétiques est une caractéristique essentielle du traitement du diabète. Cependant, le traitement du diabète avec des médicaments tels que l'acarbose n'est plus sûr et sans effets latéraux. En effet, les drogues synthétiques peuvent induire plusieurs symptômes indésirables comme des flatulences excessives ou des selles molles, de la diarrhée et des nausées et des troubles abdominaux (Mehta *et al.*, 2012).

L'appareil digestif assure les besoins nutritionnels du corps (sucres, protéines, vitamines, eau et électrolytes ...) en remplissant plusieurs fonctions importantes. Tout déséquilibre dans ces fonctions conduit à diverses maladies, parmi ces troubles l'ulcère gastrique et la diarrhée, l'une des maladies courantes qui touche l'appareil digestif résultant de la destruction de la couche muqueuse du tractus gastro-intestinal. Cette destruction est induite par de nombreux facteurs, notamment le tabagisme, la prise des médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens. C'est une maladie facile à contracter et difficile à guérir, elle a de graves répercussions sur la santé de l'individu et peut même conduire à la mort. Son traitement est parfois difficile, selon la profondeur de l'ulcère. Le traitement par la médecine moderne est couteux, ce qui constitue un handicap pour le malade.

En Algérie, plusieurs plantes et produits naturels sont utilisées pour traiter les maladies inflammatoires, en particulier l'ulcère gastrique et la diarrhée (Gharzouli *et al.*, 2002; Amira *et al.*, 2012; Benchikh *et al.*, 2016). Ces dernières années, les recherches sur les produits naturels particulièrement avec des activités anti-Alzheimer et antidiabétiques dans les aliments et les plantes médicinales sont augmentées. Les composés naturels possèdent de nombreuses propriétés, y compris l'activité anti-enzymatique de nombreuses enzymes clés telles que l' α -amylase, l' α -glucosidase, la tyrosinase, l'AChE et la BChE. Ils peuvent être obtenus à partir de diverses ressources naturelles telles que les produits du miel et du propolis, des micro-organismes tels que les bactéries, les champignons et des plantes médicinales. Le mécanisme d'action de ces métabolites est complexe et dépend du type d'action et de la cible. De ce fait, de nombreuses recherches se concentrent sur des molécules dont le mode d'action inhibe l'assimilation du glucose par l'organisme soit en agissant sur les enzymes dégradant le sucre, soit par la régulation de l'absorption et du transport des sucres simples formés. D'autre part, ces métabolites sont également connus comme des inhibiteurs et des modulateurs de l'activité de l'AChE tels que les dérivés du xanthohumol, de la naringénine et de l'acylphloroglucinol.

Plusieurs études sur les effets biologiques des plantes habituellement utilisées pour les remèdes traditionnels ont été menées pour améliorer la mémoire, prévenir les complications diabétiques et protègent le tube digestive (Veerendra Kumar and Gupta, 2003; Abdel Kader, 2004; Loizzo *et al.*, 2008; Eidi and Eidi, 2009; Liu *et al.*, 2015).

Le genre *Salvia* se trouve dans différents endroits de la péninsule arabique, de l'Afrique du Nord, du sud-ouest de l'Asie, des îles Canaries, de la Mauritanie, du Niger, du Tchad, du Soudan et de l'Éthiopie. Il pousse généralement sur des lits d'oueds de gravier, des roches basaltiques, des sols sableux, des pentes basaltiques et calcaires ouvertes, bien adaptés pendant l'été à l'extrême ensoleillement et à la carence en eau (Will *et al.*, 2015). Pendant longtemps, les plantes du genre *Salvia* ont été utilisées à des fins alimentaires et en médecine populaire. Lors d'un dépistage des plantes du genre *Salvia*, la plupart sont douées de puissants effets antioxydants, antimicrobiens (Salah *et al.*, 2006; Ben Farhat *et al.*, 2013; Farjam *et al.*, 2014; Belkhiri *et al.*, 2017) anticancéreux (Tohamy *et al.*, 2016) anti-Alzheimer *in vivo* (Abdel Kader, 2004) anti-diabétiques (Kasabri *et al.*, 2014; Mahdizadeh *et al.*, 2018) anti-inflammatoires (Al-Yousuf *et al.*, 2002; Imanshahidi and Hosseinzadeh, 2006).

Dans ce contexte, la présente étude visait à évaluer le contenu phytochimique et le potentiel de deux extraits différents de la partie aérienne de *S. aegyptiaca*, *S. verbenaca*, *S. barrelieri* et de *S. argentea* en tant qu'antioxydant, anti Alzheimer, agents modulateurs des enzymes diabétiques et produits issus de la glycation en utilisant des méthodes *in vitro*. Elle visait également à tester la

cytotoxicité de ces extraits sur des lignées cellulaires cancéreuses. L'effet de ces plantes sur le mécanisme du transit intestinal et de la vidange gastrique est investigué en utilisant des antagonistes des récepteurs muscariniques et des inhibiteurs de l'enzyme oxyde nitrique synthase. L'effet protecteur contre l'ulcère gastrique induit par l'éthanol des extraits de *S. aegyptiaca* et *S. verbenaca* est évalué par le calcul des surfaces ulcérées et par étude des coupes histologiques et en vérifiant la teneur du mucus gastrointestinal, des protéines et du glutathion, la peroxydation lipidique et l'activité de l'enzyme catalase.

Synthèse bibliographique

I. Synthèse Bibliographique

1. Organisation du tube digestif

L'appareil gastro-intestinal est un long tube musculaire qui s'étend de la bouche à l'anus. La paroi du tube digestif comprend quatre couches fondamentales qui sont la muqueuse, la sous-muqueuse, la musculeuse et la séreuse (Fig.1) (Daniel *et al.*, 2001).

En général la barrière du tube digestif comprend deux couches de muscles lisses. Une couche, mince, externe de cellules arrangées le long du tube digestif forme la couche des cellules musculaires lisses longitudinales. Perpendiculairement, une autre couche de cellules, plus épaisse, forme la couche des cellules musculaires lisses circulaires (Hasler, 2006). L'épaisseur des deux couches varie selon l'espèce et la région du tractus gastro-intestinal. Chez certaines espèces et dans certaines parties du tube digestif, la couche musculaire circulaire est divisée en fine couche interne et couche externe. Le plexus nerveux ganglionnaire, plexus myentérique (d'Auerbach) est située entre la couche longitudinal et la couche circulaire, par contre, les deux couches circulaires interne et externe sont séparées par le plexus nerveux non ganglionnaire, le plexus musculaire profond (Furness, 2006; Furness *et al.*, 2014). Sur la partie interne de la couche de muscles circulaires, se trouve la sous muqueuse, qui est formée de tissu conjonctif qui relie la muqueuse à la troisième tunique, la musculeuse. La sous muqueuse est richement vascularisée et contient du plexus nerveux sous-muqueux ou plexus de Meissner, fibres du système nerveux autonome qui innervent la musculature muqueuse. Une autre couche fine appelée la musculature muqueuse, sépare la muqueuse de la sous muqueuse. L'épaisseur de cette couche varie en fonction de l'espèce et de la région du tube digestif (Fig. 2) (Olsson and Holmgren, 2001; Furness, 2006).

Généralement les cellules musculaires lisses sont des cellules longues minces avec un grand noyau central, leurs propriétés morphologiques et physiologiques diffèrent selon l'espèce, la région du tube digestif et la position dans la couche musculaire (Olsson and Holmgren, 2001). Les cellules musculaires lisses communiquent entre elles par des jonctions de type Gap et plus particulièrement celles qui forment la couche musculaire circulaire (Daniel *et al.*, 2001).

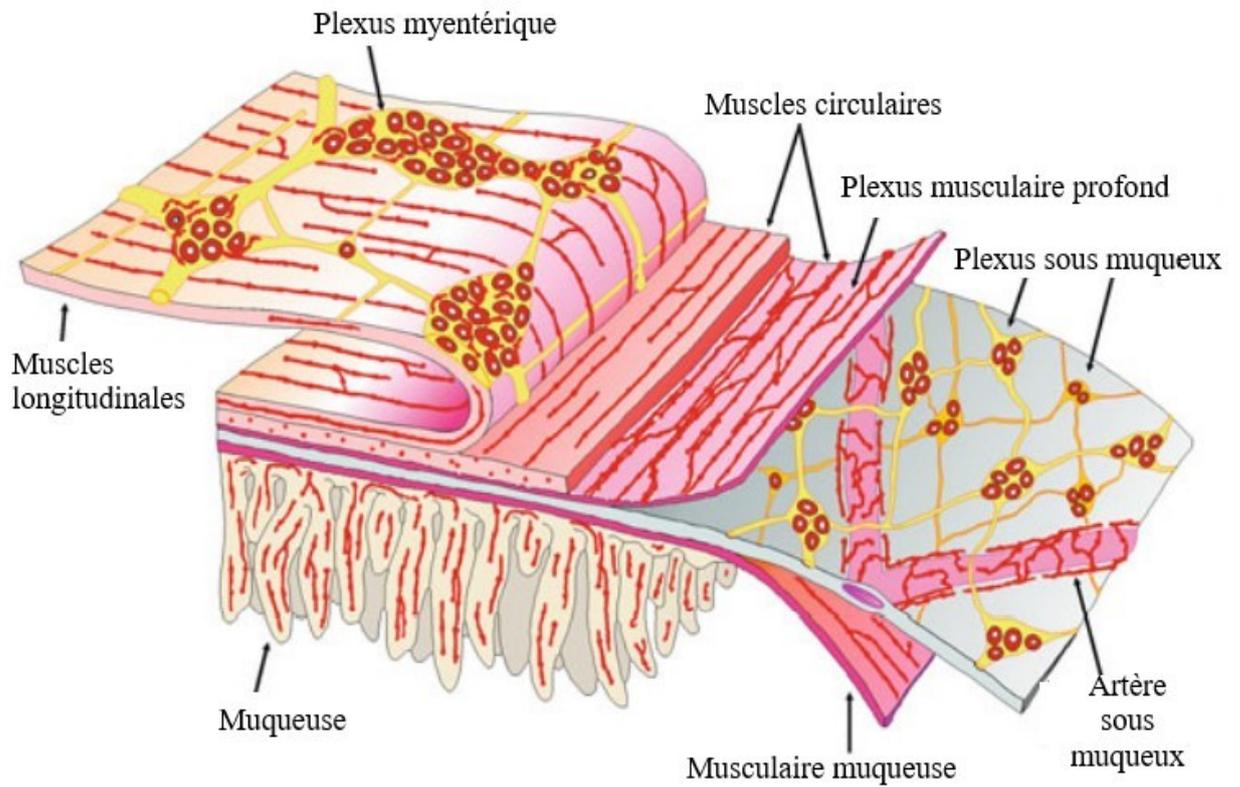


Figure 1. Histologie de la paroi intestinale (Furness *et al.*, 2014).

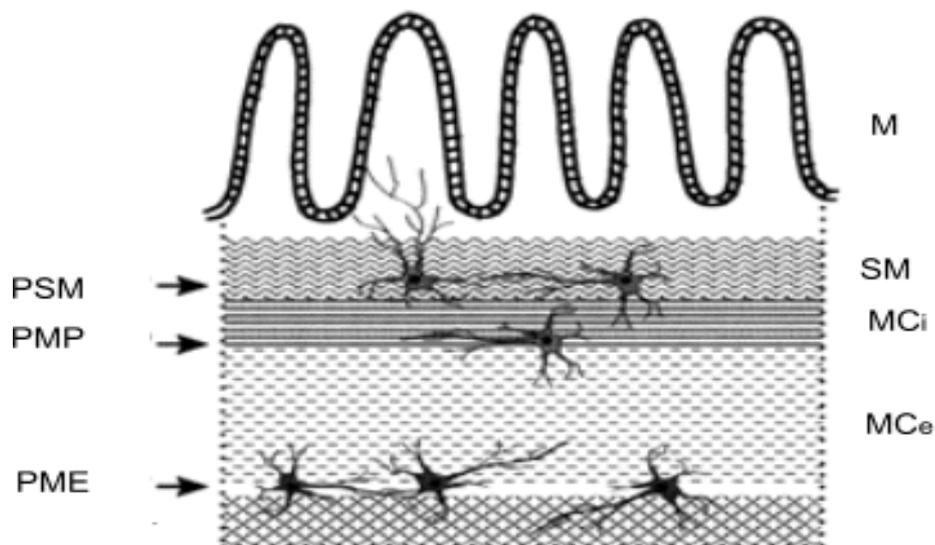


Figure 2. Présentation schématique de la paroi du tube digestif (Olsson et Holmgren, 2001).

M : muqueuse, MCe : muscles circulaires externe, MCi : muscles circulaires internes. SM : sous muqueuse, PME : plexus myentérique, PMP : plexus musculaire profond, PSM : plexus sous muqueux.

1.1. Estomac

L'estomac est une sorte de poche ayant la forme J, il joue un rôle de réservoir et broyeur des aliments. C'est la partie la plus large du tube digestif, il s'agit d'un réservoir temporaire où la dégradation chimique des protéines commence et où les aliments sont transformés en une bouillie-crémuse appelée chyme. L'estomac se trouve dans le quadrant supérieur gauche de la cavité abdominale, presque caché par le foie et le diaphragme. Il comprend quatre régions: le fundus, le cardia, le corps et le pylore (Fig. 3) (Seeley *et al.*, 2003).

1.1.1. Fonctions de l'estomac

Les principales fonctions de l'estomac sont: l'accumulation, le malaxage et le mélange des aliments déglutis, la sécrétion des sucs gastriques surtout l'enzyme protéolytique (pepsine, début de la digestion des protéines) et le facteur intrinsèque (glycoprotéine indispensable à la résorption de la vitamine B₁₂ par l'intestin) et l'acide chlorhydrique (HCl) qui rend le pH du contenu stomacal extrêmement acide (de 1.5 à 3.5), ce qui permet à la pepsine de s'activer et d'agir dans des conditions optimales. L'acidité contribue aussi à la digestion en dénaturant les protéines et en dégradant la paroi cellulaire des végétaux et sert aussi à tuer de nombreuses bactéries ingérées avec les aliments (Ulrich, 2004).

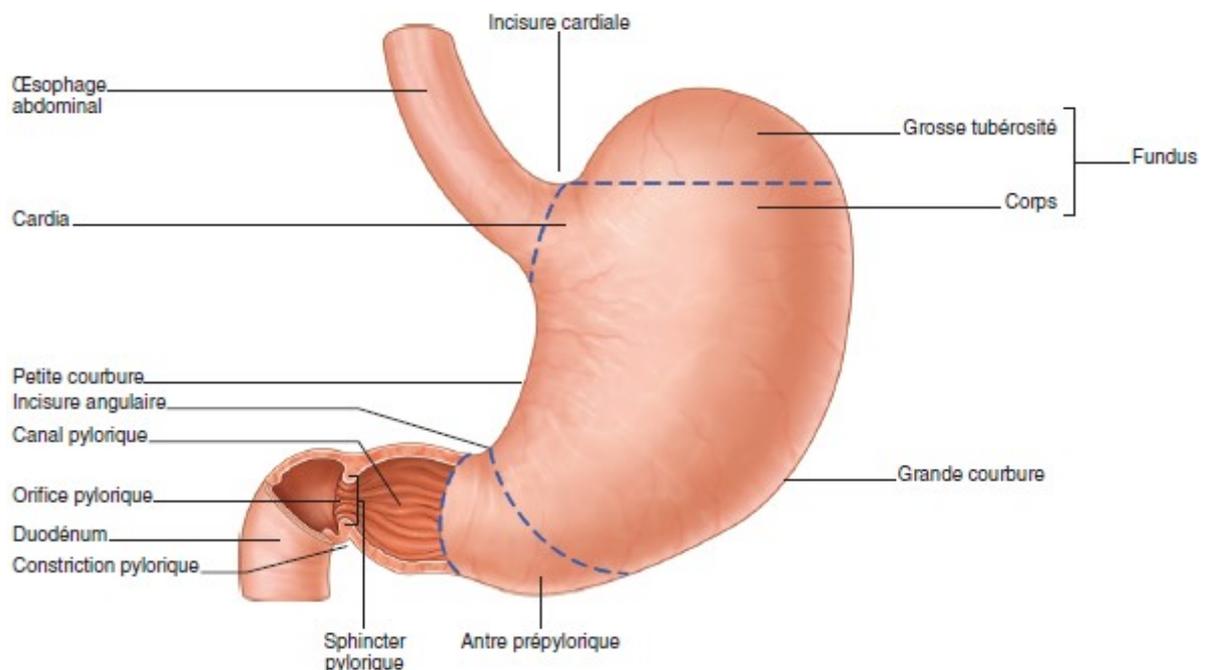


Figure 3. Anatomie interne et externe de l'estomac (Marieb and Hoehn, 2008).

1.1.2. Physiologie de la sécrétion acide

Les cellules pariétales sécrètent des ions hydrogène (H^+) et des ions chlorure (Cl^-) séparément dans la lumière de l'estomac. L'effet net est la sécrétion de l'acide (HCl). Les pompes à protons actionnées par H^+/K^+ ATPase fait passer les ions H^+ dans la lumière par transport actif tout en faisant entrer les ions potassium (K^+) dans les cellules. Simultanément, les ions (Cl^-) et (K^+) sortent des cellules par diffusion pour entrer dans la lumière par des canaux de la membrane apicale. Plusieurs stimulus peuvent faire augmenter la sécrétion de l' HCl par les cellules pariétales: l'acétylcholine (ACh) libérée par les neurones parasympathiques; la gastrine sécrétée par les cellules G et l'histamine libérée par les mastocytes du chorion voisin (Fig. 4) (Tortora and Derrickson, 2007).

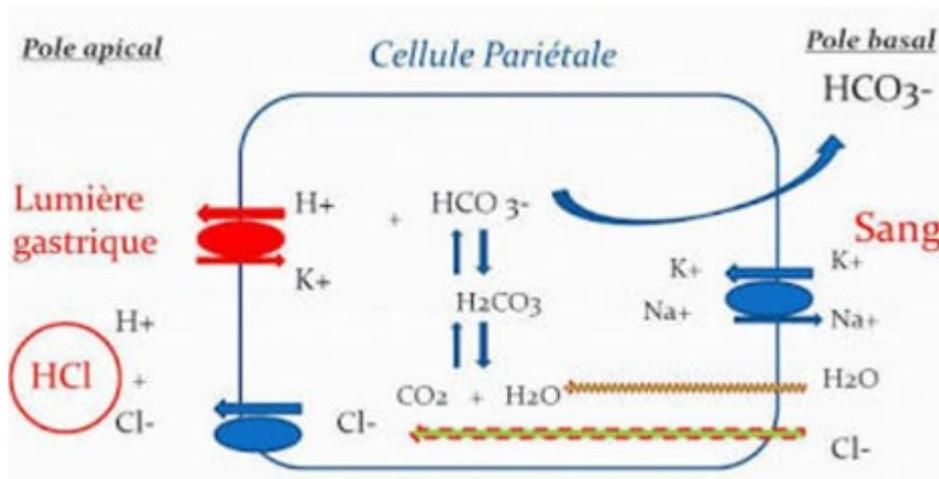


Figure 4. Mécanisme de la sécrétion de l' HCl par la cellule pariétale (Tortora and Derrickson, 2007).

1.2. Innervation du tube digestif

1.2.1. Système nerveux

1.1.1.1 Système nerveux autonome

Le système nerveux autonome contrôle plusieurs fonctions viscérales, comme la circulation, la respiration et la digestion, qui ne sont pas généralement sous le contrôle conscient. Il peut être divisé en trois grandes divisions, le crânien (parasympathique), le spinal (sympathique et parasympathique) et le système nerveux entérique (SNE), considéré comme la troisième division du système autonome et un système intrinsèque du tube digestif (Furness *et al.*, 2014).

1.1.1.2 Innervation extrinsèque

L'innervation extrinsèque du tube digestif implique le nerf crânien X (nerf vague, pour l'estomac et l'intestin supérieur), les nerfs splanchniques (pour l'estomac et l'intestin) et le nerf pelvien pour l'intestin distal (Blackshaw and Gebhart, 2002). Les neurones extrinsèques peuvent être divisés en voies motrices (afférents) et sensorielles (efférents) des divisions parasympathiques

et sympathiques. Les corps cellulaires des neurones extrinsèques sont localisés dans la partie caudale du cerveau, les ganglions sympathiques, les ganglions pelvéniques, les ganglions sensoriels et la corde spinale sacrée (Fig. 5) (Furness, 2000).

Les voies motrices parasympathiques sont représentées par les branches de nerf vague qui contrôle les fonctions de la motilité et de la sécrétion de l'intestin supérieur et les nerfs parasympathiques sacrés qui contrôlent les fonctions du côlon distal. Cependant, la majorité des fibres dans le vague sont sensorielles avec leurs corps cellulaires dans les ganglions noueux. Ces fibres transmettent les informations de l'estomac et des organes périphériques vers le système nerveux central (SNC) (Olsson et Holmgren, 2001). Les nerfs splanchniques sont sympathiques et leurs corps cellulaires sont localisés dans les racines ganglionnaires dorsales. Ces neurones contiennent la calcitonine gene-related peptide (CGRP) et la substance P. Les neurones afférents splanchniques peuvent agir directement sur les systèmes effecteurs tout près par leurs neurotransmetteurs libérés par leurs terminaisons périphériques (Sobczak *et al.*, 2014).

1.1.1.3 Innervation intrinsèque

Le système nerveux entérique (SNE) est constitué de deux composants majeurs: le plexus sous muqueux (plexus de Meissner) situé entre la couche interne de muscles lisses circulaires et la sous muqueuse, le plexus myentérique (plexus d'Auerbach) qui relie entre la couche interne de cellules lisses circulaires et la couche des muscles lisses longitudinaux. Son rôle est important dans la coordination entre les couches musculaires (Fig. 8) (Furness, 2006). Le système nerveux entérique contient différentes classes des neurones: les neurones afférents primaires (PAN), les motoneurones et les interneurones (Tab.1) (Furness and Sanger, 2002).

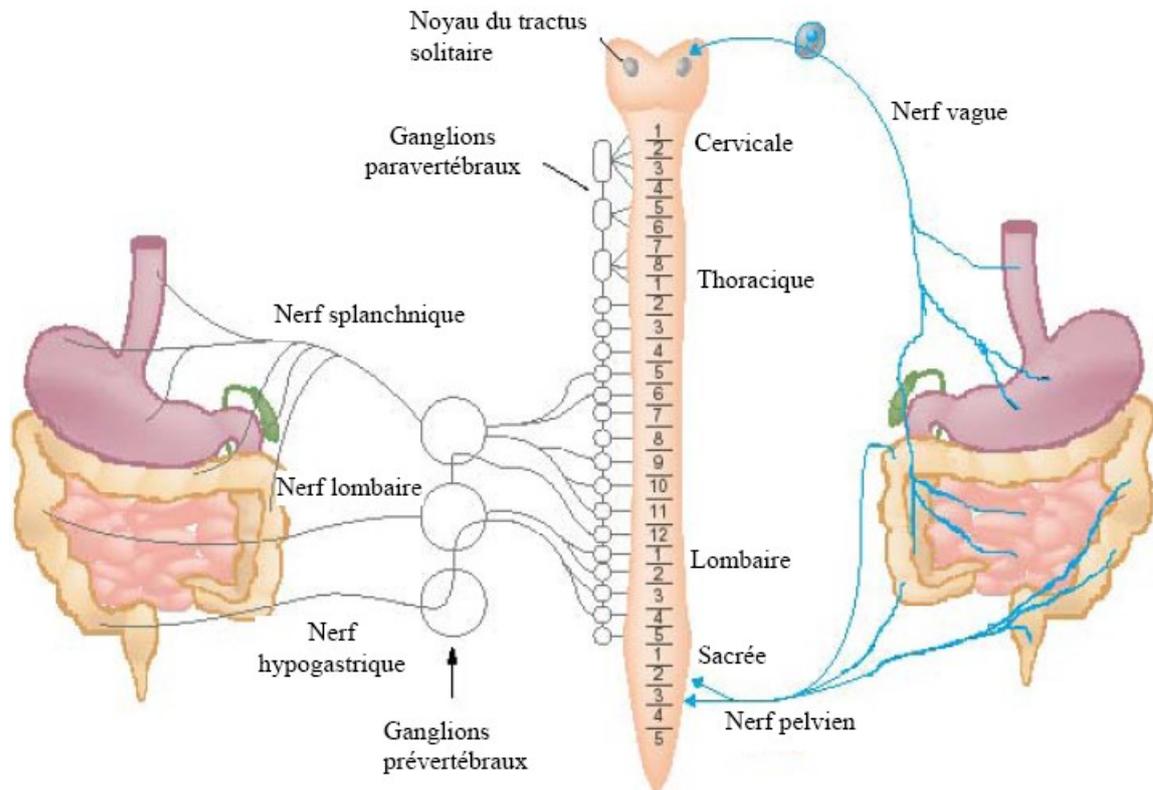


Figure 5. Différentes efférences du système nerveux autonome (Blackshaw et Gebhart, 2002).

Neurones afférents primaires intrinsèques (IPAN)

Les IPAN sont des neurones sensoriels avec leur corps cellulaires situés entre les plexus de tractus gastro-intestinal. Ces neurones innervent les couches musculaires et la muqueuse. Les IPAN sont des transducteurs des stimuli physiologiques, comme le mouvement des villosités ou la déformation de la muqueuse, la contraction du muscle intestinal et le changement dans la chimie de contenu digestif. Les IPAN sont les premiers neurones intervenant dans les réflexes intrinsèques qui influent sur la motilité intestinale, la sécrétion de la muqueuse et le débit sanguin dans l'intestin (Furness *et al.*, 2014). Les IPAN sont des neurones morphologiquement Dogiel type II et électrophysiologiquement des neurones AH (Furness et Sanger, 2002).

Neurones efférents (moteurs, secretomoteurs, vasomoteurs)

Ces neurones contrôlent l'activité de contraction et de relaxation des muscles lisses, la vasodilatation et le transport de l'eau ou des électrolytes. Les neurones moteurs sont généralement divisés en cinq types et plusieurs sous types. Ces cinq types sont les neurones excitateurs, les neurones inhibiteurs, les neurones secretomoteurs/vasodilateurs, les neurones secretomoteurs non vasodilateurs et les neurones qui innervent les cellules endocrines (Fig. 6) (Furness, 2000).

Les motoneurones des muscles longitudinaux sont les neurones les plus petits dans le plexus myentérique. Leurs axones sont ramifiés dans 'le plexus tertiaire' lié sur la surface externe de la couche des muscles lisses longitudinaux. La neurotransmission dans les muscles longitudinaux est cholinergique excitatrice du fait que les muscles longitudinaux sont presque tous immun-réactifs à l'acétylcholine transférase (Lomax and Furness, 2000).

Les motoneurones excitateurs des muscles circulaires sont Dogiel types I. Ces neurones reçoivent des transmissions rapides nicotiques et probablement des transmissions lentes qui proviennent des neurones afférents primaires et représentent la seule classe des interneurones ascendants cholinergiques. Ces neurones peuvent recevoir des transmetteurs excitateurs des interneurones descendants (Kunze *et al.*, 1999; Lecci *et al.*, 2002). Les motoneurones excitateurs utilisent l'ACh comme transmetteur primaire et les tachykinines comme des co-transmetteurs qui peuvent agir directement sur les muscles lisses (Furness et Sanger, 2002). Les motoneurones des muscles circulaires sont des neurones Dogiel types I et reçoivent des transmissions rapides nicotiques provenant des neurones afférents primaires et des neurotransmetteurs non cholinergiques des neurones afférents primaires descendants (Kunze *et al.*, 1999). Ces motoneurones utilisent l'oxyde nitrique (NO) comme neurotransmetteur inhibiteur majeurs (Lomax et Furness, 2000). Cependant, il y a des substances qui jouent un rôle de co-transmetteurs comme la VIP, l'adénosine triphosphate (ATP), et le PACAP qui agissent directement sur les muscles lisses ou indirectement par les cellules interstitielles de Cajal (ICCs) (Lomax and Furness, 2000; Alberti *et al.*, 2007).

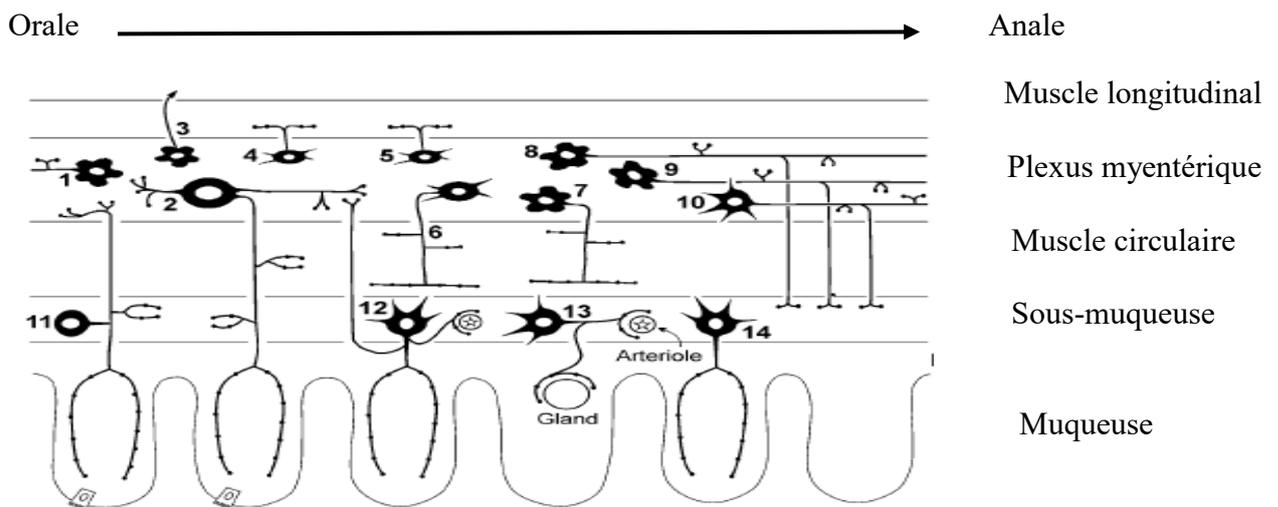


Figure 6. Différents neurones et leur fonction dans l'intestin grêle du cobaye (Furness *et al.*, 2004).

1- neurone sensoriel sous-muqueux, 2- neurone sensoriel myentérique, 3- neurone sécrétomoteur/ vasodilatateur non-cholinergique, 4- motoneurone excitateur du muscle circulaire, 5- motoneurone inhibiteur du muscle circulaire, 6- neurone sécrétomoteur/ vasodilatateur cholinergique, 7- interneurone descendant (réflexe sécrétomoteur), 8- interneurone descendant (réflexe de motilité) et 9- neurone sécrétomoteur/non-vasodilatateur

Plusieurs types de cellules endocrines qui résident dans la muqueuse du tractus gastro-intestinal, et à cause de la grande densité d'innervation de la muqueuse, la plupart de ces cellules ont des fibres nerveuses dans des extrémités étroites. Les motoneurones innervent les cellules endocrines entériques et contrôlent la sécrétion gastrique, qui est sous l'influence des voies vagues et gastriques intrinsèques. La médiation de la neurotransmission par ces neurones est faite en part le gastrin releasing peptide (GRP). Autres cellules endocrines sont sous le control neuronal comme la libération du motilin (Furness, 2000). Les neurones secretomoteurs son subdivisés en neurones cholinergiques et non-cholinergiques. Deux types de neurones secretomoteurs, ceux qui contiennent le neuropeptide Y (NPY), et d'autres qui ont la calretinine. Les neurones secretomoteurs utilise le VIP et le GRP comme transmetteurs primaires (Lomax et Furness, 2000; Furness et Sanger, 2002).

Interneurones

Les interneurones sont classés en deux types, des interneurones qui ont une direction orale 'ascendants', et des interneurones qui ont une direction anale 'descendants' (Tab. 1). Un seul type d'interneurone ascendant et trois types d'interneurones descendants ont été identifiés dans l'intestin grêle du cobaye. Les interneurones ascendants sont cholinergiques et représentent le trajet ascendant qui constitue le réflexe propulsif de l'intestin (Kunze *et al.*, 1999). Ces interneurones présentent aussi le VIP, la sérotonine (5-HT), la somatostatine (SOM), les tachykinines et les enképhalines D'autre part les interneurones descendants présentent le VIP, le GRP, le NO, calbindin, la 5-HT et la calretinin (Lomax et Furness, 2000). Les trois types d'interneurones descendants ont les codages chimiques suivants : ChAT/NOS/VIP, ChAT/SOM et ChAT/5-HT (ChAT = acétylcholine transférase). Les études réalisées sur ces trois types d'interneurones ont montré que le premier type est impliqué dans les réflexes locaux de la motilité, le second type est impliqué dans la conduction des complexes myoélectriques migrants dans l'intestin grêle. Le dernier type est impliqué dans les réflexes sécrétomoteurs (Furness et Sanger, 2002) (Tab. 1).

2. Motilité intestinale

La motilité gastrointestinale inclue deux activités contractiles locales, la contraction tonique qui assure le mélange des aliments et le péristaltisme qui induit la propulsion des aliments le long du tube digestif (Olsson et Holmgren, 2000; Hasler, 2006). Le premier type de motilité est assuré par la contraction du muscle lisse circulaire qui induit la segmentation de l'intestin et mélange les aliments, alors que la contraction du muscle longitudinal facilite le mouvement du bolus (Gwynne *et al.*, 2004; Hasler, 2006). La segmentation est le mouvement le plus important dans l'intestin grêle, il consiste de plusieurs types de motilité qui apparaissent comme des séries de contraction séparées par une phase de silence de l'activité contractile, ces types de motilité sont les contractions stationnaires et les contractions de petites longueurs de propagation (Gwynne *et al.*, 2004). Le péristaltisme propulse le chyme le long du tube digestif, il apparaît aussi dans les intestins soit qu'ils contiennent le chyme ou non, il est dépendant de la contraction et du tonus du muscle lisse pour assurer sa maintenance et sa propagation (Spencer *et al.*, 2001). Pour assurer ces deux modèles de contraction (segmentation et péristaltisme) les deux types de muscles lisses ne doivent pas se contracter au même temps, il a été démontré que lorsque le muscle lisse longitudinal se contracte le muscle lisse circulaire est relâché et l'inverse (Grider, 2003). Parallèlement, lorsque les muscles lisses circulaires et longitudinaux se contractent dans la partie anale il y a une relaxation de ces muscles du côté anale ce qui assure la propulsion des aliments. Le péristaltisme et la segmentation sont contrôlés par le système nerveux puisque le blocage de ce dernier par la tétradotoxine inhibe ces deux contractions (Spencer *et al.*, 2001; Gwynne *et al.*, 2004). En effet, le péristaltisme réside en une activation des réflexes ascendants excitateurs, détectés dans la couche de muscle dans le côté oral du stimulus, et des réflexes descendants inhibiteurs détectés dans le côté anal du stimulus. Dans la voie excitatrice, la transmission neuro-neuronale ascendante et descendante est complexe et utilise d'autres neurotransmetteurs que l'ACh. La stimulation de la muqueuse induit la libération de l'ACh et de l'ATP des voies excitateurs ascendantes et descendantes qui forment des synapses avec les motoneurones excitateurs des muscles longitudinaux et circulaires (Spencer *et al.*, 2000). Le réflexe descendant excitateur induit par la distension semble impliquer deux voies neuronales séparées dans les muscles lisses. La 5-HT peut être le neurotransmetteur existant seulement dans les muscles circulaires, alors que l'ATP est un neurotransmetteur présent dans les muscles lisses circulaires et longitudinaux. Cependant, l'ACh semble avoir un rôle mineur comme neurotransmetteur dans cette voie de signalisation (Monro *et al.*, 2002).

Dans l'état de jeûne, il y a des contractions spontanées qui se produisent et se propagent en direction anale et sont connues sous le nom de complexes moteurs migrants (MMC), ces

contractions sont présentes dans l'iléon (IMMC) comme dans le colon (CMMC) avec un intervalle entre les contractions plus grand dans les IMMC que les CMMC (Bush *et al.*, 2000). Les MMC sont divisées en trois phases. La phase I est une phase de quiescence, constitue de 40 à 60% du cycle de la contraction, suivie par la phase II qui est caractérisée par des contractions simples et irrégulières (de 20 à 30% du cycle de contraction) et la phase III qui est caractérisée par des contractions rythmiques pendant une durée de cinq à dix minutes (Hasler, 2006). Les MMC peuvent se produire spontanément ou par des dépolarisations cycliques à partir des cellules spécialisées appelées les ICCs (Huizinga and Lammers, 2009). De même, les MMC peuvent être générées par l'augmentation de la pression des fluides et que la période de quiescence entre les MMC est contrôlée par la libération tonique NO (Powell *et al.*, 2003).

2.1. Contraction du muscle lisse du tractus gastro-intestinal

Le muscle lisse du tube digestif présente un tonus qui est imposé par des contractions rythmiques induites par des ondes lentes. Ces dernières sont des dépolarisations et repolarisations cycliques de la membrane, générées par un réseau de cellules douées d'activité pacemaker. Ces dépolarisations cycliques sont accompagnées par l'augmentation de l'influx du calcium (Sanders *et al.*, 2016).

L'augmentation de la concentration du calcium intracellulaire peut être le résultat de l'entrée du calcium extracellulaire et sa libération des réserves intracellulaires (Sanders, 2001; Wray *et al.*, 2005). Le calcium entre dans la cellule via les canaux calciques de type L et les canaux calciques sensibles à la dihydropyridine, ces canaux sont activés par la dépolarisation de la membrane plasmique. D'autres mécanismes de pénétration du calcium incluent les canaux cationiques non-sélectifs (NSCC) activés par les agonistes des récepteurs muscariniques et la pénétration capacitative du calcium (So and Kim, 2003). Le Ca^{2+} entré va ensuite entraîner une libération massive du calcium via un mécanisme (calcium induced calcium release, CICR) suite à l'activation de récepteur de la ryanodine (Sanders, 2001; Ma *et al.*, 2003).

L'augmentation de la concentration du calcium peut être stimulée par le couplage pharmacomécanique qui induit la libération du Ca^{2+} intracellulaire (Fig. 7), ce processus implique des récepteurs qui activent la phospholipase C ($\text{PLC}\beta$) en libérant l'IP3 et le diacylglycérol (DAG) (Sanders, 2001). L'IP3 libéré va à son tour libérer le calcium des réserves sarcoplasmiques en activant les canaux récepteurs de l'IP3 (McCarron *et al.*, 2002). Le calcium peut être aussi libéré des réserves intracellulaires via les récepteurs de la ryanodine. En effet, l'activation de ces récepteurs par la caféine et la ryanodine augmente la concentration du calcium intracellulaire conduisant à la contraction musculaire (Hashitani *et al.*, 2001).

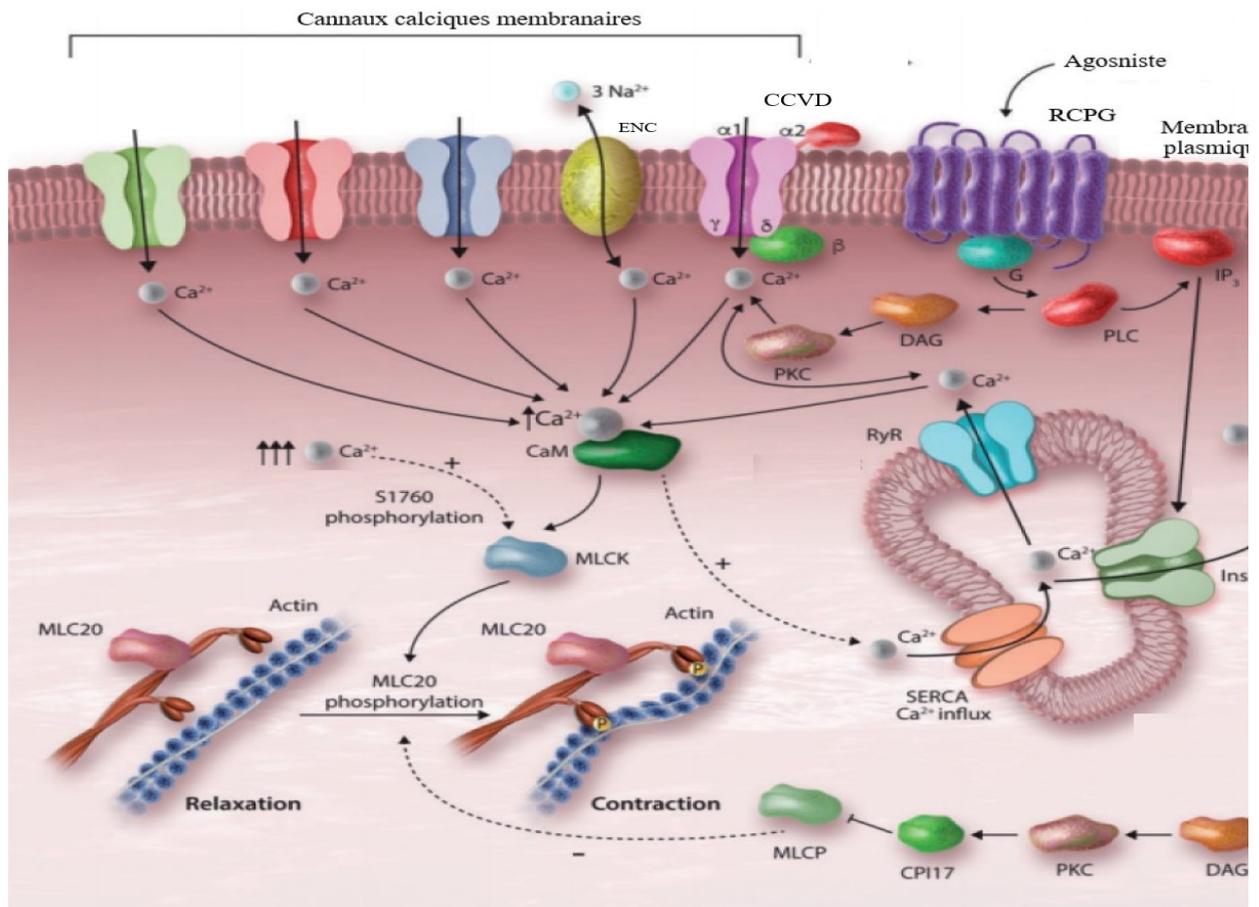


Figure 7. Principales voies d'entrée et de libération du calcium (Touyz *et al.*, 2018).

La majorité du calcium pénètre à l'intérieur de la cellule musculaire lisse via les canaux calciques sensibles à la dihydropyridine. Une fois la concentration du calcium intracellulaire est élevée, différents mécanismes interviennent dans le maintien de l'homéostasie. Les pompes calciques du réticulum sarcoplasmique (SERCA) jouent un rôle important dans la séquestration du calcium, tandis que les pompes calciques de la membrane plasmique et les protéines échangeuses $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ éjectent le calcium dans l'espace extracellulaire. CCVD : Canaux calciques voltage dépendants, IP_3 : inositol triphosphate, NCE: échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$, PIP_2 : phosphatidylinositol 4,5-biphosphate, PLC: phospholipase C, PMCA: pompe calcique de la membrane plasmique, R: récepteur, RCPG : récepteurs couplé à la protéine G, R- IP_3 : récepteur de l' IP_3 , RS: réticulum sarcoplasmique, RyR: récepteur de la ryanodine, SERCA: calcium-ATPase du réticulum sarcoplasmique.

2.2. Régulation de la contraction

La contraction musculaire est réalisée par le glissement des filaments d'actine et de myosine les uns par rapport aux autres, ce mouvement nécessite du Ca^{2+} et de l'ATP. Le Ca^{2+} est un second messager fondamental dans les cellules musculaires lisses. L'augmentation de sa concentration cytosolique conduit à la phosphorylation de la chaîne légère de myosine (MLC_{20}) qui constitue le stimulus primaire de la contraction (Murthy, 2006; Sanders, 2008). Le changement de la conformation des têtes de myosine induit par la phosphorylation de la chaîne légère de myosine (MLC_{20}) augmente la possibilité de l'actine d'activer la $\text{Mg}^{2+}/\text{ATPase}$ de la myosine qui hydrolyse l'ATP dans les têtes de myosines (Fig. 8). L'interaction entre l'actine et la myosine résulte en génération de la force contractile du muscle. La durée de la phosphorylation de la MLC_{20} reflète

un équilibre entre l'activité de la Kinase de la chaîne légère de myosine (MLCK) et celle de la phosphatase de la chaîne légère de myosine (MLCP) qui phosphoryle et déphosphoryle respectivement la MLC₂₀ (Sanders, 2008; Perrino, 2016). La phosphorylation de la MLC pendant la contraction initiale transitoire induite par les agonistes est médiée par la MLCK dépendante du complexe Ca²⁺/calmoduline, alors que la phosphorylation de la MLC₂₀ pendant la contraction soutenue est médiée par la MLCK indépendante du Ca²⁺ et l'inhibition de la MLCP. La déphosphorylation de la MLC₂₀ résulte de l'action de la protéine kinase dépendante de l'AMPc (PKA) et la protéine Kinase dépendante de la GMPc (PKG) conduisant à la relaxation des muscles lisses (Bitar *et al.*, 2012). Les récepteurs qui initient la phosphorylation de la MLC₂₀ sont des récepteurs couplés à la protéine G. L'activation d'un récepteur couplé à la protéine G par un agoniste contractile tel que l'ACh, le carbachol ou la motiline initie plusieurs voies de signalisation qui induisent la dépolarisation membranaire et l'augmentation de l'influx du Ca²⁺ à travers les canaux Ca²⁺ voltage dépendants et les canaux cationiques non sélectifs, active la MLCK et inhibe la MLCP via la protéine kinase C (PKC), la Rho kinase et la libération de l'acide arachidonique (Takeuchi *et al.*, 2001; So and Kim, 2003; Huang *et al.*, 2005; Sarna, 2006). L'acide arachidonique à son tour peut subir des transformations pour former les prostaglandines (PGs) et les leucotriènes qui induisent la contraction en se fixant sur des récepteurs couplés à la protéine G (Harnett *et al.*, 2005).

En effet, l'activation des récepteurs muscariniques active la PLC β qui hydrolyse le PIP₂ de la membrane plasmique en IP₃ et diacylglycérol (DAG), le DAG active à son tour la PKC alors que l'IP₃ va se fixer sur les canaux calciques récepteurs de l'IP₃ localisés sur la membrane du réticulum sarcoplasmique libérer le Ca²⁺ (Balemba *et al.*, 2006). Le calcium dans le milieu intracellulaire va former un complexe avec la calmoduline (chaque molécule de calmoduline fixe quatre ions de Ca²⁺), la fixation du calcium induit un changement de la conformation de la calmoduline qui va interagir avec la kinase de la MLCK. Une fois activée, la MLCK phosphoryle la MLC₂₀ sur la sérine 19 et donc la contraction du muscle (Perrino, 2016). En parallèle, l'activation de la PKC induit la phosphorylation de variété de protéines impliquées dans la transduction du signal et la contraction musculaire (Murthy, 2006; Bitar *et al.*, 2012). Le PKC induit la contraction en induisant la phosphorylation de la MLC₂₀ via l'activation de la CPI-17, un inhibiteur de la MLCP (Huang *et al.*, 2005; Murthy, 2006). La PKC peut aussi moduler l'activité des canaux ioniques incluant les canaux potassiques activés par l'ATP et les canaux potassiques activés par le calcium (Barlow *et al.*, 2000; Zhang *et al.*, 2012).

Les petites protéines G (RhoA et Ras) contribuent également dans la contraction musculaire en induisant la phosphorylation de la MLC₂₀, cela résulte de l'activation de la Rho-kinase et la MAPK

(mitogen-activated protein kinase) (Yousufzai *et al.*, 2000; Mori and Tsushima, 2004; Quinn *et al.*, 2006). Le maintien de la contraction et la phosphorylation de la MLC₂₀ est initié par l'activation des récepteurs couplés à la protéine Gq/13, cette protéine G active la RhoGEFs (Rho-specific guanine nucleotide exchange factors) qui permet d'échanger GDP en GTP. La translocation de la RhoA activée initie deux voies de signalisation impliquant la Rho-kinase et la PKC (Murthy, 2006). La Rho-kinase phosphoryle la sous-unité régulatrice MYPT1 en induisant sa dissociation de la sous-unité catalytique PP1c et son inhibition, ce qui conduit à la phosphorylation de la MLC₂₀ et la contraction du muscle lisse (Huang *et al.*, 2005).

Dans le tube digestif la relaxation du muscle lisse induite par les agonistes de la relaxation comme le VIP, le pituitary adenylyl cyclase-activating peptide (PACAP) est médiée par des récepteurs couplés à la protéine G. Le VIP en se fixant sur les récepteurs VPAC2 active la protéine G_α qui à son tour active l'adényl cyclase, ce qui augmente la concentration de l'AMPc et l'activation de la PKA. Le PACAP agit sur les récepteurs NPR-C (natriuretic peptide clearance receptors) en activant la NOS pour former le NO. Le NO diffuse dans la cellule pour activer la guanyl cyclase soluble, ce qui augmente la concentration du GMPc et l'activation de la protéine kinase G (PKG) (Olsson and Holmgren, 2001; Bitar *et al.*, 2012). La PKA induit l'hyperpolarisation de la membrane en activant des canaux potassiques. La PKG inhibe la libération du Ca²⁺ intracellulaire et stimule sa séquestration respectivement par la phosphorylation des récepteurs de l'IP₃ et la pompe Ca²⁺/ATPase du réticulum sarcoplasmique (Murthy, 2006).

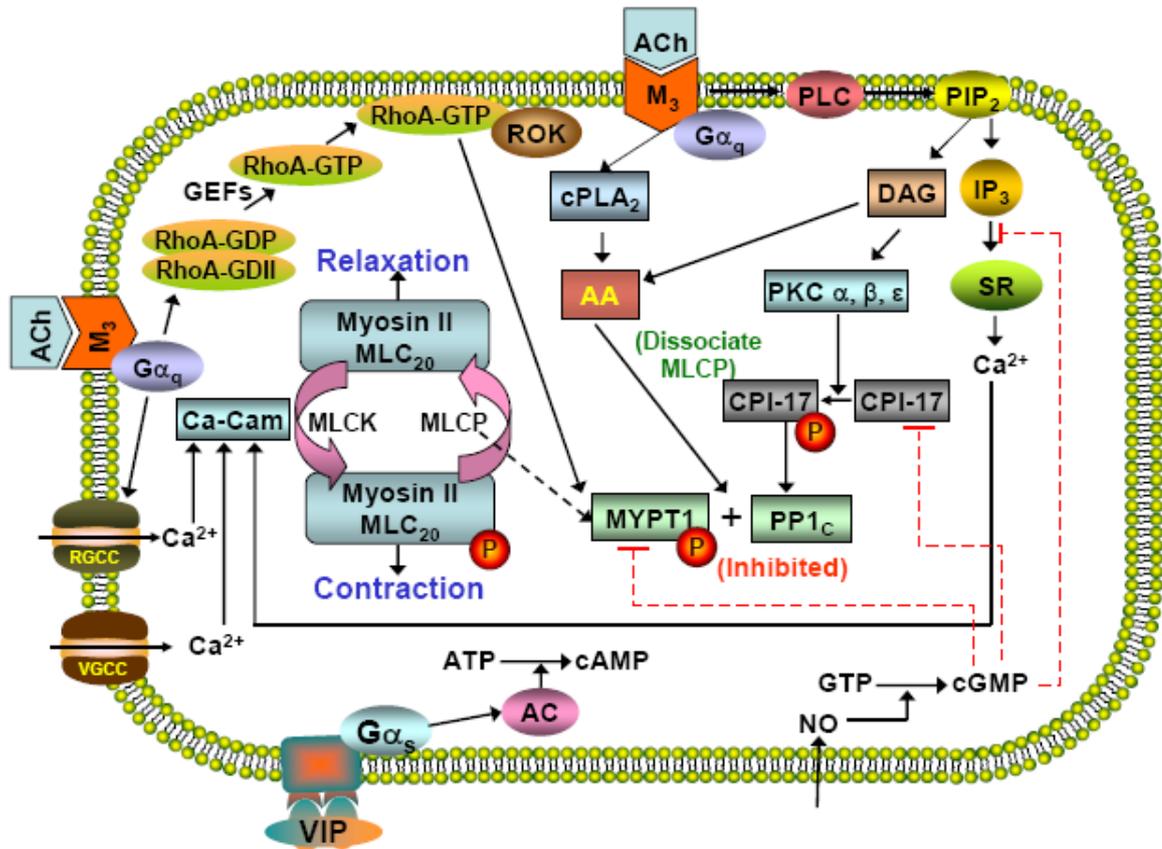


Figure 8. Voies de la génération de la contraction dans les cellules musculaires lisses circulaires (Sarna, 2006).

AA: acide arachidonique; CaM: calmoduline; CPI-17 : inhibiteur endogène de la MLCP de 17 KDa; cPLA2: phospholipase A2 cytosolique; DAG: diacylglycérol; GEFs: facteurs d'échange de nucléotide guanylique; MYPT1: sous-unité régulatrice de la MLCP; PIP₂: phosphatidyl inositol 4,5,-biphosphate; PP1_c: sous-unité catalytique de la MLCP; RGCC: canaux Ca²⁺ récepteur-dépendants; RhoA-GDI: inhibiteur de dissociation de la guanine; SR: réticulum sarcoplasmique; VGCC: canaux Ca²⁺ voltage dépendants.

La PKA et la PKG inhibent les canaux calciques, activent la protéine RGS (regulator of G protein signaling) qui inhibe les récepteurs G_{αq} conduisant à l'inactivation de la PLC-β et l'inhibition de la libération du calcium par l'IP₃. De même, la PKA et la PKG inhibent directement la RhoA et bloquent la phosphorylation de la MYPT1 par la Rho-kinase, conduisant à l'augmentation de l'activité de la MLCP qui déphosphoryle la MLC₂₀ et relâche le muscle lisse. De plus, l'activité de la MLCK est diminuée par l'action de la Ca²⁺/Calmoduline dépendante de la protéine kinase II et par la p21-activated kinase (Fig. 9) (Murthy, 2006; Bitar *et al.*, 2012).

Les canaux ioniques jouent un rôle important dans la régulation de l'excitabilité de la cellule musculaire, ces deux canaux sont les canaux potassiques et les canaux à chlore. Ces canaux sont activés par l'augmentation du calcium intracellulaire; l'activation des canaux à chlore induit la sortie du Cl⁻ et donc la dépolarisation de la membrane. Par contre, l'activation des canaux potassiques sensibles au calcium entraîne une sortie du K⁺ et donc l'hyperpolarisation (Sanders,

2001). Cette hyperpolarisation des muscles est accompagnée par la réduction de l'entrée du Ca^{2+} et à la relaxation des muscles lisses (Shieh *et al.*, 2000) (Fig. 10). Il y a au moins trois familles des canaux potassiques activés par le calcium: les canaux potassiques de large conductances (BK), les canaux potassiques de petite conductance (SK) et les canaux potassiques à conductance intermédiaire (IK); le classement des ces canaux est basé sur le la différence dans les propriétés physiologiques et pharmacologiques (Shieh *et al.*, 2000; Vogalis, 2000). Les canaux BK sont activés par l'acide niflumique et inhibée par le tétraéthylammonium (TEA), l'iberiotoxine, le charybdotoxine et le paxilline. Cependant, les canaux SK sont insensibles au TEA et inhibés par l'apamine et le déqualinium (Castle, 1999). Les canaux IK sont des canaux indépendants du voltage et insensible au TEA, ils sont activés par le chlorzoxazone et zoxazolamine et inhibés par la charybdotoxine et le clotrimazole (Shieh *et al.*, 2000).

D'autres canaux potassiques contribuent dans le contrôle de l'excitabilité et la contraction musculaires incluant les canaux potassiques voltage-dépendants et les canaux potassiques sensibles à l'ATP (Vogalis, 2000; Imai *et al.*, 2001). Le blocage de ces canaux potassiques induit la dépolarisation de la membrane et la contraction du muscle lisse, cette dernière résulte de l'entrée du calcium par les canaux calciques voltage-dépendants (Dong *et al.*, 2005).

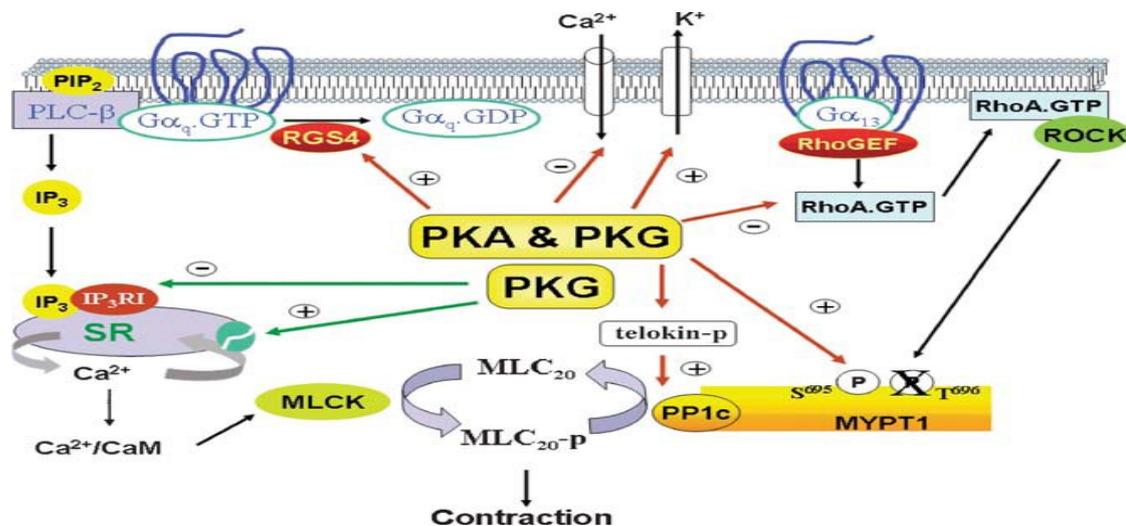


Figure 9. Cibles moléculaires de la PKA et la PKG pendant la relaxation du muscle lisse (Sarna, 2006).

La PKA et le PKG inhibent les canaux calciques, les canaux potassiques et activent la protéine RGS qui inhibe les récepteurs $G_{\alpha q}$ conduisant à l'inactivation de la PLC- β et l'inhibition de la libération du calcium par l' IP_3 . La PKA et la PKG inhibent directement la RhoA et bloquent la phosphorylation de la MYPT1 par la Rho-kinase, conduisant à l'augmentation de l'activité de la MLCP qui déphosphoryle la MLC_{20} et relâche le muscle lisse. Le PKG inhibe la libération du calcium des réserves intracellulaires par l'inhibition des récepteurs de l' IP_3 et l'activation de $\text{Ca}^{2+}/\text{ATPase}$. MLC: chaîne légère de myosine; CaM: calmoduline; cPLC β : phospholipase C β membranaire; GEFs: facteurs d'échange de nucléotide guanylique; MYPT1: sous-unité régulatrice de la MLCP; PP1c: sous-unité catalytique de la MLCP; ROCK: Rhokinase; SR: réticulum sarcoplasmique; RGS (regulator of G protein signaling); PIP $_2$: phosphatidyl inositol 4,5,-biphosphate; IP $_3$: phosphatidyl inositol 1,4,5,-triphosphate.

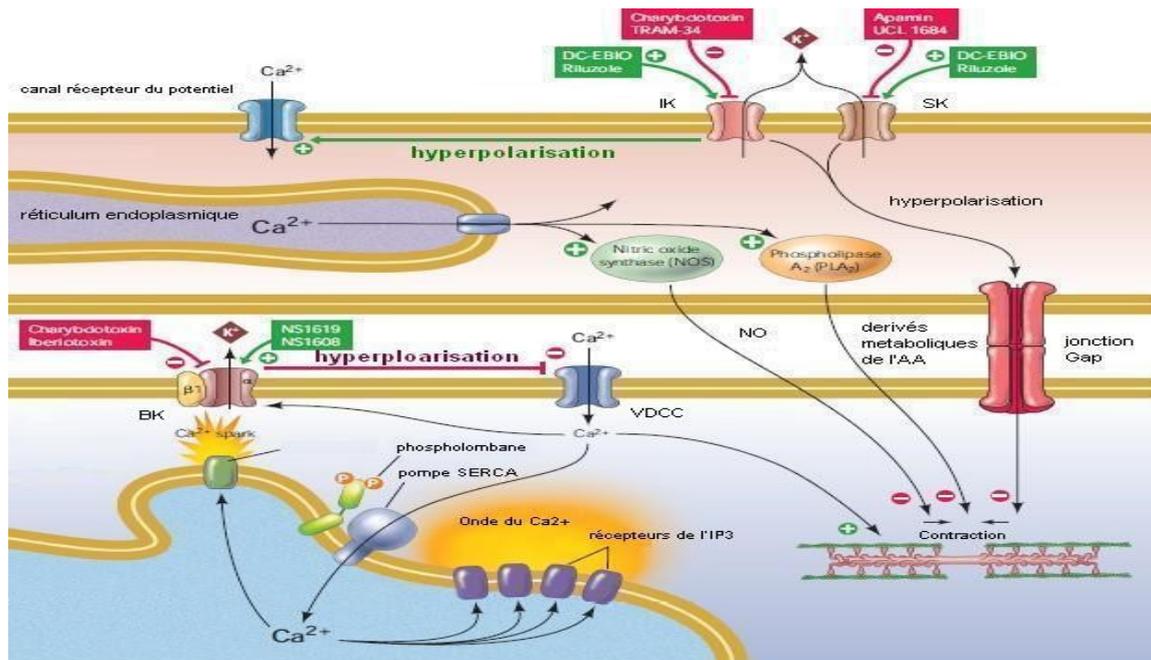


Figure 10. Rôle des canaux potassiques BK, SK et IK dans le contrôle de la contraction musculaire (Ledoux *et al.*, 2006).

Les SK et les IK sont exprimés sur la membrane de la cellule, l'activation de ces canaux peut conduire à la relaxation du muscle. L'hyperpolarisation de la membrane de la cellule endothéliale induit l'entrée du calcium à travers les récepteurs du potentiel, cette hyperpolarisation est transmise à la cellule musculaire adjacente. L'augmentation de la concentration du calcium intracellulaire active la NOS et la PLA₂ pour former le NO (monoxyde d'azote) et la prostacycline qui peuvent induire la relaxation du muscle. L'hyperpolarisation transmise à la cellule musculaire inhibe l'entrée du calcium via les canaux calciques voltage dépendant (VDCC) conduisant à l'inhibition de la contraction. L'augmentation de la pression intracellulaire conduit à la dépolarisation de la membrane, l'entrée du calcium à travers les VDCC, la libération du Ca²⁺ intracellulaire et la contraction; toutes ces voies sont inhibées par les BK activés par le Ca²⁺.

2.2.1. Neurotransmetteurs de la contraction

L'ACh est le neurotransmetteur majeur du système nerveux entérique de l'intestin (Lecci *et al.*, 2002). L'activation des récepteurs de l'ACh localisés au niveau des motoneurones excitateurs permet la libération du neurotransmetteur au niveau de la fente synaptique pour induire la contraction du muscle lisse. Par contre, l'activation de ces récepteurs avec le dimethyl phenylpiperazinium induit la relaxation du muscle lisse du colon (Benabdallah *et al.*, 2008). L'ACh libérée réagit avec ses récepteurs spécifiques localisés sur la cellule musculaire où est hydrolysé dans la fente synaptique par l'action de l'acétylcholinestérase (AChE). L'inhibition de l'AChE par des inhibiteurs spécifiques (néostigmine) provoque l'accumulation de l'ACh dans les jonctions neuromusculaires pour stimuler la contraction (Benabdallah and Gharzouli, 2015).

Dans le tube digestif, l'AChE agit principalement via les récepteurs muscariniques M2 et M3 pour induire la contraction des muscles lisses (Ehlert, 2003). Dans les muscles lisses de l'iléon, du côlon, de l'estomac et de la vessie la densité des récepteurs muscariniques de type M2 est trois fois supérieure de celle de type M3 dans la plupart des espèces incluant l'homme; cependant, la

contraction musculaire de l'intestin et de la vessie est principalement médiée par les récepteurs de type M3 (Uchiyama and Chess-Williams, 2004). En effet, l'activation des récepteurs M3 couplés à la protéine G induit la production de l'IP3 et le DAG via l'activation de la PLC (Sales *et al.*, 1997; Yousufzai *et al.*, 2000). L'IP3 induit la libération du calcium des réserves intracellulaires par son action sur les récepteurs de l'IP3 (McCarron *et al.*, 2002).

Les récepteurs M2 couplés à la protéine Gi aboutissent à l'inhibition de l'activité de l'adenylate cyclase et la diminution de l'AMPc aboutissant à la contraction du muscle lisse (Sales *et al.*, 1997). De plus, l'activation de ces récepteurs induit l'ouverture des canaux cationiques non sélectifs et les canaux calciques de type L (Jin *et al.*, 2002). En addition de l'ACh, l'ATP semble jouer un rôle important dans la transmission neuro-neuronale excitatrice au niveau des muscles longitudinaux et circulaires en agissant sur les récepteurs P2X et P2Y (Spencer *et al.*, 2000). L'ATP est aussi impliquée dans la transmission nerveuse via les récepteurs P2Y présents sur les neurones entériques puisque l'activation de ces derniers induit la libération de l'ACh des neurones excitateurs (Sawyer *et al.*, 2000). Dans les cellules musculaires lisses du côlon du cobaye, la contraction induite par l'ATP est réduite par l'inhibition de la PLC et elle est abolie par la déplétion des réserves internes du Ca^{2+} , indiquant la participation des récepteurs P2Y de l'ATP dans cette réponse (Zizzo *et al.*, 2008).

Les tachykinines constituent une famille de neuropeptides qui regroupe la substance P, la neurokinine A et la neurokinine B qui activent respectivement les récepteurs NK1, NK2 et NK3 (Lecci *et al.*, 2002). Les récepteurs des tachykinines sont présents dans les neurones entériques, les ICCs, l'épithélium, le muscle lisse du tube digestif et la vessie (Tramontana *et al.*, 1998; Holzer and Holzer-Petsche, 2001; Mulè *et al.*, 2007). Les récepteurs NK1 sont localisés dans les neurones myentériques cholinergiques et nitreurgiques et sur les cellules musculaires, alors que les récepteurs NK2 semblent être localisés seulement sur les cellules musculaires du côlon proximal de souris et du rat (Mulè *et al.*, 2007).

Tableau 1. Neurones entériques et leurs transmetteurs et récepteurs (Furness et Sanger, 2002).

	Transmetteurs	Récepteurs
Neurones myentériques		
Motoneurones excitateurs du muscle circulaire	Pour toutes les régions: ACh transmetteur fondamental, TK est un co-transmetteur	Muscarinique: récepteurs M2 et M3 TK: récepteurs NK1 et NK2
Motoneurones inhibiteurs du muscle circulaire	Différents co-transmetteurs avec une importance variante: NO, ATP, VIP, PACAP	NO: GMPc ATP: récepteur P2Y VIP & PACAP: récepteurs VPAC1, VPAC2 et PAC 1
Motoneurones excitateurs du muscle longitudinal	ACh transmetteur fondamental, TK co-transmetteur	Muscarinique: récepteurs M2 et M3 TK: récepteurs NK1 et NK2
Motoneurones inhibiteurs du muscle longitudinal	Différents co-transmetteurs avec une importance variante: NO,ATP, VIP, PACAP	NO: GMPc ATP: récepteur P2Y VIP & PACAP: récepteurs VPAC1 VPAC2 et PAC1
Interneurones ascendants	ACh transmetteur fondamental, ATP peut être co-transmetteur	Récepteurs nicotiniques Certains évidence pour les purinocépteurs
Interneurones descendants (réflexe local)	ACh transmetteur fondamental, ATP peut être co-transmetteur	ACh: récepteurs nicotiniques ATP: récepteur P2X et peut être 2Y
Interneurones descendants (réflexe sécrétomoteur & contrôle du muscle circulaire)	ACh et 5-HT transmetteurs Fondamentaux	ACh: récepteurs nicotiniques 5-HT: récepteurs 5-HT3
Interneurones descendants (complexes myoélectriques migrants)	ACh transmetteur fondamental	ACh: récepteurs nicotiniques
Neurones afférents primaires intrinsèques myentériques (neurones sensoriels)	Transmission lente :TK, transmission rapide: ACh	Excitation rapide: nicotinique vers les interneurones et les otoneurones Excitation lente: TK à des écepteurs NK3 à d'autres IPANs et à des récepteurs NK1 aux interneurones
Neurones intestinofuges	ACh transmetteur fondamental, la transmission lente via VIP	ACh: récepteurs nicotiniques
Motoneurones excitateurs de la musculaire muqueuse	ACh transmetteur fondamental	Muscarinique
Motoneurones inhibiteurs de la musculaire muqueuse	La pharmacologie de la transmission paraît être similaire aux autres motoneurones entériques	NO: GMPc ATP: récepteurs P2Y VIP & PACAP: récepteurs VPAC et VIP
Motoneurones des cellules endocrines intestinales	Par exemple: les neurones innervant les cellules G	GRP est transmetteur des cellules à Gastrine
Neurones sous-muqueux		
Neurones sécrétomoteurs/vasodilatateurs non-cholinergiques	VIP transmetteur fondamental	Récepteurs VPAC
Neurones sécrétomoteurs/vasodilatateurs cholinergiques	ACh transmetteur fondamental	Muscarinique
Neurones sécrétomoteurs/nonvasodilatateurs cholinergiques	ACh transmetteur fondamental	Muscarinique
Neurones afférents primaires intrinsèques sous-muqueux (neurones sensoriels)	Transmetteurs ACh et peut être TK	Nicotinique

La 5-HT est stockée et libérée par les cellules entérochromaffine et les neurones entériques cholinergiques (Schworer *et al.*, 1987; Lomax et Furness, 2000; Mitsui *et al.*, 2006). Elle participe dans la transmission excitatrice à travers les récepteurs 5-HT₃ localisés sur les neurones cholinergiques (Furness et Sanger, 2002). Les récepteurs de la 5-HT sont détectés dans diverses régions du tractus intestinal du rat et de la souris y compris le jéjunum, l'iléon et le côlon (Chetty *et al.*, 2006). Dans des préparations circulaires du côlon humain, les récepteurs 5-HT₃ n'interviennent pas dans la contraction ou la relaxation du muscle lisse; par contre, les récepteurs 5-HT₄ et 5-HT₇ jouent un rôle dans la médiation de la relaxation du muscle lisse (Irving *et al.*, 2007).

2.2.2. Neurotransmetteurs de la relaxation

Bien que l'ATP soit impliquée dans la neurotransmission excitatrice, elle est aussi un neurotransmetteur inhibiteur non adrénérgique non cholinergique (NANC) de la contraction du muscle lisse de l'iléon de l'homme et du rat, cela est le résultat de l'activation des récepteurs P₂ purinergiques (Benko *et al.*, 2006; Undi *et al.*, 2006). Dans le muscle lisse de l'iléon et du jéjunum du cobaye, l'ATP induit la relaxation en activant le potentiel de jonction inhibiteur ainsi il diminue le Ca²⁺ intracellulaire nécessaire à la contraction (Waseda *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2007). De plus, l'ATP induit une hyperpolarisation de la membrane, ceci est le résultat de l'activation des canaux potassiques sensibles à l'ATP (Lorenz *et al.*, 1992; Pluja *et al.*, 1999).

Le NO est considéré comme étant le principal neurotransmetteur inhibiteur (Ueno *et al.*, 2004; Benko *et al.*, 2005). Dans le tube digestif trois types de NOS sont identifiés, la NO synthase neuronale (nNOS), la NO synthase endothéliale (eNOS) et la NO synthase inducible (iNOS) (Teng *et al.*, 1998). Le NO est produit dans les neurones entériques à partir de la L-arginine par la nNOS et agit comme un neurotransmetteur inhibiteur intercellulaire (Xue *et al.*, 2000). L'inhibition de la NOS par le N-méthyl-L-arginine ester (L-NAME) augmente la fréquence et l'amplitude des contractions du muscle circulaire du côlon de rat (Mule *et al.*, 1999). Dans les cellules musculaires lisses, le NO ou le sodium nitroprussiate (SNP), un donneur de NO, induisent l'hyperpolarisation de la membrane et relâchent le muscle lisse en activant la guanylate cyclase, cet effet est inhibé par le L-NNA, un inhibiteur de la NOS, et par le 1H-[1,2,4]oxadiazolo[4,3-a]quinoxaline-1-one (ODQ), un inhibiteur de la guanylate cyclase (Keef *et al.*, 1997; Franck *et al.*, 1997; Ueno *et al.*, 2004). Dans le muscle longitudinal de l'iléon du cobaye, le S-nitro-Nacetyl-DL-penicillamine (SNAP), un donneur de NO, hyperpolarise la membrane par l'activation des canaux potassiques activés par le calcium par le GMPc (Goyal et He, 1998).

Le SNP et le SNAP peuvent agir en activant la guanylate cyclase et donc l'augmentation du GMPc (Boyer *et al.*, 1998; Smith and McCarron, 1998). De plus, le NO libéré des donneurs du

NO augmente le recaptage du calcium dans le réticulum sarcoplasmique menant à la relaxation du muscle lisse du fundus gastrique (Petkov *et al.*, 1998).

La libération endogène du NO inhibe la transmission cholinergique, cela est le résultat de l'inhibition de la libération de l'ACh des neurones cholinergiques (Mang *et al.*, 2002; Kilbinger *et al.*, 2002). Par contre, le NO augmente la libération de l'ACh dans le fundus du cobaye mais réduit la réponse du muscle lisse à l'ACh (Sotirov *et al.*, 1999). Le L-NNA augmente la libération de l'ACh induite par la stimulation électrique et la contraction induite avec les plexus myentériques intactes des souris déficientes de eNOS. Par contre, le L-NNA ne modifie pas la libération de l'ACh et la contraction de muscle lisse des souris déficientes de nNOS. Ces données montrent que c'est le nNOS et non pas le eNOS qui est l'enzyme responsable de l'inhibition de la libération de l'ACh par le NO (Mang *et al.*, 2002).

Le VIP et son homologue, le PACAP sont des neurotransmetteurs inhibiteurs libérés à partir des fibres NANC. Ces neuropeptides induisent la relaxation du muscle gastrointestinale en agissant sur le même type de récepteurs (Parkman *et al.*, 1997). La relaxation induite par le VIP est le PACAP est le résultat de l'hyperpolarisation de la membrane (Pluja *et al.*, 2000). Dans le cas du PACAP, l'hyperpolarisation membranaire induite est due à l'ouverture des canaux potassiques sensibles au calcium. Elle est médiée par l'activation des tyrosines kinases et accompagnée par une diminution du Ca^{2+} intracellulaire (Takeuchi *et al.*, 1999). Dans le muscle longitudinal et circulaire de l'intestin grêle des souris l'application de VIP en présence de l'ODQ diminue la relaxation induite par le VIP, suggérant que le VIP augmente la concentration du GMPc pour induire la relaxation du muscle lisse (El-Yazbi *et al.*, 2007). Il a été démontré que la libération du VIP et le PACAP active le eNOS et augmente la concentration du GMPc (Lecci *et al.*, 2002). De plus, le VIP augmente le taux de l'AMPc qui active la PKA conduisant à l'activation des canaux potassiques et la relaxation du muscle lisse du colon (Kishi *et al.*, 2000).

Dans le système nerveux entérique, la localisation de l'hème oxygénase type 2 (HO_2), une enzyme biosynthétique du CO, et la suppression génomique de cette enzyme, qui induit la perturbation de la fonction intestinale du jéjunum de souris, expliquent que le CO est un neurotransmetteur du système nerveux entérique (Xue *et al.*, 2000). L'hème oxygénase utilise la cytochrome P450 réductase et une molécule d'oxygène pour donner un électron utilisé dans l'oxydation de l'hème en biliverdine, le fer ferreux (Fe^{3+}) et le CO (Baranano et Snyder, 2001; Gibbons et Farrugia, 2004). Le CO induit la relaxation du muscle lisse de l'estomac en augmentant la conductance des canaux potassiques, cet effet revient à la synthèse du GMPc qui active la PKG et à la diminution de la libération du calcium des réserves intracellulaires (Kadinov *et al.*, 2002).

L'augmentation du taux du GMPc par le CO est aussi notée dans le jéjunum de la souris (*Xue et al.*, 2000).

2.3. Cellules interstitielles de Cajal

Généralement, le potentiel membranaire des cellules musculaires lisses du tube digestif présente des dépolarisations cycliques rythmiques, appelées ondes lentes, qui provoquent des contractions cycliques des muscles lisses. L'origine de ces ondes lentes sont les ICCs (Interstitial Cajal cells) (*Dickens et al.*, 1999). Les ICCs découvertes par Ramon y Cajal en 1911, sont des composants accessoires primitifs qui peuvent modifier la contraction des muscles lisses et eux-mêmes sujet de régulation des neurones principales (*Wang et al.*, 2000; *Streuckter et al.*, 2007). Les ICCs sont des cellules mésenchymateuses interposés entre le system nerveux entérique et les cellules musculaires lisses, avec des petits corps cellulaires et plusieurs processus élongés, elles développent de nombreuses ramifications interconnectées pour former un réseau et communiquent entre elles et avec les cellules musculaires lisses par des jonctions de type gap (*Daniel et Wang*, 1999; *Kobilo et al.*, 2003). Ces cellules sont classées en différentes classes selon leur morphologie et leur location anatomiques (*Thuneberg*, 1999).

Dans plusieurs régions du tube digestif, un réseau des ICCs relie entre les deux couches musculaire lisses longitudinals et circulaires dans la région myenterique, ces ICCs sont appelées ICC-MY (myenterique) (*Horiguchi et al.*, 2001). Un deuxième groupe des ICCs a une localisation intramusculaire sont les ICCs intramusculaire (ICC-IM) (Fig. 11) (*Burns et al.*, 1996). Les ICC-IM sont trouvées sur tous les niveaux de tube digestif; dans l'intestin grêle, les cellules interstitielles de Cajal forment un deuxième réseau entre les couches internes et externes des cellules musculaires lisses circulaires, ces cellules sont appelées les ICCs de plexus musculaire profond (ICC-PMP) (*Wang et al.*, 2003). Dans l'estomac et au niveau de l'antrum, les ICC-IM sont largement distribuées dans la couche des cellules musculaires circulaire et avec distribution moindre dans la couche des cellules musculaires longitudinals. Dans le fundus le réseau des ICC-MY est absent, mais les ICC-IM sont largement distribuées dans les couches des cellules musculaires circulaires et longitudinals (*Burns et al.*, 1996). Dans le colon, il y a une population des ICCs localisées sur la surface de la sous muqueuse des cellules musculaires lisses circulaires, ces cellules sont appelées ICCs de plexus sous muqueux (ICC-PSM), mais les ICC-PMP sont absentes dans toutes les parties du colon distal (*Okishio et al.*, 2005).

Les ICCs sont considérées comme des cellules pacemakers et peuvent être impliquées dans la neurotransmission dans les tissus périphériques ainsi que dans la génération et la propagation des ondes lentes (*Dickens et al.*, 1999; *Wang et al.*, 2003). La fonction pacemaker des ICCs est confirmée par plusieurs études. Ces ICCs pacemakers génèrent des ondes électriques lentes, qui

consistent en une dépolarisation régulière résultant d'une augmentation rapide du potentiel avec une longue durée du plateau suivie par une repolarisation. Ces ondes lentes sont passivement transmises aux cellules musculaires lisses (Dickens *et al.*, 1999; Kito *et al.*, 2005; Kito et Suzuki, 2007). Les courants entrants rythmiques spontanés dans les ICCs qui sont à la base de l'activité pacemaker de l'intestin sont liés à cette oscillation du Ca^{2+} (Torihashi *et al.*, 2002). L'activité pacemaker des ICCs dépend de l'entrée du calcium via les canaux calciques de type L et à la libération du Ca^{2+} des réserves intracellulaires (Boddy et Daniel, 2005; Kito *et al.*, 2005). Seulement quelques classes des ICCs jouent un rôle pacemaker, par exemple dans l'estomac l'activité pacemaker est une fonction des ICC-MY et ICC-IM, alors que dans l'intestin grêle, elle revient aux ICC-MY et dans le colon aux ICC-PSM (Edwards et Hirst, 2005; Alberti *et al.*, 2005b).

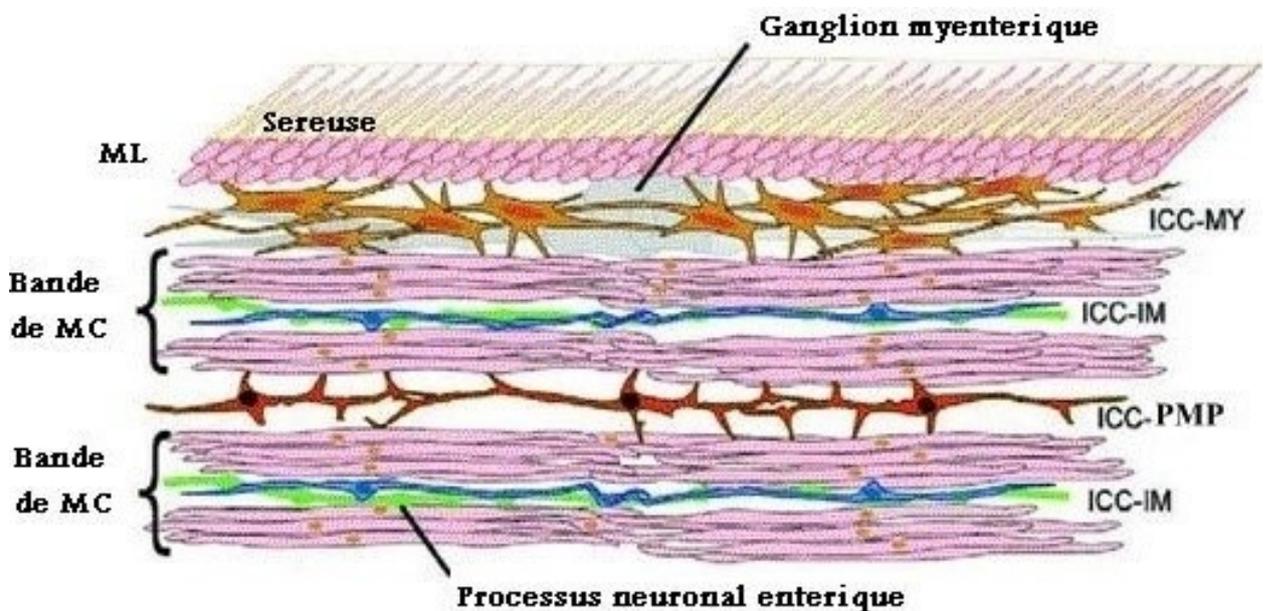


Figure 11. Réseau des cellules interstitielles de Cajal (Hirst, 2001).

ML: muscle longitudinal, MC: muscle circulaire, ICC-MY: cellules interstitielles de Cajal localisées dans le plexus myentérique, ICC-IM: cellules interstitielles de Cajal localisées entre les fibres musculaires circulaires, ICC-PMP: cellules interstitielles de Cajal localisées au niveau de Plexus musculaire profond.

3. Ulcère gastrique

L'ulcère gastrique désigne un ensemble d'affections ulcéreuses de la partie supérieure du tube digestif, touchant essentiellement l'estomac et la partie initiale du duodénum (bulbe), dans lequel la participation de l'acide et de la pepsine dans la pathogénie est fondamentale. Les principales formes d'ulcère peptique sont l'ulcère duodénal et l'ulcère gastrique (Roy, 2016).

3.1. Physiopathologie de l'ulcère gastrique

L'ulcère, qu'il soit gastrique ou duodénal se définit en anatomo-pathologie comme une perte de substance muqueuse allant au-delà de la couche musculaire muqueuse (Fig. 12). Il guérit en laissant une cicatrice. On le différencie des érosions, abrasions, exulcérations superficielles qui n'atteignent pas la couche musculaire et qui guérissent sans cicatrice. L'ulcère est le résultat d'un déséquilibre entre les mécanismes de défense de la muqueuse et l'attaque de celle-ci par la sécrétion chlorhydropepsique de l'estomac qui favorise le maintien de l'ulcération (Karila-Cohen *et al.*, 2005).

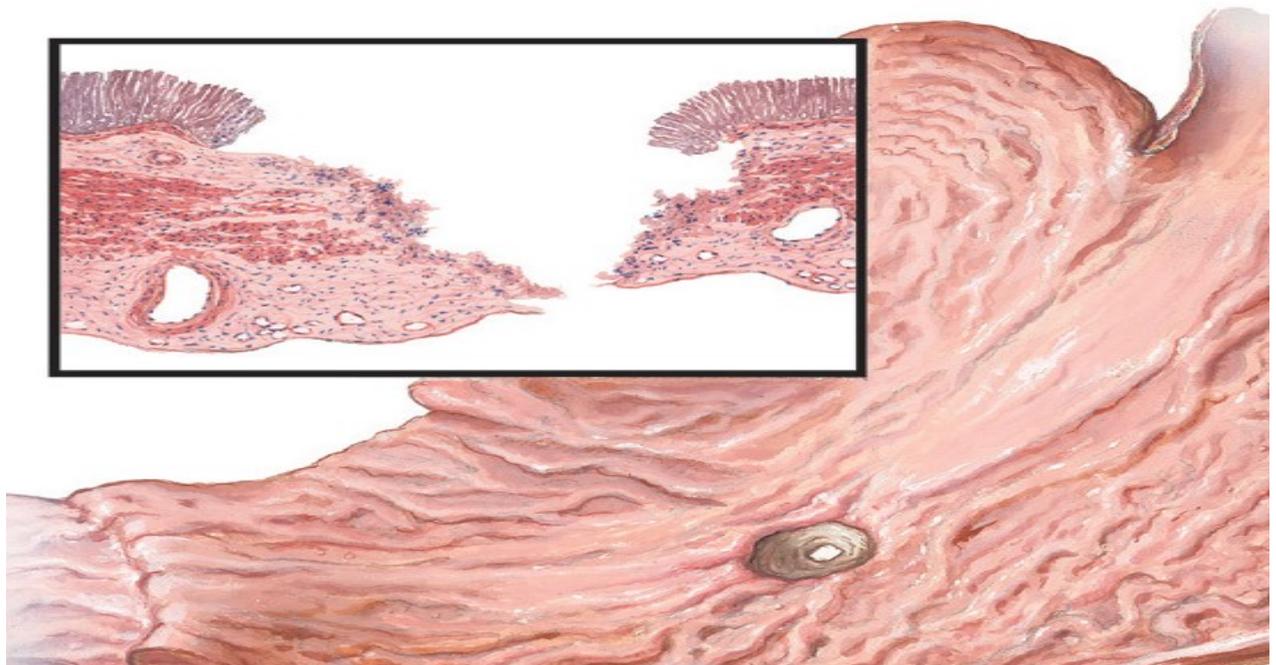


Figure 12. Lame histologique: perte de substance muqueuse en profondeur dépassant la musculaire muqueuse (Morgan and Shaheen, 2011).

3.2. Facteurs pathogéniques de l'ulcère gastrique

H. pylori est une bactérie Gram négatif de forme hélicoïdale, d'environ 3 μm de long qui porte quatre à six flagelles. Elle doit sa survie dans le milieu très acide de la muqueuse gastrique (pH voisin de 2), à son équipement unique en uréase qui transforme l'urée en ammoniac et dioxyde de carbone, créant ainsi un microenvironnement alcalin lui permettant de survivre. (Bommelaer and Stef, 2009), *H. pylori* est un facteur causal majeur 60% de la gastrite et jusqu'à 50-75% des ulcères duodénaux. Elle possède de nombreux atouts qui lui permettent de coloniser et de persister au niveau de la muqueuse gastrique: uréase, mobilité liée à l'équipement flagellaire, facteurs d'adhérence, sont autant de facteurs qui lui assurent la survie et l'aptitude pour se multiplier. Les lésions tissulaires peuvent résulter de l'effet néfaste de l'inflammation chronique à long terme. La

bactérie peut provoquer une gastrite chronique active. La gastrine stimule la production d'acide gastrique par les cellules pariétales (Tran and Quandalle, 2002).

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), tel que l'aspirine, sont des médicaments les plus utilisés au monde dans des cas des pathologies inflammatoires rhumatismales ou comme antalgiques. Les études endoscopiques ont montré que 20% des malades traités par AINS développent des lésions ulcérées gastroduodénales. Les AINS passent d'abord par une diminution du flux sanguin muqueux résultats de l'inhibition sélective de la COX-2. L'inhibition de cette dernière va inhiber la production de PGs au niveau du site inflammatoire qui jouent un rôle important dans la stimulation de la sécrétion du mucus et l'augmentation du flux sanguin de la muqueuse (Lamarque, 2004).

Le stress va occasionner un déséquilibre au sein de l'estomac. Il influe sur le flux sanguin muqueux, la motilité gastrique, le taux de vidange et l'intégrité de la muqueuse, la production d'histamine, la production d'acide et l'altération vasculaire de la paroi stomacale. De même, il diminue la résistance de la barrière muqueuse et augmente la libération de glucocorticoïdes des cytokines proinflammatoire tels que l'interleukine-6 (IL-6) et le facteur de nécrose tumorale α (TNF α) (Nendaz *et al.*, 2006).

La consommation chronique d'alcool perturbe la barrière muqueuse gastrique, en inhibant les enzymes COX1 qui réduisent la production de PGs cytoprotectrices (Kutil *et al.*, 2014). De sa part, le tabagisme provoque la réduction du facteur de croissance épidermique circulant, augmente la production des radicaux dans la muqueuse gastrique, aggrave le reflux duodéno-gastrique, augmente la masse cellulaire pariétale et augmente la capacité sécrétoire gastrique, diminue la vitesse de cicatrisation et diminue la sécrétion pancréatique des bicarbonates (Iwata and Leung, 1995; Afridi, 2003). Bien que certaines études aient trouvé des corrélations entre le tabagisme et la formation d'ulcères, d'autres ont montré de manière plus spécifique que la consommation d'alcool augmente le risque lorsqu'il est associé à l'infection par *H. pylori* (Mustafa *et al.*, 2015).

3.3. Modèles expérimentaux de l'ulcère gastrique

Il existe de nombreux modèles expérimentaux qui utilisent différents types d'agent (différentes substances) pour l'induction de l'ulcère gastrique, y compris: l'éthanol (Gharzouli *et al.*, 1999a) et l'acide acétique, les AINS (Indométacine, Aspirine, Ibuprofène, l'histamine, la sérotonine, la réserpine, le bleu de méthylène et le diethyldithiocarbamates. Dans d'autres modèles expérimentaux, l'ulcère gastrique est induit chez l'animal par un stress physiologique localisé tel que l'ischémie reperfusion (ligature du pylore), ou bien par un stress général tel que le stress d'immersion dans l'eau (Adinortey *et al.*, 2013).

3.4. Induction de l'ulcère gastrique par l'éthanol

Les effets de l'éthanol sur la muqueuse gastrique sont complexes et multiples. Il peut perturber la muqueuse, entraînant des lésions muqueuses. Il induit la solubilisation des constituants du mucus dans l'estomac avec une chute concomitante de la différence de potentiel transmuqueux. Il augmente aussi le flux de Na^+ et K^+ dans la lumière, la sécrétion de pepsine, la perte d'ions H^+ et la teneur en histamine dans la lumière, qui reflète l'exfoliation de la couche cellulaire superficielle (Hiruma-Lima *et al.*, 1999). L'éthanol peut être associé à une perturbation de l'équilibre entre les facteurs protecteurs de la muqueuse gastrique et les facteurs agressifs. Tandis que les facteurs gastroprotecteurs maintiennent l'intégrité de la couche muqueuse gastrique : les PGs, la synthèse du facteur de croissance épidermique et la restitution des cellules épithéliales. L'éthanol endommage les cellules endothéliales vasculaires de la muqueuse gastrique et induit une perturbation microcirculatoire et une hypoxie, liée à la surproduction des radicaux oxygénés (Hanfer *et al.*, 2018). Il augmente également la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et la peroxydation des lipides tout en supprimant l'activité des enzymes antioxydantes telles que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx) (Fig. 13). Ces enzymes jouent un rôle important dans la protection de l'estomac contre les lésions de la muqueuse. Le stress oxydatif intracellulaire produit une transition de perméabilité mitochondriale et une dépolarisation mitochondriale, qui précèdent la mort cellulaire dans les cellules de la muqueuse gastrique (Yoo *et al.*, 2018). L'ingestion d'éthanol provoque des lésions aiguës de la muqueuse gastrique par infiltration des neutrophiles et la libération des cytokines pro-inflammatoires, ainsi que l'expression de facteur- κB (NF- κB), etc. Les cytokines induisent souvent l'activation des neutrophiles. Les neutrophiles activés vont augmenter la production de pro-oxydant et enzymes pro-inflammatoires et de radicaux libres qui conduisent à la stimulation du métabolisme oxydatif. D'autre part, les cytokines telles que le TNF- α et l'interleukine-6 (IL-6) jouent des rôles importants dans la pathogenèse des lésions gastriques aiguës induites par l'éthanol (Li *et al.*, 2013). Il est bien connu que les ulcères induits par l'éthanol ne sont pas inhibés par des agents antisécrétoires, mais sont inhibés par des agents qui renforcent les facteurs défensifs des muqueuses comme la prostaglandine (Fig. 13) (Toma *et al.*, 2004; Arab *et al.*, 2015).

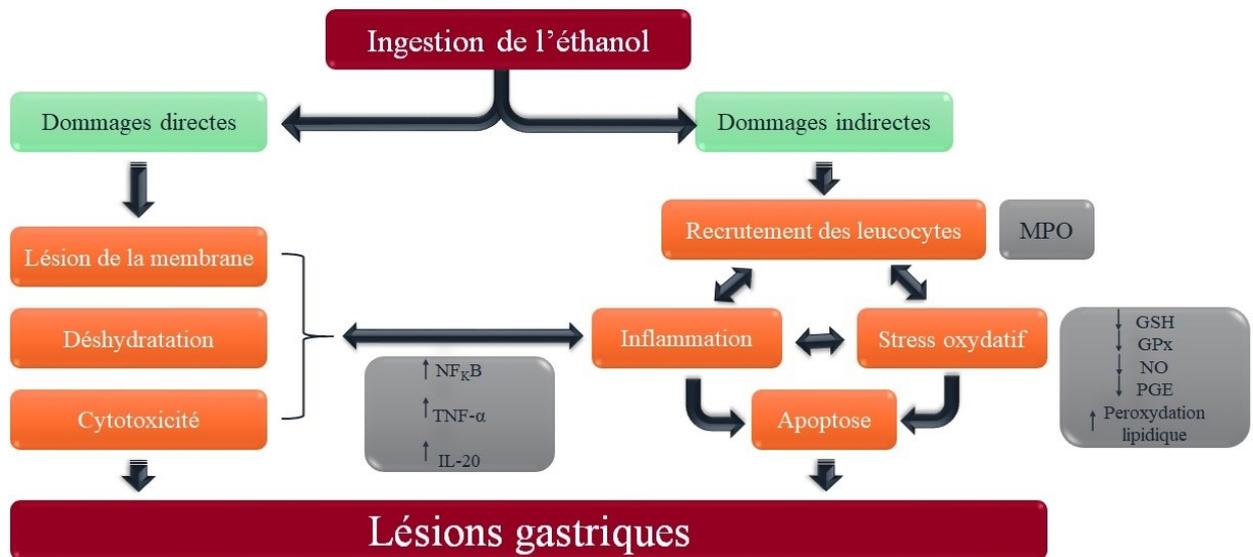


Figure 13. Induction de l'ulcère gastrique par l'éthanol d'après Arab *et al.* 2015

3.5. Traitement de l'ulcère gastrique

Les objectifs du traitement sont au nombre de quatre : soulager les symptômes et les douleurs, guérir l'ulcère, prévenir des complications et diminuer le risque d'ulcère récurrent. Plusieurs classes des médicaments sont alors utilisés: les antiacides (hydroxyde d'aluminium, tri-silicate de magnésium), les antalgiques (qui réduisent les douleurs), les inhibiteurs calciques (correspondant à la cicatrisation des lésions) et les décompressions nasogastrique (Zittel *et al.*, 2000). Les inhibiteurs de la pompe à protons $H^+ / K^+ ATP$ ase (Oméprazole, Rabéprazole) qui bloquent la sécrétion d'acide chlorhydrique de certaines cellules spécialisées des glandes de l'estomac (cellules pariétales) en agissant sur la pompe à protons qui échange un proton d'hydrogène contre un ion de potassium. Les antagonistes des récepteurs H_2 à l'histamine (Cimétidine, Ranitidine), ces molécules inhibent la sécrétion acide en bloquant de façon sélective les récepteurs membranaires H_2 de l'histamine des cellules pariétales. Les antibiotiques, les pansements gastriques et les dérivés atropiniques attribuent à une action antiseptique et une action protectrice de la muqueuse, en détruisant l'*H. pylori* (Teyssou, 2009).

4. Radicaux libres

Les espèces réactives de l'oxygène (Reactive oxygen species ROS) sont des molécules dont un de leur atome possède un électron non apparié ou "célibataire" sur son orbitale externe. Les radicaux libres ont en général une durée de vie extrêmement brève du fait de leur grande réactivité (ordre de microseconde). Les électrons célibataires vont en effet essayer de se "réappairer". Parmi

toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux primaires. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires, se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule. Ces radicaux primaires dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron tels l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$ et le radical hydroxyle OH^{\cdot} , ou de l'azote tel le monoxyde d'azote NO^{\cdot} . D'autres espèces dérivées de l'oxygène dites espèces réactives de l'oxygène, comme l'oxygène singulet 1O_2 , le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou le nitroperoxyde (ONOOH), ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux. L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène. Il ne faut pas penser que tous les radicaux de l'oxygène sont extrêmement réactifs, cette réactivité étant très variable selon la nature du radical. La faible réactivité de ces deux radicaux permet d'ailleurs leur utilisation par l'organisme comme médiateurs régulant des fonctions biologiques telle la vasodilatation capillaire, la prolifération ou le message de neurones. En revanche, des radicaux comme les radicaux peroxydes (ROO^{\cdot}) ou surtout le radical hydroxyle (OH^{\cdot}) et le peroxyntite ($ONOO^{\cdot}$) sont extrêmement réactifs, et ce avec la plupart des molécules des tissus vivants. Ces radicaux libres de l'oxygène ou de l'azote, même réactifs, ne sont pas uniquement toxiques; au contraire, ils sont produits par divers mécanismes physiologiques afin de détruire des bactéries au sein des cellules phagocytaires (macrophages, polynucléaires) ou pour réguler des fonctions cellulaires létales telle la mort cellulaire programmée ou apoptose (Asmus and Bonifacic, 2000).

4.1. Sources des ROS dans la cellule musculaire

Dans les conditions physiologiques, les mitochondries constituent la principale source de production des ROS. Au cours de la respiration cellulaire, la mitochondrie génère de l'ATP à travers la réduction de l'oxygène par une série de transferts d'électrons (e^-) et de protons (H^+) (membrane interne de la mitochondrie), pendant le transport électronique via le complexe NADH déshydrogénase (complexe I) et la cytochrome C oxydoréductase (complexe III) il y a production d'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Fig. 14). Durant l'ischémie, du fait du manque d'oxygène, peu ou pas de radicaux sont produits, mais leur production est importante à la réperfusion, d'autant plus que l'ischémie précédente a été longue. Le $O_2^{\cdot-}$ est issu de la réaction de l'oxygène moléculaire avec un électron, il est transformé en H_2O_2 par l'action de xanthine oxydase et par la dismutation de l' $O_2^{\cdot-}$ par la superoxyde dismutase (SOD). Le radical hydroxyle (HO^{\cdot}) provient de la réaction de l'anion superoxyde avec le peroxyde d'hydrogène par la réaction d'Haber-Weiss, et par la réaction de Fenton dans laquelle le peroxyde d'hydrogène réagit avec l'ion ferreux qui peut provenir de la réduction des protéines fer-soufre. L'acide hypochloreux

(HOCl) est le produit de la réaction du peroxyde d'hydrogène et de l'ion chlorure. Le NO est produit par le NOS à partir de la L-arginin. Le peroxydinitrite (ONOO⁻), très réactif, est issu de la réaction très rapide du monoxyde d'azote avec l'anion superoxyde. Les autres radicaux, alkyle, alkoxy et alkoperoxy sont issus de la réaction de l'anion superoxyde ou de l'hydroxyle sur les chaînes d'acide gras, les protéines et les glucides. Ces chaînes sont conventionnellement notées "R". Les radicaux sont donc notés R[•] (alkyle), RO[•] (alkoxy) et ROO[•] (alkoperoxyde) (Bergendi et al., 1999; Jackson, 2000; Jackson, 2008).

4.2. Contrôle des radicaux libres par la cellule

Le stress oxydatif est défini comme un déséquilibre entre la génération des radicaux libres et l'activité de défense antioxydante. Il existe plusieurs systèmes de défense incluant les antioxydants endogènes qui se divisent en antioxydants enzymatiques comme la SOD, la CAT et la GPx; les antioxydants non enzymatiques incluant la glutathion (GSH), l'acide urique, la mélatonine, la ferritine ...etc. Les antioxydants exogènes proviennent généralement de la nourriture et incluent les vitamines A, C, E, les caroténoïdes, les composés phénoliques et quelques métaux comme le sélénium et le zinc (Halliwell et Whiteman, 2004; Bhardwaj, 2008).

4.2.1. Systèmes antioxydants enzymatiques

4.2.1.1. Superoxyde dismutase (SOD)

Cette enzyme catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en H₂O₂ ($2\text{O}_2^{\bullet-} + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$) qui pourra être pris en charge par des enzymes à activité peroxydase. Il existe 3 isoformes de SOD chez les mammifères : une forme cytosolique et nucléaire associée aux ions cuivre et zinc (SOD Cyto), une forme mitochondriale associée au manganèse (SOD Mn) et une forme extracellulaire (SOD-EC) (Mates *et al.*, 1999). La forme mitochondriale permet la dismutation quasi instantanée de l'anion superoxyde produit au niveau de la chaîne du transport des électrons. Si la SOD Mn semble indispensable à la vie, ce n'est pas le cas pour la forme cytosolique, même si celle-ci joue un rôle important dans l'élimination des ROS (Li *et al.*, 1995). La SOD-EC est située sur la face externe de la membrane plasmique. Elle se retrouve dans les espaces interstitiels des tissus et dans les liquides extracellulaires (plasma, lymphe et synovie). Si les formes mitochondriales et cytosoliques sont régulées par leurs substrats, la SOD-EC serait régulée par des cytokines plutôt que par les ROS (Mates *et al.*, 1999).

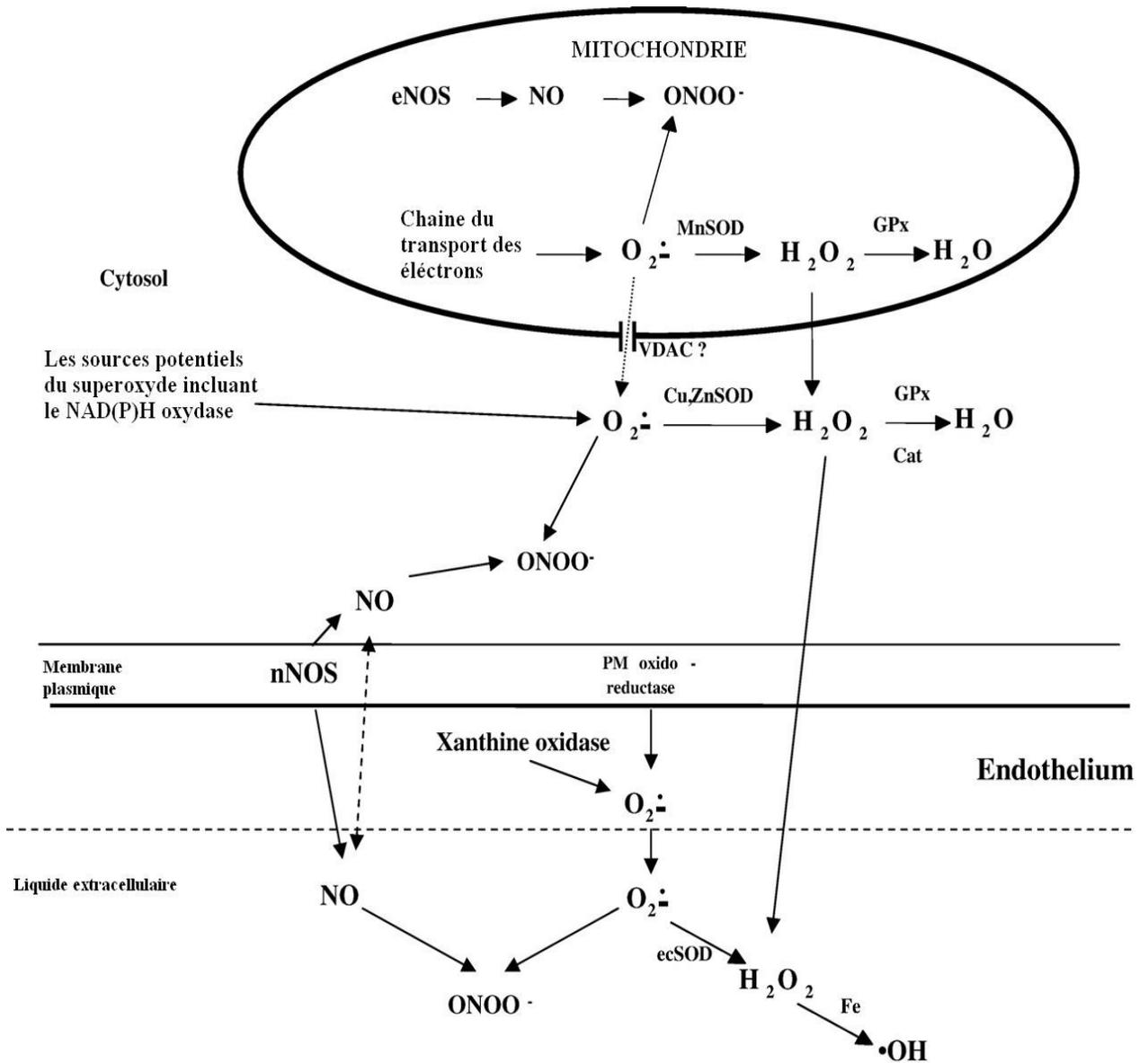


Figure 14. Représentation schématique des processus qui contribuent à la synthèse des espèces réactives de l'oxygène pendant la contraction musculaire (Jackson, 2008).

NOS: monoxyde d'azote synthase; OONO \cdot : peroxyntrite; SOD: superoxyde dismutase; GPx: glutathion peroxydase; Cat: catalase; H₂O₂: Hydrogène peroxyde; OH \cdot : radical hydroxyl.

4.2.1.2. Glutathion peroxydase (GPx)

La GPx fait partie d'un système complet qui joue un rôle central dans le mécanisme d'élimination du H₂O₂. Ce système prend aussi en charge des lipides peroxydés. La GPx est l'enzyme clef du système et nécessite la présence de GSH comme donneur d'électron. Le glutathion disulfite (GSSG) ainsi produit est à nouveau réduit par le glutathion réductase (GR) qui utilise le NADPH comme donneur d'électron. Le rapport GSH/GSSG est un index de l'état

d'oxydation dans la cellule. Il existe plusieurs isoformes de GPx contenant du sélénium (Mates *et al.*, 1999; Comhair et Erzurum, 2002): i) la GPx cytosolique et mitochondriale, présente dans la plupart des tissus ; ii) la GPx phospholipide-hydroperoxyde (HPGPx) se trouve dans le cytosol et peut directement réduire les phospholipides hydroperoxydes, et les hydroperoxydes de cholestérol; iii) et enfin la GPx extracellulaire. A la différence de la GPx qui n'est capable de réduire les peroxydes membranaires qu'après action de la PLA2, et qui n'agit que sur les acides gras hydroperoxydés, la HPGPx réduit directement les hydroperoxydes du cholestérol, des cholestérylesters, et des phospholipides présents dans des membranes oxydées ou des lipoprotéines oxydées (Mates *et al.*, 1999).

4.2.1.3. Catalase

La catalase (CAT) réagit efficacement avec H₂O₂ pour donner de l'eau et de l'O₂ (2H₂O₂ → 2H₂O + O₂). La CAT est localisée principalement dans le peroxysome, mais elle se trouve aussi dans le cytoplasme. La GPx et la CAT permettent ainsi l'élimination du H₂O₂. Toutefois, la CAT semble jouer un rôle important en présence de forte concentration en H₂O₂, alors que la GPx prend en charge les hydroperoxydes et H₂O₂ même en faible quantité. La GPx est ainsi considérée comme la source majeure de protection contre H₂O₂ et les hydroperoxydes (Mates *et al.*, 1999).

4.2.1.4. Peroxyredoxines

Les peroxyredoxines (Prx), ou thioredoxine peroxydase, ont été découvertes récemment et font l'objet de nombreux travaux concernant leurs fonctions antioxydantes (Wood *et al.*, 2003). Elles sont au nombre de 6 chez les mammifères et sont localisées dans le cytosol, les mitochondries, les peroxysomes, associées au noyau et aux membranes. Ces protéines exercent leur rôle antioxydant dans la cellule à travers une activité peroxydase, où H₂O₂, le peroxynitrite et de nombreux hydroperoxydes sont les substrats. Malgré leur plus faible efficacité catalytique par rapport à la GPx et la CAT, ces protéines pourraient jouer un rôle majeur dans l'élimination des hydroperoxydes du fait de leur quantité importante (0,1 à 0,8 % de protéines solubles cellulaires) et de leur large distribution dans la cellule. De plus, les Prx joueraient un rôle significatif lors du développement du poumon et en réponse à un stress oxydant pulmonaire (Kim *et al.*, 2001).

4.2.2. Systèmes antioxydants non enzymatiques

Les antioxydants non-enzymatiques réagissent directement avec les agents oxydants et les désactivent.

4.2.2.1. Vitamine E

L' α -tocophérol est fixée aux membranes et stoppe la chaîne de réactions de peroxydation des lipides en capturant un radical lipidique peroxyde (LOO[•]). La vitamine E devient alors à son tour un radical, moins réactif que le LOO[•], qui pourra être pris en charge par une autre molécule

antioxydante. Cependant, à forte concentration la vitamine E oxydée peut faire office de molécule pro-oxydante (Bergamini *et al.*, 2004).

4.2.2.2. Vitamine C

La vitamine C ou acide ascorbique peut capter directement l' $O_2^{\cdot-}$ et l' OH^{\cdot} . Cette vitamine pourrait aussi avoir des propriétés pro-oxydantes.

A ces deux vitamines nous pouvons ajouter de nombreux autres antioxydants non enzymatiques (ex: β -carotène, urate, glucose, bilirubine, taurine, albumine...). Quand le fragile équilibre entre production et élimination des ROS est perturbé, le surplus de ROS va oxyder des biomolécules comme les protéines, les lipides et l'ADN, ce qui peut avoir un impact important sur le fonctionnement cellulaire (Bhardwaj, 2008).

4.3. Effets du stress oxydatif

4.3.1. Peroxydation des lipides

Les lipides ont de nombreux rôles: molécules énergétiques, réserves d'énergie, molécules signales et font partie intégrante des membranes cellulaires. Parmi les lipides membranaires, les phospholipides sont les plus abondants. Les acides gras polyinsaturés (polyunsaturated fatty acids, PUFA) sont plus susceptibles aux attaques radicalaires et génèrent des peroxydes lipidiques qui sont eux-même très réactifs. La peroxydation de lipides fournit ainsi une grande variété de produits, dont certains peuvent réagir avec les protéines et l'ADN. Parmi les produits formés lors de la peroxydation lipidique, l'isoprostane, le malondialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonéal (4-HNE) ont été très étudiés comme marqueurs de la peroxydation lipidique (Marnett, 1999). Ces deux derniers produits réagissent avec les protéines et l'ADN. Une fois fixé à la molécule d'ADN, le MDA semble être le produit le plus mutagène, alors que le 4-HNE est le plus toxique pour la cellule. Cependant, le 4-HNE peut activer directement le découplage mitochondrial par action directe sur les UCP et pourrait ainsi réduire la production mitochondriale des ROS. Ce mécanisme pourrait être un moyen de régulation de la production de ROS par la mitochondrie lors d'une peroxydation lipidique afin de limiter la production de ROS (Echtay *et al.*, 2003).

4.3.2. Oxydation des protéines

Les modifications oxydatives des protéines par les ROS provoquent l'introduction d'un groupe carbonyle dans la protéine. Ces réactions d'oxydation sont fréquemment influencées par les cations métalliques comme le Cu^{2+} et le Fe^{2+} . Les réactions d'oxydation de protéines peuvent être classées en deux catégories : d'une part, celles qui cassent les liaisons peptidiques et modifient la chaîne peptidique, et d'autre part, les modifications des peptides par addition de produits issus de la peroxydation lipidique comme le 4-HNE. De telles modifications conduisent généralement à une perte de fonction catalytique ou structurale des protéines affectées (Levine, 2002). Le rôle des

protéines dans la cellule est tel que leur dysfonctionnement peut bouleverser le fonctionnement cellulaire (enzymes, protéines structurales...).

4.3.3. Dommages de l'ADN

Il existe au sein de la cellule deux « types » d'ADN: l'ADN nucléaire (ADNn) et l'ADN mitochondrial (ADNmt). Ce dernier est la cible privilégiée des oxydations par les ROS du fait de son potentiel de réparation plus faible que celui de l'ADN nucléaire et de sa proximité directe de l'une des principales sources des ROS cellulaires: la chaîne respiratoire mitochondriale. Ainsi le taux de bases oxydées serait deux à trois fois supérieur dans l'ADNmt par rapport à l'ADNn (Stevnsner et al., 2002). Les réactions d'oxydation de l'ADN créent un grand nombre de dommages de l'ADN et peuvent être classées en deux catégories :

Oxydation directe: Parmi ces dommages, nous pouvons citer les lésions des bases purines et pyrimidines. La plus abondante des bases oxydées est la 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine (8-oxodGuo), en effet la guanine est la cible privilégiée de nombreux oxydants tels que l'OH[•] et le peroxy-nitrite (Cadet *et al.*, 1999). La 8-oxodGuo est considérée comme une lésion pré-mutagénique car elle peut conduire, en l'absence de réparation, à une transversion (passage d'une base purique à une base pyrimidique) GC → TA (Stevnsner *et al.*, 2002).

Modification de base par fixation de produits secondaires : formation d'adduits de l'ADN:

Les aldéhydes réactifs issus de la peroxydation lipidique (dont le MDA et le 4-HNE) peuvent s'ajouter au groupe amine des bases de l'ADN et constituer ainsi une autre classe de dégâts oxydatifs de l'ADN (Marnett, 1999; Nair *et al.*, 1999). Le MDA réagit avec les acides nucléiques et forme des adduits aux bases dG (M1dGuo, pyrimido-[1,2α]purin-10(3H)-un), dA (M1dA, N6-(3-oxopropenyl) deoxyadenosine) et dC (M1dC, N4-(3-oxo-propenyl)deoxycytidine). Il semble que le M1dGuo soit l'adduit le plus souvent formé. Cependant, une formation de M1dGuo serait possible, indépendamment de la peroxydation lipidique, par oxydation directe de l'ADN (Marnett, 1999).

Le 4-HNE peut se fixer aux bases nucléotidiques pour former préférentiellement le 4-HNE-Guo (6-(1-hydroxyhexanyl)-8-hydroxy-1,N2-propano-2'-deoxyguanosine). De plus, le produit de l'époxydation de 4-HNE (2,3-époxy-4-HNE) par des hydroperoxydes peut se fixer sur les bases nucléotidiques pour donner des éthenobases. La réaction avec la guanine peut donner l'édGuo (1,N2-Ethenodeoxyguanosine), l'adénosine peut former l'édA (1,N6-Ethenodeoxyadenosine) et la cytidine, l'édC (3,N4-Ethenodeoxycytidine). L'éthenobase majoritairement formée semble être l'édGuo (Feng *et al.*, 2003).

5. Famille des Lamiaceae et le genre *Salvia*

La famille des Lamiacées est une partie importante des plantes dicotylédones et est répartie sur l'ensemble de la planète, bien qu'elles soient plus présentes en climats tempérés et surtout dans le pourtour méditerranéen. Elle comprend entre 6900 à 7000 espèces groupées dans 236 genres (Agostini *et al.*, 2009; Venkateshappa and Sreenath, 2013). Cette famille est l'une des principales sources de légumes et de plantes médicinales dans le 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*). Plusieurs espèces de cette famille sont utilisées en médecine traditionnelle et moderne, comme *Lavandula*, *Teucrium*, *Thymus* et *Salvia* (Naghbi *et al.*, 2005; Carović-Stanko *et al.*, 2016). Des travaux réalisés *in vitro* et *in vivo*, rapportent des résultats intéressants pour certaines molécules antioxydantes d'origine végétale telles que les dicatéchols, la curcumine, les triterpènes et les flavonoïdes (Özkan *et al.*, 2007). Dans la pharmacopée traditionnelle africaine, les plantes de la famille Lamiaceae sont utilisées comme diurétique, anti-diarrhéique, cicatrisante, antiseptique et dans le traitement de nombreuses affections telles que les problèmes intestinaux (Naghbi *et al.*, 2005).

Le genre *Salvia* se trouve à différents endroits de la péninsule arabique, de l'Afrique du Nord, du sud-ouest de l'Asie, des îles Canaries, pays de Sahel, du Soudan et de l'Éthiopie. Il pousse généralement sur des roches basaltiques, des sols sableux, des pentes basaltiques et calcaires ouvertes, bien adaptés pendant l'été à l'extrême ensoleillement et à la carence en eau (Will *et al.*, 2015). Pendant longtemps, les plantes du genre *Salvia* ont été utilisées à des fins alimentaires et en médecine populaire. La plupart des plantes du genre *Salvia* ont été trouvés qu'elles ont des activités antioxydantes, antimicrobiennes (Salah *et al.*, 2006; Ben Farhat *et al.*, 2013; Farjam *et al.*, 2014; Belkhiri *et al.*, 2017) anti-cancéreuses (Tohamy *et al.*, 2016) anti-Alzheimer (Abdel Kader, 2004) anti-diabétiques (Kasabri *et al.*, 2014; Mahdizadeh *et al.*, 2018) et anti-inflammatoires (Al-Yousuf *et al.*, 2002; Imanshahidi and Hosseinzadeh, 2006).

Tableau 2. Classification scientifique du genre *Salvia* (Saleem and Idris, 2016)

Royaume	Plantae
Sous Royaume	Tracheobionta
Super division	Spermatophyta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous Classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Salvia</i>

5.1. Saugé arabe; *S. aegyptiaca*

C'est une plante vivace ligneuse, de petite taille (06-20, voire 40 centimètres de haut), très rameuse et formant des micro-buissons très souvent mutilés par les herbivores. Jeunes tiges carrées, vertes. Feuilles opposées, étroites, dentées, ondulées sur les bords, dont la taille décroît rapidement vers le haut. Fleurs labiées, petites, blanches, plus ou moins tachées de bleu violacé, calice muni de poils courts et raides (Fig. 15) (Will *et al.*, 2015). L'espèce *S. aegyptiaca* est utilisée dans la phytothérapie traditionnelle. Par exemple, la plante entière ou ces graines sont utilisées comme des anti-diarrhée, anti gonorrhée, anti-hémorroïdes, antiseptique, antispasmodique et douleurs de l'estomac (Tohamy *et al.*, 2016). La plante est également utilisée dans les troubles nerveux, les vertiges et les tremblements et dans l'amélioration de la mémoire (Al-Yousuf *et al.*, 2002; Abdel Kader, 2004). Il a été rapporté que différents extraits de la plante entière ont une activité antioxydante (Mohammadi *et al.*, 2016), antibactérienne et antifongique (Pratima and Veenashri, 2017), antiangiogénique (Abdallah *et al.*, 2018) et antiinflammatoire (Al-Yousuf *et al.*, 2002).

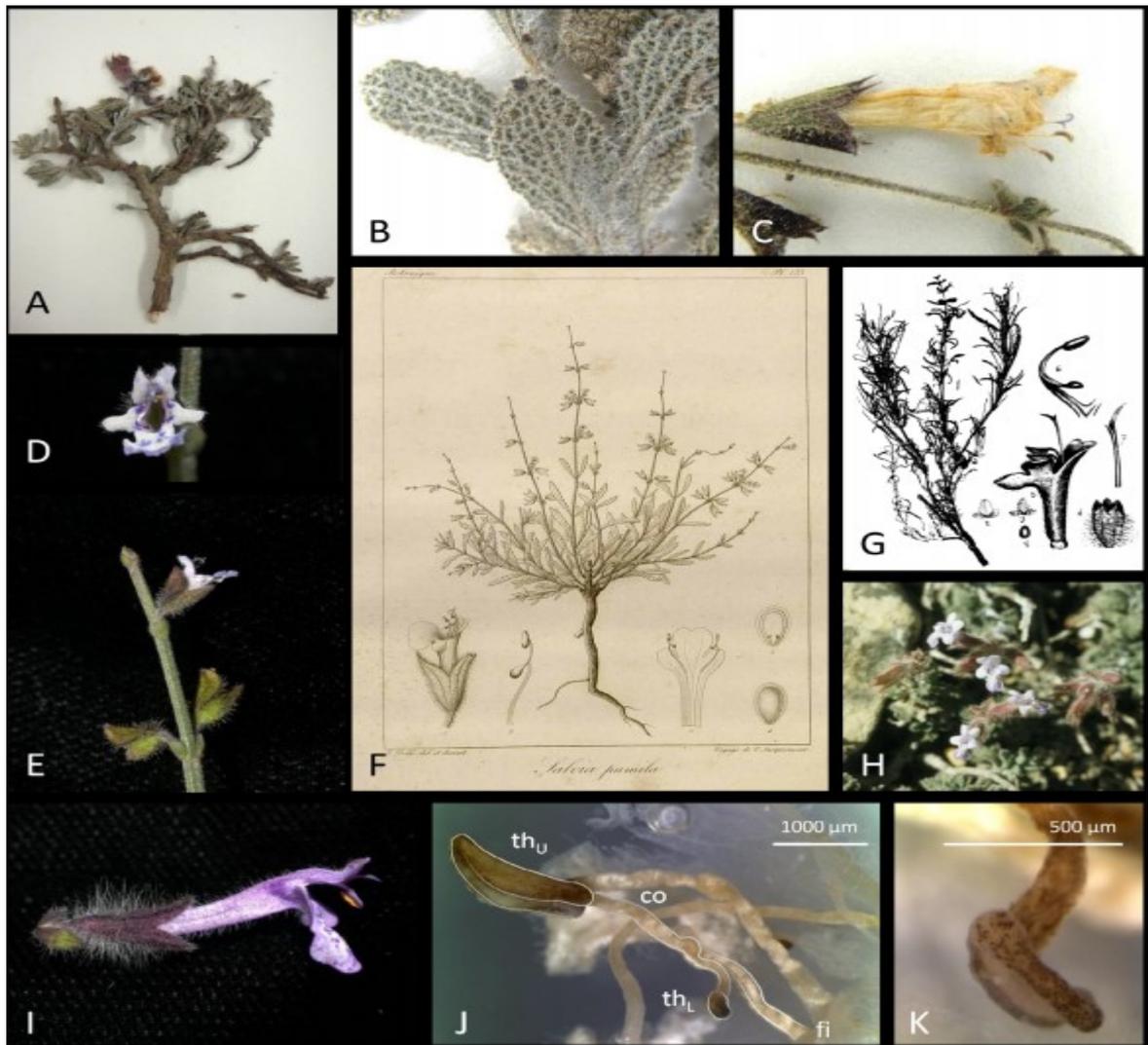


Figure 15. Morphologie de la plante *S. aegyptiaca*. (Will *et al.*, 2015)
A-B: Feuilles et tige; C-D-E-I-H: Fleurs

5.2. Saugé fausse-verveine; *S. verbenaca*

S. verbenaca (sauge verveine) a les caractéristiques communes de son genre. C'est un arbuste ou plante herbacée. Le calice bilabié est variable, à lèvre supérieure tridentée, l'inférieure bidentée. La corolle est bilabiée. Cette espèce se présente sous de nombreuses formes qui ont des caractères communs. La taille peut atteindre 53 cm. Les fleurs sont violet - bleues, parfois pâles et bleuâtres, pouvant s'épanouir, suivant les formes, ou suivant les régions. Les feuilles ont un limbe dont le contour est ovale-allongé et dont les bords sont fortement crénelés ou découpés en lobes ou encore profondément divisés et qui peuvent atteindre des fois 11.5 cm de longueur (Fig. 16) (Mossi *et al.*, 2011). L'espèce *S. verbenaca* est largement utilisée dans la médecine folklorique pour résoudre les cas de calculs rénaux, en mâchant les feuilles fraîches ou en décoction. La plante est également connue comme bactéricide contre les affections respiratoires, comme cicatrisant dans les plaies et

les ulcères, et surtout comme collyre, car les fruits ou les graines lorsqu'ils sont appliqués sur les yeux éliminent les impuretés ou les particules de poussière (Canzoneri *et al.*, 2011). De plus, cette plante est utilisée comme antiseptique, diurétique et ramollissant. Les feuilles fraîches écrasées ou hachées sont également appliquées en cataplasmes sur les plaies et les abcès vidés pour faciliter leur cicatrisation (Guaouguaou *et al.*, 2018b). Les extraits préparés de cette plante disposent de plusieurs activités biologiques comme l'activité antioxydante (Ben Farhat *et al.*, 2013), antibactérienne (Kostić *et al.*, 2015) anti hémolytique (Belkhiri *et al.*, 2017) et cytotoxique (Al-Zereini, 2017).



Figure 16. Morphologie de la plante *S. verbenaca*. <https://www.wikiwand.com/ast/>

5.3. Sauge argentée; *S. argentea*

S. argentea est une plante vivace avec une racine pivotante avec une couche externe épaisse de couleur brune foncée (Fig. 17). La tige est dressée et quadrangulaire. Les feuilles sont simples et différent entre ovale et oblong. Les bords sont irréguliers et dentés avec des nervures flasques. L'inflorescence est généralement une forme semblable à une cyme. La tige, les feuilles et les pétioles sont recouverts d'une couche velue (Hachem *et al.*, 2020). Les fleurs zygomorphes à la base des bractées sont positionnées 2-4, 6 dans chaque verticille. La lèvre supérieure du calice est

trident, et la lèvre inférieure est bidentée. La lèvre supérieure de la corolle bilabée est blanche, lilas pâle, fortement falciforme. La lèvre inférieure est de couleur crème. La stigmatisation est inégalement bifurquée et les étamines de type B. Les fruits sont de couleur brun clair, triangulaires, nucules mucilagineuses. Les graines ont un réticulaire surface à motifs et les bractées sont acuminées. La plante entière est recouverte d'une couche dense de poils, en certains cas glandulaires et dans d'autres non (Baran *et al.*, 2008). *S. argentea* est utilisée en médecine traditionnelle à des fins thérapeutiques, pour le traitement des maladies respiratoires. Dans le passé, les feuilles de *S. argentea* ont été utilisées contre les plaies, probablement comme hémostatique (Benabdesslem *et al.*, 2017). Cette plante est connue comme riche en huiles essentielles et fixes (Riccobono *et al.*, 2016) et les extraits préparés à partir des feuilles ou des racines sont dotés d'une activité antioxydante (Tehami *et al.*, 2016), antibactérienne et antifongique (Salah *et al.*, 2006; Stagos *et al.*, 2012) et antiproliférative (Janicsák *et al.*, 2011).

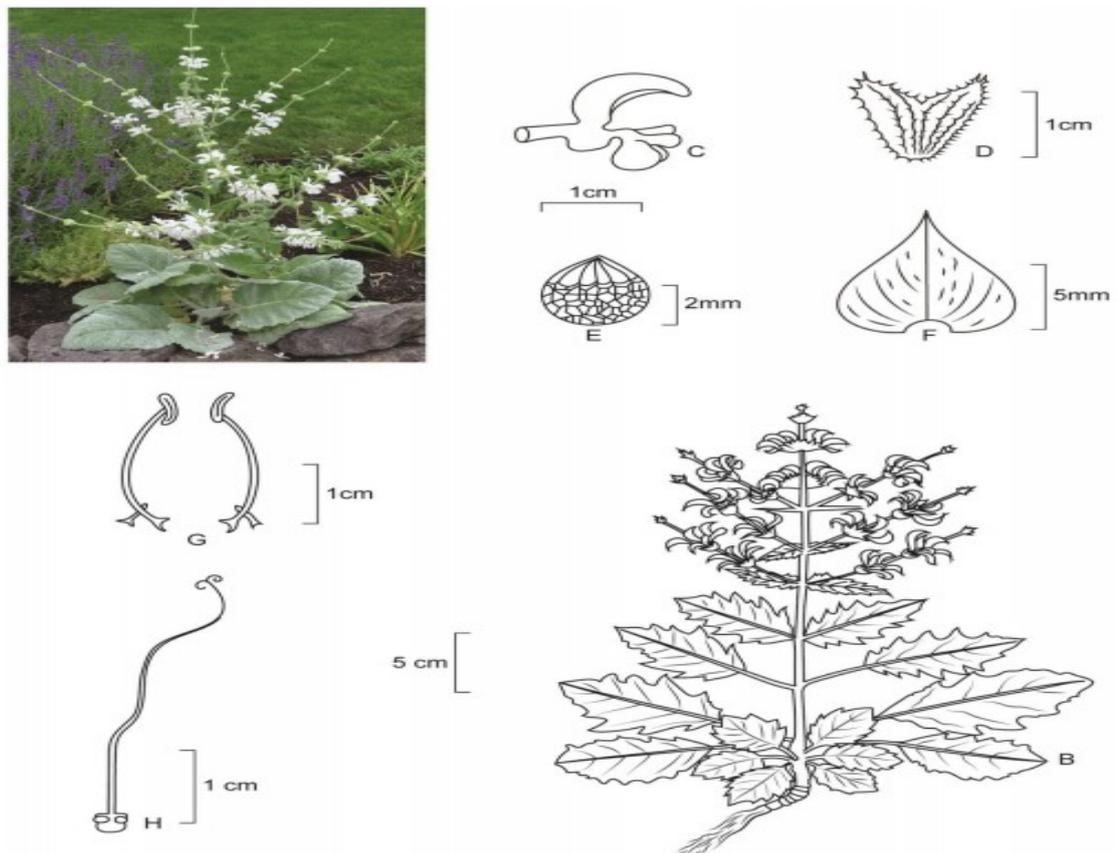


Figure 17. Morphologie de la plante *S. argentea* (Hachem *et al.*, 2020).
A-B: Vue globale; C: Corolle, D: Calice; E: Graine; F: Bractée; H-G: Etamine et pistil.

5.4. Saugé de l'Afrique du Nord; *S. barrelieri* Et

La *S. barrelieri* est une plante vivace que l'on trouve en Afrique du Nord, au Maroc, en Tunisie, en Algérie et dans le sud-ouest de l'Espagne, généralement entre 500 et 1200 mètres d'altitude. Elle atteint 1–2 mètres de haut, avec de grandes feuilles ondulées gris-vert (Fig. 18). L'inflorescence est un verticillée et peut atteindre près d'un mètre de haut, avec des fleurs de lavande claire ou bleu ciel qui fleurissent toutes en même temps (Clebsch and Barner, 2003). Cette plante est utilisée dans la médecine traditionnelle dans le traitement des troubles digestifs et les infections microbiennes (Lehbili *et al.*, 2018). *S. barrelieri* est connue également d'avoir plusieurs activités antioxydantes et antimicrobiennes (Kolak *et al.*, 2009; Senol *et al.*, 2016; Lehbili *et al.*, 2018)



Figure 18. Morphologie de la plante *S. barrelieri* Etl.
<http://plantillustrations.org/illustration.php>

Matériel et méthodes

II. Matériel et méthodes

1. Matériel

1.1. Animaux

L'étude *in vivo* a été réalisée sur des souris femelles, *Swiss albino* dont le poids varie entre 25 et 30 g et des rats femelles (Wistar) d'un poids qui varient entre 180 et 200 g, procurés auprès de l'Institut Pasteur d'Algérie, Kouba, Alger. Dès leur arrivée, les souris sont réparties selon le sexe dans des cages et maintenues dans des conditions de l'animalerie. Puis elles ont été soumises avant l'expérimentation à une période d'adaptation de 7 jours. Les animaux ont été habitués aux conditions de travail (entretien, alimentation, gavage, pesée, etc. ...).

1.2. Matériel végétal

La récolte des plantes médicinales *S. aegyptiaca*, *S. verbenaca*, *S. barrelieri* et *S. argentea* a été effectuée entre la période du mois de Mai et Juin e dans les régions des wilayas de Batna, Sétif, Jijel et Borj Bou Arreridj respectivement. Après la récolte, les plantes sont identifiées par Pr. Laouer H. (Université de Sétif 1). Le matériel végétal est débarrassé de débris. Pour s'assurer de la bonne conservation des plantes, un séchage à l'air libre et à l'obscurité pendant une dizaine de jours a été réalisé. Il est, ensuite, broyé par un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine et conservé dans des sacs propres.

2. Méthodes

2.1. Préparation des extraits

2.1.1. Préparation des extraits méthanoliques

Les extraits méthanoliques sont préparés par macération de la poudre végétale à température ambiante dans le méthanol à 85% à raison de 15/100 (P/V) pendant 7 jours.

150 g de poudre végétal ont été repris avec 1L de méthanol 85%. Le mélange a été macérée pendant 7 jours à la température du laboratoire et à l'obscurité avec agitation chaque jour. Après filtration sur la mousseline et papier filtre, le filtrat est concentré au rota vapeur de type *BUCHI* sous vide à une température de 40°C. Les extraits obtenus ont par la suite complètement séché à l'étuve à 37 °C (Markham, 1982).

2.1.2. Préparations des extraits aqueux

Les extraits aqueux sont préparés par décoction de la poudre végétale dans l'eau distillée selon Perera *et al.* (2008). 30 g de poudre végétale ont été repris avec 1L d'eau distillée. Le mélange est placé sur plaque chauffante et laissé bouillir jusqu'à la réduction du volume de la solution au 1/8^{ème} du volume initial. Après filtration sur la mousseline et papier filtre, le filtrat est complètement séché dans l'étuve à 37 °C.

2.2. Criblage des composés phytochimiques

2.2.1. Dosage des composés phénoliques

La teneur en composés phénoliques de l'extrait est estimée utilisant la méthode de Folin Ciocalteu (Li *et al.*, 2007). Cette méthode est basée sur la réduction en milieu alcalin de la phosphotungstique (WO_4^{2-}) phosphomolybdique (MoO_4^{2-}) du réactif de Folin Ciocalteu par les groupements oxydables des composés phénoliques, conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleue avec un maximum d'absorption à 765 nm.

Un volume de 500 μ l de réactif de Folin Ciocalteu est ajouté à 100 μ l d'extrait ou standard (préparé dans le méthanol ou dans l'eau distillée) avec des dilutions convenables. Après 4 min, 400 μ l d'une solution de carbonate de sodium (75 mg/ml) sont additionnés au milieu réactionnel. Après 2 h d'incubation à température ambiante et dans l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 765 nm. La teneur en polyphénols totaux est estimée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage ($Y = 0.0266X + 0.011$, $R^2 = 0.99$) établie avec l'acide gallique (0-180 μ g/ml) et est exprimée en μ g d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (μ g EAG/mg d'extrait).

2.2.2. Dosage des flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium (Bahorun *et al.*, 1996) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans l'extrait. La méthode consiste à ajouter 500 μ l d'extrait ou standard à 500 μ l de la solution d' $AlCl_3$ (2% dans le méthanol). Après 10 minutes de réaction, l'absorbance est lue à 430 nm. La teneur en flavonoïdes est déduite à partir d'une droite d'étalonnage ($Y = 0.0342X + 0.0114$, $R^2 = 0.98$) établie avec la quercétine (0-40 μ g/ml) et exprimée en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait (μ g EQ/mg d'extrait).

2.2.3. Dosage des tannins

La teneur totale des tannins est déterminée par la précipitation de l'hémoglobine d'un échantillon de sang frais des bovins correspond à une absorbance de 1.6 sur le spectrophotomètre à 576 nm. Un volume de 500 μ l d'extrait ou d'acide tannique est ajouté à 500 μ l de sang. L'ensemble est incubé à une température ambiante pendant 20 minutes. Le mélange est centrifugé à 4000 tours/min pendant 10 minutes. L'absorbance du surnageant est lue à 576 nm contre le blanc. La concentration des tannins dans l'extrait est déterminée à partir de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide tannique ($Y = -0.9924X + 1.0214$, $R^2 = 0.995$) (Gharzouli *et al.*, 1999b).

2.2.4. Dosages des chlorophylles totaux et caroténoïdes

Ce test est réalisé comme suit: 1 mg d'extrait a été dissous dans 1 ml d'eau distillée. L'absorbance a été mesurée par un spectrophotomètre à différentes longueurs d'ondes (450 nm, 645 nm, 663 nm). Les résultats sont exprimés en microgramme par millilitre (μ g/ml) (Lichtenthaler and Wellburn, 1983)

Chlorophylle a = $12.7 * A_{663} - 2.69 * A_{645}$.

Chlorophylle b = $22.9 * A_{645} - 4.68 * A_{663}$.

Chlorophylle totaux = $20.2 * A_{645} + 8.02 * A_{663}$.

Caroténoïdes totaux = $4.07 * A_{450} - [(0.0435 * \text{Chlorophylle a}) + (0.367 * \text{Chlorophylle b})]$.

2.3. Analyse HPLC-QTOF MS/MS

L'analyse chromatographique des extraits de *Salvia* est réalisée par HPLC-QTOF-MSMS. Un chromatographe Agilent série 3000 infinity (Agilent technologies, Santa Clara, CA, USA), couplé à un spectromètre de masse Dionex thermoscientific ultimate 3000 (QTOF/MSMS), avec une colonne de type Agilent Poroshell 120 EC-C18 (3.0 x 50 mm, 2.7 µm) est utilisé.

La phase mobile consiste en un mélange de deux solvant A (eau déminéralisée) et B (méthanol) selon le gradient suivant: 0-10 min 100% A, 10-15 min 10% A et 90% B, 15-20 min 100% B. Les extraits (500 µg) sont solubilisés dans le méthanol ou l'eau déminéralisée puis filtrés à travers un filtre PTFE (0.45 µm). Le volume injecté est de 10 µl. Le débit du solvant est de 0.5 ml/min et la température de la colonne est de 30°C. Le mode d'ionisation de l'instrument HPLC-QTOF/MSMS est négatif (détecteur MCP multiplage) et fonctionne avec une température du gaz d'azote de 200°C, un débit d'azote gazeux est de 8.0 mL/min, un nébuliseur de 40 psi, un voltage capillaire de 4500 V avec identification H⁻.

2.4. Evaluation de l'activité antioxydante *in vitro*

2.4.1. Test de réduction du radical DPPH

L'activité anti-radicalaire des différents extraits est déterminée en utilisant le diphenyl picrylhydrazyl (DPPH) comme un radical libre relativement stable selon le protocole décrit par Shekhar and Anju (2014). Dans ce test, les antioxydants réduisent DPPH le ayant une couleur violette en un composé jaune. La solution du DPPH est préparée par solubilisation de 4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol. Ensuite, dans des microplaques de 96 puits, 40 µl des solutions d'extrait ou standards (butylated hydroxytoluene: BHT) sont ajoutés à 160 µl de DPPH, le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min et la décoloration par rapport au contrôle négatif contenant uniquement la solution de DPPH est mesurée à 517 nm. L'activité anti-radicalaire est estimée selon l'équation ci-dessous:

$$\% \text{ d'activité anti-radicalaire} = (\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}) \times 100 / \text{Abs contrôle}$$

2.4.2. Test de réduction du radical ABTS

L'analyse spectrophotométrique de l'ABTS^{•+} a été déterminée selon la méthode de Re *et al.* (1999). Le radical ABTS^{•+} a été produit par la réaction entre d'ABTS 7 mM dans H₂O et de persulfate de potassium 2.45 mM, le mélange a été stocké à l'obscurité à température ambiante pendant 12 h.

L'oxydation d'ABTS a commencé immédiatement mais l'absorbance n'était pas stable avant 6 h de temps. Avant l'utilisation du radical ABTS^{•+}, la solution a été diluée par l'éthanol jusqu'à l'obtention d'une absorbance de 0.708 ± 0.025 à 734 nm. Ensuite, 160 µl de la solution d'ABTS^{•+} a été ajoutés à 40 µl de la solution de l'extrait dans l'éthanol à différentes concentrations. Après 10 min, l'absorbance a été mesurée à 734 nm, en utilisant un lecteur de microplaques de 96 puits. La capacité de piégeage de l'ABTS^{•+} a été calculée selon la réaction suivante :

$$\% \text{ d'activité anti-radicalaire} = (\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}) \times 100 / \text{Abs contrôle}$$

2.4.3. Test du superoxyde DMSO alcalin

Le pouvoir réducteur de l'extrait des plantes à capturer l'anion superoxyde (O₂^{•-}), empêchera la réduction du nitro blue tetrazolium (NBT²⁺) en formazan rouge. La génération de ce radical anionique stable dans un système non enzymatique est favorisée par l'alcalinisation du DMSO. Les absorbances obtenues permettent de calculer un pourcentage de réduction du NBT²⁺ (Kunchandy and Rao, 1990). Brièvement, dans une microplaque de 96 puits, le mélange réactionnel contient 40 µl d'extrait de plante ou du standard, 130 µl du DMSO alcalin (20 mg de NaOH dans 100 ml de DMSO) et 30 µl du NBT (1mg/ml). L'absorbance est mesurée à 560 nm après 5 minutes d'incubation. L'activité des échantillons vis-à-vis de l'anion superoxyde est exprimée en pourcentage de chélation selon l'équation de Rahman *et al.* (2013) :

$$\% \text{ d'activité de chélation} = (\text{Abs échantillon} - \text{Abs contrôle}) \times 100 / \text{Abs échantillon}$$

2.4.4. Test du blanchissement de la β-carotène

La capacité antioxydante est déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydative du β-carotène qui se traduit par sa décoloration par les produits d'oxydation de l'acide linoléique. Les radicaux peroxydes générés par l'oxydation de l'acide linoléique, vont par la suite oxyder le β-carotène entraînant ainsi la disparition de sa couleur rouge. Cependant, la présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc prévenir l'oxydation et le blanchissement de β-carotène (Kartal *et al.*, 2007).

Une émulsion β-carotène/acide linoléique préparée par la solubilisation de 2 mg de β-carotène dans 1 ml de chloroforme, a été ajoutée à 25 µl d'acide linoléique et 200 mg de tween 40. Après évaporation complète du chloroforme au rotavapeur BUCHI, 100 ml d'eau saturée en oxygène sont ajoutés. L'émulsion résultante est vigoureusement agitée. Dans des tubes à essai

contenants 2.5 ml du mélange précédant, 350 µl d'extrait sont additionnés puis incubés à l'obscurité à la température du laboratoire. Deux tubes contrôles ont été aussi préparés avec la même procédure: l'un contenant un antioxydant de référence BHT (témoin positif) et l'autre sans antioxydant (témoin négatif) où l'échantillon est remplacé par 350 µl de méthanol ou de l'eau distillée. La cinétique de décoloration de l'émulsion en présence et en absence de l'antioxydant est suivie à 470 nm à des intervalles de temps réguliers pendant 48 heures. L'activité antioxydante des extraits (AA %) est calculée selon l'équation suivante:

$$AA \% = AA = [1 - (AbsS0 - AbsSt) / (AbsC0 - AbsCt)] * 100.$$

2.4.5. Test de chélation du fer (ferrozine)

La capacité chélatrice de métaux par les extraits a été mesurée en suivant l'inhibition de la formation du complexe Fe^{2+} -Ferrozine après incubation des échantillons, à différentes concentrations, avec le fer divalent selon la méthode de Decker and Welch (1990). Initialement 40 µl des solutions d'échantillons ont été mélangées avec 40 µl de $FeCl_2$ (0.2 mM dans l'eau distillée) et 40 µl de méthanol. Après 5 min, la réaction est initiée par l'addition de 80 µl de Ferrozine (0.5 mM) au milieu réactionnel, le mélange a été bien agité puis laissé réagir pendant 10 min. permettant ainsi la formation de complexe avec une couleur violet (Fe^{2+} -Ferrozine) ayant un maximum d'absorption à 562 nm. Par ailleurs, le contrôle négatif contient tous les réactifs à l'exception des extraits. L'éthylène diamine tétra acétique (EDTA) a été utilisé comme chélateur de référence. L'activité des échantillons vis-à-vis du fer est exprimée en pourcentage de chélation selon l'équation :

$$\% \text{ d'activité de chélation} = (Abs \text{ contrôle} - Abs \text{ échantillon}) \times 100 / Abs \text{ contrôle}$$

2.4.6. Test du pouvoir réducteur du $FeCl_3$

L'activité du pouvoir réducteur des extraits de plante est déterminée par la méthode d'Oyaizu (1986) avec une légère modification. Dans une microplaque de 96 puits, 10 µl d'extrait ou de standard est ajouté à 40 µl du tampon phosphate (0.2 M, pH 6.6) et 50 µl potassium ferricyanide (1%). Le mélange est incubé à 50°C pendant 20 minutes. 50 µl d'acide tri-chloro acétique (TCA) (10%) sont ajoutés pour stopper la réaction. Après, 40 µl d'eau distillée et 10 µl du $FeCl_3$ (0.1%) sont ajoutés au milieu réactionnel. L'absorbance est mesurée directement à 700 nm. Le pouvoir réducteur augmente avec l'augmentation de l'absorbance.

2.4.7. Test du pouvoir réducteur (méthode du phénanthroline)

L'estimation du pouvoir réducteur des extraits en utilisant la méthode de phénanthroline est déterminé selon la technique de Szydłowska-Czerniak *et al.* (2008). Brièvement, dans une microplaque de 96 puits, le milieu réactionnel est composé de 10 µl d'extrait, 50 µl du $FeCl_3$ (0.2%), 30 µl du 1.10-Phenanthroline (0.5%) et 110 µl de méthanol. Le mélange est incubé à

l'obscurité pendant 20 min à 30°C puis les absorbances sont mesurées à 510 nm. Le BHT est utilisé comme standard

2.4.8. Test de la réduction cuprique (CUPRAC)

L'activité antioxydante par réduction cuprique des extraits a été déterminée par la méthode CUPRAC (Apak *et al.*, 2004). Pour chaque unité d'une plaque de 96 unités des solutions ont été ajoutées: 50 µl de Cu(II) (10 mM), 50 µl de neocuproïne (7.5 mM), 60 µl de tampon NH₄Ac (1 M, pH = 7), et 40 µl de l'extrait à différentes concentrations. Après une heure du temps et à l'aide d'un lecteur de microplaques, l'absorbance a été enregistrée contre un blanc à 450 nm. Le pouvoir antiradicalaire A₅₀ est définie comme la concentration de l'extrait à donner une absorbance égale à 0.5.

2.5. Evaluation de l'activité anti enzymatique *in vitro*

2.5.1. Inhibition du cholinestérase

Les activités inhibitrices de l'acétylcholinestérase (AChE) et la butyrylcholinestérase (BChE) sont mesurées selon la méthode spectrophotométrique d'Ellman *et al.* (1961) avec quelques modifications. Les enzymes AChE et BChE de sérum de cheval ont été utilisés, tandis que l'iodure d'acétylthiocholine et le chlorure butyrylthiocholine ont été utilisés comme substrats de la réaction (AChE et BChE respectivement) avec l'acide 5,5'-dithio-bis 2-nitrobenzoïque (DTNB), pour la mesure de l'activité anticholinestérase. Brièvement, pour mesurer l'activité inhibitrice AChE, un mélange de 130 µl du tampon de phosphate de sodium (0.1 M, pH = 8), 10 µl de l'extrait à différentes concentrations et 20 µl de l'enzyme AChE (5.32 x 10⁻³ U) ont été incubés pendant 15 min à 25°C, puis 20 µl de DTNB (0.5 mM) sont ajoutés au milieu réactionnel. La réaction est ensuite initiée par l'addition de 20 µl d'iodure d'acétylthiocholine (0.71 mM). L'analyse de l'activité inhibitrice de la BChE a été déterminée suivant les mêmes étapes de celles de l'AChE, en utilisant l'enzyme BChE (6.85 x 10⁻³ U) et le substrat chlorure butyrylthiocholine (0.2 mM). L'absorbance est mesurée à l'aide d'un lecteur de microplaque à une longueur d'onde de 412 nm. La galantamine a été utilisée comme composé de référence.

Le pourcentage d'inhibition des enzymes AChE ou BChE à l'aide de la formule suivante:

$$\% \text{ d'activité inhibitrice} = \frac{(\text{Abs de l'enzyme sans échantillon} - \text{Abs de l'enzyme avec échantillon}) \times 100}{\text{Abs de l'enzyme sans échantillon}}$$

2.5.2. Inhibition de l'alpha-glucosidase

L'inhibition de l'alpha-glucosidase est déterminée selon la méthode de Lordan *et al.* (2013). Dans une microplaque de 96 puits, 50 µl de *p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (5 mM préparé dans le tampon phosphate 0.1 M, pH 6.9) sont ajoutés au 50 µl de solution test et 100 µl de tampon phosphate contenant 0.1 U/ml de l'enzyme. Le mélange est incubé à 37°C pendant 30 minutes et

l'absorbance est mesurée à 405 nm. Le pourcentage d'activité enzymatique est calculé selon l'équation :

$$\% \text{ Activité} = \text{Abs échantillon} / \text{Abs control} \times 100$$

2.5.3. Inhibition de l'alpha-amylase

L'inhibition de l'alpha-amylase par les extraits est déterminée selon Gokhan *et al.* (2014) avec quelques modifications. Le milieu réactionnel contient 25 µl d'extrait et 50 µl de la solution α amylase 1U dans NaCl 6 mM, pH 6.9, le mélange est incubé pendant 10 min à 37 °C. Après, 50 µl d'amidon 0.1% sont ajoutés et le mélange est mis à une deuxième incubation pendant 10 min à 37 °C. 25µl HCl (1M) sont ajoutés pour stopper la réaction suivie par l'addition de 100 µl d'iode de potassium (IKI, 5 mM iode dans 3% KI). Les absorbances sont prises à 630 nm à l'aide d'un lecteur de microplaque. L'acarbose (1 mg/ml) est utilisé comme standard. Le pourcentage d'inhibition enzymatique est calculé selon l'équation :

$$\% \text{ Inhibition} = (\text{Abs échantillon}) - \text{Abs de controle} / \text{Abs (amidon+IKI)} - \text{Abs de controle} \times 100$$

2.6. Activité anti glycation

La persistance de l'hyper glycémie chez les patients diabétiques induit des complications graves incluant la néphropathie, la rétinopathie, la neuropathie et l'athérosclérose. Ces complications sont médiées par la formation des glycotoxine issue de la glycation (AGE : advanced glycation end products). Ces derniers sont des composés hétérogènes synthétisés non enzymatiquement et oxydés suite à leurs réactions avec les sucres réduits et qui peuvent modifier les protéines, les lipides et les acides nucléiques. Pour tester l'activité antiglycation des extraits en étude, la méthode de dosage des AGE fluorescents médiés par le fructose est appliquée (Matsuda *et al.*, 2003). Brièvement, dans une microplaque de 96 puits, une quantité d'extrait de plante dissous dans le DMSO (2 mg/ml) est mélangée avec l'albumine de sérum humain (10 mg/ml), le fructose 0.5 M et le tampon phosphate 0.1 M (pH 7.4) contenant 0.1 M d'azide de sodium comme agent antibiotique. Le mélange réactionnel est incubé pendant 7 jours à 37°C. Après, la fluorescence est mesurée à 330 - 440 nm en utilisant un lecteur microplaque (SpectraMax M2, Molecular Devices, USA). La rutine est utilisée comme standard. Le pourcentage d'inhibition est calculé comme suit :

$$\% \text{ Inhibition} = (1 - \text{fluorescence échantillon} / \text{fluorescence contrôle}) \times 100$$

L'extrait qui présente une activité supérieure à 50% est ensuite testé de nouveaux pour calculer l'IC₅₀ en utilisant cette fois un logiciel Ez-fit software (Perrella Scientific, USA).

2.7. Activité anti-inflammatoire (flambé oxydative)

Le test de chimiluminescence médiée par le luminol est effectué selon la méthode décrite par Helfand *et al.* (1982). Brièvement, dans une microplaque de surface blanche (Costar, NY, USA)

25 µl de sang humain dilué dans le milieu HBSS⁺⁺ (milieu Hanks contenant MgCl₂ et CaCl₂) sont incubés avec 25 µl de différentes concentrations des solutions tests. Le mélange réactionnel est incubé dans une chambre de luminomètre thermostat (Labsystems, Helsinki, Finland) à 37°C pendant 15 min. Après l'incubation, 25 µl du sérum zymosan opsonisé et 25 µl du détecteur des ROS intracellulaire (Luminol) sont ajoutés dans chaque puits sauf le blanc contenant uniquement HBSS⁺⁺. Les différents niveaux des ROS générées dans les cellules sont suivis en utilisant le luminomètre en termes d'unité relative de lumière pendant 50 min. l'Ibuprofène est utilisé comme anti-inflammatoire standard.

2.8. Test de cytotoxicité

L'activité cytotoxique des différents extraits de plantes est évaluée dans des microplaques de 96 puits à fond plat en utilisant le test colorimétrique via le standard MTT (3-[4, 5-dimethylthiazole-2-yl]-2, 5-diphenyl-tetrazolium bromide) (Mosmann, 1983). Pour cela des cellules 3T3 et HeLa (cellules fibroblastes des souris et cellules cancéreuses cervicales humaines respectivement) cultivées dans le milieu modifié (Dulbecco Eagle) avec 5% du sérum fœtal bovin, 100 IU/ml de pénicilline et 100 µg/ml de streptomycine dans un flacon de 75 cm², et gardés dans un incubateur à 5% de CO₂ et 37°C. Les cellules cultivées sont collectées, calculées en utilisant un haemocytomètre, diluées par leur propre milieu en 5x10⁴ cellules/ml et mises dans des microplaques en raison de 100 µl pour chaque puit. Après une nuit d'incubation, le milieu dans les puits est éliminé et remplacé par 200 µl de milieu frais contenant différentes concentration d'extraits de plantes. Après 48 heures, 200 µl du MTT (0.5 mg/ml) sont ajoutés pour chaque puits et incubés encor pour 4 heures. La réaction est terminée par l'addition de 100 µl de DMSO. Le taux de réduction de MTT en formazan est suivi spectrophotométriquement à 570 nm en utilisant un lecteur de microplaque (Spectra Max plus, Molecular Devices, CA, USA). La cytotoxicité est calculée via la formule suivante :

$$\% \text{ inhibition} = 100 - \left(\frac{\text{moyenne Abs solution test} - \text{moyenne Abs solution contrôle négatif}}{\text{moyenne Abs solution contrôle positif} - \text{moyenne Abs solution contrôle négatif}} \right) * 100.$$

Les résultats (% inhibition) sont calculés en utilisant un logiciel Soft- Max Pro software (Molecular Device, USA).

2.9. Test limite de toxicité aiguë

Le test de la toxicité orale aiguë de extraits est réalisé sur des souris femelles selon les recommandations de l'organisation de coopération et du développement économique (OCDE), lignes directrices 425 (WHO). Les souris sont mises à jeûne avec un accès libre à l'eau, ensuite chaque souris est pesée. Pour chaque extrait, une seule dose (2000 mg/kg) est administrée par voie orale au premier animal. L'animal est encore mis à jeûne pour 2 heures après l'administration de

l'extrait. Les animaux sont observés individuellement, au moins une fois au cours des 30 premières minutes suivant l'administration du produit et régulièrement durant les premières 24 heures (avec une attention particulière pendant les 4 premières heures). Si l'animal survécu, deux autres animaux sont traités de la même façon. L'observation continue quotidiennement par la suite, la période d'observation totalisant 14 jours, avec la pesée de l'animale chaque semaine. Après, les souris sont sacrifiées et les organes sont pesés et examinés. Le même test précédent est réalisé en utilisant une dose de 5000 mg/kg.

2.10. Vidange gastrique et transit intestinal

Des souris des deux sexes, ayant un poids moyen de 30 g sont utilisées. 18 à 20 heures avant l'expérience, les animaux sont privés de la nourriture; l'eau reste à leur disposition jusqu'à 60 min avant l'expérimentation. Au cours de la période de jeûne, les animaux sont placés individuellement dans des cages à fond grillagé pour éviter la coprophagie.

La vidange gastrique est mesurée selon la méthode décrite par Amira *et al.* (2005). Les animaux sont traités par le gavage de 0.125 ml/25g (100, 200 et 400 mg/kg) de solution test de l'extrait de plante avant l'administration du repas d'essai. Ce repas non nutritif est composé de rouge phénol 0.1% (un indicateur coloré non absorbable) dissoute dans la cellulose carboxyméthylque 1.5% (CMC).

L'atropine administré par voie intra péritoniale est utilisé comme contrôle positif. Une heure après l'administration de l'extrait, 0.2 ml du repas est administré par gavage et 20 minutes plus tard, les animaux sont sacrifiés par dislocation cervicale. Les animaux témoins reçoivent une dose équivalente de CMC. Après laparotomie, l'estomac est immédiatement ligaturé au niveau du pylore et du cardia pour conserver la totalité du contenu stomacal. L'estomac et la totalité de l'intestin grêle (du pylore jusqu'à la jonction iléo-cæcale) sont excisés et prélevés. L'estomac est homogénéisé avec son contenu dans NaOH 0.1N (Ultra-Turrax T 25, IKA, Germany). Après une heure d'attente à la température ambiante, un volume de surnageant est ajouté à l'acide trichloracétique 33 % pour précipiter les protéines. Le mélange est centrifugé à 3000 rpm pendant 30 minutes à 4°C (Rotina 35R, Hettich, Germany). Un volume du surnageant est mélangé à NaOH 2N pour lire sa densité optique à 560 nm (Shimadzu UV-1602, Japon).

Les animaux de référence qui représentent 0% de la vidange gastrique reçoivent 0.125 ml/25 g d'une solution de CMC une heure avant l'administration du repas pour être sacrifiés immédiatement. L'estomac des animaux est traité de la même manière que décrite plus haut. Le pourcentage de la vidange gastrique est calculé selon la formule suivante:

$$\text{Vidange gastrique (\%)} = (\text{Abs référence} - \text{Abs échantillon}) \times 100 / \text{Abs référence}$$

Le pourcentage du transit intestinal est exprimé par le rapport entre la distance parcourue par le rouge phénol et la longueur totale de l'intestin.

L'intestin grêle est placé sur du papier filtre humidifié avec de solution saline et débarrassé des attaches méésentériques. Sa longueur totale ainsi que la distance parcourue par le rouge phénol sont mesurées sur une règle. Pour confirmer la position exacte de la progression du repas, quelques gouttes de NaOH 0.1N sont ajoutées au front du contenu intestinal.

Après avoir déterminé les doses les plus efficaces de l'extrait sur le taux de la vidange gastrique et le passage intestinal, une autre série d'expériences a été appliquée en utilisant la dose choisie (400 mg/kg) avec l'atropine (1 mg/kg, ip, inhibiteur des récepteurs muscarinique), le L-NNA (30 mg/kg, sc, inhibiteur de NOS) et le L-Arg (300 mg/kg, vo, donneur du NO) afin d'évaluer une interférence possible de l'extrait avec les neurotransmetteurs qui contrôlent la motilité gastro-intestinale. Les substances pharmacologiques utilisées sont administrées juste avant le gavage des extraits de plante en test.

2.11. Ulcère gastrique induit par l'éthanol

L'induction des lésions gastriques par l'éthanol se fait par administration orale de l'agent ulcérogène (éthanol 100%) une heure après l'administration de solutions test (Gharzouli *et al.*, 1999a). L'extrait des plantes à des doses de 100, 200 et 400 mg/kg (dissout dans le CMC 1.5%) est administré par voie orale une heure avant le gavage de 0.5 ml d'éthanol. Les rats du groupe contrôle négatif reçoit le CMC 1.5% par la même voie en plus de l'administration orale de l'éthanol mais ceux du control positif reçoivent l'oméprazole 5 mg/kg en plus de l'administration orale de l'éthanol. Trente minutes plus tard, les rats sont sacrifiés par dislocation cervicale. Après une laparotomie ventro-médiane, l'estomac est excisé, puis ouvert selon la grande courbure et lavé avec l'eau et étalé sur une plaque pour déterminer la surface des lésions en utilisant un logiciel Image J 1.52o (Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA).

2.11.1. Dosage du mucus total dans l'estomac

Le contenu de l'estomac en mucus est déterminé en utilisant la méthode du bleu alcian décrite par Corne *et al.* (1974). Ce colorant cationique se lie aux glycoprotéines et transforme les mucopolysaccharides en un complexe insoluble sans pénétrer dans les cellules mucosales. Chaque portion de la partie glandulaire de l'estomac est immergée dans une solution de bleu d'alcian 0.1%. Après deux heures d'incubation, l'excès du colorant est éliminé par deux lavages successifs avec le sucrose pour 10 minutes et 45 minutes respectivement. La partie glandulaire colorée est ensuite transférée dans le chlorure du magnésium et laissée sous agitation pendant 2 heures. Un volume de l'extrait bleu est mélangé avec un volume égal de l'éther di-éthylique, pour but de solubiliser toute particule afin de ne pas interférer avec la lecture spectrophotométrique prise à 605 nm. La

teneur du mucus total est calculée en utilisant une droite d'étalonnage préparé à partir de plusieurs concentrations du bleu alcian. Les concentrations sont exprimées en μg de bleu alcian/g de tissu.

2.11.2. Préparation de l'homogénat

Après le sacrifice, une partie de la partie glandulaire de l'estomac est pesée et homogénéisée dans un tampon Tris-HCl 50 mM (pH 7.4) à l'aide d'un homogénéisateur afin d'obtenir un homogénat de 10% (m/v). L'homogénat est centrifugé à 4000 g à 4°C pendant 15 min, le surnageant est récupéré et conservé à -20°C jusqu'à son utilisation pour les paramètres suivants : estimation de la teneur des protéines totaux, peroxydation lipidique (MDA), GSH et l'activité de la CAT.

2.11.3. Dosage des protéines totales gastriques

La teneur en protéines totales gastriques est déterminée selon la méthode de Gornall *et al.* (1949) en utilisant un kit de réactif de Biuret (iodure de potassium, tartrate sodico-potassique, sulfate de cuivre et l'hydroxyle de sodium). Brièvement, 25 μl d'homogénat de tissu ou de standard (albumine du sérum bovin) sont ajoutés à 1 ml de réactif de Biuret, le mélange est incubé à l'obscurité à température du laboratoire pendant 10 minutes, puis l'absorbance est mesurée à 540 nm. La concentration des protéines totales est calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Protéines totales (mg/ml)} = (\text{Abs essai/Abs standard}) \times n \quad (n : \text{concentration du standard})$$

2.11.4. Estimation de la peroxydation lipidique

L'estimation de la peroxydation des lipides tissulaires gastriques est évaluée par le dosage de la teneur de malnoldiadehyde (MDA) formé selon la méthode décrite par Ohkawa *et al.* (1979). Le principe de cette réaction consiste à la réaction du MDA avec l'acide thiobarbiturique (TBA) dans un milieu acide à haute température (100°C) pour former un complexe rose de MDA-(TBA)₂. Brièvement, 0.5 ml de TCA 20% est ajouté à 0.5 ml de l'homogénat tissulaire et 1 ml de TBA (0.067%). Le mélange est incubé pendant 15 minutes à 100°C, refroidie rapidement dans un bain de glace suivie par l'addition de 4 ml du n-butanol, une centrifugation pendant 15 minutes à 3000 rpm est appliquée. L'absorbance de la partie claire du surnageant est mesurée contre le blanc. La concentration du MDA est calculée en utilisant le coefficient d'absorption moléculaire (ϵ MDA-TBA : 156 $\text{mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$). Les résultats sont exprimés en nmole de MDA/g de tissu.

2.11.5. Dosage du glutathion réduit

La teneur en glutathion réduit (GSH) est mesurée selon la technique d'Ellman (1959). L'essai consiste à l'oxydation de GSH par le 5,5'-dithio-bis (acide 2-nitrobenzoïque) (DTNB) (réactif d'Ellman). Le DTNB et le GSH réagissent pour générer l'acide 2-nitro-5-thiobenzoïque (TNB) qui à une couleur intense et absorbe fortement à 412 nm. Brièvement, 50 μl de l'homogénat tissulaire est dilué dans 10 ml du tampon phosphate (0.1 M, pH 8). 3 ml de la solution d'homogénat

dilué est mélangé avec 20 μl de DTNB (0.01 M) et les absorbances sont prises après 5 minutes d'incubation. La concentration du MDA est calculée en utilisant le coefficient d'absorption moléculaire (ϵ NBT : $13.6 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$). Les résultats sont exprimés en nmole de GSH/g de tissu.

2.11.6. Estimation de l'activité de la catalase

L'activité de la catalase est mesurée selon la méthode décrite par Clairbone (1985) avec quelques modifications. Le principe de ce test est basé sur la dégradation du peroxyde d'hydrogène dans la présence de catalase. Une solution de 19 mM H_2O_2 (2,9 ml) dans un tampon phosphate (50 mM pH 7,4) a été mise dans une cuve en quartz, 50 μl d'homogénat de tissu sont ajoutés. Le taux de décomposition de H_2O_2 en présence de CAT est suivi par spectrophotométrie à 240 nm immédiatement et à chaque 15 secondes pendant 1 minute, l'activité enzymatique est exprimée en nmole H_2O_2 /min/ mg.

3. Analyses Statistiques

Tous les échantillons ont été dosés trois fois (*in vitro*), alors que pour les tests *in vivo* un nombre de 6 à 9 animaux est utilisé. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm SD ou SEM pour les tests *in vitro* ou *in vivo* respectivement et analysés par une analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA) suivie d'un test de Tukey à l'aide de GraphPad Prism version 8.0.2 (GraphPad Software, Inc., USA). L'analyse bidirectionnel ANOVA est utilisée pour analyser les résultats du mécanisme du transit et la vidange gastrique. Les valeurs $P < 0,05$ ou moins ont été considérées comme significativement différentes.

Résultats

III. Résultats

1. Criblage des composés phytochimiques

Le dosage des polyphénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu et la détermination quantitative des flavonoïdes totaux par la méthode de l' AlCl_3 ont montré, d'une part, que les extraits méthanoliques des différentes plantes utilisées contiennent des teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes plus élevées en comparaison avec les extraits aqueux préparées. D'autre part, Les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux et en flavonoïdes sont obtenues avec les deux extraits de SBA suivie par l'extrait de SAE, SVR et enfin l'extrait de SAR. Les résultats du dosage indiquent que les teneurs en composés bioactifs pour les polyphénols sont comprises entre 65.89 ± 5.50 mg EAG/g et 259.67 ± 4.77 mg EAG/g tandis que les teneurs en flavonoïdes sont comprises entre 18.62 ± 0.06 mg EQ/g et 39.95 ± 01.47 mg EQ/g. La quantification des tannins présents dans les différents extraits en utilisant la méthode de précipitation de l'hémoglobine a montré que l'extrait métanolique de SAE contient 122.59 ± 3.83 mg EAT/g d'extrait comme la teneur la plus élevée, alors que la teneur la plus faible est obtenue avec l'ED SAR de 61.90 ± 1.86 EAT/g (Tab. 3). Par contre, les teneurs les plus élevés en caroténoïdes et en chlorophylle sont trouvées dans les extraits aqueux en comparaison avec les extraits méthanoliques et diminuent selon l'ordre suivant SAE > SAR > SVR > SBA.

Tableau 3. Contenu des polyphénols totaux, des flavonoïdes, des tannins, des caroténoïdes et de la chlorophylle des différentes espèces de *S. aegyptiaca*, *S. argentea*, *S. barrelieri* et *S. verbenaca*.

Extraits		Polyphénols mg EAG/g PS	Flavonoïdes mg EQ/g PS	Tannins mg EAT/g PS	Caroténoïdes mg/g PS	Chlorophylle mg/g PS	
						Chlo a	Chlo b
SAE	EM	204.37 ± 3.92	27.71 ± 0.65	122.59 ± 3.83	0.72 ± 0.001	2.11 ± 0.01	1.09 ± 0.06
	ED	$136.56 \pm 1.38^*$	$22.57 \pm 0.32^*$	$111.63 \pm 0.26^*$	$2.76 \pm 0.005^*$	$2.68 \pm 0.03^*$	$5.75 \pm 0.05^*$
SAR	EM	159.30 ± 0.80	39.95 ± 01.47	112.57 ± 1.45	0.46 ± 0.01	0.29 ± 0.01	0.24 ± 0.05
	ED	$65.89 \pm 5.50^*$	$30.02 \pm 0.83^*$	$61.90 \pm 1.86^*$	$1.04 \pm 0.003^*$	$1.46 \pm 0.02^*$	$3.18 \pm 0.02^*$
SBA	EM	259.67 ± 4.77	52.13 ± 1.41	111.31 ± 9.16	0.54 ± 0.018	1.44 ± 0.05	0.42 ± 0.07
	ED	$175.28 \pm 2.08^*$	$30.62 \pm 1.07^*$	$95.90 \pm 0.45^*$	$0.73 \pm 0.002^*$	$0.48 \pm 0.05^*$	$1.09 \pm 0.02^*$
SVR	EM	190.16 ± 1.74	23.50 ± 0.71	118.88 ± 1.25	0.58 ± 0.005	1.67 ± 0.02	0.63 ± 0.01
	ED	$129.02 \pm 2.67^*$	$18.62 \pm 0.06^*$	$73.80 \pm 2.23^*$	$0.92 \pm 0.041^*$	$1.21 \pm 0.02^*$	$2.48 \pm 0.04^*$

SAE: *S. aegyptiaca*; SAR : *S. argentea*; SBA: *S. barrelieri*; SVR: *S. verbenaca*; EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté; EAG: Equivalent Acide Gallique; EQ: Equivalent Quercétine; EAT: Equivalent Acid Tannique; PS: Poids Sec; Chlo: Chlorophylle. *P<0.05, ED vs EM

2. Analyse HPLC des extraits

Le chromatogramme des extraits méthanoliques des parties aériennes des plantes SAE, SVR, SBA et SAR obtenu par la méthode LC ESI-QTOF MS/MS a montré la présence de plusieurs produits dont 42 sont identifiés (Fig. 19, Tab. 4). Tous ces composés ont été identifiés en interprétant leurs spectres MS et MS/MS obtenus en utilisant la littérature et les base de données. Ces composés sont présentés dans le tableau 4.

L'identification des composés biologiques a permis d'observer la grande diversité de ces espèces en ces produits. En effet, quatre composés phénoliques majeurs en commun ont été identifiés pour les quatre plantes étudiées: le caffeoyl-O-hexoside (glucoside) (m/z : 341, Tr 0.8 à 0.85 min), l'acide rosmarinique (m/z : 359.03, Tr : 8.69 à 8.74 min), les dérivés de l'apigénine (m/z : 269.01, Tr : 10.70 à 10.79 min) et un isomère de l'acide p-coumaroylquinique (m/z 339.192, Tr : 14.66 à 14.95 min). En plus, des traces de l'acide palmitique (m/z 255) sont observées dans un intervalle de temps de rétention de 14.24 à 14.31 min. Un autre composé la lutéoline-7-O-glucoside (m/z : 4.77) a été observé dans le temps de rétention 8.30 à 8.65 min pour tous les extraits des plantes étudiées sauf l'extrait de SAE, alors que la lutéoline-4-O-glucoside (m/z : 477.04) et le méthyl lutéoline glucuronide (m/z : 517) sont observés uniquement dans l'EM SVR et SAR à 9.21 et 9.187 min respectivement. D'autre côté, l'apigénine-7-O-glucoside (m/z : 431) et l'apigénine glucose (m/z : 477) sont observés à 9.06 et 9.15 min respectivement pour l'EM SVR et SBA. Par contre, Apigenin-6,8-di-C-glucoside (m/z : 593, Tr : 7.48) est élué uniquement avec l'EM SAE. Une molécule caractéristique du genre *Salvia*, l'acide salvianolique B (m/z : 717, Tr : 7.89) et son isomère (m/z : 719, Tr : 8.18) est observée uniquement dans l'EM de SAE et SBA. Contrairement aux autres extraits, l'EM SAE est caractérisé par la présence de quelques composés mineurs comme l'isorhamnetin-3,7-di-O-glucoside (m/z :639, Tr : 7.04 min), l'isomère de l'acide rosmarinique (m/z : 361.12, Tr : 9.05), l'acide salvianolique E (m/z : 717.05, Tr : 10.29) et l'acide madécassique (m/z : 503.28, Tr : 12.24 min).

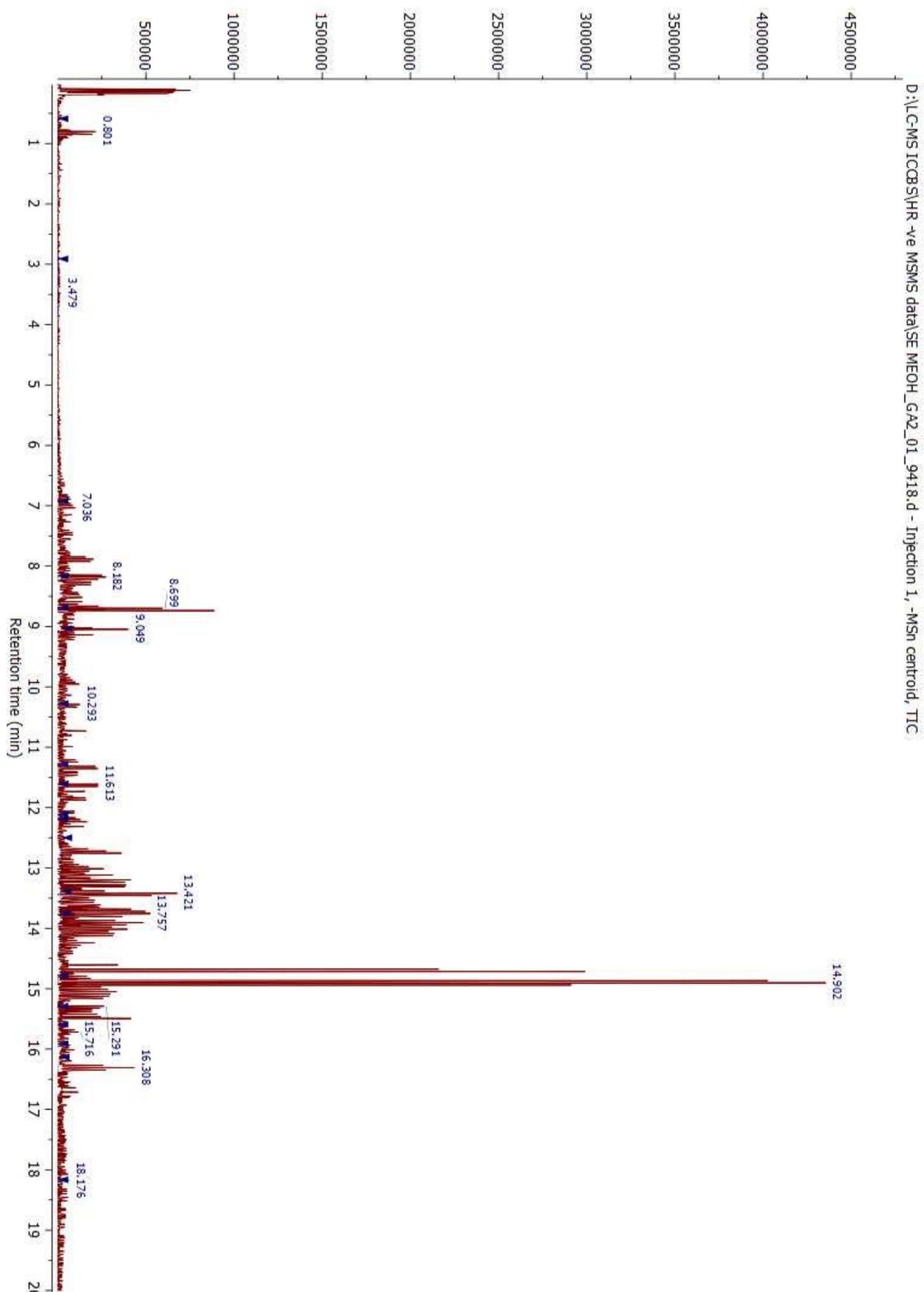


Figure 19. A. Chromatogramme ionique total de l'extrait méthanolique. SAE.

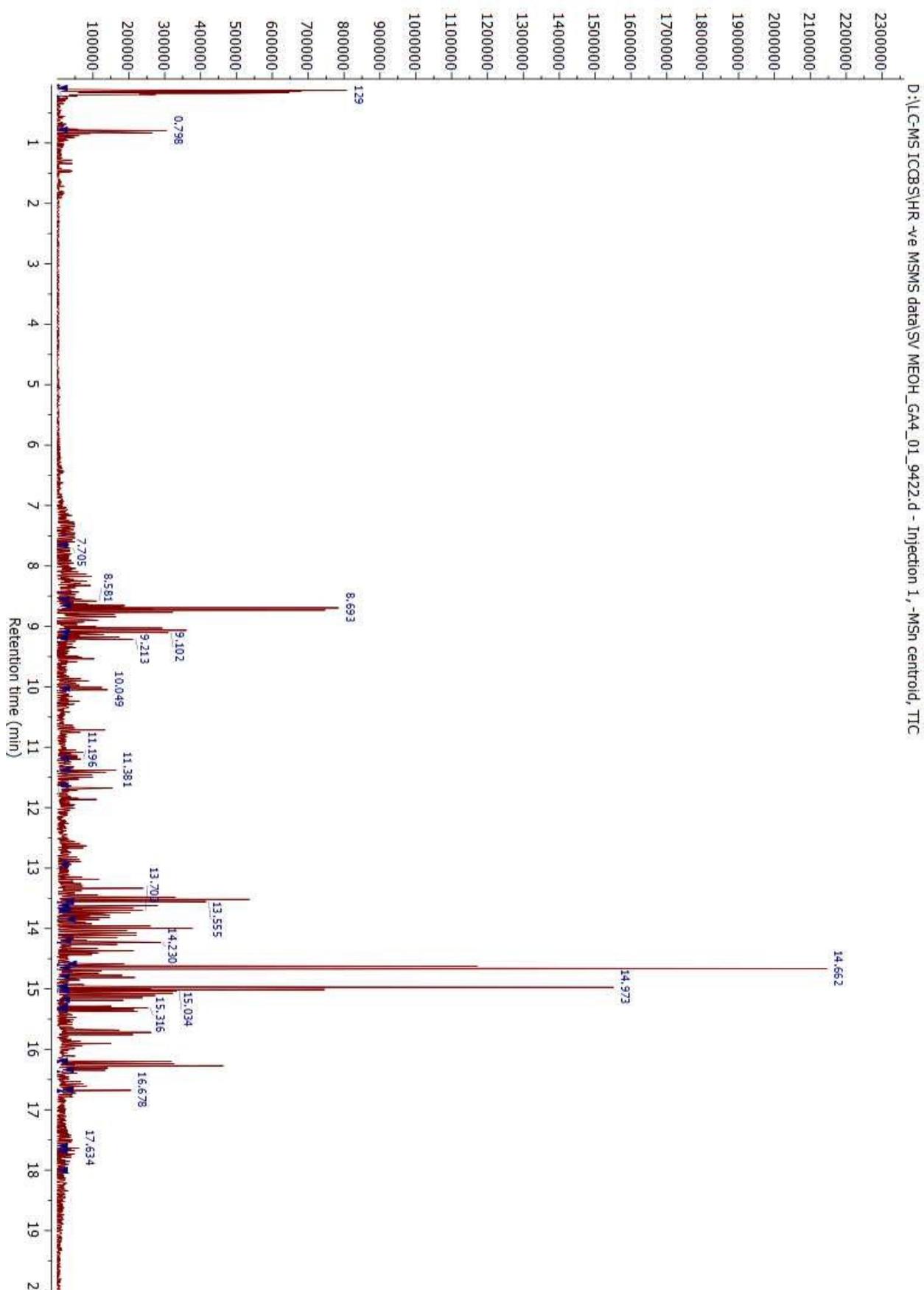


Figure 19. B. Chromatogramme ionique total de l'extrait méthanolique. SVR.

3

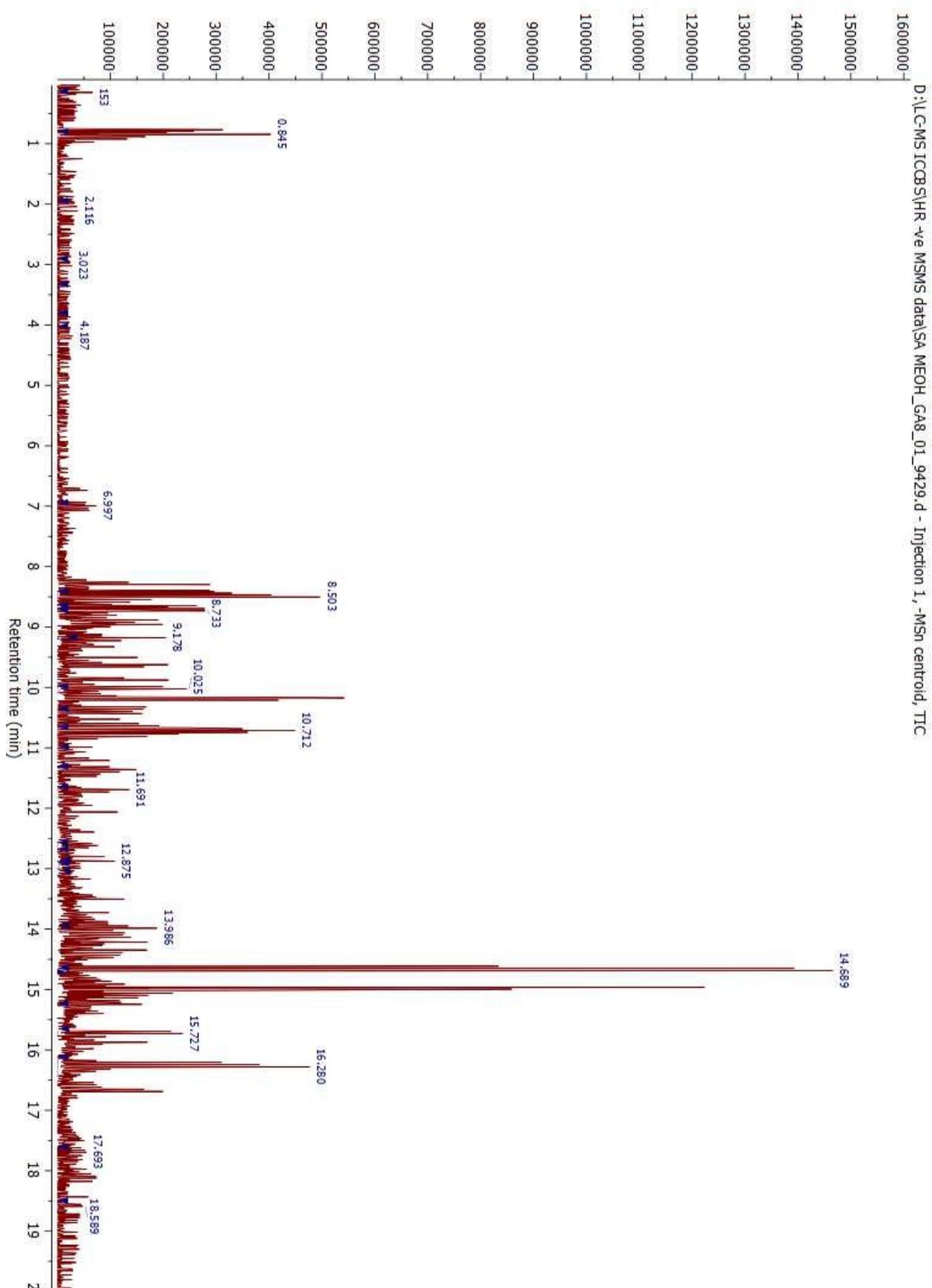


Figure 19. C. Chromatogramme ionique total de l'extrait méthanolique. SAR.

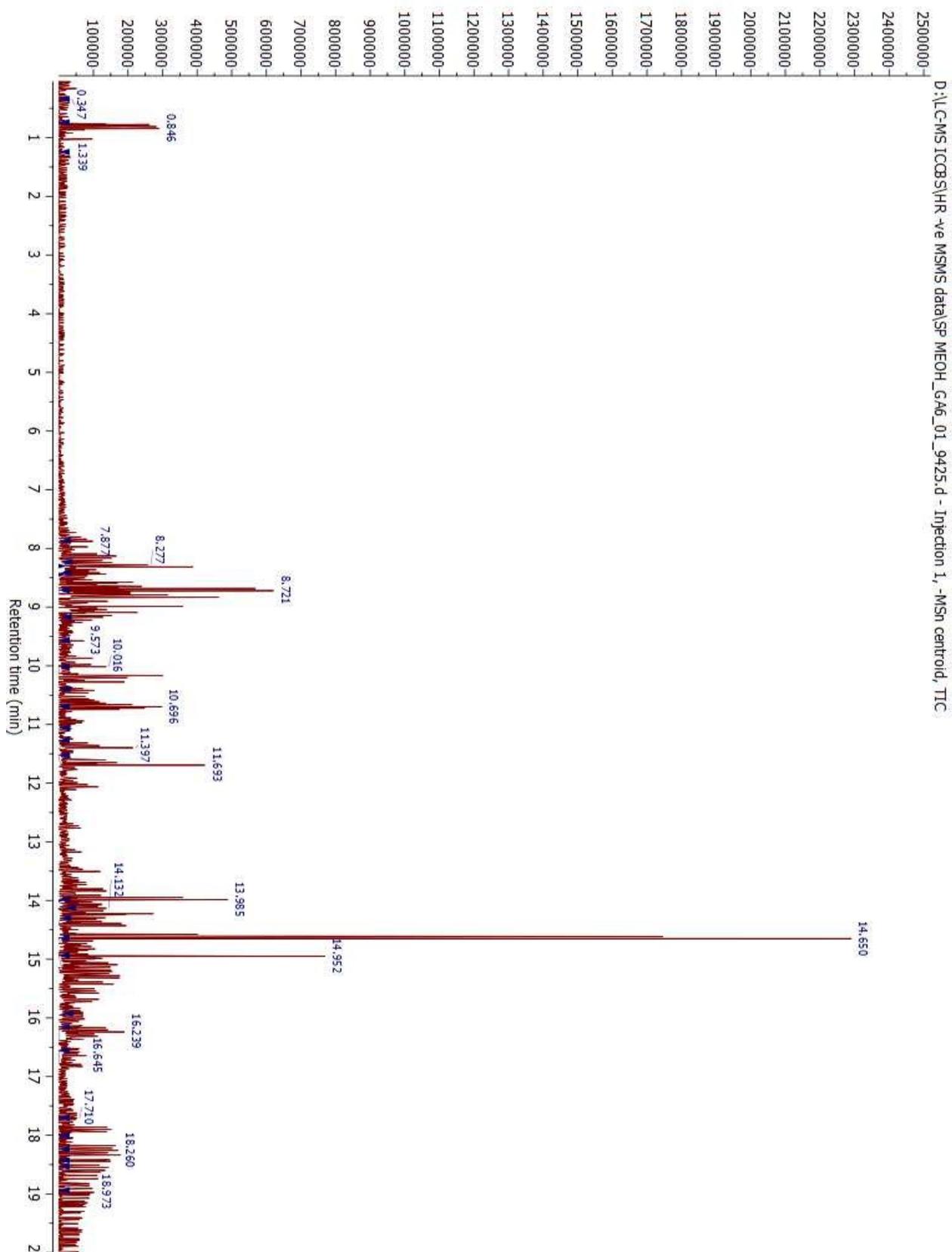


Figure 19. D. Chromatogramme ionique total de l'extrait méthanolique SBA.

Tableau 4. Composés bioactifs identifiés par QTOF ESI-MS/MS

	SAE		SAR		SVR		SBA		Nom du composé	
	Tr (min)	m/Z	Fragments (%)	m/Z	Fragments (%)	m/Z	Fragments (%)	m/Z		Fragments (%)
1	0.80 SAE 0.84 SAR 0.80 SVR 0.85 SBA 1.34 SBA	341.086	179.036 (25.57) 341.068 (100) 342.072 (10.16)	341.086	179.036 (25.57) 341.068 (100) 342.072 (10.16)	341.086	179.036 (25.57) 341.068 (100) 342.072 (10.16)	341.086	179.036 (29.28) 341.068 (100) 342.072 (11.78)	Caffeoyl-O-hexoside (glucoside)
2	3.48 SAE	409	174.936 (12.08) 240.974 (100) 408.996 (60.81) 409.997 (27.33)	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Non identifié
3	7.00 SAR	Abs	-	295.01	174.012 (19.74) 192.020 (48.61) 207.042 (100) 208.048 (16.55)	Abs	Abs	Abs	Abs	Non identifié
4	7.04 SAE	639.04	301.001 (44.44) 464.034 (23.67) 477.09 (87.75) 639.041 (98.01)	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Quercitin-3-O-glucoronide- hexose OU Isorhamnetin-3,7- di-O-glucoside
5	7.60 SVR	Abs	Abs	Abs	539.05	161.006 (100) 179.014 (51.95) 359.034 (30.22) 519.094 (90.67) 537.024 (72.42)	Abs	Abs	Abs	Acide rosmarinique glucoside (isom 3)
6	7.89 SAE 7.88 SBA	717.06	339.01 (45.51) 475.045 (100) 519.020 (42.24)	Abs	Abs	Abs	Abs	717.06	339.01 (32.27) 475.045 (100) 519.020 (54.45) 717.06 (6.88)	Acide salvianolique B (Isomer 1)
7	8.18 SAE	719.07	161.005 (12.41) 339.01 (46.79) 365.025 (18.39) 475.045 (100) 519.020 (65.91) 719.068 (10.31)	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Acide salvianolique B (Isomer 1)
8	8.30 SAR 8.50 SAR 8.65 SAR 8.58 SVR	Abs	Abs	447.04	285.001 (51.61) 447.038 (100)	461.02	285.001 (100) 461.015 (12.51)	447.04	285.001 (52.03) 447.038 (100) 448.42 (20.40)	Luteoline-7-O-glucoside

8.31 SBA										
9	7.48 SAE	593.08	369.015 (5.04) 473.50 (9.22) 593.076 (100) 594.80 (31.91)	Abs		Abs		Abs		Apigenin-6,8-di-C-glucoside
10	8.74 SAE 8.74 SAR 8.69 SVR 8.72 SBA	359.03	161.006 (100) 179.014 (20.01) 197.023 (54.14)	359.03	161.006 (100) 179.014 (21.15) 197.023 (52.10)	359.03	161.006 (100) 179.014 (21.15) 197.023 (52.10)	359.03	161.006 (100) 179.014 (21.20) 197.023 (49.83)	Acide rosmarinique
11	8.95 SAR 9.18 SAR	Abs		475.03	161.001 (8.64) 299.021 (100) 300.024 (12.72) 475.028 (11.97)		Abs		Abs	(2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-[5-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-6-methoxy-4-oxochromen-7-yl]oxyoxane-2-carboxylic acid ou Quercétine-O-glucuronide
12	8.96 SAR 8.99 SBA	Abs		741.05	179.015 (9.73) 359.034 (7.43) 381.013 (100) 382.016 (13.56) 579.035 (6.85) 741.050 (13.09)		Abs	741.05	179.015 (12.18) 359.034 (6.32) 381.013 (100) 382.016 (16.41) 579.035 (7.74) 741.050 (7.72)	Dérivé de l'acide rosmarinique
13	9.05 SAE	361.12	161.006 (100) 179.014 (16.52) 197.023 (53.17)		Abs		Abs		Abs	Isomère de l'acide rosmarinique
14	9.06 SVR	Abs			Abs	431.05	269.015 (15.85) 431.05 (100)		Abs	Apigénine 7-O-glucoside
15	9.15 SBA	Abs			Abs		Abs	447.04	269.014 (100) 285.001 (35.65) 447.038 (20.32)	Apigénine glucose
16	9.18 SAR	Abs		517.04	285.00 (5.82) 299.02 (100) 300.24 (14.86) 413.03 (9.57)		Abs		Abs	Hispidin glucose
17	9.21 SVR	Abs			Abs	447.04	269.014 (11.08) 285.001 (100) 447.038 (13.36)		Abs	Luteoline-4'-O-glucoside
18	9.62 SAR	Abs		300	283.998 (5.82) 299.02 (100) 300.024 (16.08)		Abs		Abs	Hispiduline, ou diosmétéine

Résultats

19	10.03 SAR 10.05 SVR 10.02 SBA		Abs	582.19	342.105 (28.35) 462.147 (100) 463.149 (28.74) 582.187 (67.16)	582.19	342.105 (28.35) 436.171 (9.37) 462.147 (100) 463.149 (30.83) 582.188 (64.85)	582.19	342.105 (23.96) 462.147 (100) 463.149 (24.08) 582.188 (72.96)	Tri-coumaroyl spermidine
20	10.17 SAR 10.16 SBA		Abs	285.01	285.007 (100)		Abs	285.01	285.007 (100) 286.10 (16.40)	Lutéoline
21	10.29 SAE	717.05		Abs	339.009 (47.57) 359.034 (6.38) 519.020 (100)		Abs		Abs	Acid salvianolique E
22	10.39 SAR		Abs	517.04	283.998 (6.92) 299.02 (82.20) 300.024 (14.96) 457.021 (100) 458.024 (27.71) 517.034 (22.11)		Abs		Abs	Dérivé de l'hispiduline ou diosmétine
23	10.79 SAE 10.71 SAR 10.72 SVR 10.70 SBA	269.01	269.014 (100) 270.017 (14.84)	269.01	269.014 (100) 270.017 (14.84)	269.01	269.014 (100) 270.017 (14.84)	269.01	269.014 (100) 270.017 (14.57)	Dérivé del' apigenin
24	11.35 SAE 11.40 SAR 11.69 SAR 11.08 SVR 11.38 SVR	327.18	171.087 (7.63) 211.109 (25.07) 327.178 (100) 328.181 (25.53)	329 SAR	171.087 (7.63) 211.109 (25.07) 327.178 (100) 328.181 (25.53)	327.19	211.109 (18.50) 327.178 (100) 328.181 (21.63)		Abs	Labetalol ou Acide Trihydroxy- octadecadienoïque (isomère)
25	11.40 SBA		Abs		Abs		Abs	713.22	337.075 (8.88) 397.157 (25.70) 499.105 (30.22) 585.130 (30.56) 690.224 (100) 795.316 (72.81)	Cer-ADS d44:2
26	11.61 SAE	503.28	503.276 (100) 504.279 (26.55)		Abs		Abs		Abs	Acid madecassique ou hypericine
27	11.68 SVR		Abs		Abs	795.35	795.352 (100) 796.355 (31.78)		Abs	3-Gal(1-2)GluA Soyasapogenol B
28	12.08		Abs		Abs		Abs	283.03	268.006 (68.01) 269.009 (11.25) 283.027 (100)	Genkawanin ou Cerimaritin
29	12.24 SAE	503.28	503.276 (100) 504.279 (26.55)		Abs		Abs		Abs	Acid madecassique (98.79%) masse 345.345

									hypericin 99%
30	12.62 SAR	Abs		311.19		Abs		Abs	3masse 432. Tryptophenolide 80.8% 3',4'-Dimethoxy-7- hydroxyflavanone 80.7%
31	12.75 SAE 12.99 SAR	487.28	485.268 (7.71) 487.283 (100) 488.286 (28.37)	487.28		Abs		Abs	Acide Pygenique B b
32	12.94 SVR	Abs		Abs	313.20		211.111 (17.16) 251.134 (6.36) 223.145 (56.12) 275.167 (17.33) 311.186 (100) 312.188 (19.05)	Abs	Non identifié
33	13.20 SAE	487.28	485.268 (7.71) 487.283 (100) 488.286 (28.37)		Abs		Abs	Abs	Acide Pygenique B
34	13.42 SAE	473.31	471.289 (12.59) 473.305 (100) 474.309 (30.96)		Abs		Abs	Abs	Sedinafil
35	13.76 SAE 13.52 SVR	471.29	469.275 (100) 470.278 (30.34) 471.289 (81.89) 472.293 (25.51)		Abs	471.29	469.275 (8.30) 471.289 (100) 472.293 (28.40)	Abs	Acide Pygenique Ab ou Acide Corosolique
36	13.85 SVR	Abs			Abs	353.17	177.071 (13.30) 353.169 (100) 354.173 (27.76)	Abs	Acide 3-Caffeoylquinique Acide Neochlorogenique 4-methylumbelliferyl glucuronide
37	14.01 SAE 13.98 SPJ	369.20	163.095 (15.73) 369.198 (100) 370.202 (25.93)		Abs	369.20	163.095 (16.41) 193.101 (11.54) 369.198 (100) 370.202 (27.56)	369.20	6,8-dihydroxy-2,2,4,4- tetramethyl-7-(3- methylbutanoyl)-9-(2- methylpropyl)-9H-xanthe- ne-1,3-dione
38	14.72 SAE 14.90 SAE 14.69 SAR 14.96 SAR 14.66 SVR 14.97 SVR 14.65 SBA 14.95 SBA	339.192	163.094 (45.48) 339.192 (100) 340.195 (31.08)	339.192		339.192	163.094 (42.04) 339.192 (100) 340.195 (25.49)	339.192	Isomer de l'acide p- Coumaroyl quinnique

39	15.05 SAE 15.50 SAE 15.25 SAR 14.81 SVR 15.03 SVR	455	455 (100)	455	455 (100)	453.28 455.30	453.281 (100) 454.284 (28.56)	Abs		Acide oleanolique ou Ursolique
40	15.32 SBA	Abs		Abs		Abs		523.28	150.972 (6.25) 455.298 (38.51) 523.276 (100) 524.278 (28.28)	Non identifié
41	15.71 SAE 15.73 SAR 15.72 SVR	279.20	279.20 (100) 280.203 (21.35)	279.20	279.20 (100) 280.203 (21.35)	279.20	279.20 (100) 280.203 (23.21)			Acide linoléique
42	16.31 SAE 16.28 SAR 16.27 SVR 16.24 SBA	255.203.	255.203 (100) 256.206 (18.66)	255.203.	255.203 (100) 256.206 (18.66)	255.203.	255.203 (100) 256.206 (19.88)	255.203.	255.203 (100) 256.206 (17.73)	Acide palmitique Ou isopalmitique
43	16.69 SAR 16.69 SVR 16.65 SBA	Abs		281.22	281.215 (100) 282.219 (20.13)	281.22	281.215 (100) 282.219 (20.98)	281.22	281.215 (100) 282.219 (16.73)	Trans acide vaccinique ou acide Oléique
44	16.71 SAE	639.47	281.15 (100) 593.317 (37.18)	Abs		Abs		Abs		Ester d'acide oléique
45	17.69 SAR 17.63 SVR	Abs		576.80	174.936 (19.13) 304.878 (100) 372.855 (16.45)	576.80	174.935 (19.12) 304.877 (100) 372.858 (7.39)	Abs		Phosphatidylcholine lyso 20:3
46	18.18 SAE 18.59 SAR 17.90 SBA 18.80 SVR	490.22	489.222 (100) 490.225 (26.91)	490.22	489.222 (100) 490.225 (26.91)	Abs		490.22	489.222 (100) 490.225 (24.96)	Glimepiride

3. Activité antioxydante *in vitro*

3.1. Activité antiradicalaire contre le DPPH

L'activité anti-radicalaire a été évaluée par la méthode du radical DPPH qui est une méthode fréquemment utilisée pour sa simplicité. Cette méthode est basée sur la réduction d'une solution méthanolique de DPPH en présence d'un antioxydant qui donne un hydrogène ou un électron pour donner la forme non radicalaire DPPH-H. L'activité antioxydante des extraits est exprimée en IC₅₀. La plus parts des extraits ont montré une activité antiradicalaire très puissante contre le DPPH allant de 17.00 ± 1.00 à 60 ± 1.03 µg/ml pour l'EM SBA et l'ED SAR respectivement et comparable au standard utilisé (BHT 22.32 ± 1.19 µg/ml, Fig. 20) sauf pour les extraits préparés à partir de SAR (P ≤ 0.0001).

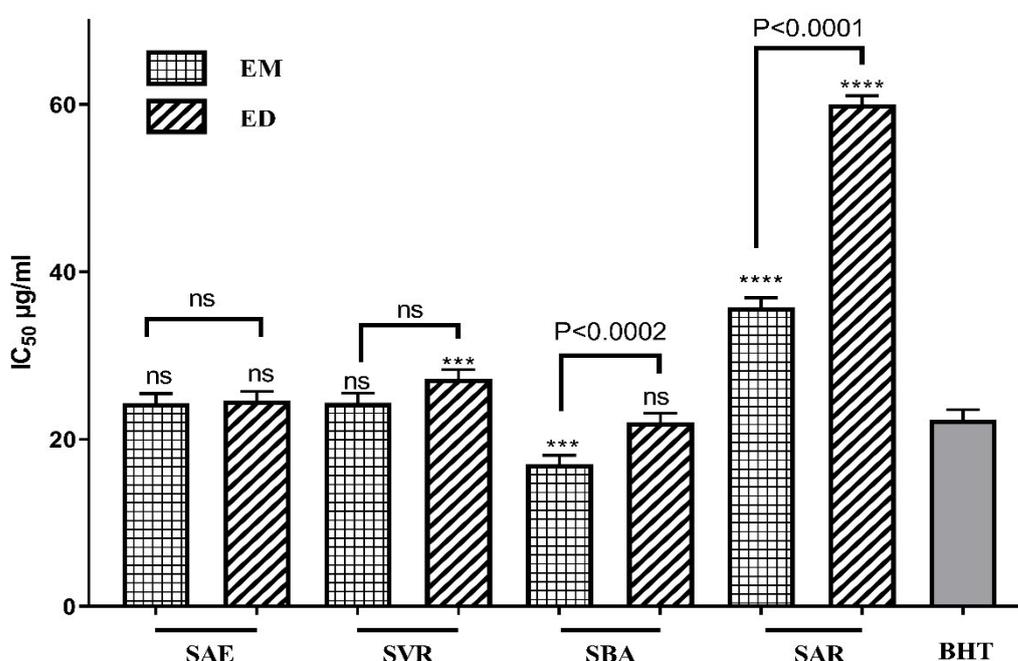


Figure 20. Activité antiradicalaire contre le DPPH des différents extraits de plante du genre *Salvia*.

SAE: *S. aegyptiaca*; SAR : *S. argentea*; SBA: *S. barrelieri*; SVR: *S. verbenaca*; EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne de IC₅₀ ± SD (n=3) (**P ≤ 0.003, **** P ≤ 0.0001) vs BHT comme standard. ns : non significatif.

3.2. Activité antiradicalaire contre l'ABTS

Le test de piégeage des radicaux ABTS est l'une des méthodes les plus utilisées pour déterminer la capacité antioxydante du don d'hydrogène et de la rupture de chaîne d'oxydation. Le radical ABTS peut être oxydé par des radicaux peroxydes pour former un radical stable qui absorbe entre 600 et 750 nm. L'absorption diminue avec la présence d'antioxydants et le balayage des radicaux

ABTS. Les extraits étudiés ont montré des effets piégeant vis à vis du radical ABTS qui peuvent être classé selon l'ordre suivant BHT > EM SBA > EM SVR > EM SAE > ED SAE > ED SBA > EM SAR > ED SVR > ED SAR. En général les extraits méthanoliques pour chaque espèce présentent une activité plus importante en comparaison avec l'extrait par décoction correspondant ($P \leq 0.0001$) sauf pour les extraits de SAE qui présentent des activités comparables ($P \leq 0.05$). En effet, l'activité la plus élevée est obtenue avec l'EM SBA avec une IC_{50} de $16.35 \pm 1.02 \mu\text{g/ml}$; par contre, l'activité la plus faible est obtenue avec l'ED SAR de $57.14 \pm 1.02 \mu\text{g/ml}$. Cependant, aucun extrait n'a montré une activité comparable à celle du BHT ($8.84 \pm 1.58 \mu\text{g/ml}$, $P \leq 0.0001$; Fig. 21)

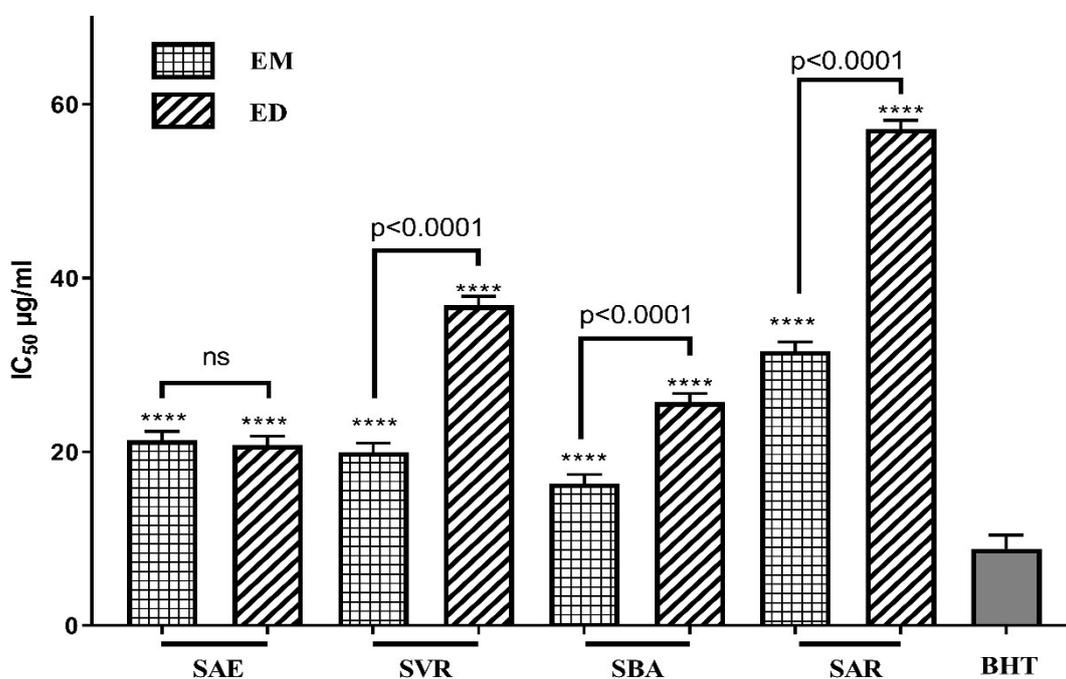


Figure 21. Activité antiradicalaire contre l'ABTS des différents extraits de plante du genre *Salvia*.

SAE: *S. aegyptiaca*; SAR : *S. argentea*; SBA: *S. barrelieri*; SVR: *S. verbenaca*; EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne de $IC_{50} \pm SD$ ($n=3$) (**** $P \leq 0.0001$) vs BHT comme standard. ns : non significatif.

3.3. Activité antiradicalaire contre l'anion superoxyde

Dans cette étude, la capacité de l'extrait à piéger le radical anions superoxyde généré dans le système NaOH-DMSO-NBT, est étudiée en suivant par la formation du formazan bleu. La réduction du nitro bleu tétrazolium en formazan a été initiée par le superoxyde généré qui reste stable en solution à température ambiante. D'après les résultats (Fig. 22), tous les extraits ont

montré une activité antiradicalaire plus importante et plus puissante en comparaison avec le standard ($23.73 \pm 1.11 \mu\text{g/ml}$, $P \leq 0.0001$) sauf pour l'ED SAR ($44.75 \pm 1.12 \mu\text{g/ml}$, $P \leq 0.0001$). Les extraits méthanoliques présentent toujours une activité importante en comparaison avec les extraits obtenus par décoction ($P \leq 0.002$) qui ont donnés des valeurs d'inhibition comprises entre 5.23 ± 1.03 et $23.05 \pm 1.10 \mu\text{g/ml}$ pour l'EM SAE et l'ED SAE respectivement.

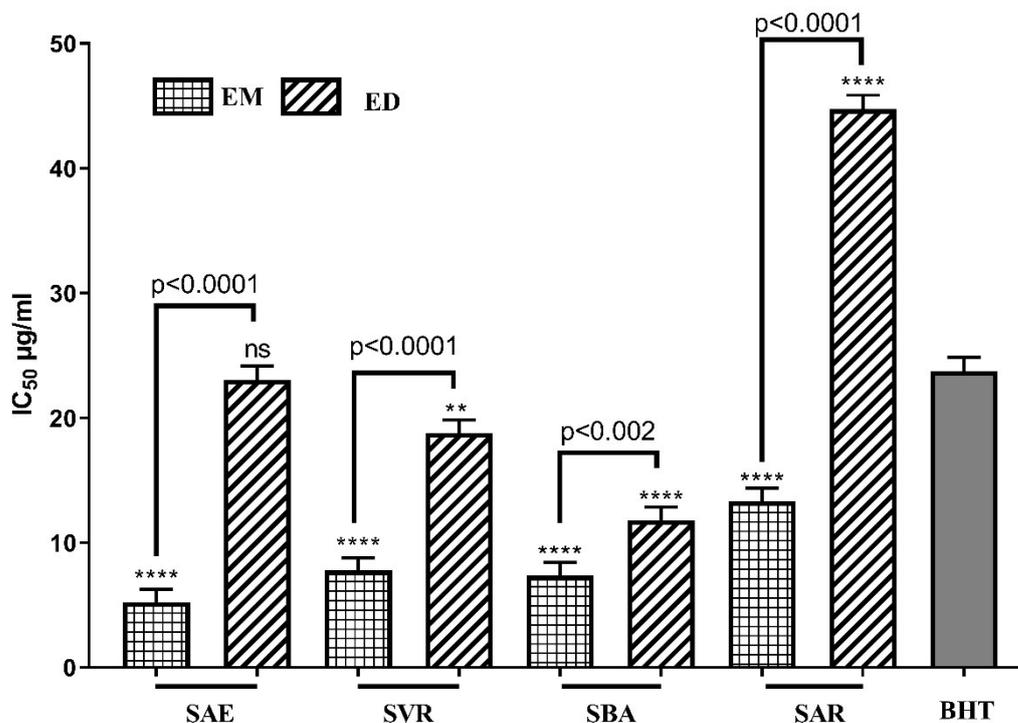


Figure 22. Activité antiradicalaire contre l'anion superoxyde des différents extraits de plante du genre *Salvia* par la méthode DMSO alcalin.

SAE: *S. aegyptiaca*; SAR : *S. argentea*; SBA: *S. barrelieri*; SVR: *S. verbenaca*; EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne de $IC_{50} \pm SD$ ($n=3$) (**** $P \leq 0.0001$) vs BHT comme standard. ns : non significatif.

3.4. Inhibition du blanchissement de la β -carotène

Le blanchiment de la β -carotène est un phénomène résulte de l'effet des hydroperoxydes formés à partir d'acide linoléique, ces radicaux libres vont par la suite oxyder la β -carotène, entraînant ainsi la disparition de sa couleur rouge. Cette décoloration est suivie spectrophotométriquement à 490 nm (Fig. 23). Cependant, la présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux dérivés de l'acide linoléique et/ou inhibé l'oxydation donc prévenir le blanchissement du β -carotène. Les extraits de plantes et le BHT à 2 mg/ml ont montré une inhibition significative de l'oxydation de l'acide linoléique et du blanchissement du β -carotène, en comparaison avec le contrôle négatif. Après 24 heures, tous les extraits méthanoliques présentent une activité antioxydante moindre en comparaison avec leurs extraits correspondants obtenus par décoction ($P \leq 0.0001$). Les extraits

méthanolique de SBA et SAR présentent l'inhibition la plus faible ($P \leq 0.002$) des extraits étudiés en comparaison avec le BHT ($85.25 \pm 1.48\%$) avec des taux d'inhibition de 71.27 ± 1.96 et $69.90 \pm 2.07\%$ respectivement. Par contre, la plupart des extraits obtenus par décoction ont montré une activité inhibitrice supérieure ($P \leq 0.0001$) à celle obtenue avec le BHT avec une activité croissante selon l'ordre suivant $SBA \leq SAE \leq SVR \leq SAR$ avec des taux d'inhibition compris entre 87.44 et 89.09% (Fig. 24).

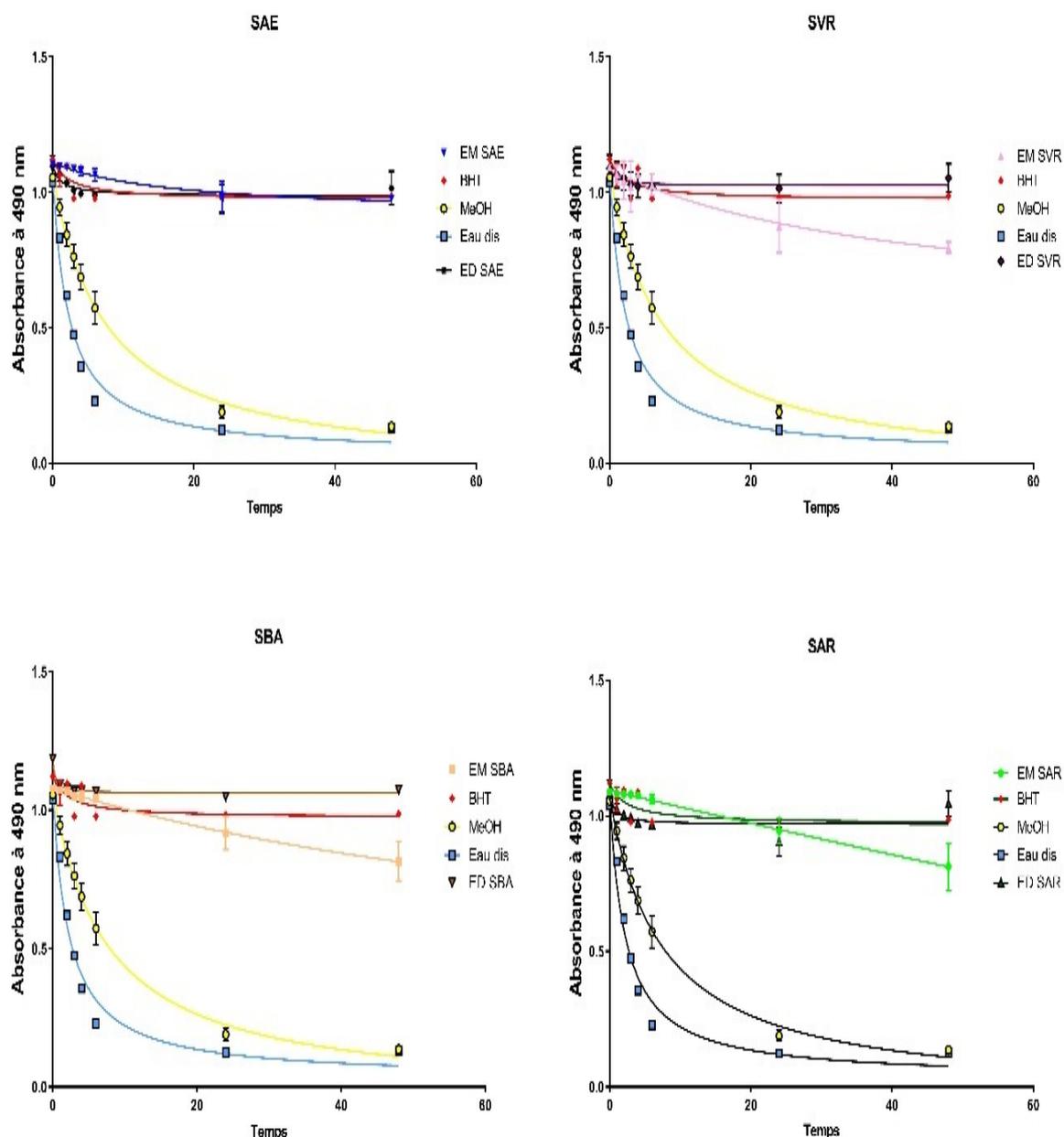


Figure 23. Evolution de l'absorbance du β -carotène en présence des différents extraits de plante du genre *Salvia*.

SAE: *S. aegyptiaca*; SAR : *S. argentea*; SBA: *S. barrelieri*; SVR: *S. verbenaca*; EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne d'absorbance \pm SD (n=3). ns : non significatif.

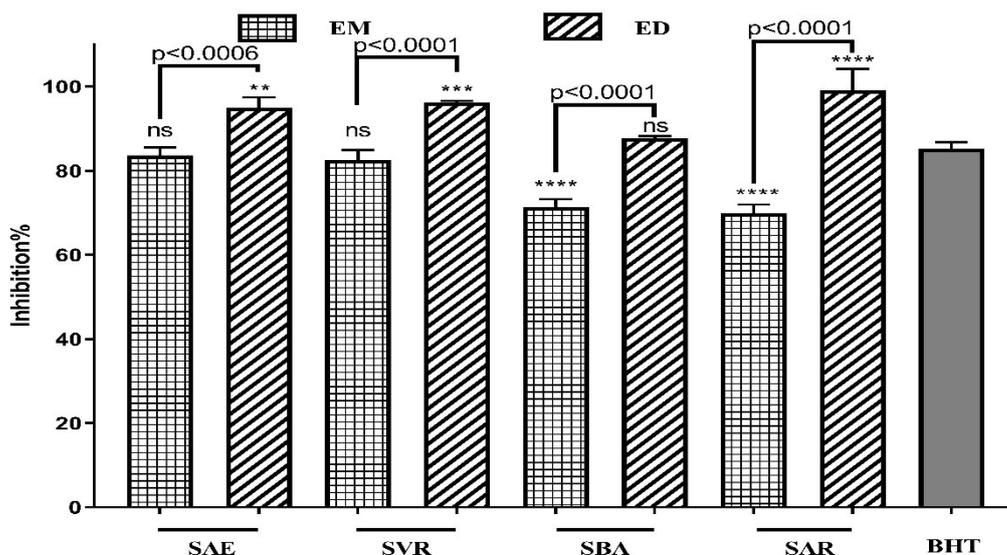


Figure 24. Activité antioxydante contre le blanchissement du β -carotène des différents extraits de plante du genre *Salvia*.

SAE: *S. aegyptiaca*; SAR : *S. argentea*; SBA: *S. barrelieri*; SVR: *S. verbenaca*; EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne de % \pm SD (n=3) (** $P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.002$, **** $P \leq 0.0001$) vs BHT comme standard. ns : non significatif.

3.5. Test de chélation du Fer ferreux (ferrozine)

Dans cette étude, l'activité de chélation du fer ferreux a été mesurée par l'inhibition de la formation de complexe Fe^{2+} -ferrozine après l'incubation des extraits de *Salvia* avec le Fe^{2+} suivant la méthode de Decker et Welch (Fig. 25). La ferrozine peut quantitativement former des complexes avec Fe^{2+} . Cependant, en présence d'agents chélateurs, la formation du complexe est perturbée de telle sorte que la couleur du complexe est diminuée. La mesure de la réduction de la couleur, par conséquent, permet l'estimation de l'activité de chélation de l'agent chélatant coexistant. L'ion ferreux bivalent joue un rôle important en tant que catalyseurs des processus oxydatifs, conduisant à la formation de radicaux superoxydes et d'anions hydroxyles par des réactions de Fenton. La chélation d'ions ferreux (Fe^{2+}) peut rendre effets antioxydants importants en retardant l'oxydation catalysée par ce métal. L'activité de chélation du fer la plus importante est remarquée en présence des extraits méthanoliques avec des IC_{50} 63.01 ± 1.11 , 67.99 ± 1.04 , 70.39 ± 1.13 et 88.12 ± 1.04 $\mu\text{g/ml}$ pour SAR EM, SAE EM, SVR EM et SBA EM respectivement. Par contre, l'activité de chélation pour tous les extraits obtenus par décoction est trop inférieure à celle remarquée avec les extraits méthanoliques ($P \leq 0.0001$) avec des IC_{50} entre 109.70 ± 1.07 et 125.60 ± 1.06 $\mu\text{g/ml}$. Aucun extrait n'a présenté une activité comparable à celle du standard EDTA ($P \leq 0.0001$).

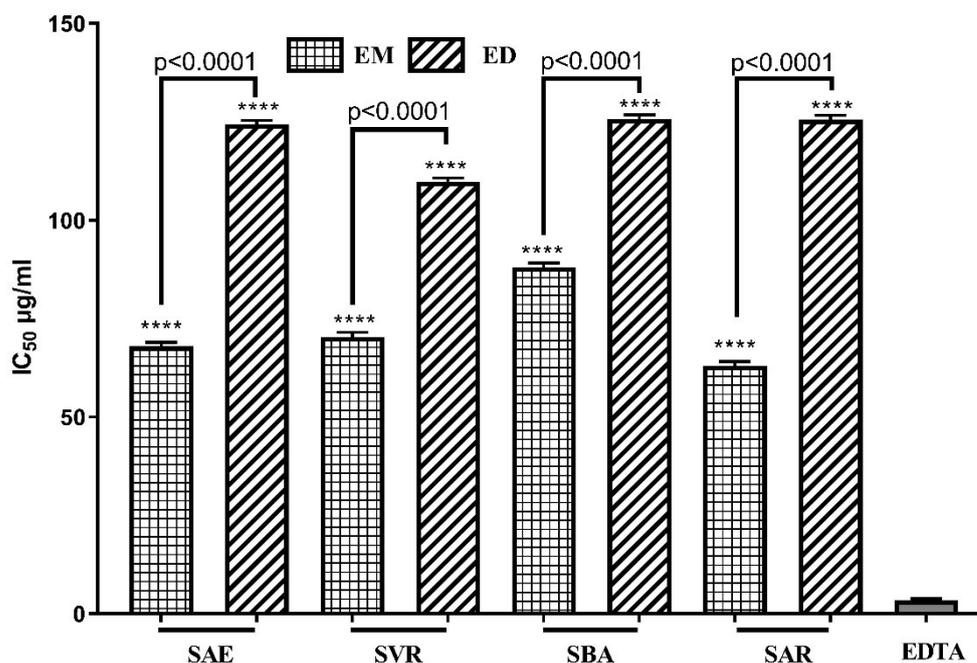


Figure 25. Chélation du fer ferreux des différents extraits de plante du genre *Salvia* par la méthode ferrozine.

SAE: *S. aegyptiaca*; SAR : *S. argentea*; SBA: *S. barrelieri*; SVR: *S. verbenaca*; EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne de $IC_{50} \pm SD$ (n=3) (**** P \leq 0.0001) vs EDTA comme standard. ns : non significatif.

3.6. Test du pouvoir réducteur (méthode du bleu de Perl prussien)

Le pouvoir de transformer l'ion Fe^{3+} en Fe^{2+} par les différents extraits étudiés semble très important. Les extraits EM et ED préparés à partir de SAE, SVR et SBA ont montré des activités réductrices très proches et qui se trouvent classés selon l'ordre croissant suivant $ED\ SAE \leq ED\ SVR \leq EM\ SAE \leq EM\ SVR \leq ED\ SBA \leq EM\ SBA$ avec les IC_{50} 72.97 ± 2.42 , 69.52 ± 3.07 , 62.07 ± 2.53 , 56.64 ± 4.81 , 58.30 ± 2.52 et 48.82 ± 4.70 µg/ml respectivement (Fig. 26). Par contre, les extraits préparés à partir de SAR ont montré l'effet le plus faible avec des IC_{50} de 105.13 ± 6.19 et 139.15 ± 3.15 µg/ml pour l'EM SAR et l'ED SAR respectivement. Seul l'extrait l'EM SBA a montré une activité comparable à celle de BHT (41.67 ± 2.6 µg/ml, $P > 0.05$).

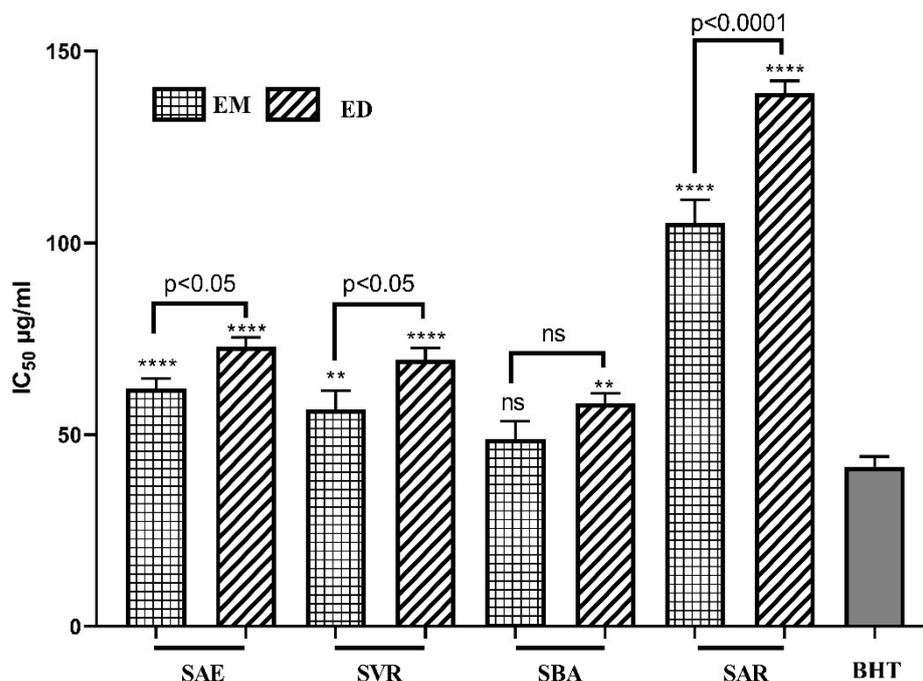


Figure 26. Pouvoir réducteur des différents extraits de plante du genre *Salvia* par la méthode du bleu de Perl Prussien.

SAE: *S. aegyptiaca*; SAR : *S. argentea*; SBA: *S. barrelieri*; SVR: *S. verbenaca*; EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne de $IC_{50} \pm SD$ ($n=3$) (** $P \leq 0.002$, **** $P \leq 0.0001$) vs BHT comme standard. ns : non significatif.

3.7. Test du pouvoir réducteur (méthode du phénanthroline)

Comme pour le test précédent, l'augmentation de la coloration rouge-orangée indique un pouvoir réducteur élevé. Les extraits méthanoliques présentent toujours un pouvoir réducteur élevé en comparaison avec les extraits obtenus par décoction ($P \leq 0.0003$) sauf pour l'EM et l'ED du SBA qui ont montré des activités comparables ($P > 0.05$). Les différentes valeurs des IC_{50} varient entre 18.72 ± 1.04 et 59.62 ± 2.94 $\mu\text{g/ml}$ pour les extraits préparés à partir de SAE, SVR et SAR (Fig. 27). Seul l'EM SBA et l'ED SBA ont montré une activité comparable à celle du BHT (12.17 ± 0.79 $\mu\text{g/ml}$, $P > 0.05$) avec des IC_{50} de 16.19 ± 1.03 et 15.31 ± 0.6 $\mu\text{g/ml}$ respectivement. Cependant l'activité remarquée en présence de l'EM SAE est un peu proche de celle du BHT ($P \leq 0.05$)

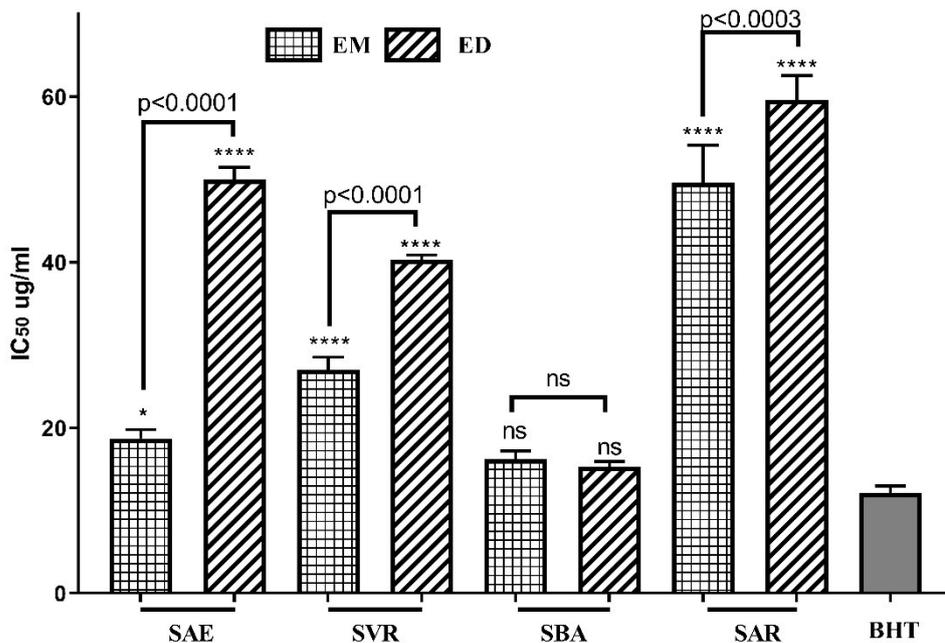


Figure 27. Pouvoir réducteur des différents extraits de plante du genre *Salvia* par la méthode du Phénanthroline.

SAE: *S. aegyptiaca*; SAR : *S. argentea*; SBA: *S. barrelieri*; SVR: *S. verbenaca*; EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne de IC₅₀ ± SD (n=3) (*P≤0.05, **** P ≤ 0.0001) vs BHT comme standard. ns : non significatif.

3.8. Test du pouvoir réducteur du cuivre

Le test de CUPRAC est l'une des méthodes les plus utilisées pour déterminer la capacité antioxydante par réduction du bis(neocuproine) Cu² pour former un complexe stable qui absorbe à 450 nm. L'absorption augmente avec la présence d'antioxydants. L'augmentation de l'effet réducteur des différents extraits se trouve dans l'ordre BHT > EM SBA > EM SAE > EM SVR > EM SAR > ED SBA > ED SVR > ED SAR > ED SAE (Fig. 28). En général les extraits méthanoliques pour chaque espèce présentent une activité puissante en comparaison avec l'extrait par décoction correspondant (P≤0.0001). En effet, l'activité la plus élevée est obtenue avec l'EM SBA avec A₅₀ de 7.4 ± 0.5 µg/ml; par contre, l'activité la plus faible est obtenue avec l'ED SAE de 56.67 ± 1.1 µg/ml. Seul l'EM SBA a montré une activité comparable à celle du BHT (A₅₀ = 3.13 ± 0.75 µg/ml, P>0.05).

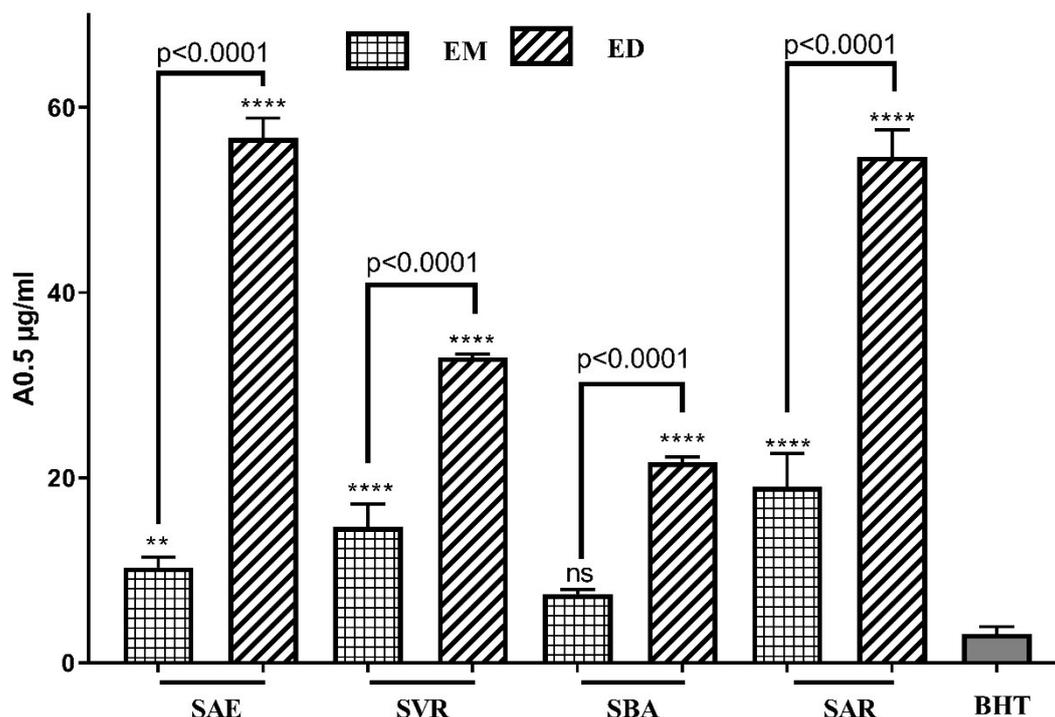


Figure 28. Pouvoir réducteur du cuivre (CUPRAC) des différents extraits de plante du genre *Salvia*.

SAE: *S. aegyptiaca*; SAR : *S. argentea*; SBA: *S. barrelieri*; SVR: *S. verbenaca*; EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne de $IC_{50} \pm SD$ (n=3) (**P≤0.002, **** P ≤ 0.0001) vs BHT comme standard. ns : non significatif.

3.9. Inhibition enzymatique *in vitro*

3.9.1. Inhibition du cholinestérase

La pré-incubation de l'AChe avec 200 µg/ml des différents extraits des plantes étudiées induit une légère diminution de son activité comprise entre 17.03 et 57.6% pendant les 5 premières minutes qui suivent l'incubation pour la plupart des extraits. Cependant, les extraits ED SBA et ED SAR ont présenté une inhibition importante de l'activité enzymatique de l'ordre de 72.63 et 92.74% respectivement (Fig. 29). Après 15 minutes d'incubation, l'enzyme a repris son activité. L'inhibition enzymatique diminue pour atteindre une moyenne de 18.5% pour la plupart des extraits étudiés sauf en présence de l'ED SBA qui a subi une diminution de 53.19% et reste inférieure à l'inhibition en présence du galantamine ($94.77 \pm 0.34\%$ pour 200 µg/ml, Fig. 29). A l'inverse de l'AChe, le prétraitement de la BChE par différentes concentrations des différents extraits induit une diminution importante de l'activité enzymatique de manière concentration dépendante pendant les 5 premières minutes qui suivent l'incubation, pour atteindre un taux d'inhibition à 200 µg/ml de 86.64, 100, 61.27, 93.39, 64.16, 61.63, 63.44 et 75.80% pour l'EM SAE, ED SAE, EM SVR, ED SVR, EM SBA, ED SBA, EM SAR et ED SAR respectivement. A la fin de la période d'incubation, l'inhibition enzymatique induite par les extraits étudiés persiste

sauf pour les extraits de SVR avec une moyenne de 14%. Les taux d'inhibition sont 71.60, 41.19, 71.70, 59.63, 80.63 et 53.78 µg/ml pour EM SAE, ED SAE, EM SBA, ED SBA, EM SAR, ED SAR respectivement (Fig. 30).

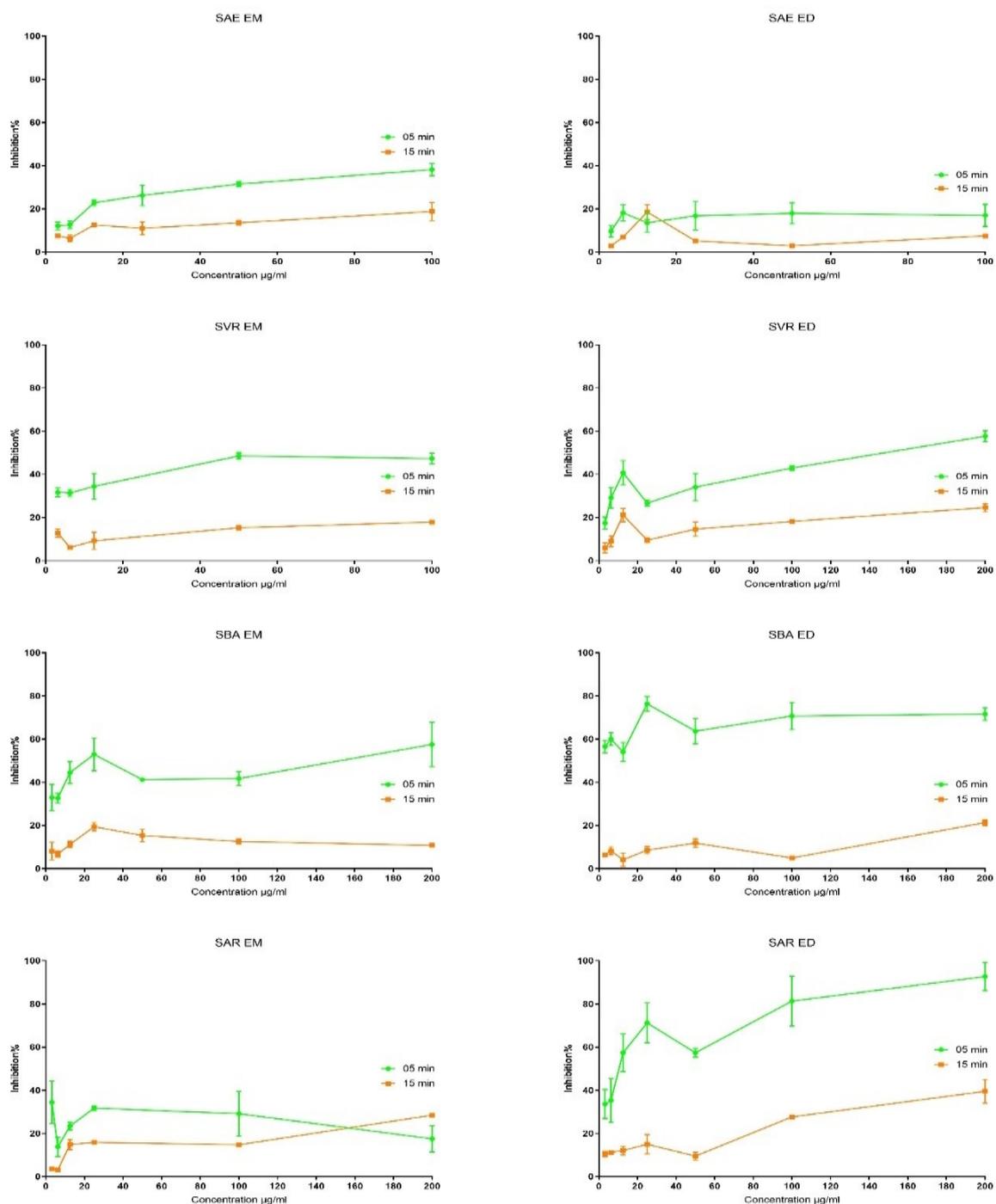


Figure 29. Inhibition de l'AChE des différents extraits de plante du genre *Salvia*. SAE: *S. aegyptiaca*; SAR : *S. argentea*; SBA: *S. barrelieri*; SVR: *S. verbenaca*; EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne de % ± SD (n=3). ns : non significatif.

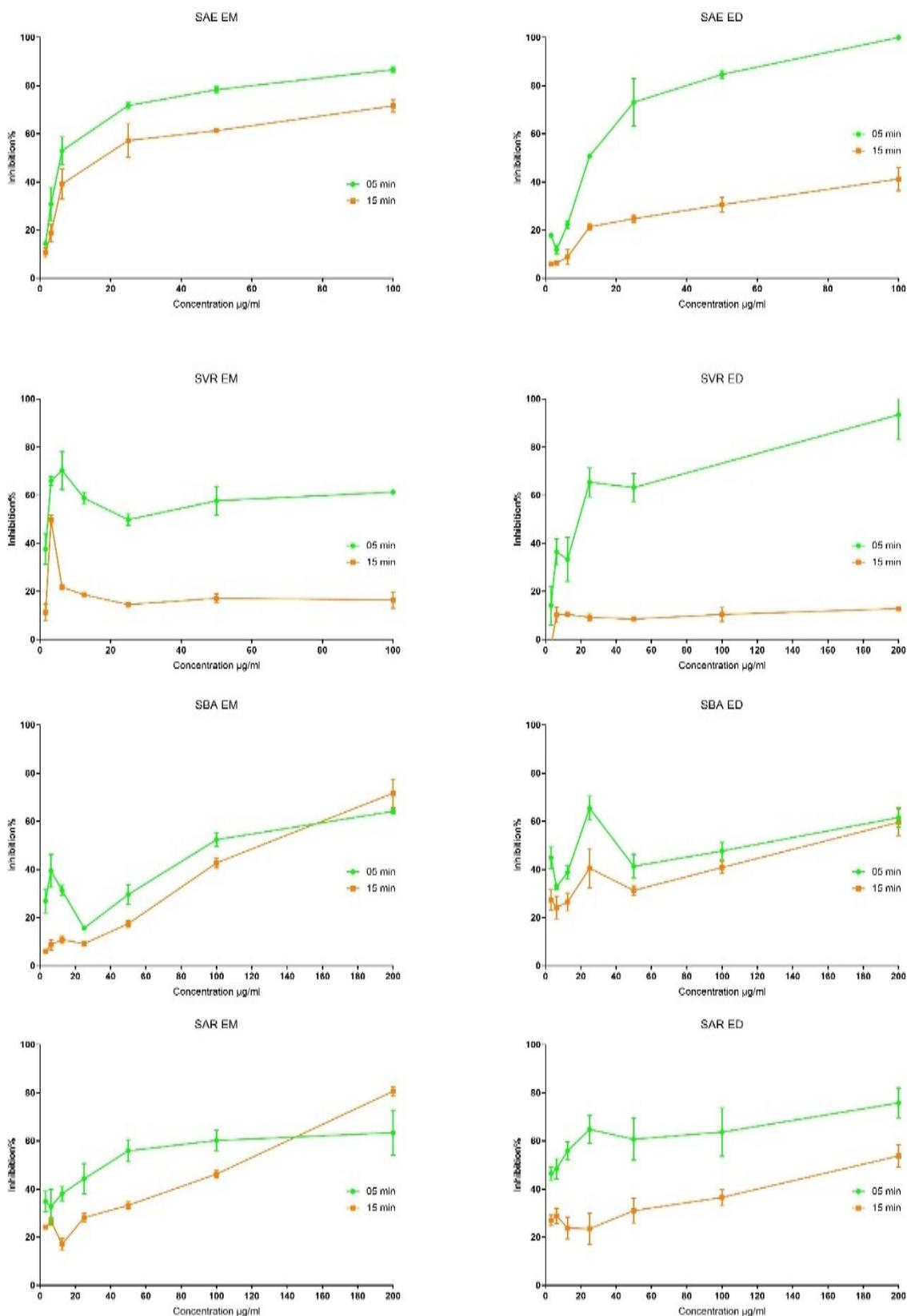


Figure 30. Inhibition du BChE des différents extraits de plante du genre *Salvia*. SAE: *S. aegyptiaca*; SAR : *S. argentea*; SBA: *S. barrelieri*; SVR: *S. verbenaca*; EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne de % \pm SD (n=3). ns : non significatif.

3.9.2. Inhibition de l'alpha-glucosidase

Le prétraitement de l'alpha-glucosidase avec les différents extraits étudiés induit une forte inhibition ($P < 0.0001$) de cette enzyme avec des IC_{50} en comparaison à celui de l'acarbose ($275.43 \pm 1.36 \mu\text{g/ml}$) pour l'ED SAE, l'EM SVR et l'EM SAR (IC_{50} 96.94 ± 0.58 , 150.05 ± 1.04 et $111.2 \pm 1.35 \mu\text{g/ml}$ respectivement, Fig. 31). L'inhibition enzymatique en présence des autres extraits suit l'ordre ED SAR > ED SAE > EM SBA > ED SVR > ED SBA (Fig. 31). De même, l'inhibition enzymatique observée en présence des extraits obtenus par décoction était inférieure en comparaison avec leur extraits méthanoliques correspondants ($P \leq 0.0001$)

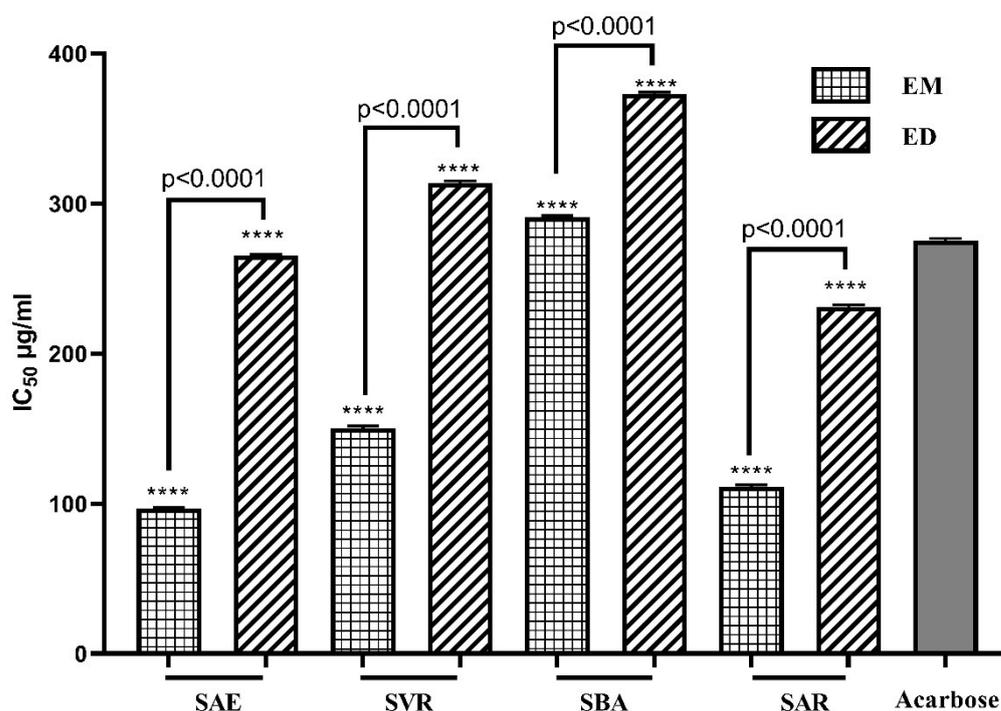


Figure 31. Inhibition de l'alpha-glucosidase des différents extraits de plante du genre *Salvia*. SAE: *S. aegyptiaca*; SAR : *S. argentea*; SBA: *S. barrelieri*; SVR: *S. verbenaca*; EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne de $IC_{50} \pm SD$ ($n=3$) (** $P \leq 0.0003$, **** $P \leq 0.0001$) vs acarbose comme standard. ns : non significatif.

3.9.3. Inhibition de l'alpha-amylase

Les résultats de ce test ont montré que les extraits méthanoliques de SAE et SVR sont capable d'inhiber l'enzyme après 30 minutes d'incubation et peuvent atteindre un taux d'inhibition de 88.72 et 85.52% respectivement pour $200 \mu\text{g/ml}$. La figure a montré l'évolution de l'inhibition de l'activité enzymatique de l'alpha amylase en présence des différents extraits de plantes à des différentes concentrations. Les valeurs des IC_{50} dans ce cas (96.94 ± 0.58 et $150.5 \pm 1.40 \mu\text{g/ml}$ pour l'EM SAE et l'EM SVR respectivement; Fig. 32) sont trop inférieure à celles observées en présence de l'acarbose ($3.65 \pm 0.02 \text{ mg/ml}$, $P \leq 0.0001$). Tous les extraits préparés par décoction

ont montré un effet inhibiteur très faible envers l'activité enzymatique de l'alpha glucosidase. Les taux d'inhibition sont compris entre 14.94 et 34.19%.

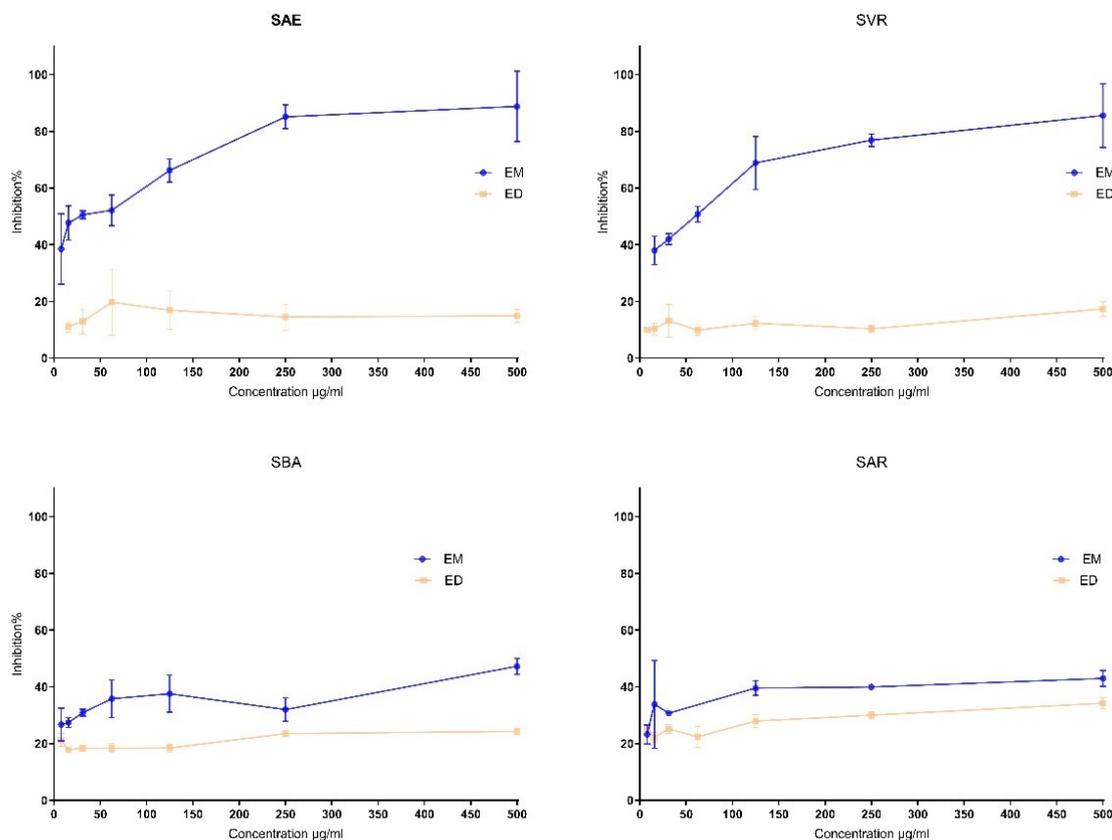


Figure 32. Inhibition de l'alpha amylase des différents extraits de plante du genre *Salvia*. SAE: *S. aegyptiaca*; SAR : *S. argentea*; SBA: *S. barrelieri*; SVR: *S. verbenaca*; EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne de % \pm SD (n=3). ns : non significatif.

3.10. Inhibition de la glycation

L'inhibition de la glycation des différents extraits étudiés à 2 mg/ml est importante et presque comparable pour les deux types d'extrait pour chaque plante ($P > 0.05$) et varie entre 69.2 et 81.8% (Fig. 33). L'efficacité des extraits utilisés à cette dose (2 mg/ml) reste inférieure de la rutine avec 99.6% ($P > 0.0001$).

En terme d' IC_{50} , les extraits méthanolique des plantes étudiées ont montré toujours une activité élevée en comparaison avec les extraits obtenus par décoction ($P > 0.0001$). En effet, l'inhibition la plus efficace est observée avec les extraits de SBA avec des valeurs de IC_{50} de 70.0 ± 0.1 et 90.1 ± 0.5 $\mu\text{g/ml}$ pour EM SBA et ED SBA respectivement, suivie par les différents extraits selon l'ordre EM SVR > EM SAE > ED SVR > EM SAR > ED SAE. Les valeurs des IC_{50} enregistrées sont respectivement 100.0 ± 0.1 , 110.0 ± 0.001 , 170.0 ± 0.6 , 190.0 ± 0.3 et 210.0 ± 4.0 $\mu\text{g/ml}$

respectivement. L'ED SAR montre l'activité la plus faible ($360 \pm 0.4 \mu\text{g/ml}$). Aucun extrait n'a présenté une activité importante en comparaison avec la rutine ($\text{IC}_{50} : 20.0 \pm 0.4 \mu\text{g/ml}$, $P \leq 0.0001$, Fig. 34).

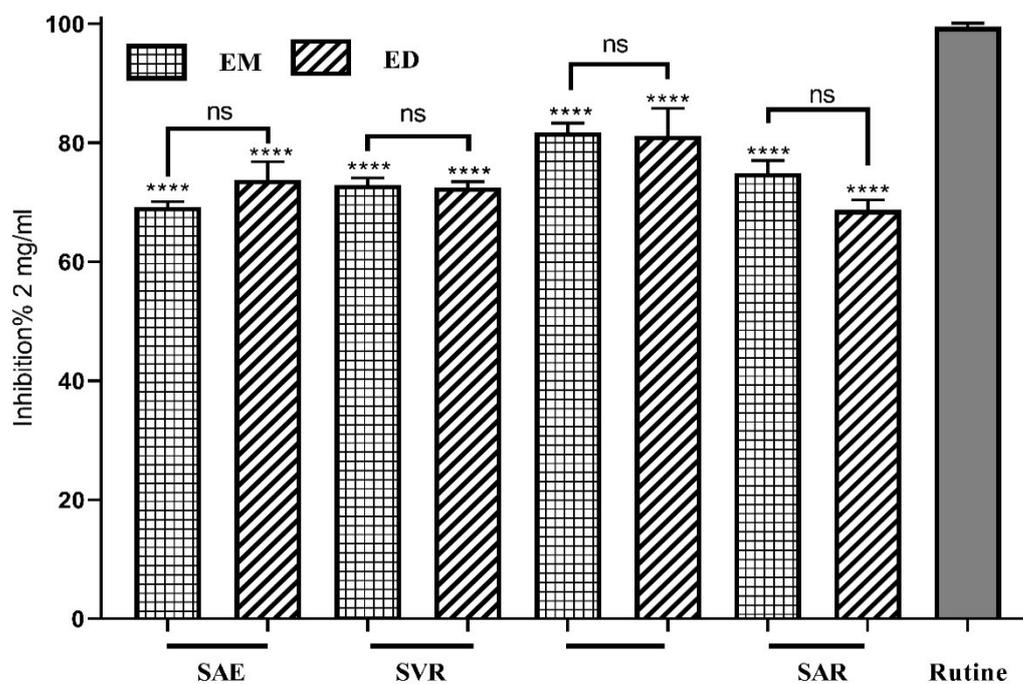


Figure 33. Activité anti glycation des différents extraits de plante du genre *Salvia* à 2 mg/ml. SAE: *S. aegyptiaca*; SAR : *S. argentea*; SBA: *S. barrelieri*; SVR: *S. verbenaca*; EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne de % \pm SD (n=3) **** $P \leq 0.0001$) vs Rutine comme standard. ns : non significatif.

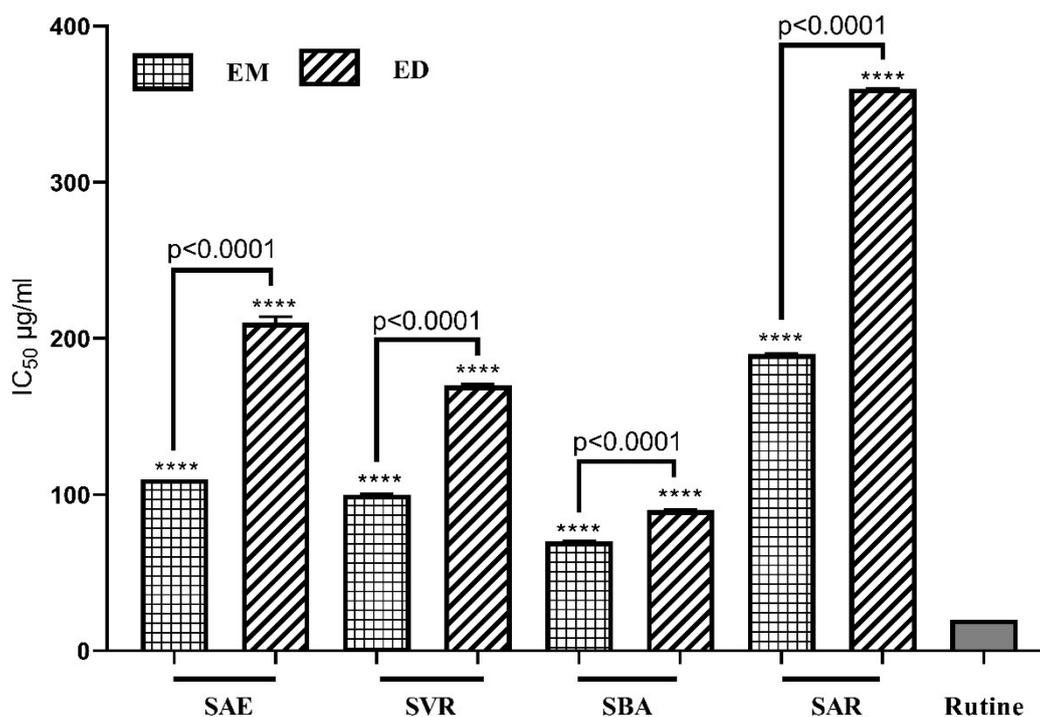
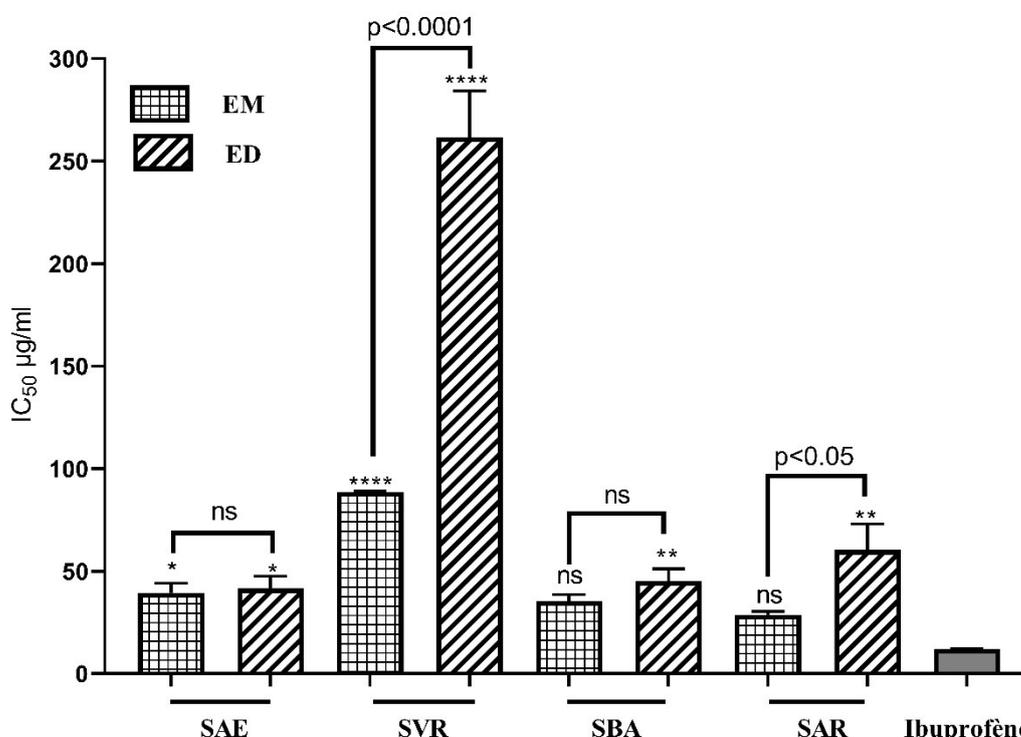


Figure 34. Activité anti glycation des différents extraits de plante du genre *Salvia*.

SAE: *S. aegyptiaca*; SAR : *S. argentea*; SBA: *S. barrelieri*; SVR: *S. verbenaca*; EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne de $IC_{50} \pm SD$ (n=3) (**** $P \leq 0.0001$) vs Rutine comme standard. ns : non significatif.

3.11. Activité anti inflammatoire (flambé respiratoire)

L'activité antiinflammatoire est suivie en mesurant la luminescence produite suite à l'oxydation de luminol par les espèces réactives de l'oxygène générés par les cellules immunitaires. L'inhibition des cellules immunitaires par les différents extraits étudiés conduit à la diminution de la lumière émise. En effet, les extraits préparés à partir de SAE, SBA et SAR ont montré des activités très importantes et même comparable avec celle de l'ibuprofène utilisé comme standard (IC_{50} : $12.0 \pm 0.003 \mu\text{g/ml}$, $P > 0.05$, Fig. 35). Les extraits EM SAE et EM SBA (IC_{50} 39.5 ± 4.6 et $35.4 \pm 3.1 \mu\text{g/ml}$) ont montré un effet important et comparable avec les mêmes extraits obtenus par décoction avec les IC_{50} suivantes 38.1 ± 0.8 et $38.1 \pm 3.1 \mu\text{g/ml}$. L'activité inhibitrice la plus remarquable est obtenue avec l'EM SAR avec une IC_{50} de $28.8 \pm 1.6 \mu\text{g/ml}$. Par contre, les effets les plus faibles sont obtenus avec les extraits EM SVR et ED SVR avec des valeurs de IC_{50} de l'ordre de 88.6 ± 0.5 et $261.54 \pm 22.81 \mu\text{g/ml}$.

**Figure 35.** Activité anti inflammatoire (flambé respiratoire) des différents extraits de plante du genre *Salvia*.

SAE: *S. aegyptiaca*; SAR : *S. argentea*; SBA: *S. barrelieri*; SVR: *S. verbenaca*; EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne de $IC_{50} \pm SD$ (n=3) (* $P \leq 0.05$, $P \leq 0.002$, **** $P \leq 0.0001$) vs Ibuprofène comme standard. ns : non significatif.

3.12. Test de cytotoxicité

Deux lignée cellulaire 3T3 et HeLa sont utilisées pour tester la toxicité des différents extraits de plantes du genre *Salvia*. En effet, les résultats ont montré que tous les extraits décoctés ont un effets cytotoxique trop faible et non significatif ($P > 0.05$, Fig. 36). Les taux de toxicité varient entre 3.47 et 20.47%. Cependant, une légère prolifération est observée en présence des extraits méthanolique avec des taux compris entre 7.76 et 13.2% ($P > 0.05$). De même, les différents extraits étudiés n'ont montré aucune toxicité envers la lignée cellulaire HeLa sauf pour l'ED SVR qui présente une toxicité de $32.5 \pm 7.61\%$. Par contre, une prolifération de 33.8 ± 5.82 est observée en présence de l'ED SAR. Une prolifération légère et non significative est observée avec le autres extraits ($P > 0.05$, Fig. 37).

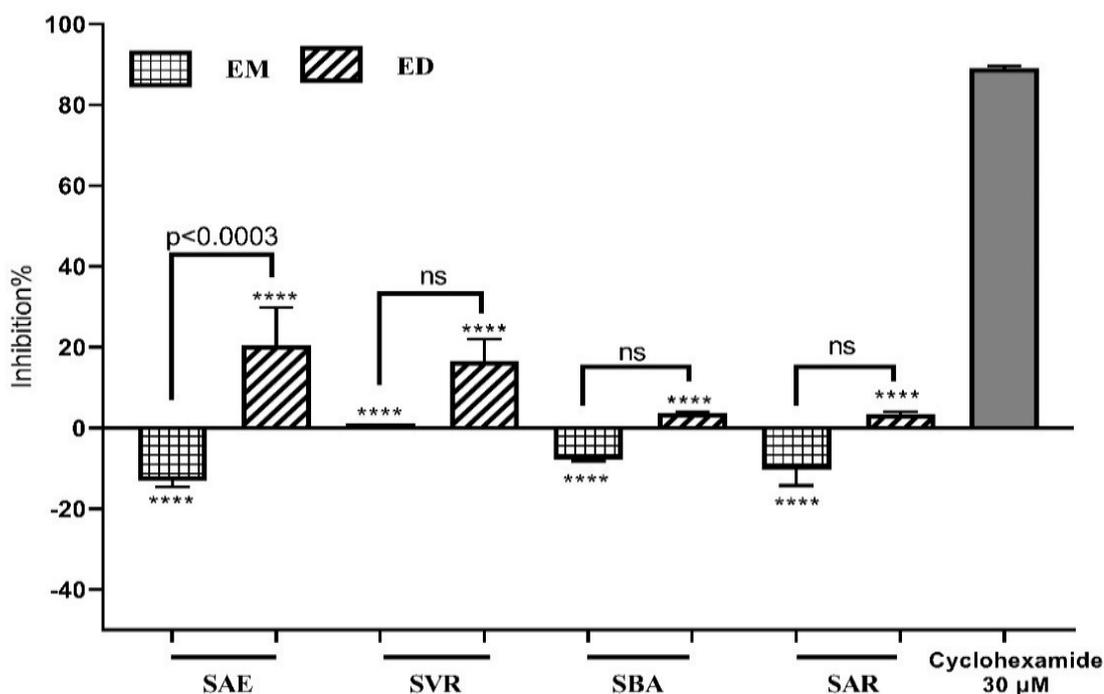


Figure 36. Cytotoxicité sur la lignée cellulaire 3T3 des différents extraits de plante du genre *Salvia*.

SAE: *S. aegyptiaca*; SAR : *S. argentea*; SBA: *S. barrelieri*; SVR: *S. verbenaca*; EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne de $\% \pm \text{SEM}$ ($n=3$) (**** $P \leq 0.0001$) vs Cyclohexamide comme standard. ns : non significatif.

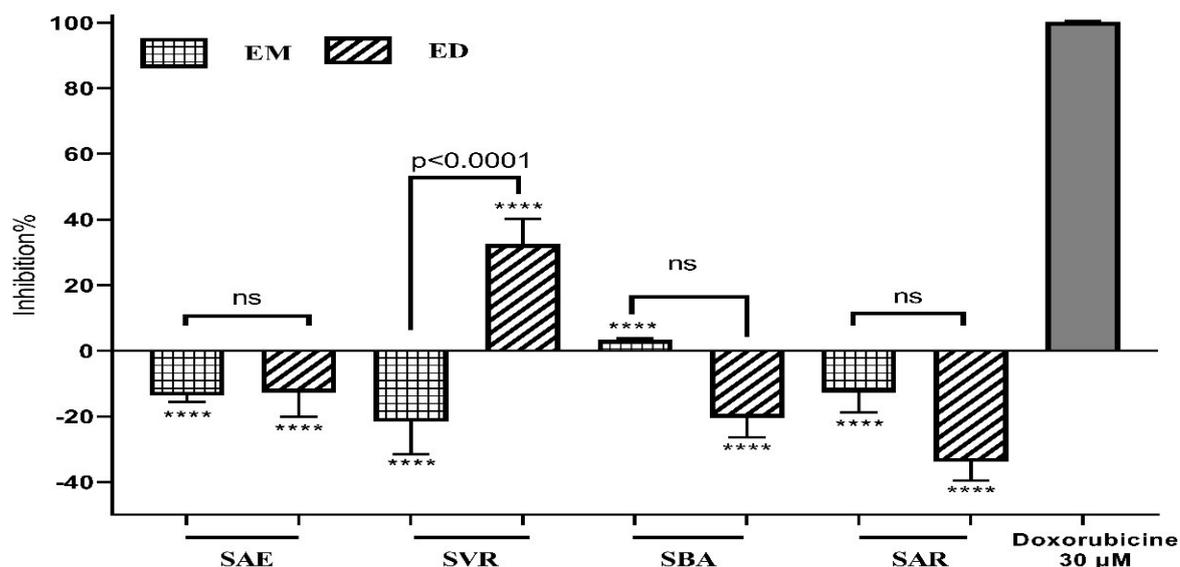


Figure 37. Cytotoxicité sur la lignée cellulaire HeLa des différents extraits de plante du genre *Salvia*.

SAE: *S. aegyptiaca*; SAR : *S. argentea*; SBA: *S. barrelieri*; SVR: *S. verbenaca*; EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne de % \pm SEM (n=3) (**** P \leq 0.0001) vs Cyclohexamide comme standard. ns : non significatif.

3.13. Test de toxicité aiguë

L'observation quotidienne des souris, après l'administration orale de 2000 ou 5000 mg/kg de chaque extrait, n'a montré aucun signe de toxicité neurologique ou physique. De même, pas de mortalité a été enregistrée pendant les 14 jours d'observation. L'analyse morphologique des organes, après sacrifice, n'a dévoilé aucun changement dans la forme ou la couleur.

3.14. Transit intestinal et vidange gastrique

Dans la présente étude, les animaux sont traités par l'administration orale de 0.1 ml/20g de solution test de l'extrait avant l'administration du repas d'essai. Le transit intestinal et la vidange gastrique sont mesurés après 20 minutes de séjour de la solution de rouge phénol dans l'estomac. Le taux du transit intestinal et de la vidange gastrique chez les souris témoins (traitées par du CMC 1.5% uniquement) une heure avant le gavage du rouge phénol sont de 61.69 ± 2.65 et $79.36 \pm 4.04\%$ (n=8) respectivement. Dans une autre série d'expériences, chaque extrait est administré (400 mg/kg) en présence de différentes substances pharmacologiques, afin de déterminer le mécanisme d'action de l'extrait sur la vidange gastrique et le transit intestinal. Le traitement des souris par l'atropine 1 mg/kg, la L-Arg 300 mg/kg ou le L-NNA 20 mg/kg réduit significativement (P \leq 0.0001) le transit à 29.01, 37.48 et 42.28% respectivement. De même, ces produits pharmacologiques, utilisés antérieurement, réduisent les taux de la vidange gastrique à 55.96, 47.97 et 32.26% (P \leq 0.002) pour l'Atr, la L-Arg et le L-NNA respectivement.

3.14.1. Effets de *S. aegyptiaca*

L'administration de l'extrait de l'EM SAE, à différentes doses, induit une légère diminution ($P > 0.05$) du transit intestinal de manière indépendante de la concentration, pour arriver à un taux de 50.58% pour 200 mg/kg (Fig. 38). Par contre, l'ED SAE induit une légère diminution de 6.46% ($P > 0.05$) cependant une augmentation du transit à 71.85% est observée avec l'ED SAE 400 mg/kg. Cette augmentation reste non significative ($P > 0.05$). Le changement du type d'extrait avec le transit intestinal n'a aucun effet sauf pour la dose 400 mg/kg ($P \leq 0.05$).

Le blocage des récepteurs muscariniques par l'atropine en présence de l'EM SAE n'a aucun effet sur le transit intestinal en comparaison avec l'EM SAE seul ($P > 0.05$, Fig. 39). Par contre, en présence de l'ED, une diminution du transit intestinal de 19.39% ($P \leq 0.0002$) est observée. Le transit intestinal observé avec l'Atr reste inférieur ($P \leq 0.0001$) à ceux obtenus avec chaque extrait seul.

L'administration orale de la L-Arg (donneur de NO par la NOS), juste après l'administration des extraits, diminue de manière significative le transit intestinal pour atteindre 44.90 et 54.02% pour l'EM et l'ED respectivement (Fig. 39). De même, le L-NNA induit une diminution du taux de transit intestinal en présence des extraits pour atteindre 51 ($P > 0.05$) et 46% ($P \leq 0.0002$) en comparaison avec les extraits seuls. Les taux de transit intestinal des EM et ED en présence du L-NNA sont comparables à celui du L-NNA seul ($P > 0.05$, Fig. 39).

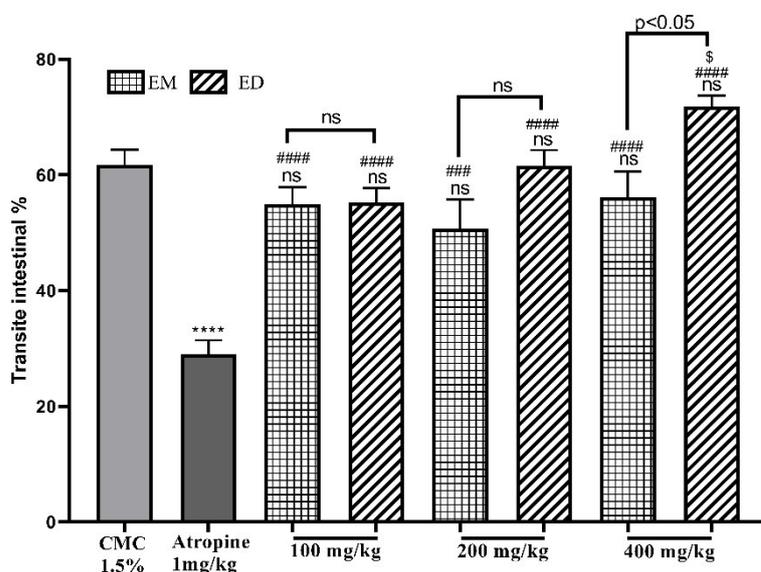


Figure 38. Effet de *S. aegyptiaca* sur le transit intestinal des souris.

EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne % \pm SEM (#### $P \leq 0.0001$) vs Atropine. ns : non significatif; n = 7-9.

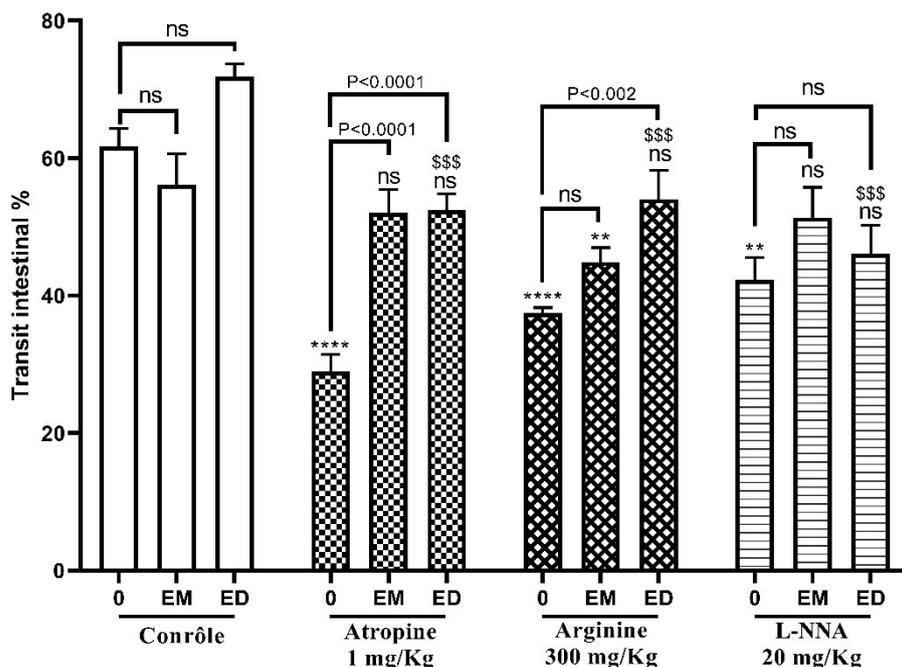


Figure 39. Mécanisme de l'effet de *S. aegyptiaca* sur le transit intestinal des souris.

EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne % \pm SEM (** $P \leq 0.002$, **** $P \leq 0.0001$) vs CMC ; (\$\$\$ $P \leq 0.0002$) vs contrôle correspondant. ns : non significatif; n = 7-9.

Seul l'EM SAE à 100 mg/kg induit une diminution significative de la vidange gastrique à 56.03% ($P \leq 0.05$, Fig. 40). Par contre, les autres doses des extraits utilisés induisent une légère diminution pour atteindre un taux compris entre 61 et 69%. Les taux de la vidange gastrique obtenus avec les différents extraits sont comparables à celui obtenu avec l'atropine seul ($P > 0.05$).

Le traitement des souris avec l'atropine et l'EM ou ED (400 mg/kg) simultanément réduit les taux de la vidange gastrique à 56.47 ($P \leq 0.05$) et 67% ($P > 0.05$). Malgré que la diminution de la vidange gastrique soit non significative pour l'ED, le taux de cette dernière reste comparable à celui de l'Atr seule.

L'administration orale de la L-Arg avec les extraits induit une augmentation légère de la vidange, mais de manière non significative pour atteindre 84.34 et 82.56% ($P > 0.05$, Fig. 41) pour l'EM et l'ED respectivement. Les taux de la vidange gastrique sont hautement élevés par rapport à la L-Arg seule ($P \leq 0.0001$). Par contre, l'utilisation du L-NNA avec l'ED réduit significativement la vidange à 40% ($P \leq 0.0001$), alors qu'en présence de l'EM la vidange reste inchangée ($P > 0.05$, Fig. 41)

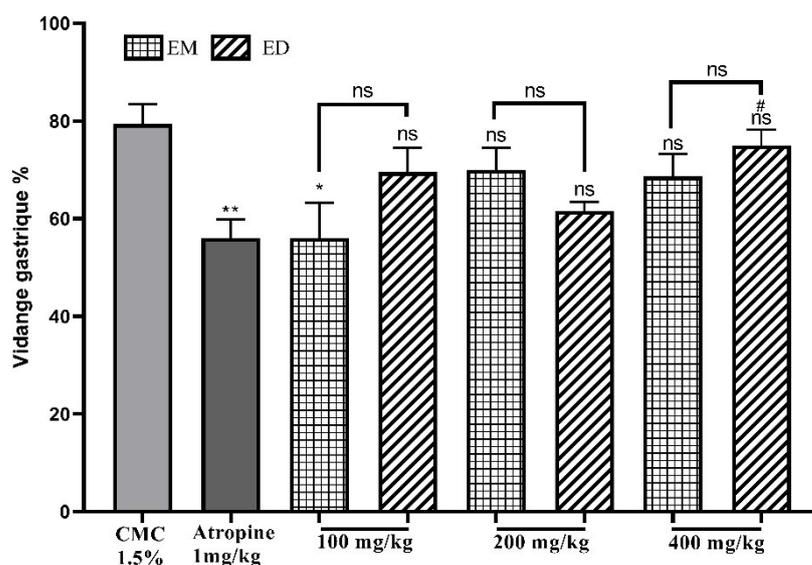


Figure 40. Effet de *S. aegyptiaca* sur la vidange gastrique des souris. EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne % ± SEM (* P≤ 0.05, **P≤0.002) vs CMC. ns : non significatif.

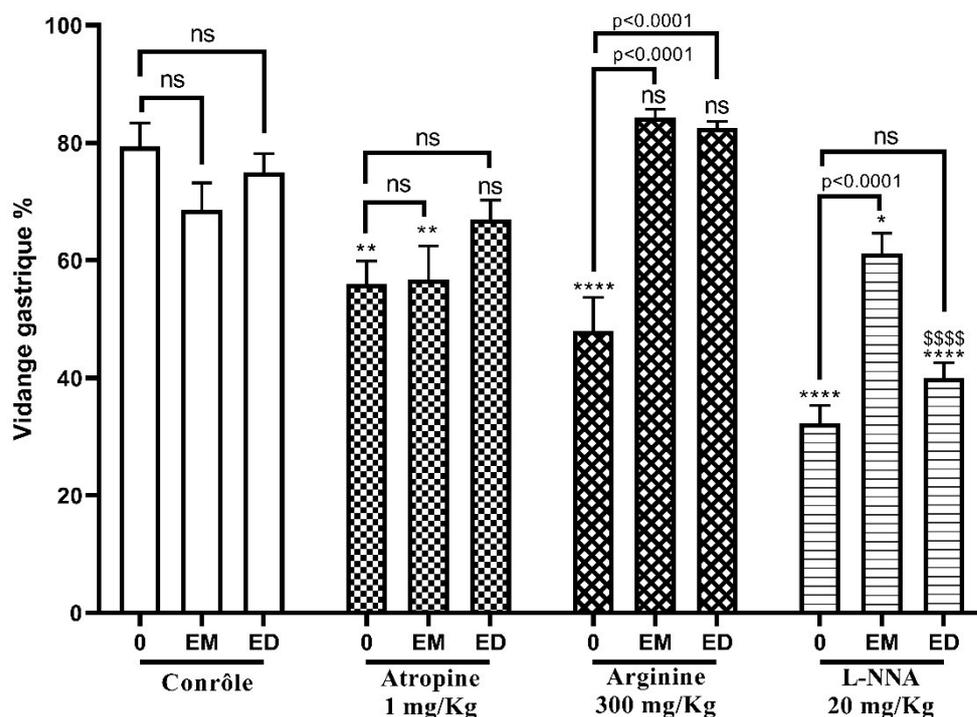


Figure 41. Mécanisme de l'effet de *S. aegyptiaca* sur la vidange gastrique des souris. EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne % ± SEM (**P≤0.002, ****P≤0.0001) vs CMC ; (\$\$\$\$ P≤ 0.0001) vs contrôle correspondant. ns : non significatif.

3.14.2. Effets de *S. verbenaca*

Le traitement des souris par différentes doses de chaque extrait de plantes induit une diminution progressive non significative du transit intestinal pour arriver aux taux de 53.85 et 56.26% ($P>0.05$) pour l'EM et l'ED respectivement (Fig. 42).

Le traitement des souris avec l'atropine et les extraits de *S. verbenaca* n'a aucun effet sur les taux de transit intestinal (Fig. 43).

La diminution significative remarquée lors de l'utilisation de la L-Arg persiste en présence des extraits à la dose 400 mg/kg. Les taux du transit intestinal dans ce cas sont 47.65 et 43.93% ($P\leq 0.002$) pour l'EM et l'ED respectivement (Fig. 43). Les taux de transit intestinal avec ces derniers restent comparables à celui de la L-Arg seul. Par contre, aucune différence significative est enregistrée lors du traitement des souris avec du L-NNA avec l'EM ou l'ED simultanément.

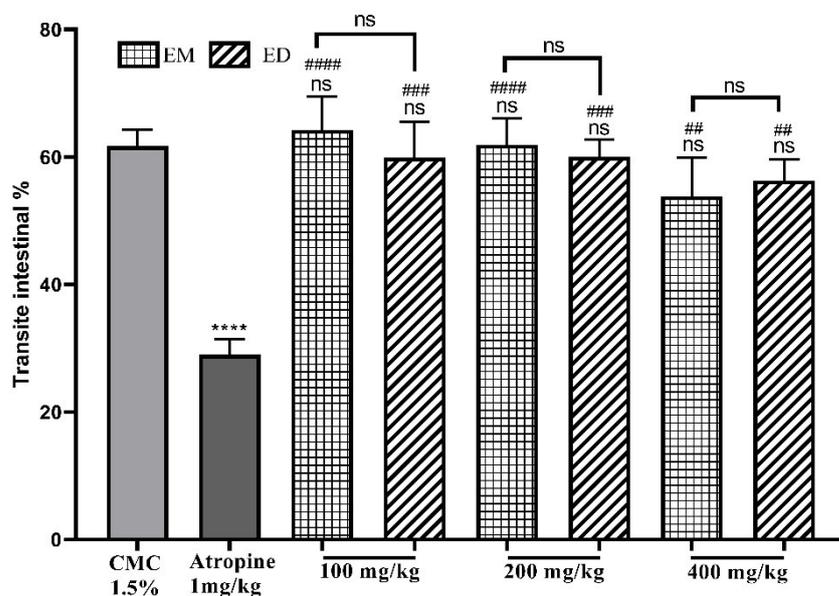


Figure 42. Effet de *S. verbenaca* sur le transit intestinal des souris.

EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne % \pm SEM (## $P\leq 0.002$, ### $P\leq 0.0002$, #### $P\leq 0.0001$) vs Atropine. ns : non significatif.

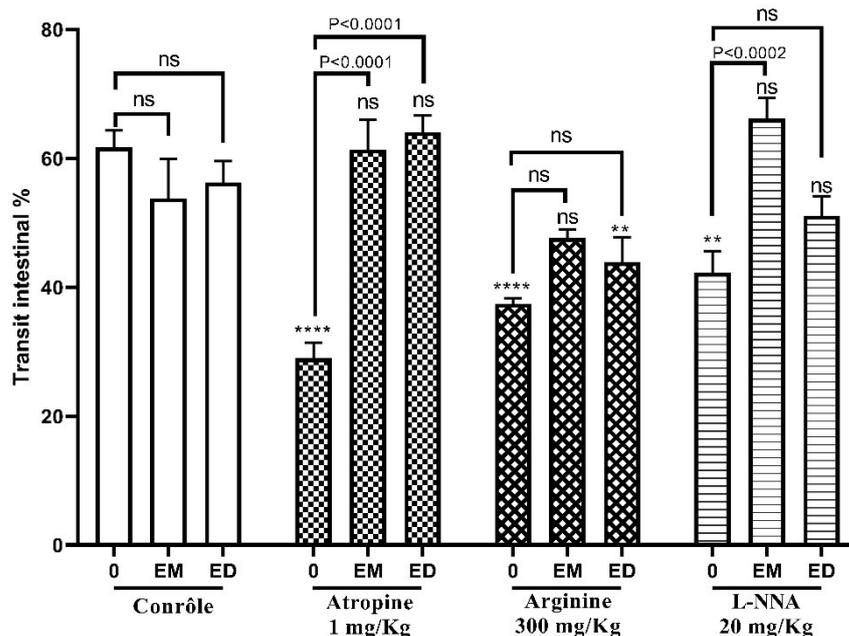


Figure 43. Mécanisme de l'effet de *S. verbenaca* sur le transit intestinal des souris.

EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne % \pm SEM (** $P \leq 0.002$, *** $P \leq 0.0001$) vs CMC. ns : non significatif.

Le traitement des souris par l'EM SVR a diminué progressivement les taux de vidange gastrique pour atteindre $52.45 \pm 3.47\%$ pour la dose 400 mg/kg ($P \leq 0.0002$, Fig. 44). Ce dernier est comparable à celui de l'atropine seule. Par contre, aucun effet n'a été remarqué pour l'extrait décocté.

Le blocage des récepteurs muscariniques en présence de l'ED étudié réduit le taux de la vidange gastrique en comparaison avec son témoin correspondant (ED seul à 400 mg/kg) de 10.55% ($P \leq 0.05$), parallèlement le taux de vidange gastrique en présence de l'EM reste réduit et comparable avec l'atropine seule.

L'utilisation de la L-Arg avec l'EM SVR simultanément a légèrement augmenté le taux de la vidange gastrique en comparaison avec l'EM seul. Par contre, l'effet de l'arginine seule est aboli suite à l'utilisation de l'ED VSR à 400 mg/kg, le taux de la vidange gastrique, dans ce cas, est $80.03 \pm 3.41\%$ ($P \leq 0.0001$, Fig. 45). L'administration orale de 400 mg/kg de l'EM SVR sous l'effet de L-NNA, augmente légèrement la vidange gastrique de 9.42% en comparaison avec l'EM seul. Par contre, l'effet inhibiteur de la NOS par le L-NNA persiste même en présence de l'ED SVR avec un taux de $33.79 \pm 3.46\%$.

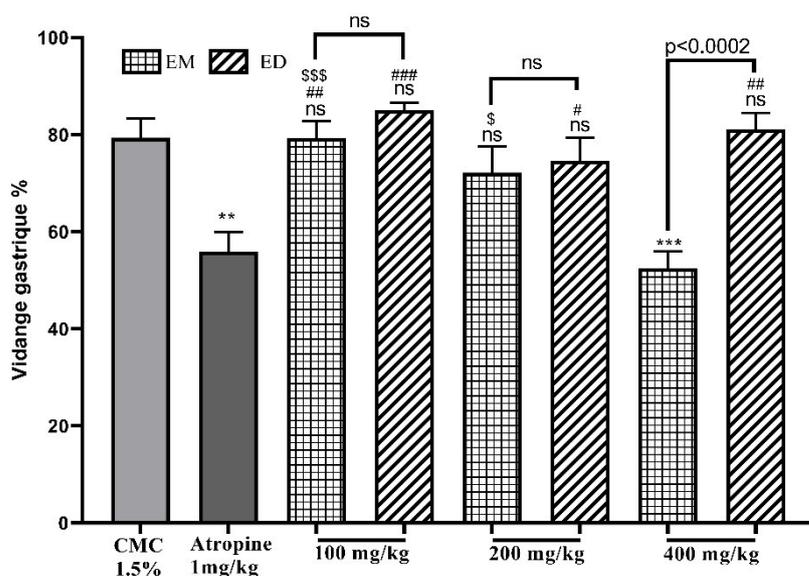


Figure 44. Effet de *S. verbenaca* sur la vidange gastrique des souris.

EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne % ± SEM (**P<0.002) vs CMC. ns ; (#P<0.05, ##P<0.002, ###P<0.0002) vs Atropine ; (\$P<0.05, \$\$\$P<0.0002) vs EM 400 mg/kg ns: non significatif.

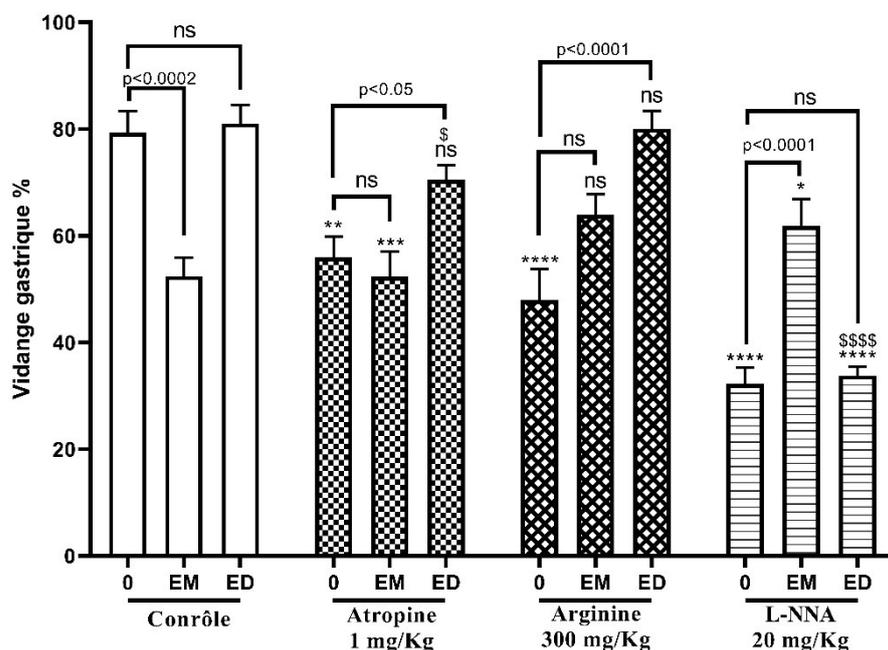


Figure 45. Mécanisme de l'effet de *S. verbenaca* sur la vidange gastrique des souris.

EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne % ± SEM (**P<0.002, ***P<0.0001) vs CMC ; (\$\$\$ P< 0.0001) vs contrôle correspondant. ns : non significatif.

3.14.3. Effets de *S. barrelieri*

Le traitement des souris par les extraits de SBA n'a aucun effet sur le transit intestinal ($P > 0.05$), une légère augmentation est observée avec la dose 400 mg/kg, cette augmentation reste non significative (Fig. 46).

Le blocage des récepteurs muscariniques induit une diminution du transit intestinal en présence des extraits EM et ED de la plante étudiée de 10.34 et 17.53% respectivement ($P \leq 0.002$). Malgré cette diminution, les taux de transit en présence des extraits et de l'atropine restent élevés par rapport à l'atropine seule ($P \leq 0.0001$).

En présence de l'Arg les EM et ED induisent une forte diminution du transit intestinal en comparaison avec leurs contrôles correspondants, les taux enregistrés dans ce cas sont 47.31 ± 4.21 et $50.80 \pm 2.08\%$ ($P \leq 0.0002$) respectivement. Parallèlement, l'EM et ED sous l'inhibition de la NOS induisent une diminution de 12.24 et 17.24% ($P \leq 0.002$) respectivement, les taux de transit dans ce cas sont comparables à celui du L-NNA seul (Fig. 47).

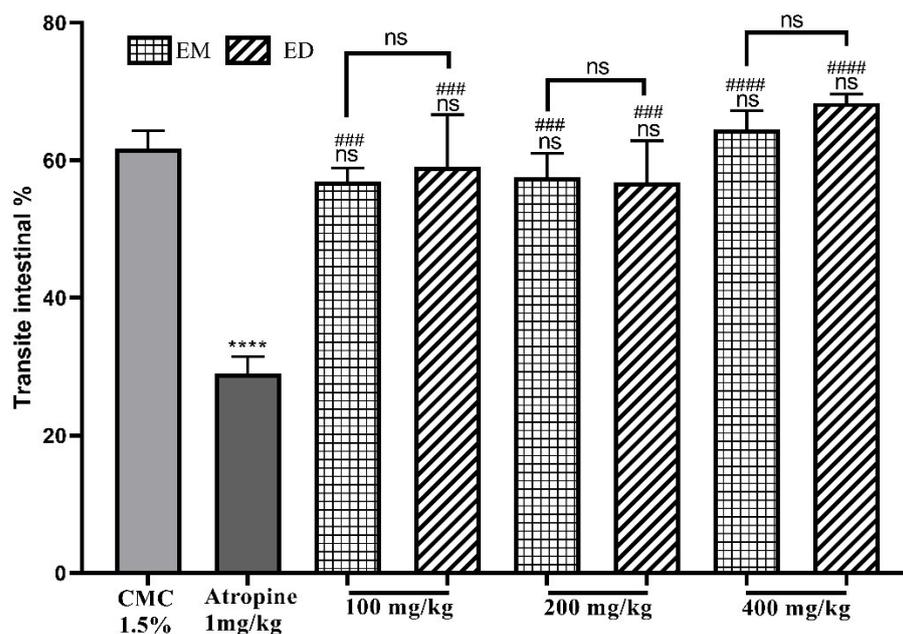


Figure 46. Effet de *S. barrelieri* sur le transit intestinal des souris.

EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocqué. Les résultats sont représentés en moyenne % \pm SEM (### $P \leq 0.0002$, #### $P \leq 0.0001$) vs Atropine. ns : non significatif.

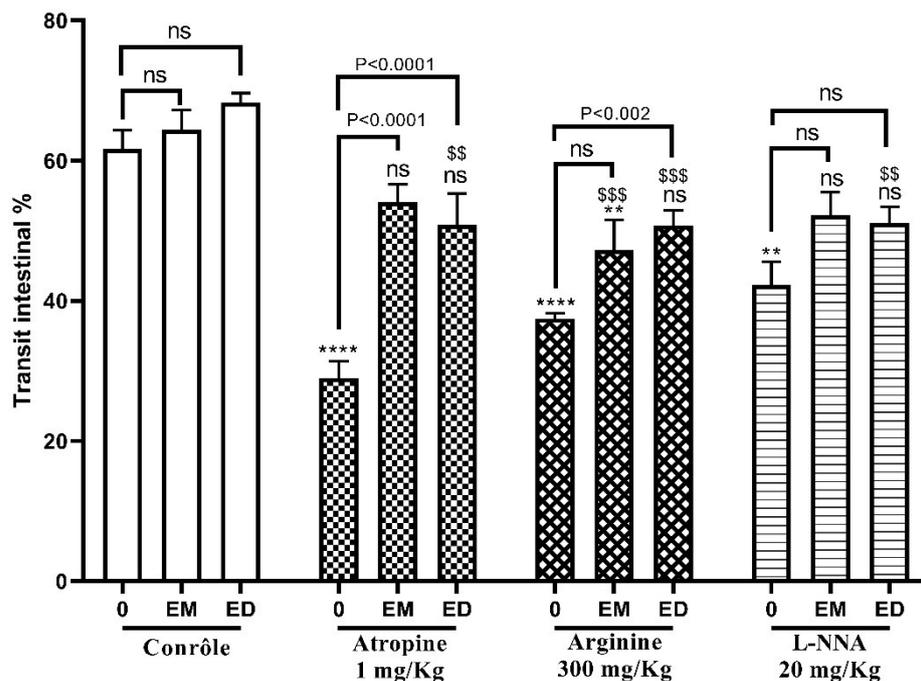


Figure 47. Mécanisme de l'effet de *S. barrelieri* sur le transit intestinal des souris.

EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne % \pm SEM (** $P \leq 0.002$, *** $P \leq 0.0001$) vs CMC. (\$ $P \leq 0.002$, \$\$\$ $P \leq 0.0001$) vs contrôle correspondant, ns : non significatif.

Seules les doses de l'EM SBA induisent une forte inhibition de la vidange gastrique à 46.82 ± 4.34 , 54.71 ± 3.29 et $48.45 \pm 1.33\%$ ($P \leq 0.0001$) pour les doses 100, 200 et 400 mg/kg respectivement (Fig. 48), cette diminution est comparable à celle induite par l'atropine seule. Par contre les doses de l'extrait ED n'ont aucun effet.

Le couplage des extraits avec l'atropine diminue le taux de la vidange gastrique pour l'ED à 60.96% ($P \leq 0.05$, Fig. 49), cependant le taux de la vidange gastrique observé avec le mélange de l'EM et l'Atr reste inchangé en comparaison avec l'EM seul.

La diminution du taux de la vidange gastrique induite par l'EM SBA persiste après l'addition de la L-Arg. Par contre, ce dernier n'a aucun effet sur la vidange gastrique en présence de l'ED SBA ($P \leq 0.0001$). L'administration orale de 400 mg/kg de l'EM et l'ED de la plante étudiée sous l'effet du L-NNA induit une diminution du taux de la vidange gastrique respective de 5 et 27.8%. D'une part, le taux de la vidange en présence du l'EM et L-NNA est comparable à celui de l'EM SBA seul (Fig. 49). D'autre part, le taux de la vidange gastrique en présence du L-NNA et de l'ED est élevé par rapport au taux observé avec le L-NNA seul ($P \leq 0.0002$).

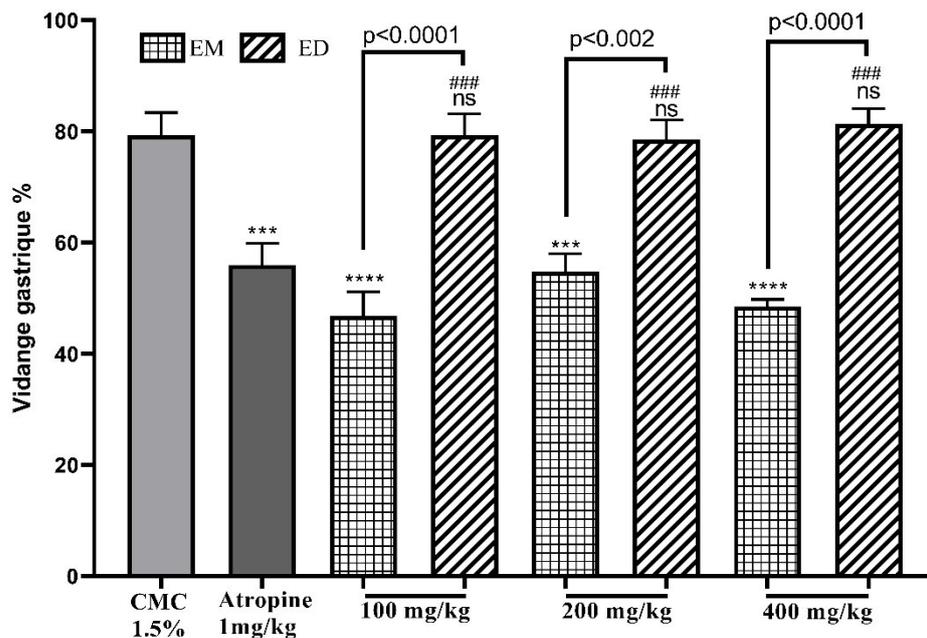


Figure 48. Effet de *S. barrelieri* sur la vidange gastrique des souris. EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne % ± SEM (**P≤0.002) vs CMC. ; (#P≤0.05, ##P≤0.002, ###P≤0.0002) vs Atropine ; (\$P≤0.05, \$\$\$P≤0.0002) vs EM 400 mg/kg, ns : non significatif.

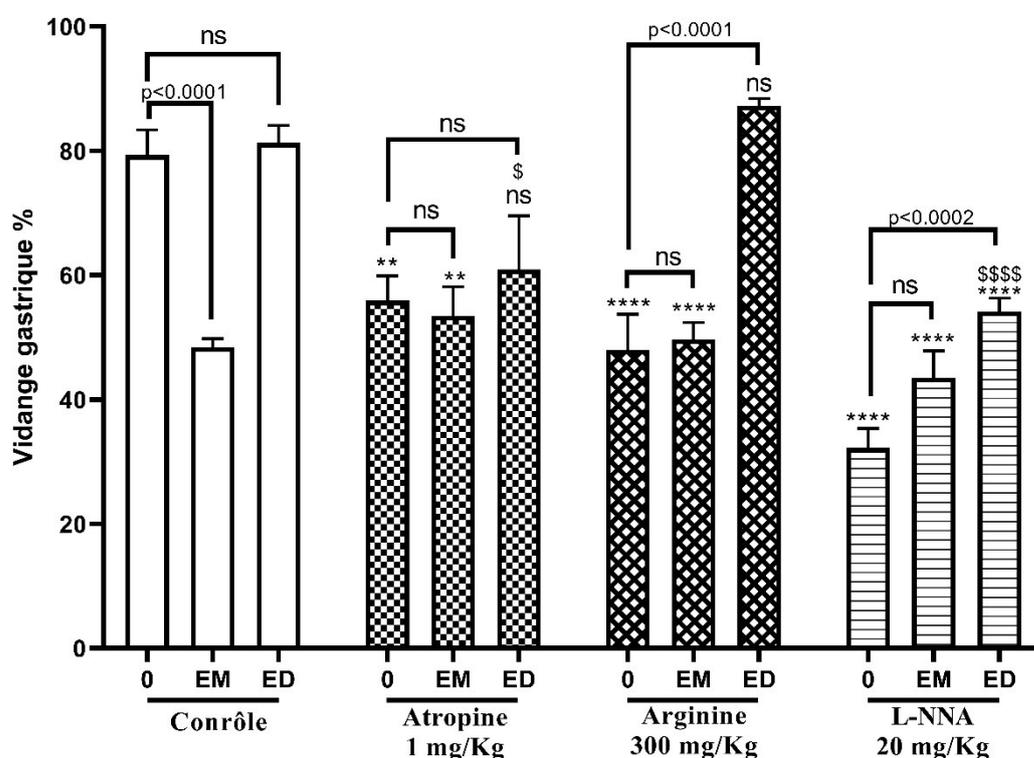


Figure 49. Mécanisme de l'effet de *S. barrelieri* sur la vidange gastrique des souris. EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne % ± SEM (**P≤0.002, ***P≤0.0001) vs CMC ; (\$\$\$\$ P≤ 0.0001) vs contrôle correspondant. ns : non significatif.

3.14.4. Effets de *S. argentea*

Le traitement des souris par l'EM SAR induit une diminution significative, de manière dose dépendante, du transit intestinal en comparaison avec les souris normales traitées par le CMC 1.5% seulement. Les taux enregistrés pour les doses 200 et 400 mg/kg sont 47.29 ± 4.33 et $38.72 \pm 4.25\%$ respectivement ($P \leq 0.002$, Fig. 50). Par contre, l'ED SAR n'a aucun effet significatif ($p > 0.05$).

Le blocage des récepteurs muscariniques par l'atropine en présence de l'EM SAE n'a aucun effet sur le transit intestinal en comparaison avec l'EM SAR seul ($P > 0.05$, Fig. 51). Par contre, en présence de l'ED, une diminution du transit intestinal de 11.07% ($P \leq 0.05$) est observée.

L'administration orale de la L-Arg, juste après l'administration des extraits, diminue de manière significative le transit intestinal pour atteindre 39.62% pour l'ED ($P \leq 0.002$, Fig. 51) en comparaison avec l'ED seul. Cependant, pas d'effet observé sur le transit intestinal induit par l'EM SAR. Par contre, l'utilisation du L-NNA avec les extraits de SAR n'a montré aucun effet sur le transit intestinal ($P > 0.05$).

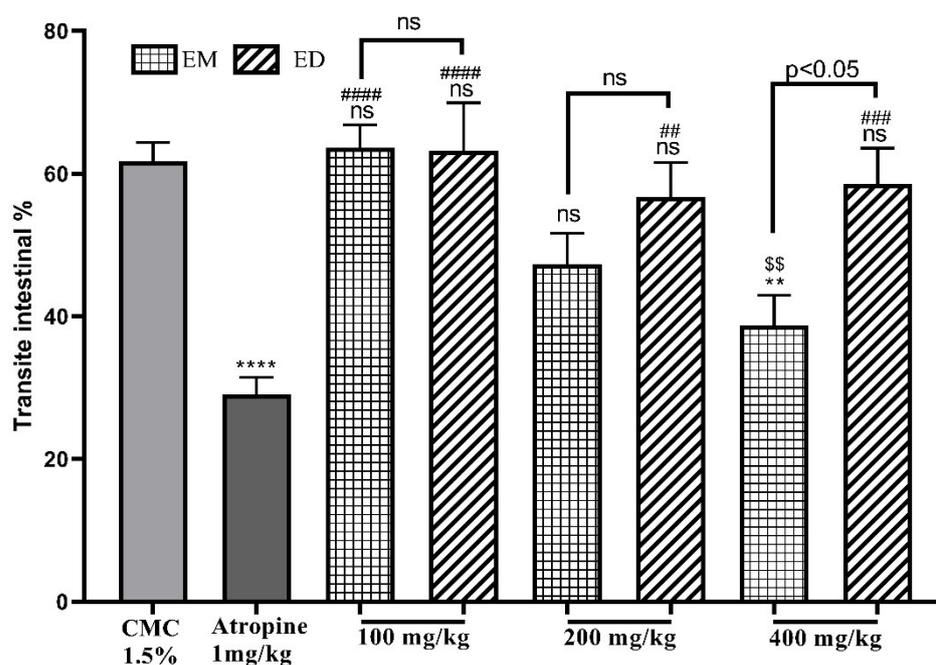


Figure 50. Effet de *S. argentea* sur le transit intestinal des souris.

EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne % \pm SEM ## $P \leq 0.002$, ### $P \leq 0.0002$, #### $P \leq 0.0001$ vs Atropine. (\$ $P \leq 0.002$) vs EM 100mg/kg, ns : non significatif.

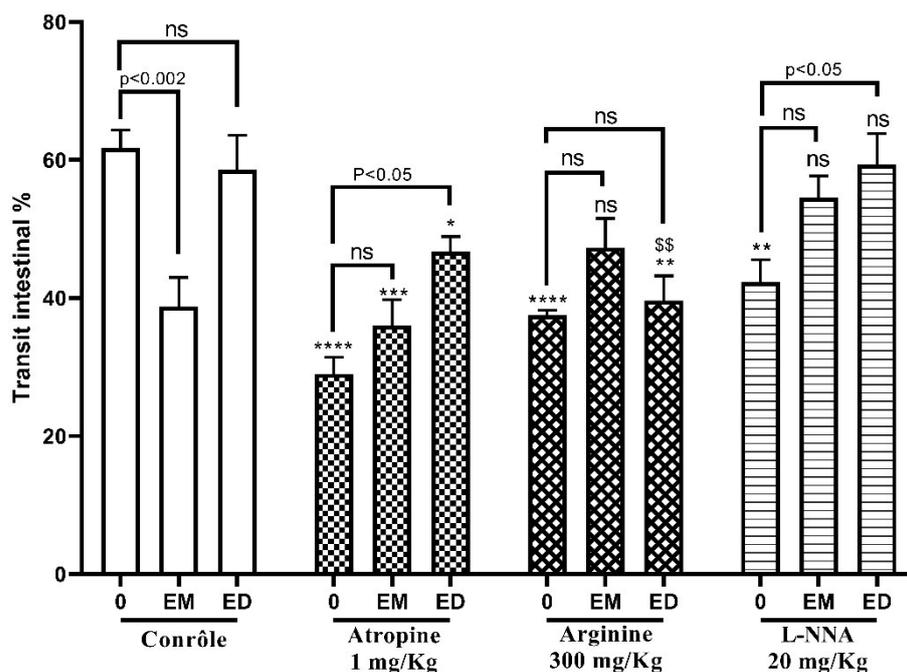


Figure 51. Mécanisme de l'effet de *S. argentea* sur le transit intestinal des souris.

EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne % \pm SEM (** $P \leq 0.002$, *** $P \leq 0.0001$) vs CMC. (\$ $P \leq 0.002$, \$\$\$ $P \leq 0.0001$) vs contrôle correspondant, ns : non significatif.

Une diminution importante (dose dépendante) des taux du vidange gastrique est observée suite à l'utilisation des différentes doses de l'EM SAR. Cette diminution varie entre 20.84 et 43.19% ($P \leq 0.0001$) pour les doses 200 et 400 mg/kg respectivement. Par ailleurs, une légère augmentation pour la dose 100 mg/kg suivie par une diminution progressive sont observée avec l'ED afin d'atteindre un taux de $73.71 \pm 3.08\%$ pour la dose 400 mg/kg ($P > 0.05$, Fig. 52).

L'utilisation de l'Atropine simultanément avec l'EM et l'ED de SAR a diminué significativement le taux de vidange gastrique en comparaison avec les souris normales non traitées. Les taux de diminution atteint $59.54 \pm 4.58\%$ ($P \leq 0.05$) pour l'EM SAR.

La diminution du taux de la vidange gastrique induite par l'EM SBA persiste après l'addition de la L-Arg. Par contre, l'effet de l'arginine seul est aboli suite l'utilisation de l'ED VSR à 400 mg/kg, le taux de la vidange gastrique, dans ce cas, est $70.48 \pm 3.89\%$ ($P \leq 0.05$, Fig. 53). L'effet inhibiteur de la NOS par le L-NNA a augmenté légèrement en présence de l'extrait EM SAR avec un taux de $20.72 \pm 5.42\%$ ($P > 0.05$). De même, le taux de vidange observé avec l'ED SAR 400 mg/kg est fortement diminué de 40% ($P \leq 0.0002$).

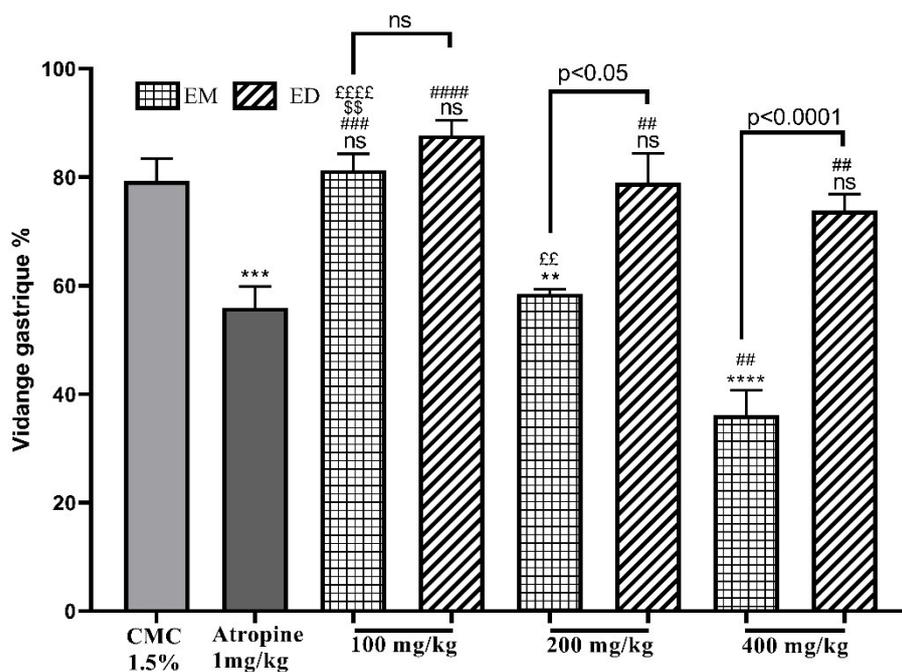


Figure 52. Effet de *S. argentea* sur la vidange gastrique des souris. EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne % ± SEM (**P≤0.002) vs CMC. ns ; (#P≤0.05, ##P≤0.002, ###P≤0.0002) vs Atropine ; (££P≤0.002, ££££P≤0.0001) vs EM 400 mg/kg, (\$\$P≤0.002) vs EM 200 mg/kg, ns : non significatif.

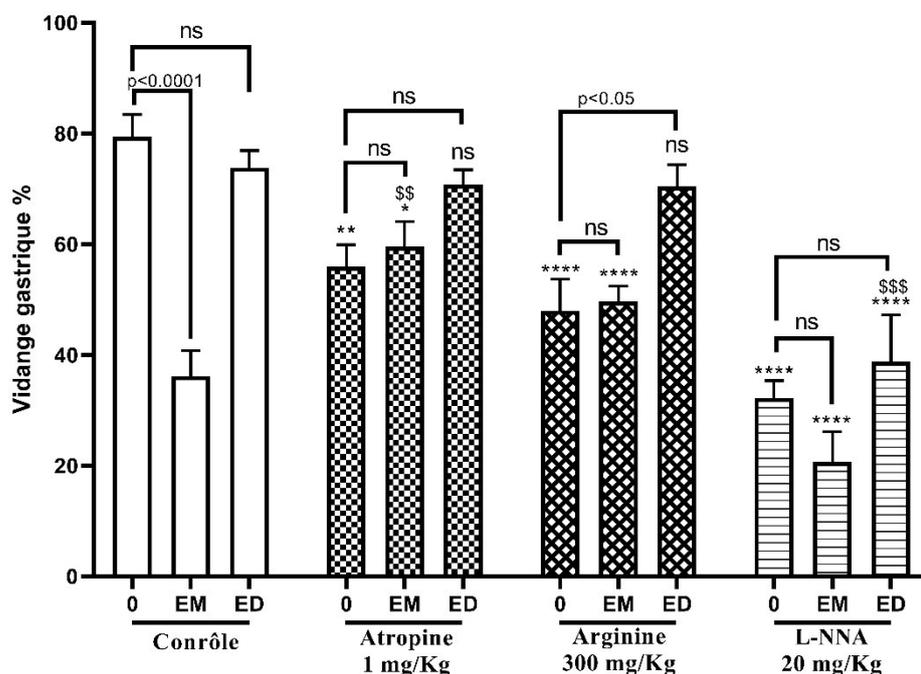


Figure 53. Mécanisme de l'effet de *S. argentea* sur la vidange gastrique des souris. EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne % ± SEM (**P≤0.002, ***P≤0.0001) vs CMC ; (\$\$P≤0.002, \$\$\$P≤0.0002) vs contrôle correspondant. ns : non significatif

3.15. Activité anti ulcéreuse

3.15.1. Effet de *S. aegyptiaca* sur l'apparence macroscopique et histopathologique

L'analyse a révélé un effet important de l'éthanol sur les tissus gastriques et les résultats sont présentés aux figures. Les animaux qui ont reçu de l'éthanol à 100% ont présenté un dommage macroscopique constant qui a été mis en évidence par une perte de couleur normale et de mucus ainsi que par la présence de pétéchies, d'hémorragies et d'œdème. Ce dommage est atténué par l'administration de l'EM SAE ou l'ED SAE à différentes doses. Le pré-traitement des rats avec l'EM SAE ou l'ED SAE aux doses utilisées (100, 200 et 400 mg/kg) a permis de réduire les dégâts causés par l'éthanol (Fig. 54). Ces résultats ont été mis en évidence par l'analyse histopathologique. Il y a moins de signes de lésions hémorragiques, moins d'infiltration et d'œdème dans la muqueuse gastrique des rats traités par l'ED SAE et l'EM SAE à la dose de 100 et 200 mg/kg. Les animaux qui ont reçu les doses les plus élevées (400 mg/kg) ont été complètement protégés contre l'action de l'éthanol, préservant tous les aspects histologiques par rapport au groupe d'animaux témoins (Fig. 55).

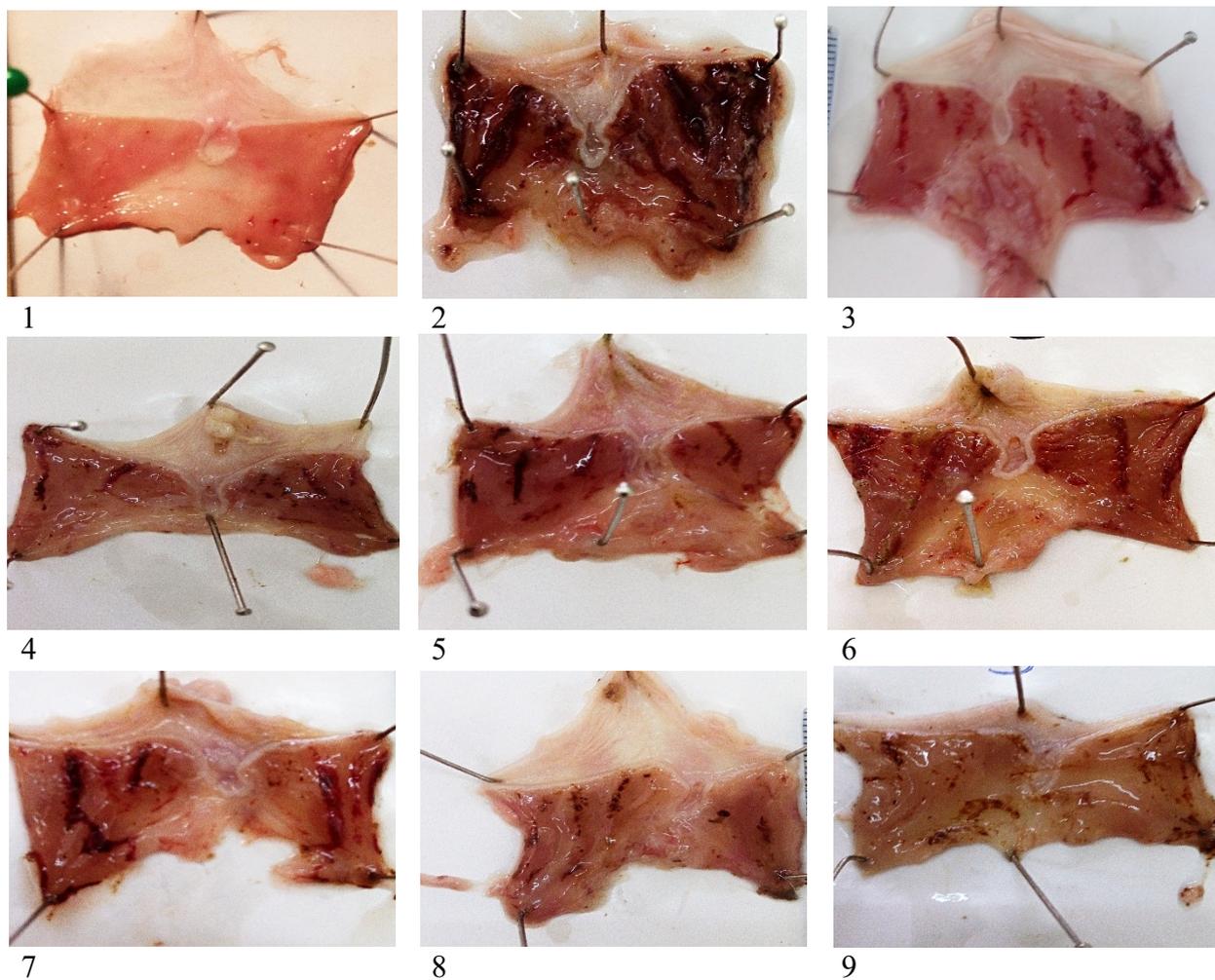


Figure 54. Effet de *S. aegyptiaca* sur l'apparence de la muqueuse gastrique dans l'ulcère gastrique induit par l'éthanol.

1 : normal, 2 : Ethanol 100% seul, 3 : oméprazol 5 mg/kg, (4,5,6) : SAE EM (100, 200 et 400 mg/kg), (7, 8, 9) : SAE ED (100, 200 et 400 mg/kg).

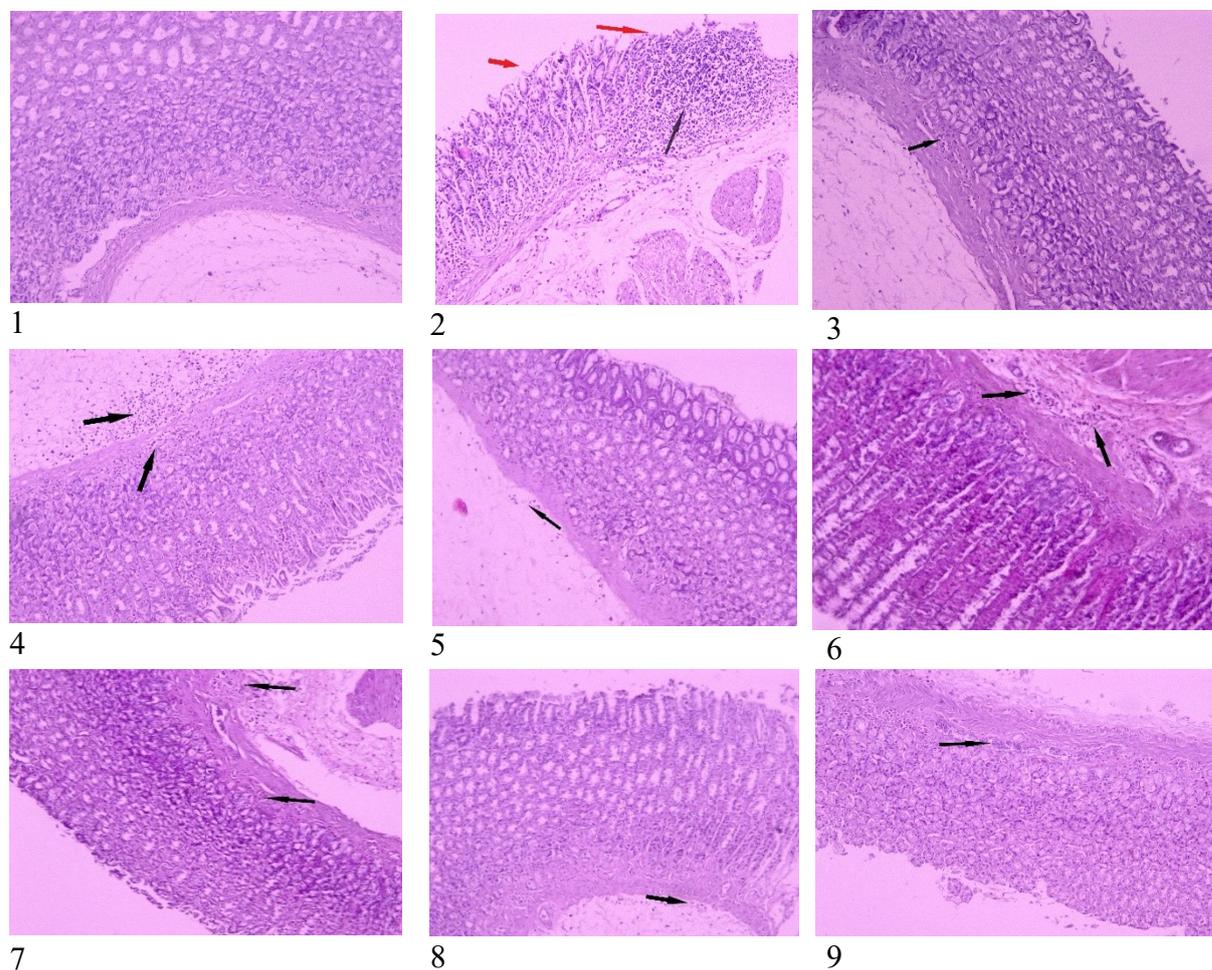


Figure 55. Evaluation histopathologique de l'effet protecteur de *S. aegyptiaca* contre l'ulcère gastrique induit par l'éthanol (agrandissement x 100).

1 : normal, 2 : Ethanol 100% seul, 3 : oméprazol 5 mg/kg, (4,5,6) : SAE EM (100, 200 et 400 mg/kg), (7, 8, 9) : SAE ED (100, 200 et 400 mg/kg). Flèche rouge : endommagement de la barrière épithéliale. Flèche noire : infiltration des cellules inflammatoires.

3.15.2. Effet de *S. aegyptiaca* sur l'ulcère gastrique induit par l'éthanol

L'administration orale de 100, 200 et 400 mg/kg de l'ED SAE induit une protection importante qui varie entre 76 et 84% et comparable à celle de l'oméprazole 5 mg/kg (79%, $P > 0.05$, Fig. 56). Cependant, une protection significative ($P \leq 0.05$) de 87.98 et 88.75% est observée suite à l'utilisation de 200 et 400 mg/kg de l'EM SAE respectivement. Aucune différence significative n'est enregistrée en comparaison les différents types d'extrait.

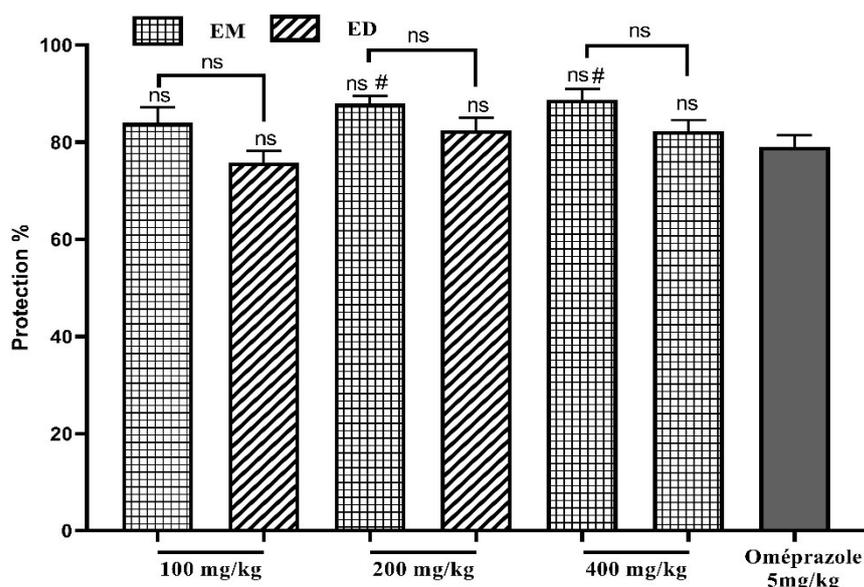


Figure 56. Effet de *S. aegyptiaca* sur la muqueuse gastrique dans l'ulcère gastrique induit par l'éthanol.

EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne % \pm SEM (# $P \leq 0.05$) vs oméprazole, ns : non significatif.

3.15.3. Effet sur la teneur total du mucus gastrique

L'effet de SAE sur la teneur de mucus gastrique est présenté dans la figure 57. En comparaison avec le groupe des animaux traités avec le CMC 1.5% seul, l'EM SAE a significativement ($P \leq 0.0002$) augmenté le taux de mucus gastrique pour toutes les doses utilisées. Par contre, pour l'ED a montré uniquement une augmentation ($P \leq 0.0001$) pour la dose 400 mg/kg et légèrement supérieur à celui de l'oméprazole (Fig. 57).

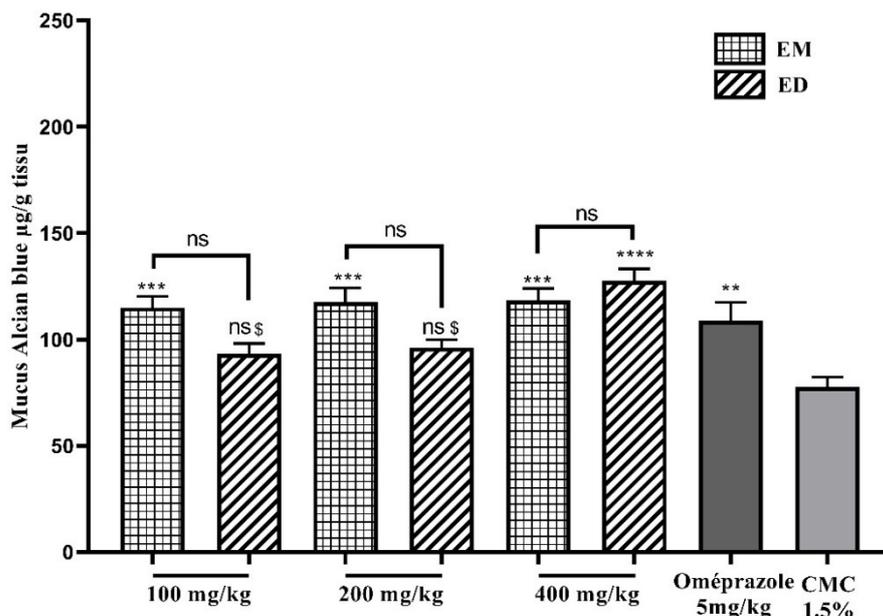


Figure 57. Effet de *S. aegyptiaca* sur la teneur du mucus gastrique. EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne % ± SEM (**P0.001, ***P0.002) vs CMC1.5 % ; (\$P≤0.05) vs dose 400 mg/kg, ns : non significatif.

3.15.4. Effet sur la teneur de protéines

Généralement, le traitement des rats par différentes doses des extraits étudiés n'a aucun effet ($P > 0.05$) sur la teneur des protéines à l'exception des groupes traités par 400 mg/kg de l'EM SAE (Fig. 58).

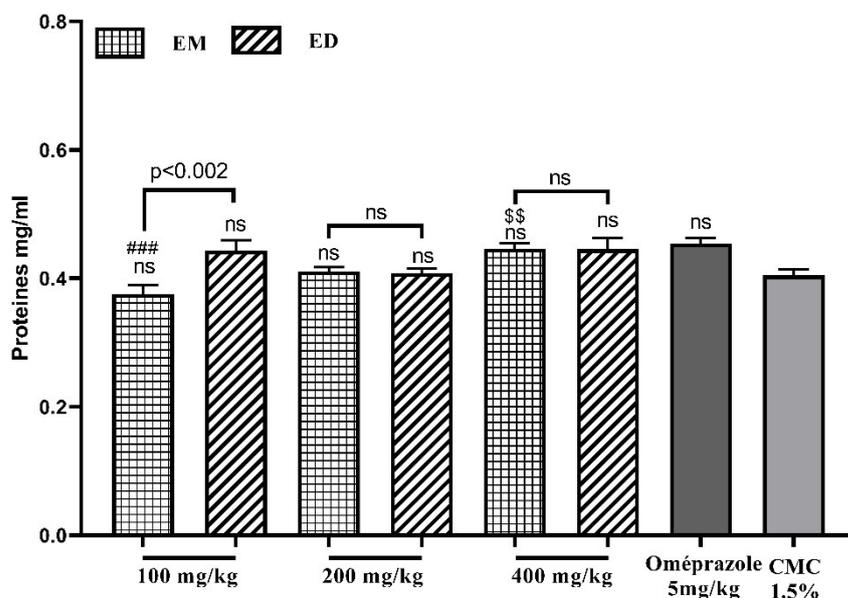


Figure 58. Effet de *S. aegyptiaca* sur la teneur des protéines. EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne % ± SEM (\$\$P≤0.001) vs dose 100 mg/kg ; (###P≤0.0002) vs oméprazole, ns : non significatif.

3.15.5. Effet sur l'activité de la catalase

Le traitement des rats avec l'EM SAE induit une augmentation de l'activité de la catalase. Cette activité devienne significative ($P < 0.0001$) pour les doses 200 et 400 mg/kg, l'activité pour ces doses respectivement était 9.58 ± 0.6 et 9.08 ± 0.3 ($n = 8$) nmole/min/mg. Par contre, l'activité de la catalase observée avec les doses de l'ED SAE était comparable à celle obtenue avec l'oméprazole (Fig. 59).

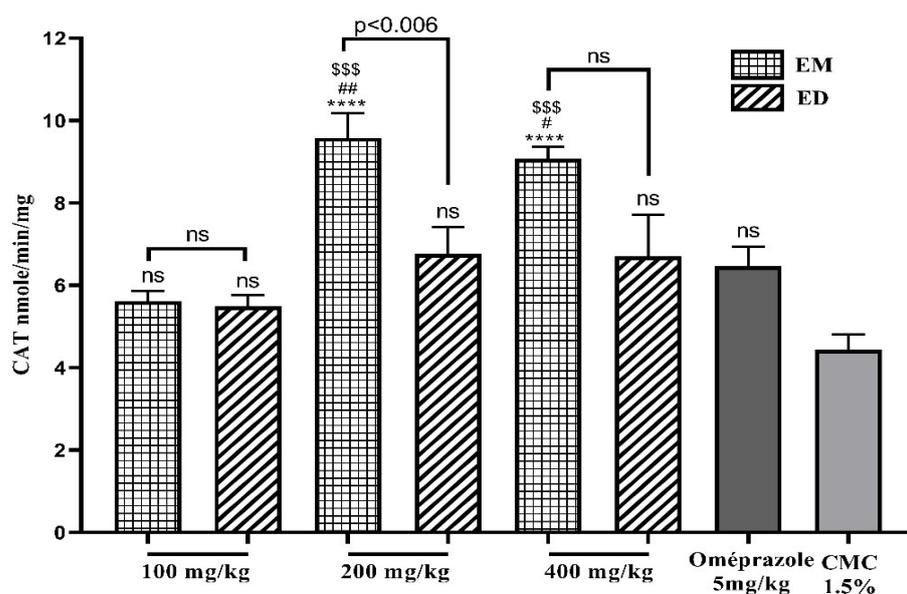


Figure 59. Effet de *S. aegyptiaca* sur l'activité de la CAT.

EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne $\% \pm$ SEM ($****P \leq 0.0001$) vs CMC 1.5%, ($$$$ \leq P < 0.0002$) vs dose 100 mg/kg; ($\#P \leq 0.05$) vs oméprazole, ns: non significatif.

3.15.6. Effet sur le niveau de GSH

Le traitement des rats avec les extraits SAE induit une augmentation de manière dose dépendante des niveaux de GSH. Cette augmentation devienne significative ($P \leq 0.05$) pour les doses 200 et 400 mg/kg de l'ED SAE uniquement. Dans ce cas, les valeurs de GSH sont respectivement 52.0 ± 2.67 et 53.89 ± 3.01 nmole TNB/g. Par contre, les teneurs de GSH observées avec les doses de l'EM SAE étaient légèrement élevées par rapport à celle obtenu avec l'oméprazole (42.65 ± 2.34 nmole TNB/g, Fig. 60).

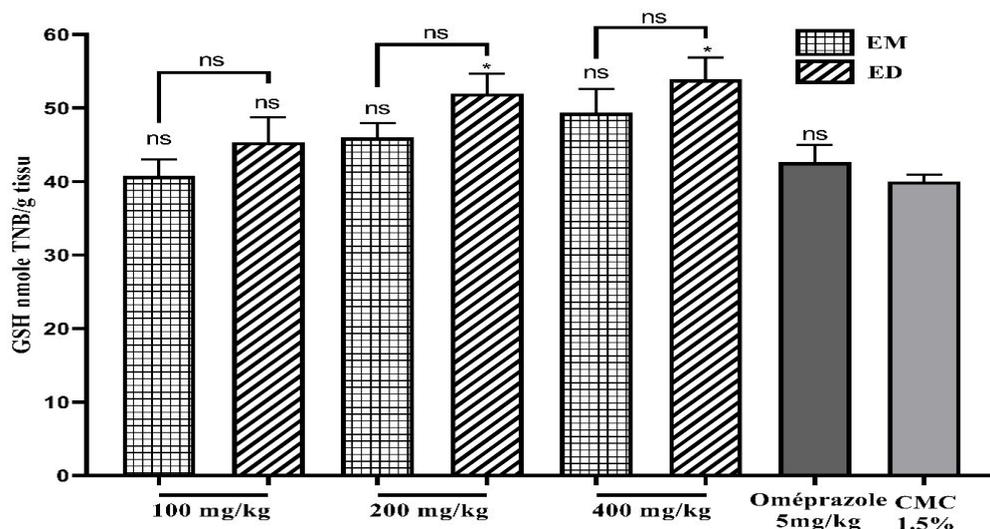


Figure 60. Effet de *S. aegyptiaca* sur le niveau de GSH.
EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne % ± SEM (*P≤0.05) vs CMC 1.5%, ns : non significatif.

3.15.7. Effet sur la peroxydation lipidique

La peroxydation lipidique et le contenant en MDA ont augmenté suite à l'application de l'éthanol. D'une part, la teneur en MDA a diminuée ($P \leq 0.0001$) suite au prétraitement des rats avec l'oméprazole à $08.02 \pm 0.63 \mu\text{mole/g}$ de tissu. D'autre part, le prétraitement des rats avec les différentes doses de l'EM ou l'ED SAE a fortement diminué la peroxydation lipidique gastrique ($P \leq 0.0001$), les taux de diminution de MDA varient entre 7.52 et 8.94 $\mu\text{mole/g}$ (Fig. 61). Toutes les doses ont montré un effet important que l'oméprazole.

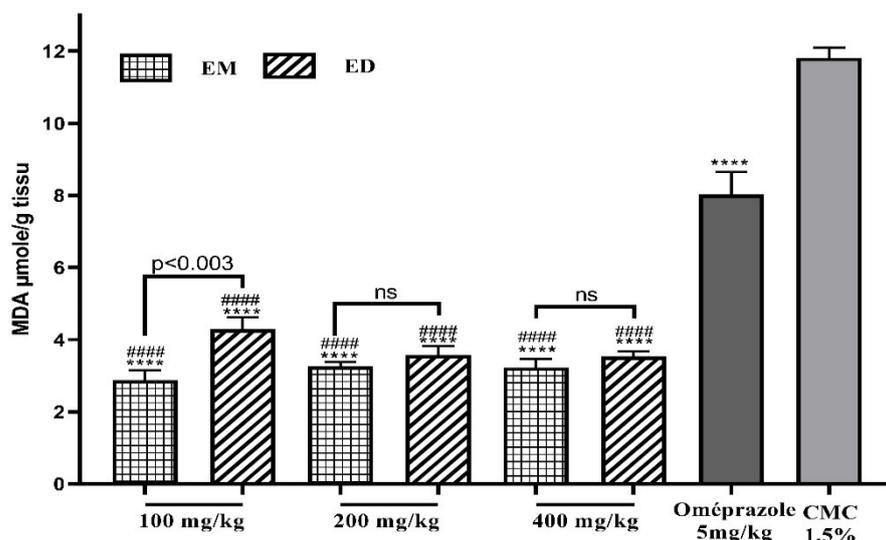


Figure 61. Effet de *S. aegyptiaca* sur la peroxydation lipidique.
EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne % ± SEM (***P≤0.0001) vs CMC 1.5%, (####P≤0.05) vs oméprazole, ns : non significatif.

3.15.8. Effet de *S. verbenaca* sur l'apparence macroscopique et histopathologique

Le dommage gastrique induit par l'administration de l'éthanol est atténué par l'administration de l'EM SVR ou l'ED SVR à différentes doses. Le pré-traitement des rats avec les différents extraits aux doses utilisées (100, 200 et 400 mg/kg) a permis de réduire les dégâts causés par l'éthanol (Fig. 62). Ces résultats ont été mis en évidence par l'analyse histopathologique. Il y a moins de signes de lésions hémorragiques, moins d'infiltration et d'œdème dans la muqueuse gastrique des rats traités par l'ED SVR et l'EM SVR à la dose de 100 mg/kg. Les animaux qui ont reçu l'EM SVR et l'ED SVR aux doses les plus élevées (200 et 40 mg/kg) ont été complètement protégés contre l'action de l'éthanol, préservant tous les aspects histologiques par rapport au groupe d'animaux témoins (Fig. 65).

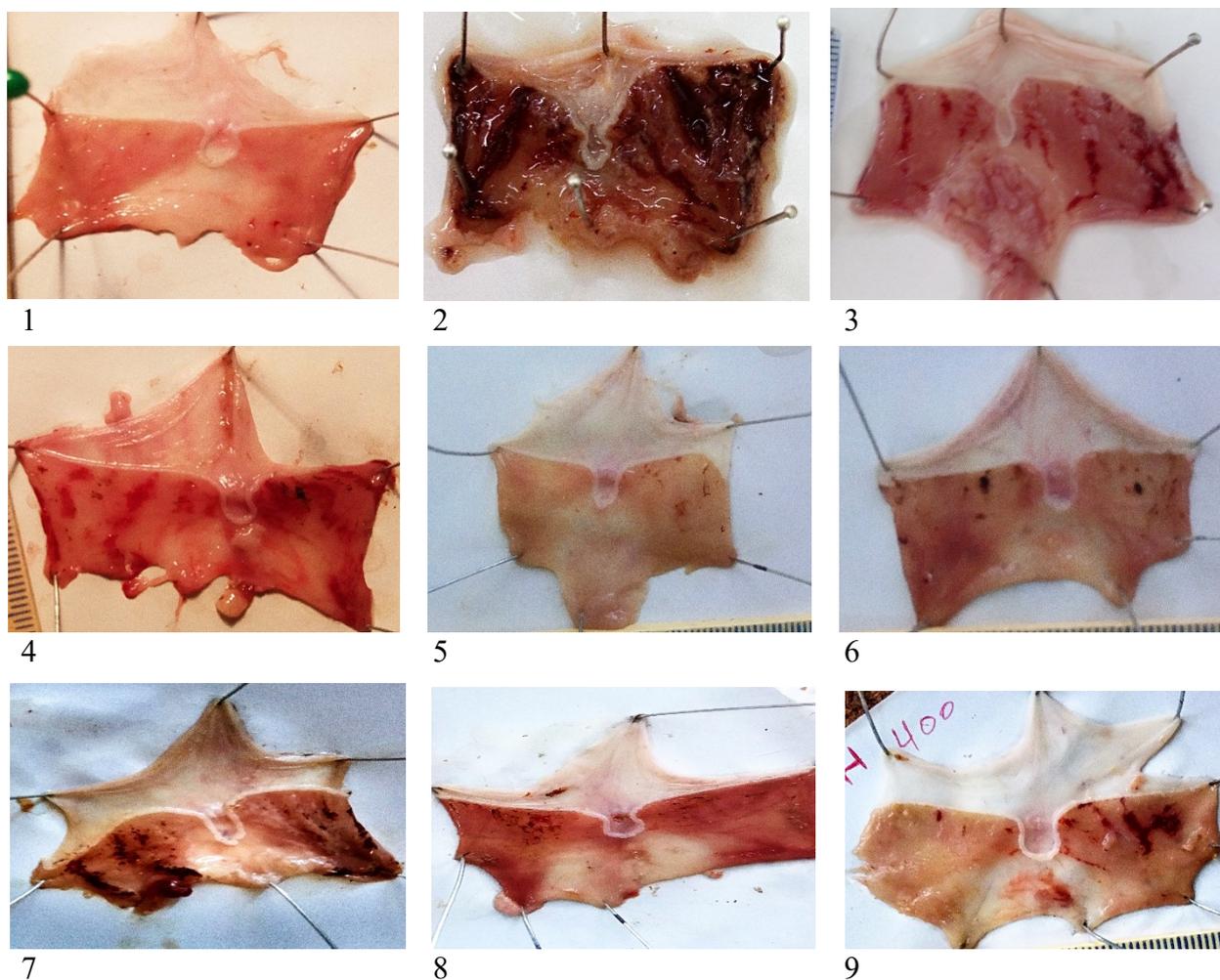


Figure 62. Effet de *S. verbenaca* sur l'apparence de la muqueuse gastrique dans l'ulcère gastrique induit par l'éthanol.

1 : normal, 2 : Ethanol 100% seul, 3 : oméprazol 5 mg/kg, (4,5,6) : SVR EM (100, 200 et 400 mg/kg), (7, 8, 9) : SVR ED (100, 200 et 400 mg/kg).

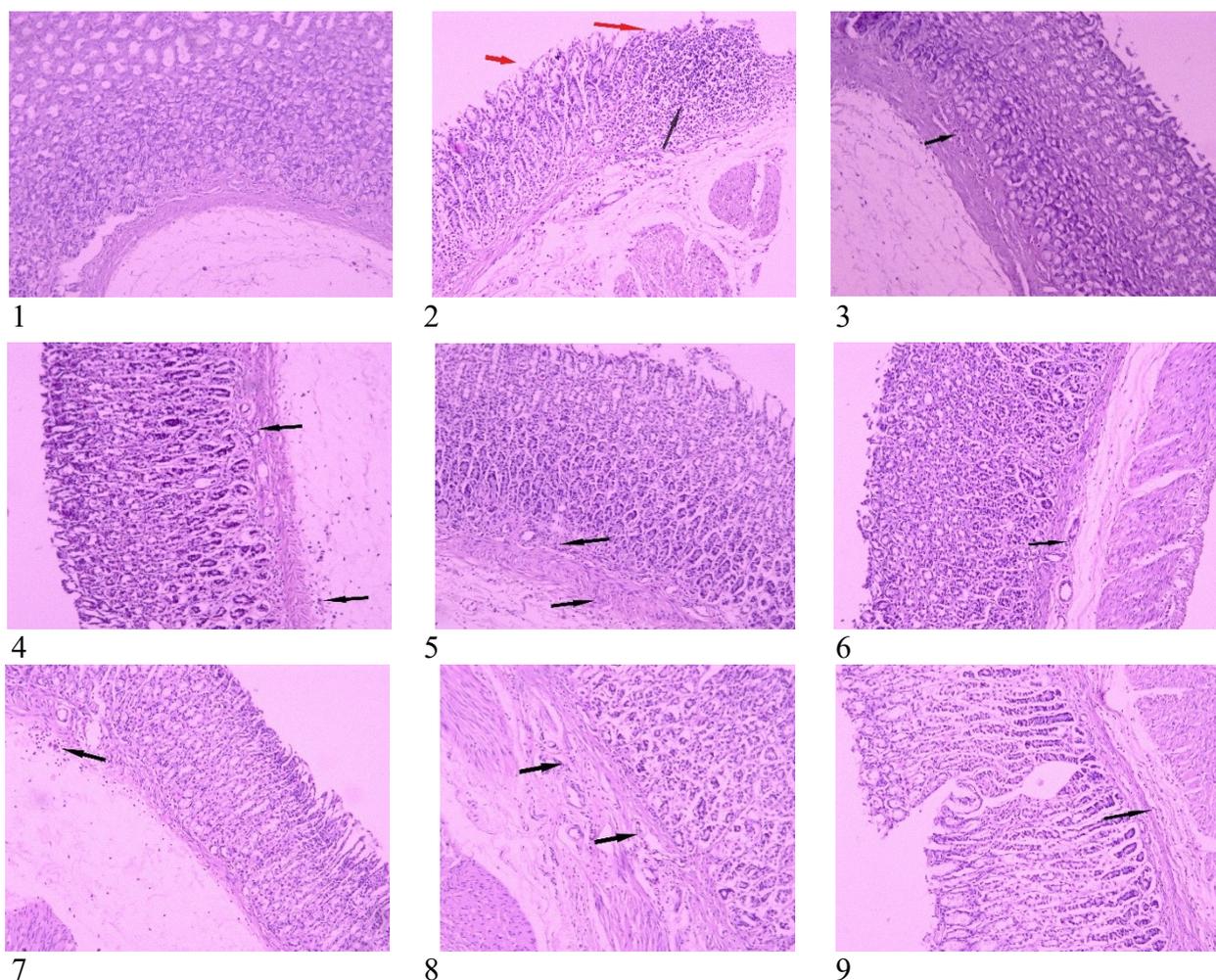


Figure 63. Evaluation histopathologique de l'effet protecteur de *S. verbenaca* contre l'ulcère gastrique induit par l'éthanol (agrandissement x 100).

1 : normal, 2 : Ethanol 100% seul, 3 : oméprazole 5 mg/kg, (4,5,6) : SVR EM (100, 200 et 400 mg/kg), (7, 8, 9) : SVR ED (100, 200 et 400 mg/kg). Flèche rouge : endommagement de la barrière épithéliale. Flèche noire : infiltration des cellules inflammatoires.

3.15.9. Effet de *S. verbenaca* sur l'ulcère gastrique induit par l'éthanol

L'administration orale de 200 et 400 mg/kg de l'EM SVR ou l'ED induit une protection importante qui varie entre 92.38 et 94.18% et comparable à celle de l'oméprazole 5 mg/kg ($P \leq 0.0002$ et $P \leq 0.0001$, Fig. 64). Cependant, une protection comparable est observée avec l'ED SVR. Aucune différence significative n'est enregistrée en comparant les différents types d'extrait hautement protecteurs.

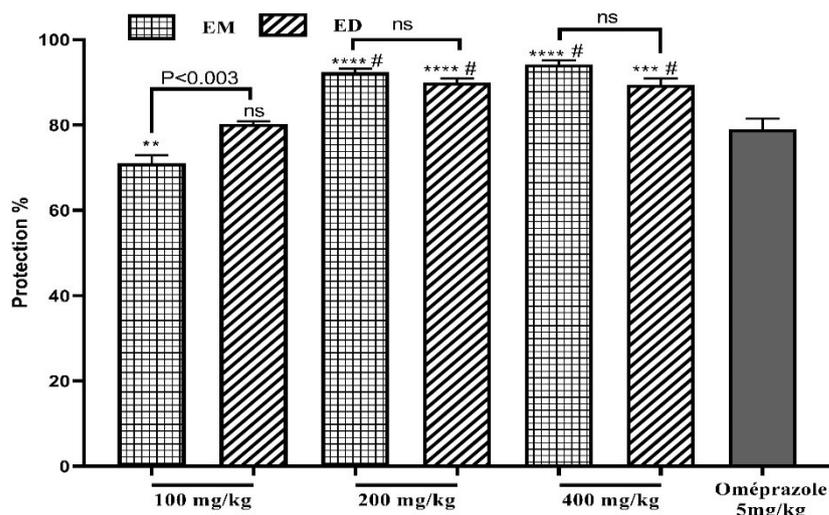


Figure 64. Effet de *S. verbenaca* sur la muqueuse gastrique dans l’ulcère gastrique induit par l’éthanol.

EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne % ± SEM (**P< 0.0002, ***P< 0.0001) vs oméprazole, (#P<0.05) vs dose 100 mg/kg, ns : non significatif.

3.15.10. Effet sur la teneur total du mucus gastrique

Le traitement des rats avec l’EM ou ED de SVR induit une forte augmentation de la teneur de mucus gastrique. Cette augmentation devienne significative (P<0.0001) pour les doses 200 et 400 mg/kg, la teneur de mucus enregistrée pour ces doses respectivement était 198.8, 188.4, 198.96 et 192.63 µg/g de tissus pour les doses 200 (EM et ED) et 400 mg/kg (EM et ED) respectivement. Par contre, la teneur observée avec les doses 100 mg/kg de l’EM ou l’ED de SVR était comparable à celle obtenue avec l’oméprazole (Fig. 65).

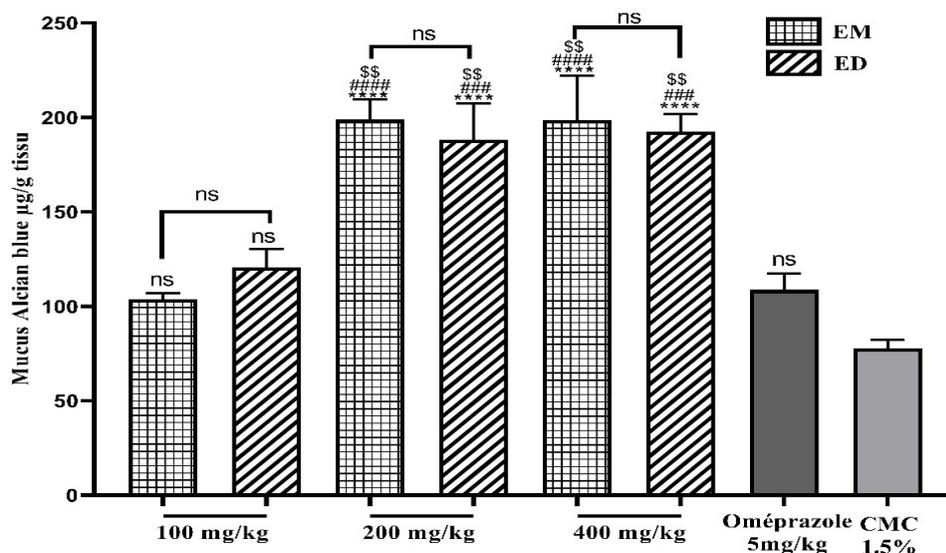


Figure 65. Effet de *S. verbenaca* sur la teneur de la mucus gastrique.

EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne % ± SEM (***P<0.0001) vs CMC1.5 % ; (#####P< 0.0001) vs oméprazole (\$\$P<0.002) vs dose 100 mg/kg, ns : non significatif.

3.15.11. Effet sur la teneur de protéines

D'une manière générale, le traitement des rats par différentes doses des extraits étudiés n'a aucun effet ($P > 0.05$) sur la teneur des protéines gastriques sauf enregistrée avec les doses 200 et 400 mg/kg de l'ED SVR (Fig. 66).

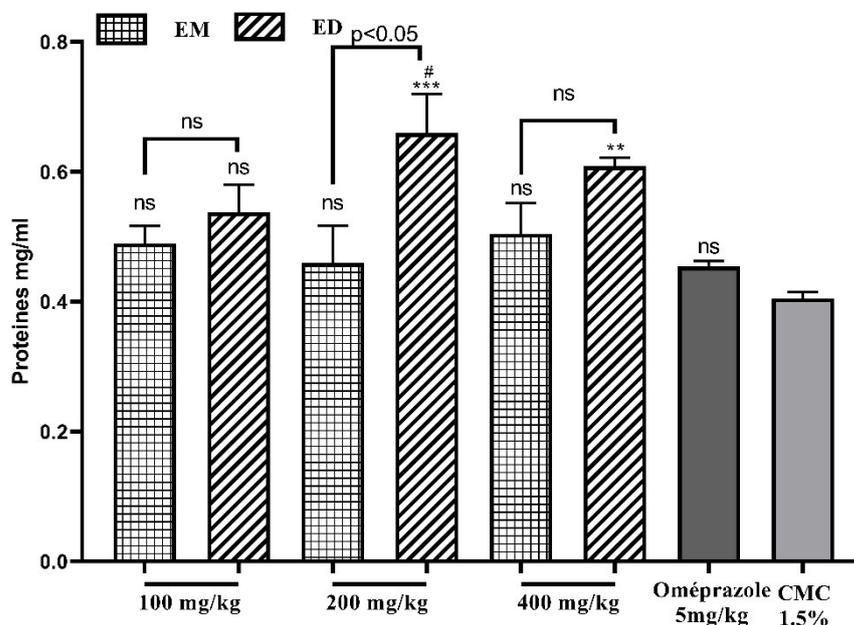


Figure 66. Effet de *S. verbenaca* sur la teneur des protéines.

EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne $\% \pm$ SEM (** $\leq P < 0.001$) vs CMC 1.5% ; (# $P \leq 0.05$) vs oméprazole, ns : non significatif.

3.15.12. Effet sur l'activité de la catalase

Le traitement des rats avec les extraits SVR induit une augmentation de manière dose non dépendante de l'activité de la catalase. Cette augmentation devienne significative ($P \leq 0.05$) pour les doses 200 et 400 mg/kg de l'EM et l'ED SVR uniquement. Dans ce cas, les taux varient entre 7.38 ± 0.95 et 8.12 ± 1.14 nmole min/mg. Par contre, les activités de la CAT observées avec les doses 100 mg/kg étaient comparable à celle obtenue avec l'oméprazole (6.47 ± 0.46 nmole min/mg, Fig. 67).

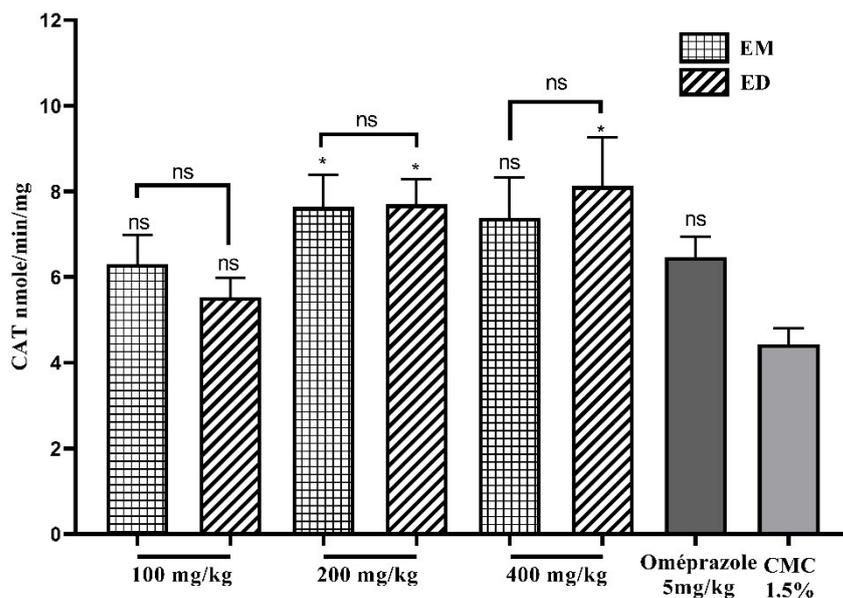


Figure 67. Effet de *S. verbenaca* sur l'activité de la catalase.

EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocté. Les résultats sont représentés en moyenne $\% \pm$ SEM ($*P \leq 0.05$) vs CMC 1.5, ns : non significatif.

3.15.13. Effet sur le niveau de GSH

L'effet de SVR sur la teneur de GSH gastrique est présenté dans la figure 68. En comparaison avec le groupe des animaux traités avec le CMC 1.5% seul, toutes les doses de l'EM ou l'ED de SVR ont significativement ($P \leq 0.002$ et $P \leq 0.0001$; Fig. 68) augmenté le taux de GSH gastrique. Par contre, aucune différence n'est enregistrée en comparant les différents extraits étudiés. Par ailleurs, seule la dose 100 mg/kg pour l'EM ou l'ED SVR a montré un effet comparable à celui de l'oméprazole.

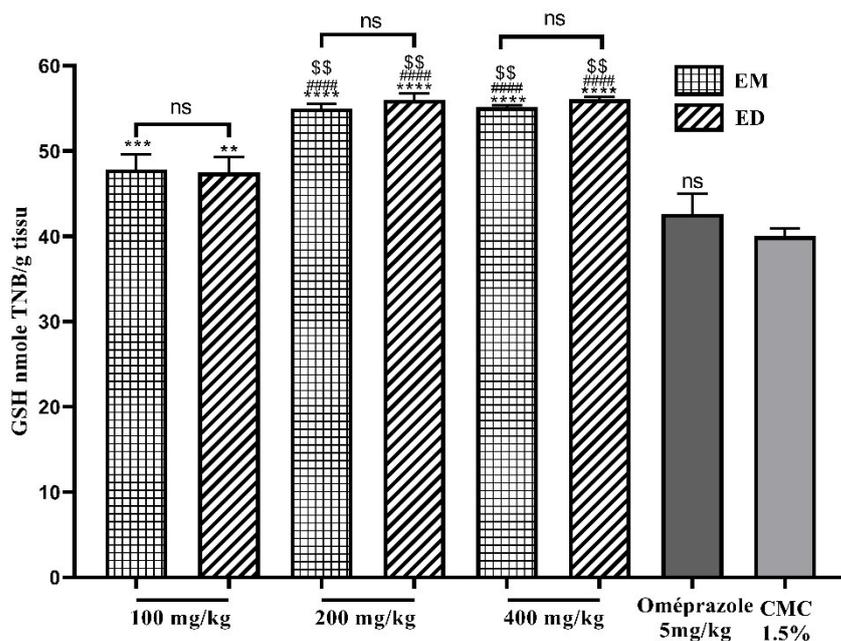


Figure 68. Effet de *S. verbenaca* sur le niveau de GSH.

EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocqué. Les résultats sont représentés en moyenne % ± SEM (** $P \leq 0.001$, ** $P \leq 0.0002$, **** $P \leq 0.0001$) vs CMC 1.5%, (\$\$ $P \leq 0.001$) vs dose 100 mg/kg ; (#### $P \leq 0.0001$) vs oméprazole, ns : non significatif.

3.15.14. Effet sur la peroxydation lipidique

Le prétraitement des rats avec les différentes doses de EM ou ED SAE a fortement diminué la peroxydation lipidique gastrique ($P \leq 0.0001$), les taux de MDA ont diminué de 73.09 et 78.23% (Fig. 69). Toutes les doses ont montré un effet important que l'oméprazole ($P \leq 0.0001$).

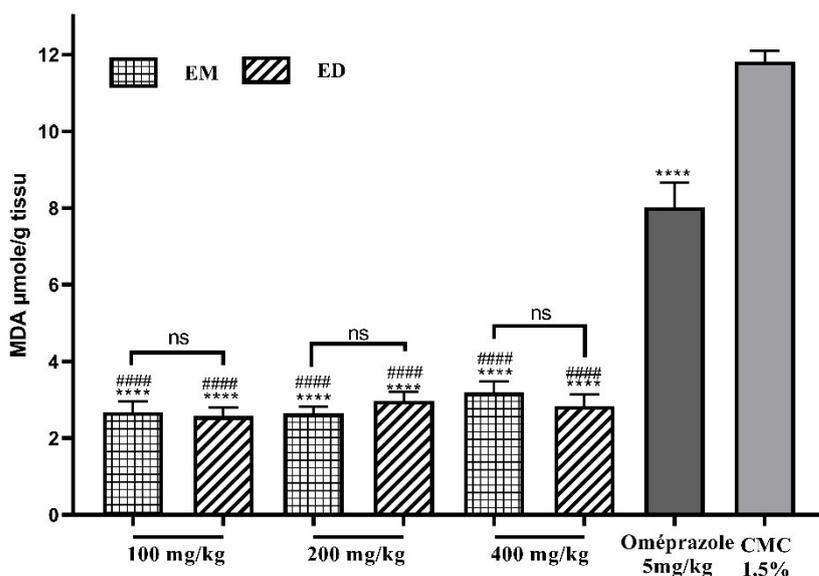


Figure 69. Effet de *S. verbenaca* sur la peroxydation lipidique.

EM: Extrait Méthanolique, ED: Extrait Décocqué. Les résultats sont représentés en moyenne % ± SEM (**** $P \leq 0.0001$) vs CMC 1.5%, (#### $P \leq 0.05$) vs oméprazole, ns : non significatif.

Discussion

IV. Discussion

Plusieurs rapports ont décrit que le genre *Salvia* comme étant riches en huiles essentielles, acides phénoliques et flavonoïdes (Basaif, 2004; Ben Farhat *et al.*, 2015a). Les résultats de cette étude ont montré que l'EM et l'ED contiennent des quantités élevées en polyphénols. Les teneurs de polyphénols, flavonoïdes et tannins les plus élevées ont été identifiées dans l'EM pour les quatre plantes. Par contre, la teneur en pigment la plus élevée a été identifiée dans les ED. Peu de recherches sur la détermination des teneurs en tannins sur les espèces étudiées (Tohamy *et al.*, 2012; Kostić *et al.*, 2015), mais aucun n'a démontré la teneur élevée de ces composées. Ces différences en composées remarquées entre l'EM et l'ED sont probablement dues aux divers solvants utilisés (degrés de polarité) et à la procédure d'extraction, aux méthodes de quantification, à la saison de récolte et à la région géographique (Hayouni *et al.*, 2007; Ben Farhat *et al.*, 2015a). Beaucoup plus, les acides phénoliques liés peuvent également être libérés par la dégradation des constituants cellulaires par traitement thermique (Hamrouni-Sellami *et al.*, 2012). Le matériel végétal a été exposé à des températures élevées (100 C°), au cours du processus de décoction, ce qui peut entraîner des changements dans la structure des composants tels que l'hydrolyse et la polymérisation des esters et des aldéhydes ou la décomposition d'autres composants (Ben Farhat *et al.*, 2019).

L'analyse LC-MS/MS ESI-QTOF (mode négative) a permis d'identifier plusieurs composés responsables de plusieurs activités biologiques. Le premier composé en commun avec les quatre extraits méthanoliques est élué après la 0.8^{ème} minute avec un m/z 341.086. Ce composé est caractérisé par un fragment de m/z 179.036 qui correspond à une moitié de l'acide caféique issue par la perte de moitié glucoside (m/z: 161), ce composé est identifié comme le caffeyl-O-glucoside (Hossain *et al.*, 2010; Ben Said *et al.*, 2017; Katanić Stanković *et al.*, 2020; Tang *et al.*, 2020). Dans la 7.04^{ème} min, un composé détecté spécifiquement pour l'EM SAE avec m/z 639. Ce composé contient un fragment de m/z 301 spécifique au quercétine et probablement issu de la perte de deux moitiés de glucose (m/z 174) et glucoside (162). La tentative d'identification selon MoNA a permis d'identifier la quercétine-3,4'-di-o-glucoside. Cependant le même composé avec ces fragment m/z peut être identifié comme l'isorhamnétine-3,7-di-O-glucoside (Brito *et al.*, 2014; Ben Said *et al.*, 2017; Šulniūtė *et al.*, 2017). Un pique remarqué uniquement dans l'EM SVR avec une masse de 539.05, le composant correspondant est identifié comme un isomère glucoside de l'acide rosmarinique (Katanić Stanković *et al.*, 2020). Les piques d'un composé (m/z: 717.06 et 719.07) sont observés dans l'EM SAE à 7.89 et 8.18 min respectivement, alors qu'il a été observé dans l'EM SBA à 7.88 min; cette molécule est identifiée comme un isomère de l'acide *Salvianolique B* (Yang *et al.*, 2015; Afonso *et al.*, 2018; Ul Haq *et al.*, 2020). Un autre type d'acide

Salvianolique est élué à la 10.29^{ème} min avec m/z 717.05 (339, 359 et 519), ce composé est identifié comme l'acide *Salvianolique* E par Yang *et al.* (2015); Oliveira-Alves *et al.* (2017); Toplan *et al.* (2017), alors qu'il a été identifié comme un isomère de l'acide *Salvianolique* B par Afonso *et al.* (2018). Sauf l'EM SAE, un pic est observé à 8.30-8.65 min avec un m/z 447.04, caractérisé par un fragment de 285 caractéristique de la lutéoline issu de la perte d'un moitié de hexoside (glucoside, m/z 162), la molécule correspondante à ce pique est identifiée comme la lutéoline-7-O-glucoside (Hossain *et al.*, 2010; Toplan *et al.*, 2017; Afonso *et al.*, 2018; Koutsoulas *et al.*, 2019; Katanić Stanković *et al.*, 2020; Ul Haq *et al.*, 2020). Cependant, le pic de la lutéoline seule est observé dans l'EM SAR et SBA avec son fragment caractéristique (m/z 285). Un autre composé phénolique caractéristique de l'EM SAE uniquement avec une masse de 593.08 et ces fragments (353.22, 369.015, 383.38, 473.50, 503.33, 593.076) est identifié comme l'apigénin-6,8-di-C-glucoside (Afonso *et al.*, 2018). Le deuxième composant en commun avec les extraits méthanoliques de SAE, SVR, SAR et SBA est élué dans un intervalle de temps entre 8.68 à 8.74 min d'une masse observée de 359.03. Ce composé est caractérisé par des fragments de m/z 161.006 et 179.014 caractéristiques des moitié glucoside et acide caféique respectivement qui constituent l'acide rosmarinique, un constituant majeur de la famille des Lamiaceae et le genre *Salvia* (Hossain *et al.*, 2010; Kontogianni *et al.*, 2013; Yang *et al.*, 2015; Oliveira-Alves *et al.*, 2017; Šulniūtė *et al.*, 2017; Toplan *et al.*, 2017; Afonso *et al.*, 2018; Koutsoulas *et al.*, 2019; Katanić Stanković *et al.*, 2020; Ul Haq *et al.*, 2020). Deux piques d'une même molécule sont observés à 8.95 et 9.18 min pour l'EM SAR uniquement avec une masse de 475.03 avec un fragment majeur 299.01, la tentative d'identification de cette molécule avec les bases MoNA et Meu a permis d'obtenir l'acide 2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-[5-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-6-methoxy-4-oxochromen-7-yl]oxyoxane-2-carboxylique et/ou la quercétine-O-glucuronide respectivement, deux composés avec une grande similarité. A la 9.06^{ème} min, un composé mineur est détecté dans l'EM SVR avec une masse de 431.05, caractéristique par deux fragment 269.015 spécifique à l'apigénine (Dehkordi *et al.*, 2020) (élué également à la 10.70^{ème} min dans tous les extraits), issue de la perte d'une moitié de l'acide glucoside, cette molécule est identifiée comme l'apigénine-7-O-glucoside (Kontogianni *et al.*, 2013; Afonso *et al.*, 2018; Katanić Stanković *et al.*, 2020; Ul Haq *et al.*, 2020). L'analyse HPLC a permis également d'identifier un composé présent dans l'EM SAR à 9.18 et 9.62 min avec m/z égale à 475.031 et 300 respectivement avec deux fragments de 299.021 et 283.99 caractéristiques à l'hispiduline ou diosmétine (Ben Said *et al.*, 2017; Toplan *et al.*, 2017; Afonso *et al.*, 2018; Koutsoulas *et al.*, 2019; Ul Haq *et al.*, 2020), alors que le premier composé est identifié comme hispiduline-7-O-glucoronide (Li *et al.*, 2016). Un autre composé dérivé de l'hispiduline ou le diosmétine est observé à 10.39^{ème} minute pour le même extrait à cause de ces

fragment commun avec les composés identifiés précédemment (283, 299 et 300).

Cependant, un composé est identifié dans le même intervalle de temps (8.21 min), mais dans l'EM SVE uniquement mais avec une masse de 447.04, la tentative d'identification de ce composé avec MoNA a permis d'obtenir la lutéoline-4'-O-glucoside avec une similarité 100%. Un composé mineur est observé dans l'EM SAR, SVR et SBA uniquement à la 10.3 min d'une masse (m/z) 582.19 est identifié comme un dérivé de l'acide coumarique (Tricoumaroyl spermidine) en utilisant la base Meu avec une similarité de 87%. L'EM SBA est caractérisé par la présence d'un composé avec une masse de 283.03, selon la littérature et la base MoNA, ce composé peut être identifié comme le genkwanin (Šulniūtė *et al.*, 2017; Koutsoulas *et al.*, 2019; Katanić Stanković *et al.*, 2020). Un composé majeur en commun est élué à partir de la 14.66^{ème} à la 14.97^{ème} min (m/z: 339), ce composé est caractérisé par la présence du fragment 163 caractéristique du moitié p-coumarique acide, issu de la perte de moitié d'acide quinnique, suggérant qu'il est un isomère de l'acide p-coumaroylquinnique (Clifford *et al.*, 2006; Baeza *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2018). Un pic est observé à la 14.81^{ème} à la 15.03^{ème} min dans les extrait méthanoliques sauf celui de SBA avec une masse de 455.03, des molécules similaires ont été identifiés comme l'acide uleanolique (Kumar *et al.*, 2017; Koutsoulas *et al.*, 2019) ou l'acide ursolique (Kontogianni *et al.*, 2013; Koutsoulas *et al.*, 2019). En plus de plusieurs molécules identifiées par la littérature, des composés ont été détectés et identifiés par la base de données MoNA et Meu comme l'acide pygénique (m/z: 487), 6,8-dihydroxy-2,2,4,4-tetraméthyl-7-(3-méthylbutanoyl)-9-(2-méthylpropyl)-9H-xanthène-1,3-dione (m/z: 369) et l'acide madécassique (m/z: 308.28) avec une similarité supérieur à 95%. Finalement des traces des acides gras sont observés à partir de la 15.71^{ème} min comme l'acide linoléique (m/z: 279.20), l'acide palmitique (m/z: 255.203) (Yang *et al.*, 2015) et l'acide oléique (m/z: 281.22, 99.9% MoNA).

L'activité antioxydante des substances naturelles *in vitro* peut être déterminée par plusieurs méthodes analytiques. Cependant, la grande diversité dans la composition phytochimique et des processus oxydatifs conduit à évaluer l'activité antioxydante des extraits de plantes en utilisant une variété de méthodes (Inchuen *et al.*, 2010). Différents mécanismes peuvent être à l'origine de l'activité antioxydante, tels que l'élimination des radicaux libres, la décomposition du peroxyde, la prévention de l'initiation de la chaîne d'oxydation, l'abstraction de l'hydrogène, la réduction de la capacité et la liaison des catalyseurs ioniques de métaux de transition (Mao *et al.*, 2006). L'activité antioxydante observée pour les extraits se traduit par une neutralisation des radicaux libres (DPPH), soit par transfert d'un électron ou d'un atome d'hydrogène (Benchikh *et al.*, 2018). Dans cette étude, les extraits méthanoliques ont le pouvoir antioxydant le plus élevé en utilisant l'activité de balayage des radicaux DPPH par rapport aux extraits préparés par décoction.

Le test ABTS est une méthode largement utilisée pour la détermination du pouvoir des antioxydants donneurs d'hydrogène et des antioxydants briseurs de chaîne d'oxydation qui impliquent le transfert des électrons (Loganayaki *et al.*, 2013). Dans la présente étude, les extraits testés ont fortement piégé les radicaux ABTS générés par la réaction entre le persulfate d'ammonium et l'ABTS et ont montré une activité de piégeage très importante. L'activité anti-radicalaire de l'ABTS des différents extraits était presque comparable à celle observée pour la DPPH.

L'activité de piégeage des différents extraits contre $O_2^{\cdot-}$ généré dans le système NaOH-DMSO-NBT, a été évaluée en suivant la formation du bleu formazan par spectrophotométrie. Les antioxydants scavengers de l'anion superoxyde peuvent inhiber la formation du formazan oxydé de couleur rouge (Rahman *et al.*, 2013). L'inhibition de la formation de formazan par l'extrait a été suivie les valeur IC_{50} pour chaque extrait étudié, où les extraits méthanoliques ont montré l'inhibition la plus élevée. Ces résultats révèlent que les extraits de *S. aegyptiaca*, *S. verbenaca*, *S. barrelieri* et *S. argentea* sont capables d'inhiber de manière non enzymatique le radical superoxyde, dont de nombreux ROS sont générées par les radicaux superoxyde et capables d'endommager différents composants cellulaires (Phaniendra *et al.*, 2015).

Dans le système β -carotène / acide linoléique, les radicaux libres peroxydes générés par l'abstraction de l'hydrogène de l'acide linoléique conduisent à une décoloration rapide du β -carotène en l'absence d'antioxydant et la solution perd sa coloration rouge-orange. La présence d'antioxydants dans les extraits peut réduire la quantité de blanchiment au β -carotène en éliminant le radical libre linoléate (Jayaprakasha *et al.*, 2001). Les résultats ont montré que les différents extraits de *S. aegyptiaca* et *S. verbenaca*, *S. barrelieri* et *S. argentea* en particulier l'extrait décocté avaient une puissante protection du β -carotène. Cette protection peut être dû à la stabilisation et à la neutralisation du radical peroxyde généré par l'acide linoléique, par les différents composés de l'extrait. De nombreux rapports ont montré que différentes préparations d'extraits d'espèces de *S.* de différentes régions avaient une activité antioxydante contre le blanchiment au β -carotène (Kolak *et al.*, 2009; Loizzo *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2010; Martins *et al.*, 2015). Les polyphénols, présents en phase polaire, sont les composés les plus actifs dans des extraits du genre *Salvia* peuvent être responsables de la protection du β -carotène (Tepe, 2008). La peroxydation des lipides est inhibée par les phénols en donnant d'atomes d'hydrogène, et son nombre et sa position de ce dernier font des différences dans l'efficacité de piégeage, cela a été approuvé en utilisant les mono-hydroxy-phénols et les ortho-dihydroxy-phénols comme antioxydants pour former des radicaux plus stables (Leenen *et al.*, 2002).

Les résultats montrés dans cette étude ont indiqué que l'activité antioxydante des extraits semble

être due à la présence de polyphénols, qui agit comme réducteurs en donnant les électrons, en récupérant et en convertissant les radicaux libres en produits plus stables (Loganayaki *et al.*, 2013). Plusieurs études sur les antioxydants de plantes du genre *Salvia* ont attribué leurs activités aux principaux composés phénoliques et les flavonoïdes tels que l'abiétane, les diterpènes, l'acide rosmarinique, l'apigénine méthylique, le carnosate, le genkwanin et la cirsimaritrine (Tepe, 2008; Ben Farhat *et al.*, 2015a; Ben Farhat *et al.*, 2015b). Généralement, les principales raisons pour lesquelles l'acide rosmarinique et ses dérivés (un constituant majeur de nombreuses espèces du genre *Salvia*) ont des activités antioxydantes si fortes en raison de groupes spécifiques. Ces groupes, comme les groupes ortho-dihydroxyle sur le cycle aromatique de l'acide carnosique et de l'hydroxy-para-benzoquinone dans l'acide royléanonique, rendent les phénols plus facilement donneurs d'atomes d'hydrogène et interrompent la chaîne de la réaction d'autoxydation (Tepe, 2008). De nombreux résultats ont indiqué que la chlorophylle et les caroténoïdes avaient également une activité antioxydante importante dans différents systèmes oxydants (Endo *et al.*, 1985; Kang *et al.*, 2018; Moreira *et al.*, 2018). L'origine de l'activité SOD des espèces de *S.* pourrait être due aux composés phénoliques (acide rosmarinique et acide *Salvianolique*) et peuvent être aussi attribuée à l'activité de piégeage des catéchols et des fractions d'acide caféique qui y sont confinées. L'activité antioxydante de certains flavonoïdes avec un anneau-B du catéchol comme les glycosides de lutéoline était plus active que ceux sans, tels que les glycosides d'apigénine (Lu and Yeap Foo, 2001).

Le Fe^{2+} est essentiel à la vie de l'être vivant pour ses besoins de transport d'oxygène et de nombreuses activités enzymatiques. Cependant, celui-ci est considéré comme un métal hautement réactif qui catalyse la modification oxydative des composants cellulaires (protéines et lipides,) par la réaction de Fenton dans laquelle l'ion Fe^{2+} catalyse la formation de radicaux hydroxyles par conversion du peroxyde d'hydrogène (Solís-López *et al.*, 2014). Étant donné que le Fe^{2+} est capable de provoquer la production des radicaux oxygénés et de la peroxydation lipidique, la réduction du taux de Fe^{2+} dans les réactions de Fenton offre une protection contre les dommages oxydatifs (Loganayaki *et al.*, 2013). Les résultats ont montré que les préparations d'extrait méthanolique de *S. aegyptiaca* et *S. verbenaca*, *S. barrelieri* et *S. argentea* avaient de grandes propriétés de chélation de Fe^{2+} en utilisant des méthodes de ferrozine. Une étude a montré qu'aucune corrélation n'a été trouvée entre la teneur en phénols et la capacité de chélation du fer pour *S. verbenaca* (Belkhiri *et al.*, 2017). Cela pourrait indiquer la présence d'autres types d'antioxydants capables de chélation des ions métalliques, comme les composés non phénoliques, notamment la carnosine, l'acide citrique, l'acide phosphorique, certains acides aminés, l'acide ascorbique, les protéines et les peptides tels que la transferrine et l'ovotransferrine (Lee *et al.*, 2004).

Le pouvoir réducteur par réduction de Fe^{3+} en Fe^{2+} est souvent utilisé comme indicateur de l'activité antioxydante des composés phénoliques (Stanković *et al.*, 2016). Les résultats ont montré que les extraits méthanoliques avaient de grandes propriétés de réduction de Fe^{3+} en utilisant la phénanthroline, qui a été étudiée pour la première fois pour les extraits étudiés. Dans le test de pouvoir réducteur habituel, la présence des réducteurs dans l'échantillon d'essai agit sur le changement de la couleur, et l'augmentation de l'absorbance du mélange réactionnel indique une augmentation de la capacité de réduction due à la formation du complexe bleu de Perl Prussien intense (Köksal *et al.*, 2009). Les résultats ont démontré que les extraits de *S. aegyptiaca* et *S. verbenaca*, *S. barrelieri* et *S. argentea* avaient un pouvoir réducteur des ions Fe^{3+} remarquable et une capacité donneuse d'électron. Le test CUPRAC est basé sur une réduction de Cu^{2+} – Cu^+ et le bis(néocuproïne) Cu^{2+} comme agent oxydant chromogène par les antioxydants. L'augmentation de l'absorbance indique une capacité de réduction accrue due à une augmentation de la formation du complexe (Apak *et al.*, 2008). La capacité de réduction des ions cuivriques par les différents extraits préparés a été explorée pour la première fois dans cette étude. L'activité antioxydante, y compris le pouvoir réducteur des espèces du genre *Salvia*, qui a été étudiée par différentes méthodes, est généralement attribuée à leur contenu phénolique élevé (Alkan *et al.*, 2012).

L'AChE est la principale enzyme impliquée dans l'hydrolyse de l'ACh dans le système nerveux central et périphérique, un processus important de restauration de la neurotransmission cholinergique. Elle agit pour éliminer l'ACh de la fente synaptique en association avec la BChE (Scozzafava *et al.*, 2015). La maladie d'Alzheimer est définie par la perte des neurones cholinergiques et du taux d'ACh dans des régions du cerveau, ce qui entraîne des troubles de la mémoire et de l'apprentissage (Clader and Wang, 2005). Le traitement de la maladie d'Alzheimer implique l'utilisation d'inhibiteurs de la cholinestérase tels que la rivastigimine, le donépézil et la galantamine. Ces inhibiteurs sont les médicaments de première intention dans le traitement symptomatique de la maladie, conduisant à une augmentation du neurotransmetteur au niveau synaptique (Köse *et al.*, 2015).

Une étude précédente sur des rats a révélé que la consommation quotidienne d'extraits de *S. aegyptiaca* (pendant quatre semaines) avait des propriétés dépresseurs du système nerveux central. Ces effets dépresseurs était l'origine d'une augmentation de la teneur en ACh en raison de la diminution de l'activité de l'AChE dans le cerveau (Abdel Kader, 2004). L'activité inhibitrice *in vitro* des enzymes anti-Alzheimer et anti-diabétiques des extraits méthanoliques et décoctions de *S. aegyptiaca* et *S. verbenaca*, *S. barrelieri* et *S. argentea* est explorée pour la première fois dans cette étude. Seul l'extrait méthanolique a montré une légère inhibition de l'AChE et une inhibition moyenne de la BChE. Les résultats de cette étude sont conformes à d'autres recherches qui ont

montré une inhibition non significative des différentes espèces de *S.* sur l'AChE et la BChE à faible concentration et une inhibition plus élevée obtenue à partir de 1 mg/ml avec des extraits non polaires. Dans ce cas, les extraits plus polaires (méthanol et acétate d'éthyle) possèdent un effet inhibiteur non significatif par rapport aux extraits d'éther de pétrole et de chloroforme (Ren *et al.*, 2004; Orhan *et al.*, 2007a). Cependant, Ferreira *et al.* (2006) a démontré que les extraits préparés par décoction des différentes espèces de *S.* ont l'activité inhibitrice la plus élevée de l'AChE par rapport aux extraits éthanoliques. Dans une autre étude sur l'activité de l'AChE des espèces du genre *Salvia* en Turquie, utilisant des extraits de dichlorométhane et d'acétate d'éthyle, seuls ceux de *S. fruticosa* ont montré une activité inhibitrice importante et prometteuse (Şenol *et al.*, 2010). Dans une étude récente, l'acide rosmarinique a inhibé efficacement la BChE, mais a modérément inhibé l'AChE (Gülçin *et al.*, 2016). L'acide rosmarinique, l'acide *S.*linique, la lutéoline-7-O-rutinoside et la génistéine sont parmi les principaux phénoliques des espèces de *S.*, qui sont isolées de *S. trichoclada* et *S. multiorrhiza* avaient une inhibition importante de l'AChE qui est probablement due à la forte affinité et à l'interaction avec le site catalytique de l'enzyme (Orhan *et al.*, 2007b; Yin *et al.*, 2008; Demireezer *et al.*, 2015; Tang *et al.*, 2019). L'activité inhibitrice de la BChE supérieure à l'AChE observée pour des différents composés phénoliques peut revenir aux nombres et aux positions des groupements OH/OCH₃ sur le cycle phénolique (Szwajgier, 2013).

Les inhibiteurs des hydrolases glucidiques peuvent être des approches thérapeutiques utiles dans la gestion de l'obésité et du diabète et des complications associées à la maladie. Dans la présente étude, seuls les extraits méthanoliques ont montré une forte inhibition des enzymes α -amylase et α -glucosidase. Ce qui est en accord avec Kasabri *et al.* (2014) qui a démontré que l'extrait aqueux de certaines espèces de *S.* avaient une inhibition importante à des concentrations élevées. En revanche, Adımcılar *et al.* (2019) ont rapporté que les extraits de méthanol d'espèces de *S.* anatolienne, y compris *S. verbenaca*, inhibaient efficacement l'enzyme α -glucosidase avec des faibles concentrations. Diverses études sur différentes espèces du genre *Salvia* ont montré la forte efficacité antidiabétique des différents composés des extraits préparés à partir de ces plantes (Eidi and Eidi, 2009; Nickavar *et al.*, 2010; Bahadori *et al.*, 2017; Ben Khedher *et al.*, 2018; Mocan *et al.*, 2018; Adımcılar *et al.*, 2019). Dans une étude précédente, l'extrait méthanolique de *S. acetabulosa* a montré l'activité inhibitrice la plus élevée par rapport aux extraits de chloroforme ou d'hexane (Loizzo *et al.*, 2008). En effet, Kocak *et al.* (2016) ont trouvé que l'extrait méthanolique de *S. cadmica* avait une grande activité inhibitrice de l'enzyme α -amylase suivie de l'extrait aqueux et de l'extrait d'acétate d'éthyle. Cependant, les mêmes extraits ont de faibles effets sur l'enzyme α -glucosidase. Des préparations par décoction des espèces de *S.* (*S. elegans* Vahl., *S. greggii* A. Gray et *S. officinalis* L) ont montré des corrélations possibles avec leurs composants

phénoliques et le potentiel inhibiteur contre l' α -glucosidase, un effet qui pourrait être lié à sa richesse en acide caféique et ses dérivés (Pereira *et al.*, 2018; Adımcılar *et al.*, 2019). Des études virtuelles ont évalué l'activité inhibitrice de l' α -amylase et de l' α -glucosidase des polyphénols (molecular Docking) tels que l'acide caféique, le pinorésinol, la daidzéine, la curcumine, l'hespérétine, la cyanidine narenginine, la quercétine, la silibinine, le kaempférol et la pélargonidine qui sont capables d'inhiber de manière significative l'enzyme α -glucosidase et/ou l' α -amylase (Rasouli *et al.*, 2017).

La glycation des protéines et les AGE (Advanced Glycation End products) sont considérés comme l'un des mécanismes du vieillissement. La réaction de glycation implique une série de réactions non enzymatiques entre le groupe carbonyle sur les sucres réducteurs et le groupe amine sur les protéines, conduisant à la formation d'AGE, qui sont impliqués dans la pathogenèse des complications diabétiques et liés au vieillissement (Rahbar and Figarola, 2002; Chinchansure *et al.*, 2015). Plusieurs études ont démontré l'inhibition des AGE en utilisant des produits naturels comme le propolis (Xavier *et al.*, 2017), le venin des abeilles (Behroozi *et al.*, 2014), les bactéries (Prastya *et al.*, 2019), les champignons (Yap *et al.*, 2018) et les plantes médicinales (Deo *et al.*, 2016; Agawane *et al.*, 2019; Mahomoodally *et al.*, 2019). Les résultats de cette étude ont montré que tous les extraits des plantes utilisées possèdent une activité anti glycation puissante supérieure à 60% pour la concentration 2 mg/ml. Cet effet se traduit en valeurs des IC₅₀ très remarquables comprises entre 70 et 360 μ g/ml. Suggèrent que ces extraits inhibent la formation des AGE et ont un potentiel thérapeutique chez les patients atteints de diabète ou de vieillissement. Une étude récente a montré que l'extrait méthanolique de *S. officinalis* induit une diminution de la formation des AGE à partir des concentrations 0.75 et 1 mg/ml, cette inhibition est observée après la deuxième semaine d'incubation des extraits de la plante avec le glucose et le BSA (Ben Khedher *et al.*, 2020). De même, l'extrait méthanolique de *S. hydrangea* possède une activité anti glycation avec une IC₅₀ supérieur à 1.6 mg/ml. Cette activité peut être liée au pouvoir antioxydant de cette plante (Safari *et al.*, 2018). L'utilisation des extraits méthanoliques de *S. macilenta*, *S. lachnocalyx*, *S. reuterana* et *S. sahendica* à différentes concentrations, réduit la formation des groupements carbonyle des protéines avec le fructose en protégeant l'albumine et ses groupements thiol de la glycation (Esmaeili *et al.*, 2010; Tusi and Khodagholi, 2014). L'inhibition de la formation des AGE par les différents extraits en étude peut revenir aux composés phénoliques présents tels que l'acide rosmarinique et l'acide carnosique (Govindaraj and Sorimuthu Pillai, 2015; Jean *et al.*, 2015; Ou *et al.*, 2018; Sheng *et al.*, 2018). Ces derniers constituants sont connus d'inhiber la glycolisation de l'albumine par le glucose en bloquant la formation de glyoxal et methylglyoxal et/ou leur liaison avec le BSA (Ou *et al.*, 2017).

Les neutrophiles humains, les macrophages, les ROS et les réactions inflammatoires sont étroitement liés. Pour cette raison, il existe un intérêt croissant pour les antioxydants naturels présents dans les plantes médicinales qui peuvent agir comme des piègeurs en réduisant l'action des ROS et des radicaux libres pour soutenir leur utilisation dans le traitement des maladies inflammatoires chroniques. Les neutrophiles et les macrophages jouent un rôle essentiel dans la défense contre les bactéries et les autres micro-organismes ainsi que dans la régulation de la réponse inflammatoire. Les neutrophiles stimulés activent leur NADPH oxydase pour générer de grandes quantités de superoxyde, qui agit en tant que précurseur du peroxyde d'hydrogène et d'autres espèces réactives de l'oxygène, notamment l'acide hypochloreux qui est une espèce extrêmement microbicide généré par la myéloperoxydase (Winterbourn *et al.*, 2016). Le luminol a été utilisé comme une sonde pour détecter le niveau des ROS affectées par les extraits de plantes. Le poids moléculaire du luminol est relativement faible et peut pénétrer dans les cellules puis réagir avec des ROS intracellulaires pour évaluer la production intracellulaire de ces ROS (Jantan *et al.*, 2011). Les résultats ont montré que les deux types d'extrait préparé des plantes du genre *Salvia* en étude présentent une activité inhibitrice de la formation du signal chimioluminescent supérieure à celle obtenue avec l'extrait aqueux de *S. viridis* L., *S. multicaulis* Vahl, *Stachys byzantina* C. Koch and *Eremostachys laciniata* (L.) Bunge (Erdemoglu *et al.*, 2006). L'origine de cette activité peut être due à la présence des flavonoïdes dans les extraits préparés. Une étude précédente a démontré que les fractions acétate d'éthyle et aqueuse de *S. Mirzayanii* étaient riches en méthoxyflavones et capables d'inhiber fortement la production des ROS dans les cellules phagocytes (Ayatollahi *et al.*, 2015). L'acide rosmarinique l'un des composés majeurs des plantes de la famille des *Lamiacea*, présent en grande quantité dans l'extrait méthanolique de *Rosmarinus officinalis*, est doté d'une activité inhibitrice de la flambée respiratoire des neutrophiles (Rocha *et al.*, 2015). Cette activité est plus élevée à celle obtenue avec d'autres molécules biologiques tel que l'acide ascorbique et l'hydroxyquercétine (Popov *et al.*, 2013). D'autres études ont démontré l'inhibition de la synthèse des ROS par les cellules immunitaires spécialement les neutrophiles par d'autres types de flavonoïdes comme la lutéoline et l'acide salvianolique B, isolé des racines de *S. miltiorrhiza* (Ribeiro *et al.*, 2013; Tao *et al.*, 2018; Yang *et al.*, 2018). Les mécanismes d'action de ces composés reviennent au blocage de la synthèse des ROS à partir de système enzymatique interne par la NADPH oxydase, la myéloperoxydase et la nitrique oxyde synthase (Amira *et al.*, 2012; Jiang *et al.*, 2015; Zhou *et al.*, 2017; Revoltella *et al.*, 2018; Tao *et al.*, 2018; Yang *et al.*, 2018).

Deux lignées cellulaires, cellules fibroblastes des souris s (3T3) et cellules cancéreuse cervicales humaine (HeLa), sont utilisées pour tester la toxicité des différents extraits de plantes du genre *Salvia*. Les résultats ont montré que tous les extraits ont un effet cytotoxique trop faible et non significatif pour tous les extraits préparés par décoction. Cependant, une légère prolifération est observée en présence des extraits méthanoliques. De même, les différents extraits n'ont montré aucune toxicité envers la lignée cellulaire HeLa sauf pour l'ED SVR. Le reste une légère prolifération. Une étude réalisée par Firuzi *et al.* (2013) a démontré que les extraits méthanoliques (80%) de plusieurs espèces de *S.* comme *S. aegyptiaca*, *S. aethiopis*, *S. atropatana*, *S. hypoleuca*, *S. limbata*, *S. nemorosa*, *S. sclarea*, *S. syriaca*, et *S. xanthocheila* n'ont aucun effet sur les lignées cellulaires HL60, K562 et MCF-7. D'autres études ont confirmé la non toxicité des extraits méthanolique, éthanolique, chloroforme ou hexane de plusieurs plantes du genre *Salvia* y compris *S. argentea*, *S. pratensis*, *S. officinalis* sur les lignées cellulaires 3T3, HeLa et MCF-7 (Keshavarz *et al.*, 2010; Janicsák *et al.*, 2011). Cependant, l'extrait éthanolique de *S. Libanotica* a montré une toxicité contre les cellules 3T3 et non pas sur les cellules HeLa (Soomro and Sibgatullah Sangi, 2019). Récemment, il a été démontré que les extraits de plante de *S. verbenaca* ont un effet modéré sur les lignées cellulaires RD et vero (cellules dérivées de rhabdomyosarcoma et cellules tumorales des reins) (Guaouguaou *et al.*, 2018a). Par contre, d'autres recherches ont démontré que les extraits méthanoliques de *S. aegyptiaca* et *S. verbenaca* ont une toxicité sur plusieurs lignées cellulaires comme adénocarcinome colorectale (HT-29 Caco-2 et DLD-1), cellules lymphomes humaine (U-937 GTB) et cancer du sein (MCF-7, T47D, ZR-75-1 et BT 474) (Kamatou *et al.*, 2008; Abu-Dahab *et al.*, 2012; El-Seedi *et al.*, 2013; Abdallah *et al.*, 2018). L'effet cytotoxique de *S. aegyptiaca* sur les cellules tumorales d'ascites d'Ehrlich est dû à l'activation de l'apoptose de ces dernières (Tohamy *et al.*, 2016). De même, l'effet cytotoxique de *S. argentea* sur les cellules leucémie erythromyeloblastoïdes (K562) et fibrosarcome (HT1080) est du probablement aux triterpenoïdes actifs isolés de cette plante (Lehbili *et al.*, 2018; Bechkri *et al.*, 2019). L'acide rosmarinique l'un des composés majeurs de *S. officinalis* inhibe la prolifération des lignées cellulaires cancéreuses du colon (HCT 15) en bloquant la voie MAPK/ERK via l'inhibition de la KRAS (Xavier *et al.*, 2008). L'un des mécanismes impliqués dans l'activité anti cancéreuse des plantes médicinales de la famille des *Lamiaceae* est l'inhibition de la synthèse du NO dans les cellules cancéreuses (ce qui va activer l'apoptose) et l'activation de la sécrétion de TNF- α des cellules immunitaires. Ces effets sont observés lors de l'utilisation des extraits hexane et acétate d'éthyle de *Rosmarinus officinalis* et *S. officinalis* (Kontogianni *et al.*, 2013). La légère prolifération des cellules peut être explique du fait que ces plantes sont douées d'activité protectrice de la cytotoxicité comme l'extrait aqueux de *S. officinalis*, Al-Barazanji *et al.* (2013)

a démontré que ce dernier induit une prolifération des cellules fibroblaste de murin normale (L20B). Cette effet est expliqué par la présence des composés phénoliques et le plus abondant comme l'acide rosmarinique et la lutéoline-7-glucoside qui ont un potentiel de protection significatif contre la mort cellulaire de carcinome cellulaire hépatique (HepG2) (Lima *et al.*, 2007). De même, l'incubation des cellules carcinome du colon humain (HCT15) avec l'acide ursolique ou l'acide oléalonique pendant 36 à 72 heures induit une prolifération des cellules avec répression de l'apoptose, contrairement aux résultats obtenus dans les premières 24 heures, montrant une variété de réponse des cellules vis-à-vis aux composés actifs des plantes médicinales (Li *et al.*, 2002).

Le dysfonctionnement de la motilité gastro-intestinale a une contribution bien connue à certaines complications physiopathologiques du tractus gastro-intestinal. Le contrôle de la vidange gastrique et du transit intestinal est un processus complexe et implique à la fois des mécanismes neuronaux et myogéniques médié par de nombreux neurotransmetteurs et médiateurs. La présente étude révèle que l'EM SAE, l'EM SVR et l'ED SVR ont diminué légèrement le transit intestinal contrairement aux ED SAE, EM SBR et ED SBR qui induisent une légère augmentation. L'inhibition des récepteurs muscariniques ou l'enzyme NOS n'a aucune conséquence sur l'effet de l'EM SAE suggérant un autre mécanisme impliqué. Par contre, l'effet de l'ED SAE, l'EM SVR, l'ED SVR, l'EM SBA et ED SBA implique la voie NO. Parallèlement, une diminution de manière dose dépendante est observée pour l'EM SAR, un effet confirmé par le blocage des récepteurs muscariniques. Une étude réalisée par Demireezer *et al.* (2015) a démontré que les extraits méthanoliques, aqueux et butanol de trois espèces de *S. trichoclada*, *S. verticillata* et *S. fruticosa* induisent une inhibition de la contraction induite par l'ACh des bandelettes de l'iléon de cobaye. L'effet inhibiteur de la contraction est dû à l'acide rosmarinique qui a montré les mêmes effets en inhibant les récepteurs muscariniques par ce composé. Parallèlement, l'effet relaxant d'un diterpénoïde extrait de *S. cinnabarina* est induit par l'inhibition des canaux L-Ca²⁺ (Capasso *et al.*, 2004). La contraction du muscle lisse dépend de l'équilibre entre l'augmentation et la diminution de l'activité des canaux K⁺, conduisant respectivement à une hyperpolarisation/repolarisation ou dépolarisation de la membrane, il a été démontré que ces canaux régulent l'ouverture du Ca²⁺ voltage-dépendant (Thorneloe and Nelson, 2005). Par ailleurs, l'extrait éthanolique de *hyptis macrostachys* (Benth.) a une action sélective spasmolytique sur l'iléon du cobaye du probablement à l'inhibition des canaux calciques voltage dépendant (de Souza *et al.*, 2013). D'autre part, un effet relaxant est observé du même extrait sur l'iléon du cobaye via l'activation des canaux potassique de grande conductance (BK_{Ca}) par l'acide rosmarinique (de Souza *et al.*, 2020). Contrairement à ce qui a été décrit précédemment, la fraction dichlorométhane de *Origanum majurana* induit une

relaxation des muscles lisses du jéjunum du lapin, un effet indépendant de plusieurs voies cholinergique, nitreurgique, adrenergique ou guanyl cyclase (Makrane *et al.*, 2018). De même, la relaxation des muscles de l'estomac des souris induite par plusieurs types de flavonoïdes comme l'apigénine, la génisteine, la quercétine, la rutine, la naringénine et la catéchine dépend essentiellement de la structure de ces flavonoïdes et la position des groupements hydroxyle et non pas de la transmission nerveuse, production du NO/prostaglandine, l'activation ou l'inhibition des canaux potassiques (Amira *et al.*, 2008). Finalement, il a été démontré aussi que l'état pathologique du tube digestif joue un rôle clé dans l'effet des extraits de plantes médicinales sur le transit intestinal. En effet, l'extrait éthanolique de *S. divinorum* ne modifie pas le transit intestinal chez les souris normales, mais il le diminue dans le cas d'inflammation induite (Capasso *et al.*, 2008).

Le passage du chyme de l'estomac au duodénum est pulsatile et contrôlé par l'équilibre entre la force des contractions et de relaxation de l'antré et le pylore respectivement, et la résistance du duodénum (Tack, 2007). La nourriture est propulsée dans le broyeur pylorique par des contractions qui deviennent fortes dans l'antré. Le pylore se détend pour recevoir la nourriture de l'antré proximal, tandis que les contractions pyloriques génèrent un puissant jet rétrograde de nourriture et un jet antérograde de chyme dans le duodénum (Goyal *et al.*, 2019). Le tonus du sphincter pylorique joue un rôle crucial dans la vitesse de la vidange gastrique (Ishiguchi *et al.*, 2001) un mécanisme de contraction dépendant des signaux en provenance du duodénum et de l'estomac (Yuan *et al.*, 2001). L'effet retardant de la vidange gastrique dépend essentiellement de la libération du NO qui provoque la relaxation du sphincter pylorique, un effet contraire est observé suite à l'application du L-NAME (Ishiguchi *et al.*, 2001). L'atropine diminue d'une manière significative le taux de vidange gastrique et l'inhibition des récepteurs muscariniques par les antagonistes cholinergiques, telle que l'atropine, diminuent l'activité contractile de l'antré et diminue la vidange gastrique (Chiba *et al.*, 2002; Wang *et al.*, 2017). L'EM SAE et l'EM SVR diminuent la vidange gastrique, un effet qui diminue aux doses élevées pour l'EM SAE. L'effet inhibiteur pour ces extraits était très proche de celui de l'atropine en tant que contrôle positif (1 mg / kg). Cet effet est dû totalement au blocage des récepteurs muscariniques; cela a été confirmé suite à l'application de l'atropine. Par contre, les faibles effets observés avec l'ED SAR et ED SVR est lié à l'enzyme NOS. Cependant, un effet inhibiteur de l'EM SBA (pour toutes les doses) et l'EM SAR (dose dépendante) sur la vidange gastrique implique à la fois la voie cholinergique et NO. Cela est confirmé suite à l'inhibition des récepteurs muscariniques et l'inhibition de l'enzyme NOS. Un effet retardateur de la vidange gastrique est observé suite à l'ingestion de l'extrait aqueux de *Rosmarinus officinalis*, pour les rats, un effet observé avec la dose minimale, tant que l'extrait méthanolique a accéléré la vidange gastrique (Carnevali *et al.*, 2019). Une autre étude a démontré

que l'effet relaxant de l'extrait aqueux de l'*Origanum onite* sur des bandelettes de fundus, du l'iléum et du duodénum, un effet qui est peu dépendant des récepteurs muscariniques (Aydin and Seker, 2005). Cependant, l'extrait méthanolique (70%) de *Zingiber officinalis* inhibe la contraction du fundus de l'estomac en bloquant les récepteurs muscariniques (Ghayur *et al.*, 2007). Des études antérieures avaient montré qu'un mélange de plusieurs extraits de plantes (STW 5) avait un effet relaxant de manière dose-dépendante, ces effets globaux sur l'estomac étaient spécifiques pour chaque région, relaxant pour le corps et le fundus gastriques tout en tonifiant l'antré (Schemann *et al.*, 2006). L'effet des composés phénoliques et bioactifs sur la vidange gastrique diffère. En effet, l'acide férulique responsable de l'accélération de la vidange gastrique est médié par la prostaglandine (Badary *et al.*, 2006). De plus, Wang *et al.* (2019) a démontré l'effet contractile de magnolol (lignanes) en inhibant la iNOS. Les flavonoïdes extraits de *Aurantii fructus immaturus* n'ont aucun effet sur les muscles longitudinaux de l'estomac des rats. En revanche, une inhibition remarquable de l'amplitude des contractions des bandelettes des muscles circulaires de l'estomac, un effet dépend des voies multiples NO/cGMP/PKG/Ca²⁺ (Wu *et al.*, 2016). L'administration intrapéritonéale d'une fraction riche en flavonoïdes (catéchine, épicatechine, quercétine et kaempferol) de *Maytenus ilicifolia* induit une forte diminution de la vidange gastrique, cette inhibition implique les récepteurs muscariniques et non pas les récepteurs dopaminergiques (Baggio *et al.*, 2009). L'effet retardant de la vidange gastrique revient probablement au blocage des récepteurs muscariniques par l'acide rosmarinique, ce dernier est capable d'inhiber ces récepteurs dans l'iléon de rat (Demireezer *et al.*, 2015). Le faible effet des différents extraits sur la vidange gastrique peut être attribué à la malabsorption des composés phénoliques dans l'estomac (Dufour *et al.*, 2018).

L'induction des ulcères par l'éthanol est due au fait que ce dernier est capable de pénétrer rapidement dans la muqueuse de l'estomac après quelques minutes de son administration orale, qui provoque des plaies hémorragiques et des lésions tissulaires due à l'arrêt du flux sanguin vers l'estomac (Al Batran *et al.*, 2013; Arab *et al.*, 2015). L'éthanol peut aussi abimer la membrane plasmique cellulaire, augmentant ainsi la perméabilité vasculaire du sodium et de l'eau, et l'accumulation de calcium à l'intérieur de la muqueuse et donc la destruction de la surface épithéliale (Miller *et al.*, 2001; Antonisamy *et al.*, 2015). L'éthanol induit un stress oxydatif en augmentant la production de l'anion superoxyde et du radical hydroxyle (...), induisant une peroxydation des lipides gastriques ainsi une ulcération (Nyam *et al.*, 2016). Dans la présente étude, l'administration de l'éthanol à des rats induit des lésions macroscopiques du tissu gastrique, telles que les pétéchies, les hémorragies et les œdèmes. Ces lésions sont très probablement liées à déplétion du mucus des veines et des artères de la muqueuse gastrique, produisant une constriction

de l'hémorragie, de l'inflammation et des lésions tissulaires. Afin de confirmer les résultats des effets antiulcéreux, les tissus des estomacs ont également été évalués par un examen histopathologique. L'observation histologique de l'estomac des animaux exposés à l'éthanol présentent des dommages aux tissus gastriques au niveau microscopique. La lésion histopathologique causée par l'administration d'éthanol est caractérisée par décollement sévère de l'épithélium de surface, d'œdème, formation de lésions hémorragiques et gastriques, ainsi un processus inflammatoire caractérisé par une infiltration des neutrophiles. Le traitement avec des extraits des plantes a inversé l'effet de l'éthanol en préservant la paroi gastrique.

En effet, le prétraitement avec les extraits de *S. aegyptiaca* ou *S. verbenaca* a augmenté de manière significative la teneur en mucus gastrique, indiquant une protection gastrique de ces plantes. Autres mécanismes possibles de la protection gastrique peuvent inclure la voie de la cyclooxygénase, la voie nitreurgique, l'inhibition de la sécrétion gastrique et le renforcement du flux sanguin vers la muqueuse (Khattab *et al.*, 2001).

Les résultats d'autres études ont démontré que les différents extraits ou fractions préparés à partir des plantes *S. officinalis* L ou *S. plebeia* sont capables de réduire de manière significative les lésions causées par l'éthanol chez le rat (Mayer *et al.*, 2009; Nugroho *et al.*, 2012; Fiorentin *et al.*, 2013). L'éthanol peut provoquer des lésions de la muqueuse gastrique en stimulant la formation des leucotriènes. L'effet gastro-protecteur de l'extrait éthanolique de *Solenostemon monostachyus*, aqueux de *Pseuderanthemum Palatifерum* ou hydroalcolique des graines de *Nigella sativa* peut être lié à la suppression de l'activité lipoxygénase et/ou à l'activation de la sécrétion du mucus gastrique (Amazu *et al.*, 2015; Inchab *et al.*, 2018; Paseban *et al.*, 2020).

Les protéines sont considérées comme des antioxydants extracellulaires, en particulier l'albumine, un antioxydant secondaire important qui lie le fer, le cuivre et de nombreux produits tels que les hydro peroxydes, en empêchant les réactions induites par les radicaux libres dans les membranes cellulaires ou au niveau des protéines pour les protéger de la destruction (Migdal and Serres, 2011). L'extrait méthanolique de *S. verbenaca* a augmenté la teneur en protéines dans le tissu gastrique ce qui peut expliquer l'effet protecteur de l'extrait. Pour évaluer le stress oxydatif dans l'ulcère gastrique induit par l'éthanol chez le rat, plusieurs paramètres oxydants-antioxydants ont été évalués. Les résultats de la présente étude ont montré que l'administration d'éthanol a induit un stress oxydatif marqué, qui s'est reflété par l'augmentation de la peroxydation des lipides et la réduction des antioxydants intracellulaires comme le GSH et la CAT. Par contre, l'administration de différentes doses de *S. aegyptiaca* ou *S. verbenaca* a provoqué une augmentation de l'activité de la CAT, de la teneur en GSH et une forte diminution de la peroxydation des lipides gastriques. Des études ont évalué l'activité anti-ulcérogène et les mécanismes des feuilles d'*Indigo*

feratruxillensis, *Salvadora pericia* et *Rosmarinus officinalis* contre l'ulcère induit par l'éthanol chez le rat. Ces plantes ont favorisé une augmentation significative de la teneur de GSH gastrique (Luiz-Ferreira *et al.*, 2012; Amaral *et al.*, 2013; Lebda *et al.*, 2018). Le glutathion est un antioxydant endogène considéré comme la première ligne de défense contre les radicaux libres. Une cellule avec un niveau du glutathion élevé rend ses composants moins sensibles à l'oxydation (Anfal and Sahib, 2015).

La pathogenèse de l'ulcère gastrique est multifactorielle, la sécrétion d'acide gastrique est toujours reconnue comme facteur central de cette maladie, donc la principale cible thérapeutique est le contrôle de cette sécrétion à l'aide des médicaments antisécrétoires. Plusieurs études ont montré la relation entre les extraits de plantes et leur activité antisécrétoire sur des modèles ulcéreux expérimentaux (Mayer *et al.*, 2009; da Silva Junior *et al.*, 2016). Les propriétés médicinales de nombreuses plantes sont principalement attribuées à la présence d'acides phénoliques et de flavonoïdes, mais elles peuvent également être influencées par d'autres composés tels que les alcaloïdes et les terpénoïdes (Bonamin *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2014).

Les composés phénoliques et surtout les flavonoïdes préservent la muqueuse gastro-intestinale des lésions provoquées dans des nombreux modèles d'ulcères expérimentaux. La quercétine a des propriétés antihistaminiques, donc elle inhibe la libération d'histamine par les mastocytes gastriques et inhibe la pompe à protons gastriques H^+/K^+ , réduisant ainsi la sécrétion d'acide gastrique (Kahraman *et al.*, 2003). D'autres flavonoïdes (les chalcones et leurs dérivés) sont responsables de plusieurs activités biologiques comme l'augmentation de flux sanguin muqueux, l'activation de la synthèse du mucus gastrique, l'augmentation des niveaux de PG, SOD, GPx et la forte diminution du MDA (Dhiyaaldeen *et al.*, 2014; Mohan *et al.*, 2020). Cependant, l'activité antiulcéreuse la plus élevée des flavonoïdes est due à leurs propriétés antioxydantes. La rutine et la quercétine, qui sont des piègeurs des radicaux libres, inhibiteurs des enzymes oxydantes, responsables de la chélation des ions des métaux de transition et des inhibiteurs de la peroxydation des lipides (Ismail Suhaimy *et al.*, 2017; Lesjak *et al.*, 2018; Song *et al.*, 2018). Des études ont conclu que le carnosate et le carnosol, sont des responsables de l'activité antioxydante, propriétés anti-inflammatoires, par conséquent, l'estomac a été protégé contre les lésions gastriques grâce à son activité antioxydante et à la réduction de la sécrétion d'acide gastrique (Fiorentin *et al.*, 2013).

L'acide caféique, la lutéoline et l'acide rosmarinique, des composés majeurs des plantes étudiées du genre *Salvia* et de la famille des *Lamiacée*, sont connues pour leurs activités antiulcéreuses gastriques (Okada *et al.*, 2005; Amaral *et al.*, 2013; Ode and Asuzu, 2014; Kangwan *et al.*, 2019). L'administration orale de 200 mg/kg de l'acide caféique a hautement réduit les lésions induites par l'éthanol dans la muqueuse gastrique des rats. Cet effet a été attribué à son

pouvoir antioxydant (Okada *et al.*, 2005). Le mécanisme d'action de l'acide rosmarinique implique plusieurs paramètres parmi lesquelles le maintien de la barrière de la muqueuse gastrique via son interaction avec les groupes sulfhydrile (Santin *et al.*, 2011; do Nascimento *et al.*, 2020). Les PGs sont présents dans tout le canal gastro-intestinal et participent à la régulation de diverses fonctions gastriques qui protègent la muqueuse gastrique contre les agents agressifs, le stress et les AINS par le contrôle de la sécrétion d'acide, de la production de mucus et l'augmentation du flux sanguin muqueux (Miller, 1983; Takeuchi and Amagase, 2017). De cet effet, la lutéoline-7-O-glucoside et l'acide rosmarinique augmentent la production des PGE₂ bénéfiques, un mécanisme qui peut être impliqué dans la protection de l'ulcère gastrique (Al-Sereiti *et al.*, 1999; Antonisamy *et al.*, 2016). Cependant, une étude récente exclut l'implication de la production des PGs par l'acide rosmarinique dans son mécanisme de protection (Kangwan *et al.*, 2019). L'un des mécanismes importants impliqués dans la protection de l'ulcère gastrique est l'inhibition de l'inflammation. La lutéoline et l'acide rosmarinique sont connus comme d'inhibiteurs de inflammation dans les cellules gastriques via l'inhibition de l'infiltration des neutrophiles, l'inhibition de MPO, l'inhibition de l'activité des COX-1 et COX-2 et l'inhibition de la production des cytokines pro inflammatoires comme l'IL1, IL6, IL10 et TNF α (Osakabe *et al.*, 2004; Antonisamy *et al.*, 2016; Kangwan *et al.*, 2019; do Nascimento *et al.*, 2020). L'activité gastro protectrice de l'acide rosmarinique et la lutéoline est fortement liée à son activité antioxydante puissante, cette dernière est caractérisée par une augmentation de l'activité des enzymes antioxydants endogènes, la teneur du GSH intracellulaire et forte diminution de la peroxydation lipidique (Min *et al.*, 2006; Yang *et al.*, 2013; Antonisamy *et al.*, 2016; De er and Çavu, 2020).

Conclusion et perspectives

V. Conclusion et perspectives

La présente étude a montré l'efficacité de *S. aegyptiaca* et *S. verbenaca*, *S. barrelieri* et *S. argentea* en tant qu'antioxydants naturels qui pourraient être utiles en tant que des ingrédients alimentaires fonctionnels potentiels et dans le domaine pharmaceutique. Les résultats ont montré que le type d'extraction affecte de manière significative la teneur en polyphénols totaux et plusieurs activités étudiées.

Quatre composés en commun ont été détectés dans les extraits méthanoliques. Ces extraits ont été identifiés comme, l'acide caféique glycoside, l'apigénine, l'acide rosmarinique et l'acide p-coumarylquinnique. L'extrait méthanolique de *S. aegyptiaca* est caractérisé par la présence de l'acide *Salvianolique* B et ces dérivés, alors que la lutéoline et la lutéoline glucoside ont été identifiés dans les autres extraits.

Les différents extraits préparés à partir de *S. aegyptiaca*, *S. verbenaca*, *S. barrelieri* et *S. argentea* ont une puissante activité antioxydante et anti-Alzheimer modérée, apparente à l'inhibition de la BChE. La présente étude a révélé que les extraits méthanoliques possèdent une activité antidiabétique marquée en inhibant les enzymes α -amylase et α -glucosidase. L'origine de ces activités pourrait être due aux composés phénoliques (acide rosmarinique et acide *Salvianolique*) et peut être attribuée aux composés phénoliques piègeurs de radicaux et à leurs dérivés. Tous les extraits étudiés ont présenté une activité anti glycation puissante, suggérant leurs utilités dans la prévention des complications diabétiques.

L'absence d'effet toxique sur les souris et la cytotoxicité sur les lignées cellulaires 3T3 et HeLa confirme la sécurité d'utilisation de ces plantes soit en médecine traditionnelle ou moderne.

Les différents extraits préparés possèdent une activité antiinflammatoire en inhibant les cellules immunitaires. Cette activité est du probablement aux composés phénoliques présents comme l'acide rosmarinique et ces dérivés.

Seuls les extraits méthanoliques ont été capables de diminuer la vidange gastrique, cette diminution est dépendante de l'inhibition des récepteurs muscariniques et l'inhibition de l'enzyme NOS. Un effet mineur a été aussi observé sur le transit intestinal.

L'extrait méthanolique comme l'extrait aqueux de *S. aegyptiaca* ou *S. verbenaca* ont protégé l'estomac contre l'ulcère gastrique induit par l'éthanol. Cette protection s'est exprimée *in vitro* par l'augmentation de la teneur du mucus gastrique, la préservation des teneurs des protéines, l'augmentation de la teneur du GSH, la diminution de la peroxydation lipidique et l'augmentation de l'activité des enzymes anti oxydantes comme la CAT.

Malgré la tentative d'évaluation du plus grand nombre possible d'activités biologiques des plantes médicinales sélectionnées, ils restent plusieurs aspects peuvent être exploiter comme des perspectives d'avenir citant en exemple

- Faire une étude sur l'effet synergétique de ces plantes sur l'activité anti Alzheimer et anti diabétique pour avoir un effet maximal et de longue durée.
- Faire d'autre tests de cytotoxicité sur différentes lignées cellulaires particulièrement les lignées des cellules cancéreuses.
- Exploiter l'effet antiulcéreux des plantes médicinales *S. barrelieri* et *S. argentea*.
- Faire une étude sur le mécanisme de protection des plantes utilisées comme des antiulcéreux et la possibilité d'implication du voie NO ou les prostaglandines dans cette protection.
- Vérifier la possibilité d'implication d'autres voies dans l'effet inhibiteur de la vidange gastrique comme la transmission nerveuse et les récepteurs adrénergiques.
- Isoler les molécules impliquées dans les différentes activités.
- Tester les différents extraits préparés sur d'autres modèles expérimentaux.

Références bibliographiques

VI. Références Bibliographiques

- Abdallah, Q., Al-Deeb, I., Bader, A., Hamam, F., Saleh, K. and Abdulmajid, A. (2018). Anti-angiogenic activity of Middle East medicinal plants of the *Lamiaceae* family. *Molecular medicine reports*, 18(2), 2441-2448.
- Abdel Kader, S. M. (2004). Effect of *Salvia Egyptiaca* extract on cholinergic system in adult male albino rats. *Isotope and Radiation Research*, 36(4), 683-693.
- Abu-Dahab, R., Afifi, F., Kasabri, V., Majdalawi, L. and Naffa, R. (2012). Comparison of the antiproliferative activity of crude ethanol extracts of nine salvia species grown in Jordan against breast cancer cell line models. *Pharmacognosy Magazine*, 8(32), 319-324.
- Adımcılar, V., Kalaycıoğlu, Z., Aydoğdu, N., Dirmenci, T., Kahraman, A. and Erım, F. B. (2019). Rosmarinic and carnosic acid contents and correlated antioxidant and antidiabetic activities of 14 *Salvia* species from Anatolia. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 175, 112763.
- Adinortey, M. B., Ansah, C., Galyuon, I. and Nyarko, A. (2013). *In Vivo* Models Used for Evaluation of Potential Antigastroduodenal Ulcer Agents. *Ulcers*, 2013, 12.
- Afonso, A. F., Pereira, O. R., Válega, M., Silva, A. and Cardoso, S. M. (2018). Metabolites and biological activities of *Thymus zygis*, *Thymus pulegioides*, and *Thymus fragrantissimus* grown under organic cultivation. *Molecules*, 23(7), 1514.
- Afridi, M. A. R. (2003). Tobacco use as contributory factor in peptic ulcer disease. *Journal of the College of Physicians and Surgeons--Pakistan : JCPSP*, 13(7), 385-387.
- Agawane, S. B., Gupta, V. S., Kulkarni, M. J., Bhattacharya, A. K. and Koratkar, S. S. (2019). Chemo-biological evaluation of antidiabetic activity of *Mentha arvensis* L. and its role in inhibition of advanced glycation end products. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, 10(3), 166-170.
- Agostini, F., Santos, A. C. A. d., Rossato, M., Pansera, M. R., Santos, P. L. d., Serafini, L. A., Molon, R. and Moyna, P. (2009). Essential oil yield and composition of *Lamiaceae* species growing in Southern Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 52(2), 473-478.
- Al-Barazanji, R. K., Dizaye, K. and Al-Asadye, A. A. (2013). Cytotoxic and cytogenetic effects of *Salvia officinalis* on different tumor cell lines. *Middle East Journal of Internal Medicine*, 63(902), 1-11.
- Al-Sereiti, M. R., Abu-Amer, K. M. and Sena, P. (1999). Pharmacology of rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn.) and its therapeutic potentials. *Indian Journal of Experimental Biology*, 37, 124-130.
- Al-Yousuf, M. H., Bashir, A. K., Ali, B. H., Tanira, M. O. M. and Blunden, G. (2002). Some effects of *Salvia aegyptiaca* L. on the central nervous system in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 81(1), 121-127.
- Al-Zereini, W. A. (2017). *Ononis natrix* and *Salvia verbenaca*: Two Jordanian Medicinal Plants with Cytotoxic and Antibacterial Activities. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 23(1), 18-25.
- Al Batran, R., Al-Bayat, F., Jamil Al-Obaidi, M. M., Abdualkader, A. M., Hadi, H. A., Ali, H. M. and Abdulla, M. A. (2013). *In Vivo* Antioxidant and Antiulcer Activity of *Parkia speciosa* Ethanolic Leaf Extract against Ethanol-Induced Gastric Ulcer in Rats. *PLOS ONE*, 8(5), e64751.
- Alberti, E., Mikkelsen, H. B., Wang, X. Y., Diaz, M., Larsen, J. O., Huizinga, J. D. and Jimenez, M. (2007). Pacemaker activity and inhibitory neurotransmission in the colon of Ws/Ws mutant rats. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 292(6), G1499-G1510.
- Alkan, F. Ü., Gürsel, F. E., Ateş, A., Özyürek, M., Güçlü, K. and Altun, M. (2012). Protective effects of *Salvia officinalis* extract against cyclophosphamide-induced genotoxicity and

- oxidative stress in rats. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 36(6), 646-654.
- Amaral, G. P., de Carvalho, N. R., Barcelos, R. P., Dobrachinski, F., de Lima Portella, R., da Silva, M. H., Lugokenski, T. H., Dias, G. R. M., da Luz, S. C. A. and Boligon, A. A. (2013). Protective action of ethanolic extract of *Rosmarinus officinalis* L. in gastric ulcer prevention induced by ethanol in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 55, 48-55.
- Amazu, L. U., Antia, B. S. and Okokon, J. E. (2015). Antiulcerogenic activity of *Solenostemon monostachyus*. *The Journal of Phytopharmacology*, 4(2), 97-101.
- Amira, S., Dade, M., Schinella, G. and Ríos, J.-L. (2012). Anti-inflammatory, anti-oxidant, and apoptotic activities of four plant species used in folk medicine in the Mediterranean basin. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 25(1), 65-72.
- Amira, S., Rotondo, A. and Mulè, F. (2008). Relaxant effects of flavonoids on the mouse isolated stomach: Structure-activity relationships. *European Journal of Pharmacology*, 599(1), 126-130.
- Amira, S., Soufane, S. and Gharzouli, K. (2005). Effect of sodium fluoride on gastric emptying and intestinal transit in mice. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 57(1), 59-64.
- Anfal, K. N. and Sahib, J. A. r. (2015). Study the Balance System Between Oxidants/Antioxidants in Patients with Peptic Ulcer in City of Tikrit and it's Suburb *Tikrit Journal of Pure Science* 70-63, (1)20, مجلة تكريت للعلوم الصرفة.
- Antonisamy, P., Duraipandiyar, V., Aravinthan, A., Al-Dhabi, N. A., Ignacimuthu, S., Choi, K. C. and Kim, J.-H. (2015). Protective effects of friedelin isolated from *Azima tetraacantha* Lam. against ethanol-induced gastric ulcer in rats and possible underlying mechanisms. *European Journal of Pharmacology*, 750, 167-175.
- Antonisamy, P., Subash-Babu, P., Albert-Baskar, A., Alshatwi, A. A., Aravinthan, A., Ignacimuthu, S., Choi, K. C., Lee, S. C. and Kim, J.-H. (2016). Experimental study on gastroprotective efficacy and mechanisms of luteolin-7-O-glucoside isolated from *Ophiorrhiza mungos* Linn. in different experimental models. *Journal of Functional Foods*, 25, 302-313.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. and Çelik, S. E. (2008). Mechanism of antioxidant capacity assays and the CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) assay. *Microchimica Acta*, 160(4), 413-419.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. and Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 7970-7981.
- Arab, H., Salama, S., Omar, H., Arafa, E. and Maghrabi, I. (2015). Diosmin Protects against Ethanol-Induced Gastric Injury in Rats: Novel AntiUlcer Actions. *PLoS ONE*, 10(3), 1-21.
- Ayatollahi, A. M., Ghanadian, M., Att-Ur-Rahman, R., Mesaik, M. A., Khalid, A. S. and Adeli, F. (2015). Methoxylated Flavones from *Salvia Mirzayanii* Rech. f. and Esfand with Immunosuppressive Properties. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 14(3), 955-960.
- Aydin, S. and Seker, E. (2005). Effect of an aqueous distillate of *Origanum onites* L. on isolated rat fundus, duodenum and ileum: evidence for the role of oxygenated monoterpenes. *Pharmazie*, 60(2), 147-150.
- Badary, O. A., Awad, A. S., Sherief, M. A. and Hamada, F. M. A. (2006). *In vitro* and *in vivo* effects of ferulic acid on gastrointestinal motility: inhibition of cisplatin-induced delay in gastric emptying in rats. *World Journal of Gastroenterology*, 12(33), 5363-5367.
- Baeza, G., Sarriá, B., Bravo, L. and Mateos, R. (2016). Exhaustive Qualitative LC-DAD-MS(n) Analysis of Arabica Green Coffee Beans: Cinnamoyl-glycosides and Cinnamoylshikimic Acids as New Polyphenols in Green Coffee. *J Agric Food Chem*, 64(51), 9663-9674.

- Baggio, C. H., Freitas, C. S., Mayer, B., dos Santos, A. C., Twardowschy, A., Potrich, F. B., Cipriani, T. R., de Souza, L. M., Sasaki, G. L., Iacomini, M., Marques, M. C. A. and Mesia-Vela, S. (2009). Muscarinic-dependent inhibition of gastric emptying and intestinal motility by fractions of *Maytenus ilicifolia* Mart ex. Reissek. *Journal of Ethnopharmacology*, 123(3), 385-391.
- Bahadori, M. B., Dinparast, L., Zengin, G., Sarikurkcu, C., Bahadori, S., Asghari, B. and Movahhedini, N. (2017). Functional components, antidiabetic, anti-Alzheimer's disease, and antioxidant activities of *Salvia syriaca* L. *International Journal of Food Properties*, 20(8), 1761-1772.
- Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, J. C. and Pinkas, M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-Forschung*, 46(11), 1086-1089.
- Balemba, O. B., Salter, M. J., Heppner, T. J., Bonev, A. D., Nelson, M. T. and Mawe, G. M. (2006). Spontaneous electrical rhythmicity and the role of the sarcoplasmic reticulum in the excitability of guinea pig gallbladder smooth muscle cells. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 290(4), G655-G664.
- Baran, P., Özdemir, C. and Aktas, K. (2008). The morphological and anatomical properties of *Salvia argentea* L.(Lamiaceae) in Turkey. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 4(6), 725-733.
- Barlow, R. S., El-Mowafy, A. M. and White, R. E. (2000). H₂O₂ opens BKCa channels via the PLA₂-arachidonic acid signaling cascade in coronary artery smooth muscle. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 279(2), H475-H483.
- Basaif, S. A. (2004). Chemical constituents of *Salvia aegyptiaca*. *Journal of King Abdulaziz University: Science*, 16, 33-39.
- Bechkri, S., Alabdul Magid, A., Voutquenne-Nazabadioko, L., Berrehal, D., Kabouche, A., Lehbili, M., Lakhal, H., Abedini, A., Gangloff, S. C., Morjani, H. and Kabouche, Z. (2019). Triterpenes from *Salvia argentea* var. *aurasiaca* and their antibacterial and cytotoxic activities. *Fitoterapia*, 139, 104296.
- Behroozi, J., Divsalar, A. and Saboury, A. A. (2014). Honey bee venom decreases the complications of diabetes by preventing hemoglobin glycation. *Journal of Molecular Liquids*, 199, 371-375.
- Belkhir, F., Baghiani, A., Zerroug, M. M. and Arrar, L. (2017). Investigation of antihemolytic, xanthine oxidase inhibition, antioxidant and antimicrobial properties of *Salvia verbenaca* L. aerial part extracts. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 14(2), 273-281.
- Ben Farhat, M., Chaouch-Hamada, R., Sotomayor, J. A., Landoulsi, A. and Jordán, M. J. (2015a). Antioxidant properties and evaluation of phytochemical composition of *Salvia verbenaca* L. extracts at different developmental stages. *Plant Foods for Human Nutrition*, 70(1), 15-20.
- Ben Farhat, M., Jordán, M. J., Chaouch-Hamada, R., Landoulsi, A. and Sotomayor, J. A. (2015b). Changes in phenolic profiling and antioxidant capacity of *Salvia aegyptiaca* L. by-products during three phenological stages. *LWT - Food Science and Technology*, 63(1), 791-797.
- Ben Farhat, M., Landoulsi, A., Chaouch-Hamada, R., Sotomayor, J. A. and Jordán, M. J. (2013). Characterization and quantification of phenolic compounds and antioxidant properties of *Salvia* species growing in different habitats. *Industrial Crops and Products*, 49, 904-914.
- Ben Farhat, M., Sotomayor, J. A. and Jordán, M. J. (2019). *Salvia verbenaca* L. essential oil: Variation of yield and composition according to collection site and phenophase. *Biochemical Systematics and Ecology*, 82, 35-43.

- Ben Khedher, M. R., Hafsa, J., Haddad, M. and Hammami, M. (2020). Inhibition of Protein Glycation by Combined Antioxidant and Antiglycation Constituents from a Phenolic Fraction of Sage (*Salvia officinalis* L.). *Plant Foods for Human Nutrition*.
- Ben Khedher, M. R., Hammami, M., Arch, J. R., Hislop, D. C., Eze, D. A., Wargent, E. T., Kępczyńska, M. A. and Zaibi, M. S. (2018). Preventive effects of *Salvia officinalis* leaf extract on insulin resistance and inflammation, in high fat diet-induced-obesity mice model. *PeerJ Preprints*, 5, 1-22.
- Ben Said, R., Hamed, A. I., Mahalel, U. A., Al-Ayed, A. S., Kowalczyk, M., Moldoch, J., Oleszek, W. and Stochmal, A. (2017). Tentative characterization of polyphenolic compounds in the male flowers of *Phoenix dactylifera* by liquid chromatography coupled with mass spectrometry and DFT. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(3), 512.
- Benabdallah, H. and Gharzouli, K. (2015). Effects of flavone on the contractile activity of the circular smooth muscle of the rabbit middle colon *in vitro*. *Eur J Pharmacol*, 760, 20-26.
- Benabdallah, H., Messaoudi, D. and Gharzouli, K. (2008). The spontaneous mechanical activity of the circular smooth muscle of the rabbit colon *in vitro*. *Pharmacological Research*, 57(2), 132-141.
- Benabdesslem, Y., Hachem, K., Kahloula, K. and Slimani, M. (2017). Ethnobotanical Survey, Preliminary physico-chemical and phytochemical screening of *Salvia argentea* (L.) used by herbalists of the Saïda Province in Algeria. *Plants*, 6(4), 59.
- Benchikh, F., Amira, S. and Benabdallah, H. (2018). The Evaluation of Antioxidant Capacity of Different Fractions of *Myrtus communis* L. Leaves. *Annual Research & Review in Biology*, 22, 1-14.
- Benchikh, F., Benabdallah, H., Dahamna, S., Khenouf, S., Flamini, G. and Amira, S. (2016). Antimotility and antidiarrhoeal activity of *Myrtus communis* L. leaves essential oil in mice. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 8(7), 1238-1244.
- Bitar, K. N., Gilmont, R. R., Raghavan, S. and Somara, S. (2012). Chapter 17 - Cellular Physiology of Gastrointestinal Smooth Muscle. In L. R. Johnson, F. K. Ghishan, J. D. Kaunitz, J. L. Merchant, H. M. Said and J. D. Wood (Eds.), *Physiology of the Gastrointestinal Tract (Fifth Edition)* (pp. 489-509). Boston: Academic Press.
- Blackshaw, L. A. and Gebhart, G. F. (2002). The pharmacology of gastrointestinal nociceptive pathways. *Current Opinion in Pharmacology*, 2(6), 642-649.
- Bommelaer, G. and Stef, A. (2009). Ulcère gastroduodéal: avant et après *Helicobacter pylori*. *Gastroentérologie Clinique et Biologique*, 33(8-9), 626-634.
- Bonamin, F., Moraes, T. M., dos Santos, R. C., Kushima, H., Faria, F. M., Silva, M. A., Junior, I. V., Nogueira, L., Bauab, T. M., Souza Brito, A. R. M., da Rocha, L. R. M. and Hiruma-Lima, C. A. (2014). The effect of a minor constituent of essential oil from *Citrus aurantium*: The role of β -myrcene in preventing peptic ulcer disease. *Chemico-Biological Interactions*, 212, 11-19.
- Brito, A., Ramirez, J. E., Areche, C., Sepúlveda, B. and Simirgiotis, M. J. (2014). HPLC-UV-MS profiles of phenolic compounds and antioxidant activity of fruits from three citrus species consumed in Northern Chile. *Molecules*, 19(11), 17400-17421.
- Bush, T. G., Spencer, N. J., Watters, N., Sanders, K. M. and Smith, T. K. (2000). Spontaneous migrating motor complexes occur in both the terminal ileum and colon of the C57BL/6 mouse *in vitro*. *Autonomic Neuroscience*, 84(3), 162-168.
- Canzoneri, M., Bruno, M., Rosselli, S., Russo, A., Cardile, V., Formisano, C., Rigano, D. and Senatore, F. (2011). Chemical composition and biological activity of *Salvia verbenaca* essential oil. *Natural Product Communications*, 6(7), 1023-1026.
- Capasso, R., Borrelli, F., Zjawiony, J., Kutrzeba, L., Aviello, G., Sarnelli, G., Capasso, F. and Izzo, A. A. (2008). The hallucinogenic herb *Salvia divinorum* and its active ingredient salvinin A reduce inflammation-induced hypermotility in mice. *20(2)*, 142-148.

- Capasso, R., Izzo, A. A., Capasso, F., Romussi, G., Bisio, A. and Mascolo, N. (2004). A Diterpenoid from *Salvia cinnabarina* Inhibits Mouse Intestinal Motility *in vivo*. *Planta Med*, 70(04), 375-377.
- Carnevali, T. R., Waller, S. B., Ferrasso, M. d. M., Júnior, A. d. S. R., Carapeto, L. P., Freitag, R. A., Schuch, L. F. D. and Cleff, M. B. (2019). Radiological determination of gastric motility in experimental model treated with *Rosmarinus officinalis* Linn.(*Lamiaceae*) extracts. *Indian Journal of Experimental Biology*, 57, 708-714.
- Carović-Stanko, K., Petek, M., Martina, G., Pintar, J., Bedeković, D., Ćustić, M. H. and Šatović, Z. (2016). Medicinal plants of the family Lamiaceae as functional foods—a review. *Czech Journal of Food Sciences*, 34(5), 377-390.
- Castle, N. A. (1999). Recent advances in the biology of small conductance calcium-activated potassium channels. *Perspectives in Drug Discovery and Design*, 15(0), 131-154.
- Chetty, N., Irving, H. R. and Coupar, I. M. (2006). Activation of 5-HT₃ receptors in the rat and mouse intestinal tract: a comparative study. *British Journal of Pharmacology*, 148(7), 1012-1021.
- Chiba, T., Bharucha, A. E., Thomforde, G. M., Kost, L. J. and Phillips, S. F. (2002). Model of rapid gastrointestinal transit in dogs: effects of muscarinic antagonists and a nitric oxide synthase inhibitor. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 14(5), 535-541.
- Chinchansure, A. A., Korwar, A. M., Kulkarni, M. J. and Joshi, S. P. (2015). Recent development of plant products with anti-glycation activity: a review. *RSC Advances*, 5(39), 31113-31138.
- Clader, J. W. and Wang, Y. (2005). Muscarinic receptor agonists and antagonists in the treatment of Alzheimer's disease. *Current Pharmaceutical Design*, 11(26), 3353-3361.
- Clairbone, A. (1985). Catalase activity. In *Handbook of Method for Oxygen Radical Research* (pp. 283-284). Boca Raton, Fla CRC press: Green world, R.A. Ed.
- Clebsch, B. and Barner, C. D. (2003). *The New Book of Salvias*. California, USA: Timber Press.
- Clifford, M. N., Marks, S., Knight, S. and Kuhnert, N. (2006). Characterization by LC-MS/MS of Four New Classes of p-Coumaric Acid-Containing Diacyl Chlorogenic Acids in Green Coffee Beans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(12), 4095-4101.
- Corne, S. J., Morrissey, S. M. and Woods, R. J. (1974). Proceedings: A method for the quantitative estimation of gastric barrier mucus. *The Journal of Physiology*, 242(2), 116-117.
- da Silva Junior, I. F., Balogun, S. O., de Oliveira, R. G., Damazo, A. S. and Martins, D. T. d. O. (2016). *Piper umbellatum* L.: A medicinal plant with gastric-ulcer protective and ulcer healing effects in experimental rodent models. *Journal of Ethnopharmacology*, 192, 123-131.
- Daniel, E. E., Kwan, C. Y. and Janssen, L. (2001). Pharmacological techniques for the *in vitro* study of intestinal smooth muscles. *Journal of pharmacological and toxicological methods*, 45(2), 141-158.
- De er, U. u. and Çavuş, Y. (2020). Investigation of the role of rosmarinic acid treatment in regulating inflammation, cell damage, and angiogenesis in rat ovarian torsion and detorsion models. *Acta Cirurgica Brasileira*, 35, e202000304.
- de Souza, I. L. L., de Vasconcelos, M. A., da Silva, A. D. S., Silva, P. C. B., Veloso, C. A. G., de Araújo, D. I. A. F., Costa, V. C. d. O., Pessôa, H. L. F., Tavares, J. F., da Silva, M. S., da Silva, B. A. and Cavalcante, F. d. A. (2020). Toxicological and Pharmacological Activities of *Leptohyptis macrostachys* (Benth.) Harley and J.F.B.Pastore (*Lamiaceae*) on Intestinal Smooth Muscle. *Frontiers in Pharmacology*, 11(1042).
- de Souza, L. I., de Oliveira, G. A., de Almeida Travassos, R., Vasconcelos, L. H. C., de Carvalho Correia, A. C., Martins, I. R. R., dos Santos, M. d. S. M., de Oliveira Costa, V. C., Tavares, J. F. and da Silva, M. S. (2013). Spasmolytic activity of *Hyptis macrostachys* Benth.(*Lamiaceae*). *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(33), 2436-2443.

- Decker, E. A. and Welch, B. (1990). Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38(3), 674-677.
- Dehkordi, F. J., Kharazian, N. and Lorigooini, Z. (2020). Characterization of flavonoid components in *Scutellaria* L. species (*Lamiaceae*) using finger-printing analysis. *Acta Biologica Cracoviensia s. Botanica*, 62(1), 79-96.
- Demireezer, L. Ö., Gürbüz, P., Uğur, E. P. K., Bodur, M., Özenver, N., Uz, A. and Güvenalp, Z. (2015). Molecular docking and *ex vivo* and *in vitro* anticholinesterase activity studies of *Salvia* sp. and highlighted rosmarinic acid. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 45(5), 1141-1148.
- Deo, P., Hewawasam, E., Karakoulakis, A., Claudie, D. J., Nelson, R., Simpson, B. S., Smith, N. M. and Semple, S. J. (2016). *In vitro* inhibitory activities of selected Australian medicinal plant extracts against protein glycation, angiotensin converting enzyme (ACE) and digestive enzymes linked to type II diabetes. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(1), 435.
- Dhiyaaldeen, S. M., Amin, Z. A., Darvish, P. H., Mustafa, I. F., Jamil, M. M., Rouhollahi, E. and Abdulla, M. A. (2014). Protective effects of (1-(4-hydroxy-phenyl)-3-m-tolyl-propenone chalcone in indomethacin-induced gastric erosive damage in rats. *BMC Veterinary Research*, 10(1), 961.
- do Nascimento, R. F., de Oliveira Formiga, R., Machado, F. D. F., de Sales, I. R. P., de Lima, G. M., Alves Júnior, E. B., Vieira, G. C., Pereira, R. F., de Araújo, A. A., de Araújo Junior, R. F., Barbosa Filho, J. M. and Batista, L. M. (2020). Rosmarinic acid prevents gastric ulcers via sulfhydryl groups reinforcement, antioxidant and immunomodulatory effects. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*.
- Dong, D.-L., Wang, Q.-H., Chen, W., Fan, J.-J., Mu, J.-W., Ke, J. and Yang, B.-F. (2005). Contrasting effects of tetraethylammonium and 4-aminopyridine on the gastrointestinal function of mice. *European Journal of Pharmacology*, 509(2), 179-185.
- Dufour, C., Loonis, M., Delosière, M., Buffière, C., Hafnaoui, N., Santé-Lhoutellier, V. and Rémond, D. (2018). The matrix of fruit & vegetables modulates the gastrointestinal bioaccessibility of polyphenols and their impact on dietary protein digestibility. *Food Chemistry*, 240, 314-322.
- Ehlert, F. J. (2003). Contractile role of M2 and M3 muscarinic receptors in gastrointestinal, airway and urinary bladder smooth muscle. *Life Sciences*, 74(2), 355-366.
- Eidi, A. and Eidi, M. (2009). Antidiabetic effects of sage (*Salvia officinalis* L.) leaves in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 3(1), 40-44.
- El-Seedi, H. R., Burman, R., Mansour, A., Turki, Z., Boulos, L., Gullbo, J. and Göransson, U. (2013). The traditional medical uses and cytotoxic activities of sixty-one Egyptian plants: Discovery of an active cardiac glycoside from *Urginea maritima*. *Journal of Ethnopharmacology*, 145(3), 746-757.
- Ellman, G. L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 82(1), 70-77.
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, J., Valentino and Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7(2), 88-95.
- Endo, Y., Usuki, R. and Kaneda, T. (1985). Antioxidant effects of chlorophyll and pheophytin on the autoxidation of oils in the dark. II. The mechanism of antioxidative action of chlorophyll. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 62(9), 1387-1390.
- Erdemoglu, N., Turan, N. N., Caköcö, I., Sener, B. and Aydön, A. (2006). Antioxidant activities of some *Lamiaceae* plant extracts. *Phytotherapy Research*, 20(1), 9-13.

- Esmaceli, M. A., Kanani, M. R. and Sonboli, A. L. I. (2010). *Salvia reuterana* extract prevents formation of advanced glycation end products: An *in vitro* study. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6(1), 33-50.
- Farjam, M. H., Kavosif, A. and Joukar, M. (2014). *Salvia aegyptiaca* oil extracted by microwave-assisted and normal hydrodistillation: composition and antibacterial activity. *Advances in Environmental Biology*, 277-281.
- Ferreira, A., Proença, C., Serralheiro, M. L. M. and Araújo, M. E. M. (2006). The *in vitro* screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *Journal of Ethnopharmacology*, 108(1), 31-37.
- Fiorentin, T. R., De Mello, M. B., Aquino, A. M. K., Rigo, B. A., Loss, C. G., Schwanz, M., Junior, A. E. H. and Macedo, S. M. D. (2013). Antiulcerogenic potential of *Salvia officinalis* L. extract in rats. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3(8), 32-35.
- Firuzi, O., Miri, R., Asadollahi, M., Eslami, S. and Jassbi, A. R. (2013). Cytotoxic, antioxidant and antimicrobial activities and phenolic contents of eleven *Salvia* species from Iran. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 12(4), 801.
- Furness, J. B. (2000). Types of neurons in the enteric nervous system. *Journal of the Autonomic Nervous System*, 81(1), 87-96.
- Furness, J. B. (2006). *The enteric nervous system* (Vol. 13): Wiley Online Library.
- Furness, J. B., Callaghan, B. P., Rivera, L. R. and Cho, H.-J. (2014). The enteric nervous system and gastrointestinal innervation: integrated local and central control. In M. Lyte and J. Cryan (Eds.), *Microbial endocrinology: The microbiota-gut-brain axis in health and disease* (pp. 39-71). New York, NY: Springer.
- Furness, J. B. and Sanger, G. J. (2002). Intrinsic nerve circuits of the gastrointestinal tract: identification of drug targets. *Current Opinion in Pharmacology*, 2(6), 612-622.
- Gharzouli, K., Amira, S., Gharzouli, A. and Khennouf, S. (2002). Gastroprotective effects of honey and glucose-fructose-sucrose-maltose mixture against ethanol-, indomethacin-, and acidified aspirin-induced lesions in the rat. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 54(3), 217-221.
- Gharzouli, K., Gharzouli, A., Amira, S. and Khennouf, S. (1999a). Prevention of ethanol-induced gastric lesions in rats by natural honey and glucose-fructose-sucrose-maltose mixture. *Pharmacological Research*, 39(2), 151-156.
- Gharzouli, K., Khennouf, S., Amira, S. and Gharzouli, A. (1999b). Effects of aqueous extracts from *Quercus ilex* L. root bark, *Punica granatum* L. fruit peel and *Artemisia herba-alba* Asso leaves on ethanol-induced gastric damage in rats. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 13(1), 42-45.
- Ghayur, M. N., Khan, A. H. and Gilani, A. H. (2007). Ginger facilitates cholinergic activity possibly due to blockade of muscarinic autoreceptors in rat stomach fundus. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 20(3), 231-235.
- Gokhan, Z., Sarikurcu, C., Aktumsek, A., Ceylan, R. and Ceylan, O. (2014). A comprehensive study on phytochemical characterization of *Haplophyllum myrtifolium* Boiss. endemic to Turkey and its inhibitory potential against key enzymes involved in Alzheimer, skin diseases and type II diabetes. *Industrial Crops and Products*, 53, 244-251.
- Gornall, A. G., Bardawill, C. J. and David, M. M. (1949). Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *Journal of Biological Chemistry*, 177(2), 751-766.
- Govindaraj, J. and Sorimuthu Pillai, S. (2015). Rosmarinic acid modulates the antioxidant status and protects pancreatic tissues from glucolipotoxicity mediated oxidative stress in high-fat diet: streptozotocin-induced diabetic rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 404(1), 143-159.

- Goyal, R. K., Guo, Y. and Mashimo, H. (2019). Advances in the physiology of gastric emptying. *Neurogastroenterology and motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society*, 31(4), e13546-e13546.
- Grider, J. R. (2003). Reciprocal activity of longitudinal and circular muscle during intestinal peristaltic reflex. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 284(5), G768-G775.
- Guaouguaou, F.-E., Bebaha, M. A. A., Taghzouti, K., Bouyahya, A., Bakri, Y., Dakka, N. and Es-Safi, N. E. (2018a). Cytotoxicological Investigation of the Essential Oil and the Extracts of *Cotula cinerea* and *Salvia verbenaca* from Morocco. *BioMed Research International*, 2018(Article ID 7163961), 5 pages.
- Guaouguaou, F.-E., Taghzouti, K., Oukabli, M. and Es-Safi, N. E. (2018b). The Effect of *Salvia verbenaca* Extracts for Healing of Second-Degree Burn Wounds in Rats. *Current Bioactive Compounds*, 14(4), 419-427.
- Gülçin, İ., Scozzafava, A., Supuran, C. T., Koksall, Z., Turkan, F., Çetinkaya, S., Bingöl, Z., Huyut, Z. and Alwasel, S. H. (2016). Rosmarinic acid inhibits some metabolic enzymes including glutathione S-transferase, lactoperoxidase, acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase and carbonic anhydrase isoenzymes. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 31(6), 1698-1702.
- Gwynne, R. M., Thomas, E. A., Goh, S. M., Sjövall, H. and Bornstein, J. C. (2004). Segmentation induced by intraluminal fatty acid in isolated guinea-pig duodenum and jejunum. *The Journal of Physiology*, 556(2), 557-569.
- Hachem, K., Benabdesslem, Y., Adli, D. E. H., Chikhi, A. and Kahloula, K. (2020). A Review on the Phytochemical Composition and the Traditional Medicinal Uses of *Salvia argentea* (Lamiaceae). *Systematic Reviews in Pharmacy*, 11(7), 113-118.
- Hamrouni-Sellami, I., Rahali, F. Z., Rebey, I. B., Bourgou, S., Limam, F. and Marzouk, B. (2012). Total phenolics, flavonoids, and antioxidant activity of sage (*Salvia officinalis* L.) plants as affected by different drying methods. *Food and Bioprocess Technology*, 6(3), 806-817.
- Hanfer, M., Mezdour, H., Ahmed, M. and Souad, A. (2018). *Oxidative stress and its relationship with the emergence of various stomach damages*.
- Harnett, K. M., Cao, W. and Biancani, P. (2005). Signal-Transduction Pathways that Regulate Smooth Muscle Function I. Signal transduction in phasic (esophageal) and tonic (gastroesophageal sphincter) smooth muscles. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 288(3), G407-G416.
- Hashitani, H., Fukuta, H., Takano, H., Klemm, M. F. and Suzuki, H. (2001). Origin and propagation of spontaneous excitation in smooth muscle of the guinea-pig urinary bladder. *The Journal of Physiology*, 530(2), 273-286.
- Hasler, W. L. (2006). Small intestinal motility. In J. LR (Ed.), *Physiology of the gastrointestinal tract* (pp. 935-964): Elsevier.
- Hayouni, E. A., Abedrabba, M., Bouix, M. and 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(3), 1126-1134.
- Helfand, S. L., Werkmeister, J. and Roder, J. C. (1982). Chemiluminescence response of human natural killer cells. I. The relationship between target cell binding, chemiluminescence, and cytolysis. *The Journal of Experimental Medicine*, 156(2), 492-505.
- Hiruma-Lima, C., Gracioso, J., Nunes, D. and Brito, A. S. (1999). Effects of an essential oil from the bark of *Croton cajucara* Benth. on experimental gastric ulcer models in rats and mice. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 51(3), 341-346.
- Holzer, P. and Holzer-Petsche, U. (2001). Tachykinin receptors in the gut: physiological and pathological implications. *Current Opinion in Pharmacology*, 1(6), 583-590.

- Hossain, M. B., Rai, D. K., Brunton, N. P., Martin-Diana, A. B. and Barry-Ryan, C. (2010). Characterization of phenolic composition in *Lamiaceae* spices by LC-ESI-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(19), 10576-10581.
- Huang, J., Zhou, H., Mahavadi, S., Sriwai, W., Lyall, V. and Murthy, K. S. (2005). Signaling pathways mediating gastrointestinal smooth muscle contraction and MLC₂₀ phosphorylation by motilin receptors. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 288(1), G23-G31.
- Huizinga, J. D. and Lammers, W. J. E. P. (2009). Gut peristalsis is governed by a multitude of cooperating mechanisms. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 296(1), G1-G8.
- Imai, T., Okamoto, T., Yamamoto, Y., Tanaka, H., Koike, K., Shigenobu, K. and Tanaka, Y. (2001). Effects of different types of K⁺ channel modulators on the spontaneous myogenic contraction of guinea-pig urinary bladder smooth muscle. *Acta physiologica scandinavica*, 173(3), 323-333.
- Imanshahidi, M. and Hosseinzadeh, H. (2006). The pharmacological effects of *Salvia* species on the central nervous system. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 20(6), 427-437.
- Inchab, K., Khonsung, P., Chiranthanut, N., Kunanusorn, P., Potikanond, S., Chansakaow, S., Panthong, A. and Sireeratawong, S. (2018). Anti-gastric ulcer activity of the water extract from payawanorn (*Pseuderanthemum Palatiferum*). *Journal of Health Science and Medical Research*, 36(2), 89-95.
- Inchuen, S., Narkrugs, W. and Pornchaloempong, P. (2010). Effect of drying methods on chemical composition, color and antioxidant properties of Thai red curry powder. *Kasetsart Journal - Natural Science*, 44, 142-151.
- Irving, H. R., Tan, Y. Y., Tochon-Danguy, N., Liu, H., Chetty, N., Desmond, P. V., Pouton, C. W. and Coupar, I. M. (2007). Comparison of 5-HT₄ and 5-HT₇ receptor expression and function in the circular muscle of the human colon. *Life Sciences*, 80(13), 1198-1205.
- Ishiguchi, T., Nakajima, M., Sone, H., Tada, H., Kumagai, A. K. and Takahashi, T. (2001). Gastric distension-induced pyloric relaxation: central nervous system regulation and effects of acute hyperglycaemia in the rat. *The Journal of Physiology*, 533(Pt 3), 801-813.
- Ismail Suhaimy, N. W., Noor Azmi, A. K., Mohtarrudin, N., Omar, M. H., Tohid, S. F. M., Cheema, M. S., Teh, L. K., Salleh, M. and Zakaria, Z. A. (2017). Semipurified ethyl acetate partition of methanolic extract of *Melastoma malabathricum* leaves exerts gastroprotective activity partly via its antioxidant-antisecretory-anti-inflammatory action and synergistic action of several flavonoid-based compounds. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, Article ID 6542631, 6542614 pages.
- Iwata, F. and Leung, F. W. (1995). Tobacco cigarette smoke aggravates gastric ulcer in rats by attenuation of ulcer margin hyperemia. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 268(1), G153-G160.
- Janicsák, G., Zupkó, I., Nikolova, M. T., Forgo, P., Vasas, A., Máthé, I., Blunden, G. and Hohmann, J. (2011). Bioactivity-guided study of antiproliferative activities of *Salvia* extracts. *Natural Product Communications*, 6(5), 1934578X1100600501.
- Jantan, I., Harun, N. H., Septama, A. W., Murad, S. and Mesaik, M. A. (2011). Inhibition of chemiluminescence and chemotactic activity of phagocytes *in vitro* by the extracts of selected medicinal plants. *Journal of Natural Medicines*, 65(2), 400-405.
- Jayaprakasha, G. K., Singh, R. P. and Sakariah, K. K. (2001). Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models *in vitro*. *Food Chemistry*, 73(3), 285-290.
- Jean, D., Pouligon, M. and Dalle, C. (2015). Evaluation *in vitro* of AGE-crosslinks breaking ability of rosmarinic acid. *Glycative Stress Research*, 2(4), 204-207.

- Jiang, D.-x., Liu, S.-r., Zhang, M.-h., Zhang, T., Ma, W.-j., Mu, X. and Chen, W. (2015). Luteolin prevents fMLP-induced neutrophils adhesion via suppression of LFA-1 and phosphodiesterase 4 activity. *Journal of Integrative Agriculture*, 14(1), 140-147.
- Jin, X., Morsy, N., Shoeb, F., Zavzavadjian, J. and Akbarali, H. I. (2002). Coupling of M2 muscarinic receptor to L-type Ca²⁺ channel via c-src kinase in rabbit colonic circular smooth muscle. *Gastroenterology*, 123(3), 827-834.
- Kahraman, A., Erkasap, N., Köken, T., Serteser, M., Aktepe, F. and Erkasap, S. (2003). The antioxidative and antihistaminic properties of quercetin in ethanol-induced gastric lesions. *Toxicology*, 183(1), 133-142.
- Kamatou, G. P. P., Van Zyl, R. L., Davids, H., Van Heerden, F. R., Lourens, A. C. U. and Viljoen, A. M. (2008). Antimalarial and anticancer activities of selected South African *Salvia* species and isolated compounds from *S. radula*. *South African Journal of Botany*, 74(2), 238-243.
- Kang, Y.-R., Park, J., Jung, S. K. and Chang, Y. H. (2018). Synthesis, characterization, and functional properties of chlorophylls, pheophytins, and Zn-pheophytins. *Food Chemistry*, 245, 943-950.
- Kangwan, N., Pintha, K., Lekawanvijit, S. and Suttajit, M. (2019). Rosmarinic acid enriched fraction from *Perilla frutescens* leaves strongly protects indomethacin-induced gastric ulcer in rats. *BioMed Research International*, 2019, Article ID 9514703, 9514713 pages.
- Karila-Cohen, P., Petit, T., Teissier, J. and Merran, S. (2005). Ulcère gastrique. *Journal de radiologie*, 86(4), 387-391.
- Kartal, N., Sokmen, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M. and Sokmen, A. (2007). Investigation of the antioxidant properties of *Ferula orientalis* L. using a suitable extraction procedure. *Food Chemistry*, 100(2), 584-589.
- Kasabri, V., Afifi, F. U., Abu-Dahab, R., Mhaidat, N., Bustanji, Y. K., Abaza, I. F. and Mashallah, S. (2014). *In vitro* modulation of metabolic syndrome enzymes and proliferation of obesity related-colorectal cancer cell line panel by *Salvia* species from Jordan. *Revue Roumaine de Chimie*, 59, 693-705.
- Katanić Stanković, J. S., Srećković, N., Mišić, D., Gašić, U., Imbimbo, P., Monti, D. M. and Mihailović, V. (2020). Bioactivity, biocompatibility and phytochemical assessment of lilac sage, *Salvia verticillata* L. (Lamiaceae) - A plant rich in rosmarinic acid. *Industrial Crops and Products*, 143, 111932.
- Keshavarz, M., Mostafaie, A., Mansouri, K., Bidmeshkipour, A., Motlagh, H. R. M. and Parvaneh, S. (2010). *In vitro* and *ex vivo* antiangiogenic activity of *Salvia officinalis*. 24(10), 1526-1531.
- Khattab, M., Gad, M. and Abdallah, D. (2001). Protective role of nitric oxide in indomethacin-induced gastric ulceration by a mechanism independent of gastric acid secretion. *Pharmacological Research*, 43(5), 463-467.
- Kocak, M. S., Sarikurku, C., Cengiz, M., Kocak, S., Uren, M. C. and Tepe, B. (2016). *Salvia cadmica*: Phenolic composition and biological activity. *Industrial Crops and Products*, 85, 204-212.
- Köksal, E., Gülçin, İ., Beyza, S., Sarikaya, Ö. and Bursal, E. (2009). *In vitro* antioxidant activity of silymarin. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 24(2), 395-405.
- Kolak, U., Kabouche, A., Öztürk, M., Kabouche, Z., Topçu, G. and Ulubelen, A. (2009). Antioxidant diterpenoids from the roots of *Salvia barrelieri*. *Phytochemical Analysis*, 20(4), 320-327.
- Kontogianni, V. G., Tomic, G., Nikolic, I., Nerantzaki, A. A., Sayyad, N., Stosic-Grujicic, S., Stojanovic, I., Gerothanassis, I. P. and Tzakos, A. G. (2013). Phytochemical profile of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis* extracts and correlation to their antioxidant and anti-proliferative activity. *Food Chemistry*, 136(1), 120-129.

- Köse, L. P., Gülcin, I., Gören, A. C., Namiesnik, J., Martinez-Ayala, A. L. and Gorinstein, S. (2015). LC–MS/MS analysis, antioxidant and anticholinergic properties of galanga (*Alpinia officinarum* Hance) rhizomes. *Industrial Crops and Products*, 74, 712-721.
- Kostić, M., Zlatković, B., Miladinović, B., Živanović, S., Mihajilov-Krstev, T., Pavlović, D. and Kitić, D. (2015). Rosmarinic Acid Levels, Phenolic Contents, Antioxidant and Antimicrobial Activities of the Extracts from *Salvia verbenaca* L. Obtained with Different Solvents and Procedures. *Journal of Food Biochemistry*, 39(2), 199-208.
- Koutsoulas, A., Čarnecká, M., Slanina, J., Tóth, J. and Slaninová, I. (2019). Characterization of phenolic compounds and antiproliferative effects of *Salvia pomifera* and *Salvia fruticosa* extracts. *Molecules*, 24(16), 2921.
- Kumar, S., Singh, A. and Kumar, B. (2017). Identification and characterization of phenolics and terpenoids from ethanolic extracts of *Phyllanthus species* by HPLC-ESI-QTOF-MS/MS. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 7(4), 214-222.
- Kunchandy, E. and Rao, M. (1990). Oxygen radical scavenging activity of curcumin. *International Journal of Pharmaceutics*, 58(3), 237-240.
- Kunze, W. A. A., Clerc, N., Bertrand, P. P. and Furness, J. B. (1999). Contractile activity in intestinal muscle evokes action potential discharge in guinea-pig myenteric neurons. *The Journal of Physiology*, 517(2), 547-561.
- Kutil, Z., Temml, V., Maghradze, D., Pribylova, M., Dvorakova, M., Schuster, D., Vanek, T. and Landa, P. (2014). Impact of wines and wine constituents on cyclooxygenase-1, cyclooxygenase-2, and 5-lipoxygenase catalytic activity. *Mediators of inflammation*, 2014, 178931-178931.
- Lamarque, D. (2004). Physiopathologie des lésions gastro-duodénales induites par les anti-inflammatoires non stéroïdiens. *Gastroentérologie Clinique et Biologique*, 28, 18-26.
- Lebda, M. A., El-Far, A. H., Noreldin, A. E., Elewa, Y. H. A., Al Jaouni, S. K. and Mousa, S. A. (2018). Protective effects of miswak (*Salvadora persica*) against experimentally induced gastric ulcers in rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018, 1-14.
- Lecci, A., Santicioli, P. and Maggi, C. A. (2002). Pharmacology of transmission to gastrointestinal muscle. *Current Opinion in Pharmacology*, 2(6), 630-641.
- Ledoux, J., Werner, M. E., Brayden, J. E. and Nelson, M. T. (2006). Calcium-activated potassium channels and the regulation of vascular tone. *Physiology*, 21(1), 69-78.
- Lee, J., Renita, M., Fioritto, R. J., St. Martin, S. K., Schwartz, S. J. and Vodovotz, Y. (2004). Isoflavone Characterization and Antioxidant Activity of Ohio Soybeans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(9), 2647-2651.
- Leenen, R., Roodenburg, A. J. C., Vissers, M. N., Schuurbijs, J. A. E., van Putte, K. P. A. M., Wiseman, S. A. and van de Put, F. H. M. M. (2002). Supplementation of plasma with olive oil phenols and extracts: influence on LDL oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(5), 1290-1297.
- Lehbili, M., Alabdul Magid, A., Kabouche, A., Voutquenne-Nazabadioko, L., Abedini, A., Morjani, H., Gangloff, S. C. and Kabouche, Z. (2018). Antibacterial, antioxidant and cytotoxic activities of triterpenes and flavonoids from the aerial parts of *Salvia barrelieri* Etl. *Natural Product Research*, 32(22), 2683-2691.
- Lesjak, M., Beara, I., Simin, N., Pintać, D., Majkić, T., Bekvalac, K., Orčić, D. and Mimica-Dukić, N. (2018). Antioxidant and anti-inflammatory activities of quercetin and its derivatives. *Journal of Functional Foods*, 40, 68-75.
- Li, H.-B., Cheng, K.-W., Wong, C.-C., Fan, K.-W., Chen, F. and Jiang, Y. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chemistry*, 102(3), 771-776.
- Li, J., Guo, W.-J. and Yang, Q.-Y. (2002). Effects of ursolic acid and oleanolic acid on human colon carcinoma cell line HCT15. *World Journal of Gastroenterology*, 8(3), 493-495.

- Li, S., Lin, Z., Jiang, H., Tong, L., Wang, H. and Chen, S. (2016). Rapid Identification and Assignment of the Active Ingredients in Fufang Banbianlian Injection Using HPLC-DAD-ESI-IT-TOF-MS. *Journal of Chromatographic Science*, 54(7), 1225-1237.
- Li, W., Huang, H., Niu, X., Fan, T., Mu, Q. and Li, H. (2013). Protective effect of tetrahydrocoptisine against ethanol-induced gastric ulcer in mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 272(1), 21-29.
- Lichtenthaler, H. K. and Wellburn, A. R. (1983). Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, 11(5), 591-592.
- Lima, C. F., Valentao, P. C. R., Andrade, P. B., Seabra, R. M., Fernandes-Ferreira, M. and Pereira-Wilson, C. (2007). Water and methanolic extracts of *Salvia officinalis* protect HepG2 cells from t-BHP induced oxidative damage. *Chemico-Biological Interactions*, 167(2), 107-115.
- Liu, Q. F., Lee, J. H., Kim, Y.-M., Lee, S., Hong, Y. K., Hwang, S., Oh, Y., Lee, K., Yun, H. S. and Lee, I.-S. (2015). *In vivo* screening of traditional medicinal plants for neuroprotective activity against A β 42 cytotoxicity by using Drosophila models of Alzheimer's disease. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, b15-00459.
- Loganayaki, N., Siddhuraju, P. and Manian, S. (2013). Antioxidant activity and free radical scavenging capacity of phenolic extracts from *Helicteres isora* L. and *Ceiba pentandra* L. *Journal of Food Science and Technology*, 50(4), 687-695.
- Loizzo, M. R., Saab, A. M., Tundis, R., Menichini, F., Bonesi, M., Piccolo, V., Statti, G. A., de Cindio, B., Houghton, P. J. and Menichini, F. (2008). *In vitro* inhibitory activities of plants used in Lebanon traditional medicine against angiotensin converting enzyme (ACE) and digestive enzymes related to diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*, 119(1), 109-116.
- Loizzo, M. R., Tundis, R., Conforti, F., Menichini, F., Bonesi, M., Nadjafi, F., Frega, N. G. and Menichini, F. (2010). *Salvia leriifolia* Benth (Lamiaceae) extract demonstrates *in vitro* antioxidant properties and cholinesterase inhibitory activity. *Nutrition Research*, 30(12), 823-830.
- Lomax, A. E. and Furness, J. B. (2000). Neurochemical classification of enteric neurons in the guinea-pig distal colon. *Cell and Tissue Research*, 302(1), 59-72.
- Lordan, S., Smyth, T. J., Soler-Vila, A., Stanton, C. and Ross, R. P. (2013). The α -amylase and α -glucosidase inhibitory effects of Irish seaweed extracts. *Food Chemistry*, 141(3), 2170-2176.
- Lu, Y. and Yeap Foo, L. (2001). Antioxidant activities of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*). *Food Chemistry*, 75(2), 197-202.
- Luiz-Ferreira, A., Cola, M., Barbastefano, V., De-Faria, F. M., Almeida, A. B. A. d., Farias-Silva, E., Calvo, T. R., Hiruma-Lima, C. A., Vilegas, W. and Souza-Brito, A. R. M. (2012). Healing, antioxidant and cytoprotective properties of *Indigofera truxillensis* in different models of gastric ulcer in rats. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(11), 14973-14991.
- Ma, T., Qi, Q.-H., Yang, W.-X., Xu, J. and Dong, Z.-L. (2003). Contractile effects and intracellular Ca²⁺ signalling induced by emodin in circular smooth muscle cells of rat colon. *World Journal of Gastroenterology*, 9(8), 1804-1807.
- Mahdizadeh, R., Moein, S., Soltani, N., Malekzadeh, K. and Mahmoodreza, M. (2018). Study the molecular mechanism of *Salvia* species in prevention of diabete. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 9(11), 4512-4521.
- Mahomoodally, F., Aumeeruddy-Elalfi, Z., Venugopala, K. N. and Hosenally, M. (2019). Antiglycation, comparative antioxidant potential, phenolic content and yield variation of essential oils from 19 exotic and endemic medicinal plants. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(7), 1779-1788.
- Makrane, H., Aziz, M., Mekhfi, H., Ziyyat, A., Bnouham, M., Legssyer, A., Gressier, B. and Eto, B. (2018). Antispasmodic and Myorelaxant Activity of Organic Fractions from *Origanum*

- majorana* L. on Intestinal Smooth Muscle of Rodents. *European Journal of Medicinal Plants*, 23(2), 1-11.
- Mao, L.-C., Pan, X., Que, F. and Fang, X.-H. (2006). Antioxidant properties of water and ethanol extracts from hot air-dried and freeze-dried daylily flowers. *European Food Research and Technology*, 222(3-4), 236-241.
- Marieb, E. N. and Hoehn, K. (2008). Le système digestif et le métabolisme. In P. Education (Ed.), *Anatomie et Physiologie Humaine* (8 ed., pp. 497-498). Paris, France: Pearson.
- Markham, K. R. (1982). *Techniques of flavonoid identification* (A. Press Ed. Academic Press ed.). London: Academic Press.
- Martins, N., Barros, L., Santos-Buelga, C., Henriques, M., Silva, S. and Ferreira, I. C. F. R. (2015). Evaluation of bioactive properties and phenolic compounds in different extracts prepared from *Salvia officinalis* L. *Food Chemistry*, 170, 378-385.
- Matsuda, H., Wang, T., Managi, H. and Yoshikawa, M. (2003). Structural requirements of flavonoids for inhibition of protein glycation and radical scavenging activities. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 11(24), 5317-5323.
- Mayer, B., Baggio, C. H., Freitas, C. S., dos Santos, A. C., Twardowschy, A., Horst, H., Pizzolatti, M. G., Micke, G. A., Heller, M., dos Santos, É. P., Otuki, M. F. and Marques, M. C. A. (2009). Gastroprotective constituents of *Salvia officinalis* L. *Fitoterapia*, 80(7), 421-426.
- McCarron, J. G., Craig, J. W., Bradley, K. N. and Muir, T. C. (2002). Agonist-induced phasic and tonic responses in smooth muscle are mediated by InsP(3). *Journal of Cell Science*, 115(10), 2207-2218.
- Mehta, M., Adem, A. and Sabbagh, M. (2012). New acetylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *International Journal of Alzheimer's disease*, 2012, 728983.
- Migdal, C. and Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*, 27(4), 405-412.
- Miller, T. (1983). Protective effects of prostaglandins against gastric mucosal damage: current knowledge and proposed mechanisms. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 245(5), G601-G623.
- Miller, T. A., Kokoska, E. R., Smith, G. S. and Banan, A. (2001). Role of calcium homeostasis in gastric mucosal injury and protection. *Life Sciences*, 69(25), 3091-3102.
- Min, Y. S., Bai, K. L., Yim, S. H., Lee, Y. J., Song, H. J., Kim, J. H., Ham, I., Whang, W. K. and Sohn, U. D. (2006). The effect of luteolin-7-O- β -d-glucuronopyranoside on gastritis and esophagitis in rats. *Archives of Pharmacal Research*, 29(6), 484.
- Mocan, A., Moldovan, C., Carradori, S., Locatelli, M., Sokovic, M. and Crişan, G. (2018). Determination of phenolic compounds in different species of *Salvia* from Romania (*Salvia transsylvanica*, *Salvia Glutinosa*, *Salvia officinalis*) and their biological activities. *Acta Medica Marisiensis*, 64, 14.
- Mohammadi, M., S., Bush, S., Hosseini, R., S., Karimi, S. and Mohammadipour, N. (2016). Total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity of four medicinal plants from Hormozgan province, Iran. *Research Journal of Pharmacognosy*, 3(3), 17-26.
- Mohan, S., Hobani, Y. H., Shaheen, E., Abou-Elhamd, A. S., abdelhaleem, A., Alhazmi, H. A. and Abdelwahab, S. I. (2020). Ameliorative effect of Boesenbergin A, a chalcone isolated from *Boesenbergia rotunda* (Fingerroot) on oxidative stress and inflammation in ethanol-induced gastric ulcer *in vivo*. *Journal of Ethnopharmacology*, 261, 113104.
- Moreira, M. D., Melo, M. M., Coimbra, J. M., dos Reis, K. C., Schwan, R. F. and Silva, C. F. (2018). Solid coffee waste as alternative to produce carotenoids with antioxidant and antimicrobial activities. *Waste Management*, 82, 93-99.
- Morgan, D. R. and Shaheen, N. J. (2011). Ulcère gastroduodéal. In *Médecine interne de Netter* (pp. 407-412): Elsevier.

- Mori, M. and Tsushima, H. (2004). Vanadate activates Rho A translocation in association with contracting effects in ileal longitudinal smooth muscle of guinea pig. *Journal of Pharmacological Sciences*, 95(4), 443-451.
- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65(1), 55-63.
- Mossi, A. J., Cansian, R. L., Paroul, N., Toniazzo, G., Oliveira, J. V., Pierozan, M. K., Pauletti, G., Rota, L., Santos, A. C. and Serafini, L. A. (2011). Morphological characterisation and agronomical parameters of different species of *Salvia* sp. (Lamiaceae). *Brazilian Journal of Biology*, 71(1), 121-129.
- Mulè, F., Amato, A. and Serio, R. (2007). Role for NK1 and NK2 receptors in the motor activity in mouse colon. *European Journal of Pharmacology*, 570(1), 196-202.
- Murthy, K. S. (2006). Signaling for contraction and relaxation in smooth muscle of the gut. *Annual Review of Physiology*, 68(1), 345-374.
- Mustafa, M., Menon, J., Muiandy, R., Fredie, R., Sein, M. and Fariz, A. (2015). Risk Factors, Diagnosis, and Management of Peptic ulcer Disease. *IOSR-JDMS*, 14(7), 40-46.
- Naghibi, F., Mosadegh, M., Ghorbani, A. B. and Mohammadi Motamed, S. (2005). Labiatae family in folk medicine in Iran: From ethnobotany to pharmacology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 4(2), 63-79.
- Nendaz, S. P. A. P. M., PFAENDER, S. and PERRIER, A. (2006). Prévention primaire de l'ulcère gastro-duodéal: quelles évidences? *Rev Med Suisse*, 2, 31741.
- Nickavar, B., Abolhasani, L. and Izadpanah, H. (2010). α -Amylase Inhibitory Activities of Six *Salvia* Species. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 297-303.
- Nugroho, A., Kim, M.-H., Choi, J., Baek, N.-I. and Park, H.-J. (2012). *In vivo* sedative and gastroprotective activities of *Salvia plebeia* extract and its composition of polyphenols. *Archives of Pharmacal Research*, 35(8), 1403-1411.
- Nyam, K. L., Tang, J. L. K. and Long, K. (2016). Anti-ulcer activity of *Hibiscus cannabinus* and *Hibiscus sabdariffa* seeds in ulcer-induced rats. *International Food Research Journal*, 23(3), 1164-1172.
- Ode, O. J. and Asuzu, I. U. (2014). Luteolin isolate from the methanol extract identified as the single-carbon compound responsible for broad antiulcer activities of *Cassia singueana* leaves. *IOSR Journal Of Pharmacy*, 4(10), 17-23.
- Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 95(2), 351-358.
- Okada, H., Kudoh, K., Fukushi, E., Onodera, S., Kawabata, J. and Shiomi, N. (2005). Antioxidative activity and protective effect of fermented plant extract on ethanol-induced damage to rat gastric mucosa. *Journal of Japanese Society of Nutrition and Food Science*, 58(4), 209-2015.
- Oliveira-Alves, S. C., Vendramini-Costa, D. B., Betim Cazarin, C. B., Maróstica Júnior, M. R., Borges Ferreira, J. P., Silva, A. B., Prado, M. A. and Bronze, M. R. (2017). Characterization of phenolic compounds in chia (*Salvia hispanica* L.) seeds, fiber flour and oil. *Food Chemistry*, 232, 295-305.
- Olsson, C. and Holmgren, S. (2001). The control of gut motility. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 128(3), 479-501.
- Orhan, I., Kartal, M., Naz, Q., Ejaz, A., Yilmaz, G., Kan, Y., Konuklugil, B., Şener, B. and Iqbal Choudhary, M. (2007a). Antioxidant and anticholinesterase evaluation of selected Turkish *Salvia* species. *Food Chemistry*, 103(4), 1247-1254.
- Orhan, I., Kartal, M., Tosun, F. and Sener, B. (2007b). Screening of various phenolic acids and flavonoid derivatives for their anticholinesterase potential. *Zeitschrift für Naturforschung. C, Journal of biosciences*, 62(11-12), 829-832.

- Osakabe, N., Yasuda, A., Natsume, M. and Yoshikawa, T. (2004). Rosmarinic acid inhibits epidermal inflammatory responses: anticarcinogenic effect of *Perilla frutescens* extract in the murine two-stage skin model. *Carcinogenesis*, 25(4), 549-557.
- Ou, J., Huang, J., Wang, M. and Ou, S. (2017). Effect of rosmarinic acid and carnosic acid on AGEs formation *in vitro*. *Food Chemistry*, 221, 1057-1061.
- Ou, J., Huang, J., Zhao, D., Du, B. and Wang, M. (2018). Protective effect of rosmarinic acid and carnosic acid against streptozotocin-induced oxidation, glycation, inflammation and microbiota imbalance in diabetic rats. *Food & Function*, 9(2), 851-860.
- Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction: antioxidative activity of products of browning reaction. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, 44(6).
- Özkan, G., Kuleaşan, H., Çelik, S., Göktürk, R. S. and Ünal, O. (2007). Screening of Turkish endemic *Teucrium montbretii* subsp. *pamphylicum* extracts for antioxidant and antibacterial activities. *Food Control*, 18(5), 509-512.
- Paseban, M., Niazmand, S., Soukhtanloo, M., Meibodi, N. T., Abbasnezhad, A., Mousavi, S. M. and Niazmand, M. J. (2020). The Therapeutic Effect of *Nigella sativa* Seed on Indomethacin-induced Gastric Ulcer in Rats. *Current Nutrition & Food Science*, 16(3), 276-283.
- Pereira, R. O., Catarino, D. M., Afonso, F. A., Silva, M. A. and Cardoso, M. S. (2018). *Salvia elegans*, *Salvia greggii* and *Salvia officinalis* Decoctions: Antioxidant Activities and Inhibition of Carbohydrate and Lipid Metabolic Enzymes. *Molecules*, 23(12), 3169.
- Perera, N., Soysa, P., Abeytunga, T. and Ramesha, R. (2008). Antioxidant and cytotoxic properties of three traditional decoctions used for the treatment of cancer in Sri Lanka. *Pharmacognosy Magasin*, 4, 172-181.
- Perrino, B. A. (2016). Calcium Sensitization Mechanisms in Gastrointestinal Smooth Muscles. *J Neurogastroenterol Motil*, 22(2), 213-225.
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B. and Periyasamy, L. (2015). Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry : IJCB*, 30(1), 11-26.
- Popov, A. M., Osipov, A. N., Korepanova, E. A., Krivoshapko, O. N. and Artiukov, A. A. (2013). Study of antioxidant and membrane activity of rosmarinic acid using different model systems. *Biofizika*, 58(5), 775-785.
- Powell, A. K., Fida, R. and Bywater, R. A. R. (2003). Motility in the isolated mouse colon: migrating motor complexes, myoelectric complexes and pressure waves. *Neurogastroenterology & Motility*, 15(3), 257-266.
- Prastya, M. E., Astuti, R. I., Batubara, I. and Wahyudi, A. T. (2019). Antioxidant, antiglycation and *in vivo* antiaging effects of metabolite extracts from marine sponge-associated bacteria. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 81(2), 344-353.
- Pratima, H. and Veenashri, P. (2017). Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of Various Extracts of *Salvia aegyptiaca* L. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(1), 600-608.
- Quinn, T., Feighery, R. and Baird, A. W. (2006). Role of Rho-kinase in guinea-pig gallbladder smooth muscle contraction. *European Journal of Pharmacology*, 534(1), 210-217.
- Rahbar, S. and Figarola, J. L. (2002). Inhibitors and breakers of advanced glycation endproducts (AGEs): a review. *Current Medicinal Chemistry-Immunology, Endocrine & Metabolic Agents*, 2(2), 135-161.
- Rahman, M. A., Imran, T. b. and Islam, S. (2013). Antioxidative, antimicrobial and cytotoxic effects of the phenolics of *Leea indica* leaf extract. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 20(3), 213-225.
- Rasouli, H., Hosseini-Ghazvini, S. M.-B., Adibi, H. and Khodarahmi, R. (2017). Differential α -amylase/ α -glucosidase inhibitory activities of plant-derived phenolic compounds: a virtual

- screening perspective for the treatment of obesity and diabetes. *Food & Function*, 8(5), 1942-1954.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- Ren, Y., Houghton, P. J., Hider, R. C. and Howes, M.-J. R. (2004). Novel Diterpenoid Acetylcholinesterase Inhibitors from *Salvia miltiorhiza*. *Planta Medica*, 70(03), 201-204.
- Revoltella, S., Baraldo, G., Waltenberger, B., Schwaiger, S., Kofler, P., Moesslacher, J., Huber-Seidel, A., Pagitz, K., Kohl, R., Jansen-Duerr, P. and Stuppner, H. (2018). Identification of the NADPH Oxidase 4 Inhibiting Principle of *Lycopus europaeus*. *Molecules*, 23, 635.
- Ribeiro, D., Freitas, M., Tomé, S. M., Silva, A. M. S., Porto, G. and Fernandes, E. (2013). Modulation of human neutrophils' oxidative burst by flavonoids. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 67, 280-292.
- Riccobono, L., Maggio, A., Rosselli, S., Ilardi, V., Senatore, F. and Bruno, M. (2016). Chemical composition of volatile and fixed oils from *Salvia argentea* L. (Lamiaceae) growing wild in Sicily. *Natural Product Research*, 30(1), 25-34.
- Rocha, J., Eduardo-Figueira, M., Barateiro, A., Fernandes, A., Brites, D., Bronze, R., Duarte, C. M. M., Serra, A. T., Pinto, R., Freitas, M., Fernandes, E., Silva-Lima, B., Mota-Filipe, H. and Sepodes, B. (2015). Anti-inflammatory Effect of Rosmarinic Acid and an Extract of *Rosmarinus officinalis* in Rat Models of Local and Systemic Inflammation. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 116(5), 398-413.
- Roy, S. (2016). Clinical study of peptic ulcer disease. *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 6(53), 41-43.
- Safari, M. R., Azizi, O., Heidary, S. S., Kheiripour, N. and Ravan, A. P. (2018). Antiglycation and antioxidant activity of four Iranian medical plant extracts. *Journal of pharmacopuncture*, 21(2), 82-89.
- Salah, K. B. H., Mahjoub, M. A., Ammar, S., Michel, L., Millet-Clerc, J., Chaumont, J. P., Mighri, Z. and Aouni, M. (2006). Antimicrobial and antioxidant activities of the methanolic extracts of three *Salvia* species from Tunisia. *Natural Product Research*, 20(12), 1110-1120.
- Saleem, M. N. and Idris, M. (2016). Podina (*Mentha arvensis*): Transformation from Food Additive to Multifunctional Medicine. *ARC Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2(2), 6-15.
- Sales, M. E., Sterin-Borda, L., Rodriguez, M. and Borda, E. S. (1997). Intracellular Signals Coupled to Different Rat Ileal Muscarinic Receptor Subtypes. *Cellular Signalling*, 9(5), 373-378.
- Sanders, K. M. (2001). Invited Review: Mechanisms of calcium handling in smooth muscles. *Journal of Applied Physiology*, 91(3), 1438-1449.
- Sanders, K. M. (2008). Regulation of smooth muscle excitation and contraction. *Neurogastroenterology & Motility*, 20(s1), 39-53.
- Sanders, K. M., Kito, Y., Hwang, S. J. and Ward, S. M. (2016). Regulation of Gastrointestinal Smooth Muscle Function by Interstitial Cells. *Physiology*, 31(5), 316-326.
- Santin, J. R., Lemos, M., Klein-Júnior, L. C., Machado, I. D., Costa, P., de Oliveira, A. P., Tilia, C., de Souza, J. P., de Sousa, J. P. B., Bastos, J. K. and de Andrade, S. F. (2011). Gastroprotective activity of essential oil of the *Syzygium aromaticum* and its major component eugenol in different animal models. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 383(2), 149-158.
- Sarna, S. K. (2006). Molecular, functional, and pharmacological targets for the development of gut promotility drugs. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 291(4), G545-G555.

- Sawyer, G. W., Lambrecht, G. and Ehlert, F. J. (2000). Functional role of muscarinic M2 receptors in α , β -methylene ATP induced, neurogenic contractions in guinea-pig ileum. *British Journal of Pharmacology*, 129(7), 1458-1464.
- Schemann, M., Michel, K., Zeller, F., Hohenester, B. and Rühl, A. (2006). Region-specific effects of STW 5 (Iberogast®) and its components in gastric fundus, corpus and antrum. *Phytomedicine*, 13, 90-99.
- Scozzafava, A., Kalin, P., Supuran, C. T., Gülçin, İ. and Alwasel, S. H. (2015). The impact of hydroquinone on acetylcholine esterase and certain human carbonic anhydrase isoenzymes (hCA I, II, IX, and XII). *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 30(6), 941-946.
- Seeley, R. R., Stephens, T. D. and Tate, P. (2003). Digestive system. In *Anatomy and Physiology* (pp. 860-910). Boston, USA: McGraw-Hill Higher Education.
- Şenol, F. S., Orhan, I., Celep, F., Kahraman, A., Doğan, M., Yılmaz, G. and Şener, B. (2010). Survey of 55 Turkish *Salvia* taxa for their acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant activities. *Food Chemistry*, 120(1), 34-43.
- Senol, S., F., Orhan, I. E., Ozgen, U., Renda, G., Bulut, G., Guven, L., Karaoglan, E. S., Sevindik, H. G., Skalicka-Wozniak, K., Koca Caliskan, U. and Sekeroglu, N. (2016). Memory-vitalizing effect of twenty-five medicinal and edible plants and their isolated compounds. *South African Journal of Botany*, 102, 102-109.
- Shekhar, T. C. and Anju, G. (2014). Antioxidant activity by DPPH radical scavenging method of *Ageratum conyzoides* Linn. leaves. *American Journal of Ethnomedicine*, 1(4), 244-249.
- Sheng, Z., Ai, B., Zheng, L., Zheng, X., Xu, Z., Shen, Y. and Jin, Z. (2018). Inhibitory activities of kaempferol, galangin, carnosic acid and polydatin against glycation and α -amylase and α -glucosidase enzymes. *International Journal of Food Science & Technology*, 53(3), 755-766.
- Shieh, C.-C., Coghlan, M., Sullivan, J. P. and Gopalakrishnan, M. (2000). Potassium channels: molecular defects, diseases, and therapeutic opportunities. *Pharmacological reviews*, 52(4), 557-594.
- So, I. and Kim, K. W. (2003). Nonselective cation channels activated by the stimulation of muscarinic receptors in mammalian gastric smooth muscle. *Journal of Smooth Muscle Research*, 39(6), 231-247.
- Sobczak, M., Sałaga, M., Storr, M. A. and Fichna, J. (2014). Physiology, signaling, and pharmacology of opioid receptors and their ligands in the gastrointestinal tract: current concepts and future perspectives. *Journal of Gastroenterology*, 49(1), 24-45.
- Solís-López, M., Durán-Moreno, A., Rigas, F., Morales, A. A., Navarrete, M. and Ramírez-Zamora, R. M. (2014). 9 - Assessment of Copper Slag as a Sustainable Fenton-Type Photocatalyst for Water Disinfection. In S. Ahuja (Ed.), *Water Reclamation and Sustainability* (pp. 199-227). Boston: Elsevier.
- Song, J., Kim, Y. and Lee, J. (2018). Comparison of antioxidant and anti-inflammatory activity of quercetin, isoquercitrin and rutin against alcohol-induced liver injury in HepG2 Cells. *The Fedreartion of American Societies for Experimental Biology Journal*, 32(S1), 670.660-670.660.
- Soomro, S. and Sibgatullah Sangi, A. A. M. (2019). *In Vitro* Biological Activity of Ethanolic Extract of Maramiyah (*Salvia Libanotica*) and Its Combination with Essential Oil. *International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research (eIJPPR)*, 9(2), 32-37.
- Spencer, N. J., Smith, C. B. and Smith, T. K. (2001). Role of muscle tone in peristalsis in guinea-pig small intestine. *The Journal of Physiology*, 530(2), 295-306.
- Spencer, N. J., Walsh, M. and Smith, T. K. (2000). Purinergic and cholinergic neuro-neuronal transmission underlying reflexes activated by mucosal stimulation in the isolated guinea-pig ileum. *The Journal of Physiology*, 522(2), 321-331.

- Stagos, D., Portesis, N., Spanou, C., Mossialos, D., Aligiannis, N., Chaita, E., Panagoulis, C., Reri, E., Skaltsounis, L., Tsatsakis, A. M. and Kouretas, D. (2012). Correlation of total polyphenolic content with antioxidant and antibacterial activity of 24 extracts from Greek domestic *Lamiaceae* species. *Food and Chemical Toxicology*, 50(11), 4115-4124.
- Stanković, N., Mihajilov-Krstev, T., Zlatković, B., Stankov-Jovanović, V., Mitić, V., Jović, J., Čomić, L., Kocić, B. and Bernstein, N. (2016). Antibacterial and Antioxidant Activity of Traditional Medicinal Plants from the Balkan Peninsula. *NJAS - Wageningen Journal of Life Sciences*, 78, 21-28.
- Šulniūtė, V., Pukalskas, A. and Venskutonis, P. R. (2017). Phytochemical composition of fractions isolated from ten *Salvia* species by supercritical carbon dioxide and pressurized liquid extraction methods. *Food Chemistry*, 224, 37-47.
- Szwajgier, D. (2013). Anticholinesterase activity of phenolic acids and their derivatives. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 68(3-4), 125-132.
- Szydłowska-Czerniak, A., Dianoczki, C., Recseg, K., Karlovits, G. and Szłyk, E. (2008). Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta*, 76(4), 899-905.
- Tack, J. (2007). Gastric motor disorders. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 21(4), 633-644.
- Takeuchi, K. and Amagase, K. (2017). Roles of prostaglandin E and EP receptors in mucosal protection and ulcer healing in the gastrointestinal tract. *Archives of Digestive Disorders*, 1(2), 8-16.
- Takeuchi, T., Sumiyoshi, M., Kitayama, M., Hirayama, N., Fujita, A. and Hata, F. (2001). Origin of Ca²⁺ Necessary for Carbachol-Induced Contraction in Longitudinal Muscle of the Proximal Colon of Rats. *Japanese Journal of Pharmacology*, 87(4), 309-317.
- Tang, H., Song, P., Li, J. and Zhao, D. (2019). Effect of *Salvia miltiorrhiza* on acetylcholinesterase: Enzyme kinetics and interaction mechanism merging with molecular docking analysis. *International Journal of Biological Macromolecules*, 135, 303-313.
- Tang, J., Dunshea, F. R. and Suleria, H. A. R. (2020). LC-ESI-QTOF/MS characterization of phenolic compounds from medicinal plants (hops and juniper berries) and their antioxidant activity. *Foods*, 9(1), 7.
- Tao, L., Xu, M., Dai, X., Ni, T., Li, D., Jin, F., Wang, H., Tao, L., Pan, B., Woodgett, J. R., Qian, Y. and Liu, Y. (2018). Polypharmacological profiles underlying the antitumor property of *Salvia miltiorrhiza* root (danshen) interfering with nox-dependent neutrophil extracellular traps. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018, 4908328-4908328.
- Tehami, W., Kherraf, A., Boufeldja, W., Dif, M. M., Abbouni, B. and Benali, M. (2016). Determination of primary and functional metabolites of *Salvia argentea* and evaluation of its leaves and roots antioxidant activity. *Der Pharma Chemica*, 8(22), 1-6.
- Tepe, B. (2008). Antioxidant potentials and rosmarinic acid levels of the methanolic extracts of *Salvia virgata* (Jacq), *Salvia staminea* (Montbret & Aucher ex Benth) and *Salvia verbenaca* (L.) from Turkey. *Bioresource Technology*, 99(6), 1584-1588.
- Teyssou, R. (2009). *Une histoire de l'ulcère gastro-duodéal: Le pourquoi et le comment* (L'Harmattan Ed.). Paris, France: L'Harmattan.
- Thorneloe, K. S. and Nelson, M. T. (2005). Ion channels in smooth muscle: regulators of intracellular calcium and contractility. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 83(3), 215-242.
- Tohamy, A. A., El-Garawani, I. M., Ibrahim, S. R. and Moneim, A. E. A. (2016). The apoptotic properties of *Salvia aegyptiaca* and *Trigonella foenum-graecum* extracts on Ehrlich ascites carcinoma cells: the effectiveness of combined treatment. *Research Journal of Pharmaceutical Biological and Chemical Sciences.*, 7(3), 1872-1883.

- Tohamy, A. A., Ibrahim, S. R. and Moneim, A. E. A. (2012). Studies on the effect of *Salvia aegyptiaca* and *Trigonella foenum graecum* extracts on adult male mice. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2(5), 36.
- Toma, W., Trigo, J. R., de Paula, A. C. B. and Brito, A. R. M. S. (2004). Preventive activity of pyrrolizidine alkaloids from *Senecio brasiliensis* (Asteraceae) on gastric and duodenal induced ulcer on mice and rats. *Journal of ethnopharmacology*, 95(2-3), 345-351.
- Toplan, G., Gizem, Kurkcuoglu, M., Goger, F., İşcan, G., Ağalar, H. G., Mat, A., Baser, K. H. C., Koyuncu, M. and Sarıyar, G. (2017). Composition and biological activities of *Salvia veneris* Hedge growing in Cyprus. *Industrial Crops and Products*, 97, 41-48.
- Tortora, G. J. and Derrickson, B. (2007). Le system digestif. In D. B. Supérieur (Ed.), *Principes d'anatomie et de physiologie* (4 ed., pp. 986-987). Paris.
- Touyz, R., Alves-Lopes, R., Rios, F., Camargo, L., Anagnostopoulou, A., Arner, A. and Montezano, A. (2018). Vascular smooth muscle contraction in hypertension. *Cardiovascular Research*, 114, 529 - 539.
- Tramontana, M., Patacchini, R., Lecci, A., Giuliani, S. and Maggi, C. A. (1998). Tachykinin NK2 receptors in the hamster urinary bladder: *in vitro* and *in vivo* characterization. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 358(3), 293-300.
- Tran, T. and Quandalle, P. (2002). *Traitement des perforations d'ulcère gastroduodéal par suture simple suivie de l'éradication de Helicobacter pylori*. Paper presented at the Annales de chirurgie.
- Tusi, S. K. and Khodaghali, F. (2014). *Salvia macilenta* exhibits antiglycating activity and protects PC12 cells against H₂O₂-induced apoptosis. *Cytotechnology*, 66(1), 169-179.
- Uchiyama, T. and Chess-Williams, R. (2004). Muscarinic receptor subtypes of the bladder and gastrointestinal tract. *Journal of Smooth Muscle Research*, 40(6), 237-247.
- Ul Haq, F., Ali, A., Akhtar, N., Aziz, N., Khan, M. N., Ahmad, M. and Musharraf, S. G. (2020). A high-throughput method for dereplication and assessment of metabolite distribution in *Salvia* species using LC-MS/MS. *Journal of Advanced Research*, 24, 79-90.
- Ulrich, W. (2004). Organes de la digestion. In T. D. Lavoisier (Ed.), *Précis D'histologie-Cytologie, Histologie, Anatomie Microscopique* (11 ed., pp. 327). Paris: Tec & Doc Lavoisier.
- Veerendra Kumar, M. H. and Gupta, Y. K. (2003). Effect of *Centella asiatica* on cognition and oxidative stress in an intracerebroventricular streptozotocin model of Alzheimer's disease in rats. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 30(5-6), 336-342.
- Venkateshappa, S. M. and Sreenath, K. P. (2013). Potential medicinal plants of *Lamiaceae*. *American international journal of research in formal, applied and natural sciences*, 1(3), 82-87.
- Vogalis, F. (2000). Potassium channels in gastrointestinal smooth muscle. *Journal of Autonomic Pharmacology*, 20(4), 207-219.
- Wang, X., Zhang, C., Zheng, M., Gao, F., Zhang, J. and Liu, F. (2019). Metabolomics Analysis of L-Arginine Induced Gastrointestinal Motility Disorder in Rats Using UPLC-MS After Magnolol Treatment. *10*(183).
- Wang, Y., Liu, Y., Wang, G., Han, L., Xia, T., Liu, Z., Man, S., Gao, W. and Liu, C. (2017). Effects of *Rhizoma parisdis* total saponins and its main compounds on gastric emptying via regulating muscarinic receptors *in vitro* and *in vivo*. *Royal Society of Chemistry*, 7, 41163-41175.
- Will, M., Schmalz, N. and Classen-Bockhoff, R. (2015). Towards a new classification of *Salvia* sl:(re) establishing the genus *Pleudia Raf.* *Turkish Journal of Botany*, 39(4), 693-707.
- Winterbourn, C. C., Kettle, A. J. and Hampton, M. B. (2016). Reactive oxygen species and neutrophil function. *Annual Review of Biochemistry*, 85, 765-792.
- Wray, S., Burdyga, T. and Noble, K. (2005). Calcium signalling in smooth muscle. *Cell Calcium*, 38(3), 397-407.

- Wu, Z., Zhang, S., Li, P., Lu, X., Wang, J., Zhao, L. and Wang, Y. (2016). Effect of *Aurantii fructus immaturus* flavonoid on the contraction of isolated gastric smooth muscle strips in rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2016(Article ID 5616905), 7 pages.
- Xavier, C. P. R. F., Lima, C., Fernandes-Ferreira, M. and Pereira-Wilson, C. (2008). Induction of apoptosis and inhibition of proliferation in colon cancer cells by *Salvia fruticosa*, *Salvia officinalis* and rosmarinic acid. *Planta Med*, 74, PA19.
- Xavier, J. d. A., Valentim, I. B., Camatari, F. O. S., de Almeida, A. M. M., Goulart, H. F., Ferro, J. N. d. S., Barreto, E. d. O., Cavalcanti, B. C., Bottoli, C. B. G. and Goulart, M. O. F. (2017). Polyphenol profile by UHPLC-MS/MS, anti-glycation, antioxidant and cytotoxic activities of several samples of propolis from the northeastern semi-arid region of Brazil. *Pharmaceutical Biology*, 55(1), 1884-1893.
- Yang, S.-C., Chen, P.-J., Chang, S.-H., Weng, Y.-T., Chang, F.-R., Chang, K.-Y., Chen, C.-Y., Kao, T.-I. and Hwang, T.-L. (2018). Luteolin attenuates neutrophilic oxidative stress and inflammatory arthritis by inhibiting Raf1 activity. *Biochemical Pharmacology*, 154, 384-396.
- Yang, S.-Y., Hong, C.-O., Lee, G. P., Kim, C.-T. and Lee, K.-W. (2013). The hepatoprotection of caffeic acid and rosmarinic acid, major compounds of *Perilla frutescens*, against t-BHP-induced oxidative liver damage. *Food and Chemical Toxicology*, 55, 92-99.
- Yang, S. T., Wu, X., Rui, W., Guo, J. and Feng, Y. F. (2015). UPLC/Q-TOF-MS Analysis for Identification of Hydrophilic Phenolics and Lipophilic Diterpenoids from Radix *Salviae Miltiorrhizae*. *Acta Chromatographica*, 27(4), 711-728.
- Yap, H.-Y. Y., Tan, N.-H., Ng, S.-T., Tan, C.-S. and Fung, S.-Y. (2018). Inhibition of protein glycation by tiger milk mushroom [*Lignosus Rhinocerus (Cooke) Ryvarden*] and search for potential anti-diabetic activity-related metabolic pathways by genomic and transcriptomic data mining. *Frontiers in Pharmacology*, 9, 103.
- Yin, G., Li, Y. M., Wei, W., Jiang, S. H., Zhu, D. Y. and Du, W. H. (2008). Interactions of acetylcholinesterase with salvianolic acid B and rosmarinic acid from *Salvia miltiorrhiza* water extract investigated by NMR relaxation rate. *Chinese Chemical Letters*, 19(6), 747-751.
- Yoo, J.-H., Lee, J.-S., Lee, Y.-S., Ku, S. and Lee, H.-J. (2018). Protective effect of bovine milk against HCl and ethanol-induced gastric ulcer in mice. *Journal of Dairy Science*, 101(5), 3758-3770.
- Yousufzai, S. Y. K., Gao, G. and Abdel-Latif, A. A. (2000). Mitogen-activated protein kinase inhibitors suppress prostaglandin F₂ α -induced myosin-light chain phosphorylation and contraction in iris sphincter smooth muscle. *European Journal of Pharmacology*, 407(1), 17-26.
- Yuan, S. Y., Costa, M. and Brookes, S. J. (2001). Neuronal control of the pyloric sphincter of the guinea-pig. *Neurogastroenterol Motil*, 13(3), 187-198.
- Zhang, D. X., Borbouse, L., Gebremedhin, D., Mendoza, S. A., Zinkevich, N. S., Li, R. and Gutterman, D. D. (2012). H₂O₂-Induced Dilation in Human Coronary Arterioles: Role of Protein Kinase G Dimerization and Large-Conductance Ca²⁺-Activated K⁺ Channel Activation. *Circulation Research*, 110(3), 471-480.
- Zhang, S.-L., Li, H., He, X., Zhang, R.-Q., Sun, Y.-H., Zhang, C.-F., Wang, C.-Z. and Yuan, C.-S. (2014). Alkaloids from *Mahonia bealei* possess anti-H⁺/K⁺-ATPase and anti-gastrin effects on pyloric ligation-induced gastric ulcer in rats. *Phytomedicine*, 21(11), 1356-1363.
- Zhang, Y., Li, X. and Wang, Z. (2010). Antioxidant activities of leaf extract of *Salvia miltiorrhiza* Bunge and related phenolic constituents. *Food and Chemical Toxicology*, 48(10), 2656-2662.
- Zhang, Y., Xiong, H., Xu, X., Xue, X., Liu, M., Xu, S., Liu, H., Gao, Y., Zhang, H. and Li, X. (2018). Compounds Identification in *Semen Cuscutae* by Ultra-High-Performance Liquid

- Chromatography (UPLCs) Coupled to Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 23(5), 1199.
- Zhou, H., Fu, B., Xu, B., Mi, X., Li, G., Ma, C., Xie, J., Li, J. and Wang, Z. (2017). Rosmarinic acid alleviates the endothelial dysfunction induced by hydrogen peroxide in rat aortic rings via activation of AMPK. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, Article ID 7091904, 7091909 pages.
- Zittel, T., Jehle, E. and Becker, H. (2000). Surgical management of peptic ulcer disease today—indication, technique and outcome. *Langenbeck's archives of surgery*, 385(2), 84-96.
- Zizzo, M. G., Mulè, F. and Serio, R. (2008). Activation of P2Y receptors by ATP and by its analogue, ADP β S, triggers two calcium signal pathways in the longitudinal muscle of mouse distal colon. *European Journal of Pharmacology*, 595(1), 84-89.

الملخص تم اختبار مستخلصات الميثانول والمغلي المائي للجزء الهوائي لكل من *S. argentea* و *S. barrelieri*، *S. verbenaca*، *S. aegyptiaca*، (SAR EM et SAR ED، SBA ED، SBA EM، SVR ED، SVR EM، SAE EM، SAE ED) لخصائصها كمضادات للأكسدة، مضادات لإنزيمات الزهايمر، مضادات لإنزيمات مرض السكري، مضادات لارتباط السكر بالبروتين، مضادات الالتهاب، مضادات السرطان في الزجاجيات، كذلك حماية المعدة، تأثيرها على الإفراغ المعدي والعبور المعوي. تم تحديد الخواص المضادة للأكسدة لمستخلصات *S.* باستخدام إزالة جذر DPPH، ABTS، فوق أكسيد الكلوي DMSO، وتبييض البيتا الكاروتين، القدرة الإرجاعية والنشاط المخلي للمعادن. أظهرت جميع المستخلصات قدرة عالية كمضادات الأكسدة مع أفضل أداء في ME. أظهرت مستخلصات *S. aegyptiaca*، *S. barrelieri*، *S. verbenaca*، *S. argentea* نشاطاً مثبطاً منخفضاً لأستيل كولين أستراز (AChE) ونشاطاً مثبطاً عالياً لبوتيريل كولين أستراز (BChE)، بينما كان لمستخلص الميثانول من *S. aegyptiaca* أعلى نشاط مثبط على BChE ($71.60 \pm 4.33\%$ لـ 100 ميكروغرام/مل) مقارنة بالمستخلصات الأخرى. أظهر التأثير المثبط في الزجاجيات على إنزيمات مرض السكري أن مستخلصات الميثانول تثبط إنزيم α -amylase بقدرة IC₅₀ بـ 86 و 101 ميكروغرام/مل لكل من SAE و SVR على التوالي. في الجانب الآخر، قامت مستخلصات EM SAE، EM SVR، EM SAR و تثبط إنزيم α -glucosidase بقدرة IC₅₀ بـ 97، 150، 112 ميكروغرام/مل على التوالي. أظهرت المستخلصات الأخرى نشاطاً أقل في كلا الإنزيمات. أظهرت جميع المستخلصات فعالية مضادة لارتباط السكر بالبروتينات بنسبة تثبيط أكبر من 69% لـ 2 مل/مغ. تم تسجيل أفضل فعالية باستخدام EM SBA مع IC₅₀ 70 ميكروغرام/مل. باستثناء مستخلص EM SVR، أظهرت المستخلصات الأخرى نشاطاً مثبطاً عالياً للانفجار الالتهابي مع IC₅₀ تراوحت بين 35 و 88 ميكروغرام/مل. لم يُظهر أي من المستخلصات المختبرة سمية خلوية ضد 3T3 أو خلايا HeLa. ومع ذلك، تم تسجيل زيادة طفيفة في تكاثر خلايا HeLa في وجود هذه المستخلصات. تسبب EM SAE، EM SBA، EM SAR في تأخير إفراغ المعدة بشكل كبير عند الفئران إلى 53%، 46% و 58% على التوالي. قد يكون هذا التأثير مرتبطاً بتثبيط المستقبلات المسكارينية وأو انزيم نيتريك أكسجين سنتاز. كما أظهرت جميع المستخلصات تأثيراً منخفضاً إلى متوسط على العبور المعوي. أحدثت معاملة الجرذان باستخدام 100، 200 و 400 مغ/كغ بواسطة EM SAE، EM SVR، ED SAE و SVR حماية للمعدة (75 إلى 94%) ضد القرحة التي يسببها الإيثانول والتي كانت أكبر مقارنة بالأوميبرازول كمرجع إجمالي. يمكن ان ترتبط هذه الحماية بالارتفاع في مستويات المخاطية المعوية، البروتينات الكلية، الغليثيون وأو تثبيط أكسدة الدهون وتعزيز نشاطية الكاتالاز.

كلمات مفتاحية: مضادات للأكسدة، مضادات إنزيمات الكولين أستراز للزهايمر، تثبيط إنزيمات مرض السكري، الإفراغ المعدي والعبور المعوي، نشاطية ضد القرحة المعدة المحدثة بواسطة الإيثانول، *S. aegyptiaca*، *S. barrelieri*، *S. verbenaca*

Résumé: Des extraits méthanoliques (EM) et décoctés (ED) des parties aériennes de *S. aegyptiaca*، *S. verbenaca*، *S. barrelieri* et *S. argentea* (EM SAE، ED SAE، EM SVR، ED SVR، EM SBA، ED SBA، EM SAR et ED SAR) ont été testés in vitro pour leur activités antioxydantes، anti-Alzheimer، inhibition des enzymes diabétiques، antiglycation، anti-inflammatoire، anticancéreuses، aussi bien que leurs effets protectifs de l'estomac، leurs effets sur la vidange gastrique et le transit intestinal. Les propriétés antioxydantes des extraits de *S.* ont été déterminées en utilisant le piégeage des radicaux DPPH، ABTS et du radical superoxyde alcalins DMSO، le blanchiment du β -carotène، le pouvoir réducteur et les tests d'activité de chélation des métaux. Tous les extraits ont montré une capacité antioxydante élevée avec une meilleure performance trouvée dans l'EM. Les extraits de *S. aegyptiaca*، *S. verbenaca*، *S. barrelieri* et *S. argentea* ont montré une faible activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase (AChE) et une activité inhibitrice élevée de la butyrylcholinestérase (BChE)، tandis que l'EM SAE avait l'activité inhibitrice la plus élevée sur la BChE ($71.60 \pm 4.33\%$ pour 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$) par rapport aux autres extraits. L'effet inhibiteur in vitro sur les enzymes diabétiques a montré que les EM inhibaient l'enzyme α -amylase avec une CI50 de 86 et 101 $\mu\text{g}/\text{ml}$ pour SAE et SVR، respectivement. D'autre part، l'EM SAE، l'EM SVR et l'EM SAR ont inhibé l' α -glucosidase d'une valeur d'CI50 de 97، 150 et 112 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ، respectivement. Les autres extraits ont présenté une activité plus faible sur les deux enzymes. Tous les extraits ont montré une activité antiglycation importante avec une inhibition de plus de 69% pour 2 mg/ml، alors que la meilleure activité a été enregistrée avec l'EM SBA avec une IC50 de 70 $\mu\text{g}/\text{ml}$. A l'exception de l'EM SVR، les autres extraits ont présenté une activité inhibitrice élevée de la flambé inflammatoire avec une CI50 comprise entre 35 et 88 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Les extraits testés n'ont aucune cytotoxicité contre les cellules 3T3 ou HeLa. Cependant، une faible prolifération de HeLa a été enregistrée en présence de ces extraits. Les EM SAE، EM SBA et EM SAR ont induit un retardement significatif de la vidange gastrique chez les souris à 53%، 46% et 58% respectivement. Ces effets peuvent être liés à l'inhibition des récepteurs muscariniques et/ou l'enzyme oxyde nitrique synthase. Tous les extraits ont un effet faible à modéré sur le transit intestinal. Le traitement des rats avec 100، 200 et 400 mg/kg de l'EM SAE، l'ED SAE، l'EM SVR et l'ED SVR protège l'estomac (75 à 94%) contre l'ulcère induit par l'éthanol (100%) et supérieur en comparaison avec l'oméprazole comme contrôle positif. Cette protection peut être liée à l'augmentation des niveaux du mucus gastrique، des protéines totales، du glutathion et/ou l'inhibition de la peroxydation lipidique et de l'augmentation de l'activité de la catalase.

Mots clés : anti-oxydant، anticholinestérase، anti-enzymes diabétique، vidange gastrique et transit intestinal، ulcère gastrique induit par l'éthanol، *S. aegyptiaca*، *S. verbenaca*، *S. barrelieri* et *S. argentea*

Abstract: *S. aegyptiaca*، *S. verbenaca*، *S. barrelieri* and *S. argentea* aerial part methanol and decoction extracts (ME SAE، DE SAE، ME SVR، DE SVR، ME SBA، DE SBA، ME SAR and DE SAR) were screened in vitro for their antioxidant، anti-Alzheimer، diabetic enzymes inhibition، antiglycation، anti-inflammatory، anticancer activities، as well as protective gastric effect، gastric emptying and intestinal transit. The antioxidant properties of *Salvia* extracts were determined using DPPH، ABTS and Alkaline DMSO superoxide radical scavenging، β -carotene bleaching، reducing power، and metal chelating activity assays. All extracts showed high antioxidant capacity with the best performance in the ME. The extracts of *S. aegyptiaca*، *S. verbenaca*، *S. barrelieri* and *S. argentea* showed a less inhibitory activity of acetylcholinesterase (AChE) and high inhibitory activity of butyrylcholinesterase (BChE)، whereas، the methanol extract of *S. aegyptiaca* had the highest inhibitory activity on the BChE ($71.60 \pm 4.33\%$ for 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$) compared to the other extracts. In vitro inhibitory effect on diabetic enzymes showed that the methanol extracts inhibited α -amylase enzyme with IC50 value of 86 and 101 $\mu\text{g}/\text{ml}$ for SAE and SVR، respectively. On the other side، ME SAE، ME SVR and ME SAR inhibited α -glucosidase with IC50 value of 97، 150 and 112 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ، respectively. The other extracts exhibited lower activity on both enzymes. All extracts showed antiglycation activity with a percentage inhibition over 69% for 2 mg/ml. The best activity was recorded with ME SBA with IC50 value of 70 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Excepting ME SVR، the other extracts exhibited a high inhibitory activity on inflammatory burst with IC50 value that ranged between 35 et 88 $\mu\text{g}/\text{ml}$. None of the tested extract had a cytotoxicity effect against 3T3 or HeLa cells. However، low proliferation of HeLa was recorded in the presence for these extracts. ME SAE، ME SBA and ME SAR induced significative gastric emptying delay in mice to 53%، 46% and 58% respectively. These effects may be related to the inhibition of muscarinic receptors and/or nitric oxide synthase. All extracts had low to moderate effect on intestinal transit. Treatment of rats with 100، 200 and 400 mg/kg of ME SAE، DE SAE، ME SVR and DE SVR protected the stomach (75 to 94%) against ethanol (100%) induced ulcer and higher protection in comparison with omeprazole (positive control). This protection may be related to the augmentation of levels of gastric mucus، total protein، GSH levels and/or inhibition of lipid peroxidation and enhancement of catalase activity.

Keywords: anti-oxidant، anti-cholinesterase، anti-diabetic enzymes، gastric emptying، intestinal transit، ethanol induced gastric ulcer، *S. aegyptiaca*، *S. verbenaca*، *S. barrelieri* and *S. argentea*