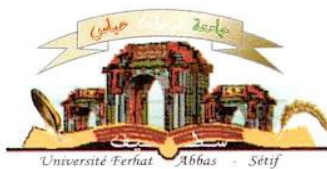


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Université Ferhat Abbas Sétif 1
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة فرحات عباس، سطيف 1
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT de Biochimie

N°/SNV/2021

THÈSE

Présentée par

Benabdallah Fatima Zohra

Pour l'obtention du diplôme de

DOCTORAT EN SCIENCES

Filière: BIOLOGIE

Spécialité: BIOCHIMIE

THÈME

**Investigation des extraits à activités pharmacologiques de quelques espèces qui
poussent dans les zones arides et semi arides**

Soutenue publiquement le 27/07/2021

DEVANT LE JURY

**Président
Directeur
Examineurs**

**Arrar Lekhmici
Zellagui Amar
Khennouf seddik
Gherraf noureddine
Derouiche kamel**

**Pr. U. Sétif 1
Pr. U. Oum El Bouaghi
Pr. U. Sétif 1
Pr. U. Oum El Bouaghi
MCA. U. Oum El Bouaghi**

Laboratoire de biomolécules végétales et amélioration des plantes

Liste des publications dans des revues

- **Benabdallah F. Z.**, Zellagui A., Demirtas I. (2017) Chemical composition of essential oils and antioxidant activities of extracts of two endemic plants from Algeria. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 8 (1): 244-250.
- **Benabdallah F. Z.**, Zellagui A., Bensouici C. (2021) Chemical analysis, antioxidant, anti-Alzheimer and anti-diabetic effect of two endemic plants from Algeria: *Lavandula antineae* and *Thymus algeriensis*. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 14 (4): 551-558.

Liste des communications

- Communication affichée pour International Convention of Pharmaceuticals And Pharmacies (IVEK 2ND) du 27 au 29 Novembre 2015 à Istanbul (Turquie). Antioxidant activity of the essential oil, ethyl acetate and n-butanol extracts of *Lavandula antineae* aerial parts from Algeria. **Benabdallah F. Z.**, Zellagui A., Demirtas I., Guerraf N.
- Communication affichée pour Colloque International AGROSEM II du 09 au 10 Décembre 2018 à Biskra (Algérie). Analyse chimique de l'huile essentielle d'une plante endémique de l'Algérie (*Lavandula antineae*) et évaluation de l'activité antioxydante de ses extraits. **Benabdallah F. Z.**, Zellagui A.
- Communication affichée pour 1st International Conference on Biodiversity in Service of Biotechnologies (ICBIO2020) du 09 à 10 Mars 2020 à Mila (Algérie). Chemical analysis of *Thymus algeriensis* essential oil and antioxidant effect of its ethyl acetate and n-butanol extracts. **Benabdallah F. Z.**, Zellagui A.

Remerciements

En tout premier lieu, je remercie ALLAH, tout Puissant, de m'avoir donné la force pour accomplir ce travail, ainsi que l'audace pour dépasser toutes les difficultés.

Je tiens à remercier Monsieur **Zellagui Amar**, Professeur à l'Université d'Oum El Bouaghi, qui m'a encadré, **orienté, aidé et conseillé** tout au long de cette thèse.

J'adresse tous mes remerciements à Monsieur **Arrar Lekhmici**, Professeur à l'Université de Sétif 1 d'avoir accepté d'être Président de jury, ainsi qu'à Monsieur **Khennouf seddik**, Professeur à l'Université de Sétif 1, Monsieur **Gherraf noureddine**, Professeur à l'Université d'Oum El Bouaghi et Monsieur **Derouiche kamel**, Maître de conférence A à l'Université d'Oum El Bouaghi, de l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant d'être examinateurs de cette thèse.

Mes profonds remerciements à Monsieur **Bensaci Mohamed**, du parc national de Belezma (Batna), je serai toujours reconnaissante pour votre aide et votre bienveillance, je vous remercie pour le partage de vos connaissances.

Nous tenons à remercier toute personne qui a participé de près ou de loin à l'exécution de ce modeste travail.

Ce travail a été réalisé au niveau des laboratoires : de Département de Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Biskra, laboratoire de Biomolécules Végétales et Amélioration des Plantes, Université d'Oum El Bouaghi, laboratoire de Biochimie, Centre de Recherche en Biotechnologie, Constantine et le laboratoire de Département de Chimie, Université Çankiri Karatekin, Turquie.

Dédicace

Je dédie cette thèse à toute ma famille chacun avec son nom, mon père, mes frères et surtout ma mère qui a été toujours présente à mes côtés pour soutenir mes ambitions et m'aider à atteindre mes rêves, à m'encourager lorsque je perds ma boussole et m'accompagner avec ses prières pour surmonter tous les obstacles. Tout ce que je peux dire ne pourra jamais suffire à exprimer mon amour éternel et tout ce que je lui dois et combien elle a été importante pour faire de moi ce que je suis aujourd'hui. Que Dieu le Tout puissant lui comble de sa grâce et de sa protection.

Aux ingénieurs de laboratoire au niveau de l'université Mohamed Kheider Biskra surtout Mme Bacha Saliha, je la remercie pour son soutien aimable et permanent.

À mes amis et mes collègues, pour leurs prières et leurs encouragements.

Résumé

Cinq plantes de deux régions différentes (aride et semi-aride) ont été choisies dans ce travail, il s'agit de *Pistacia atlantica* et *Lavandula antineae* de la wilaya de Biskra et *Thymus algeriensis*, *Marrubium alysson* et *Jasminum fruticans* de la wilaya de Batna. Tout d'abord, une extraction des huiles essentielles des deux espèces *L. antineae* et *T. algeriensis* et une préparation des extraits hydro-méthanoliques, acétate d'éthyle et *n*-butanol ont été effectuées à partir de toutes les plantes étudiées. Les deux huiles essentielles ont été analysées par CPG/SM, le profile chromatographique a montré une richesse de l'huile essentielle de *L. antineae* en sesquiterpenes hydrocarbonés comme le β -bisabolène tandis que l'huile essentielle de *T. algeriensis* était riche en sesquiterpènes oxygénés comme l'elemol

Par la suite, un screening phytochimique puis une analyse par HPLC/UV ont été réalisés sur l'extrait hydro-méthanolique de la partie aérienne des différentes plantes, suivis par la détermination des taux en composés phénoliques totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés. Les résultats du screening phytochimique ont indiqué la présence de plusieurs familles chimiques telles que les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins et les alcaloïdes. L'analyse par HPLC/UV a révélé l'existence en commun de la quercétine et de la catéchine dans tous les extraits hydro-méthanoliques. *P. atlantica* a été noté par les taux en composés phénoliques totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés les plus élevés. Ensuite, l'effet antioxydant des extraits hydro-méthanoliques a été testé par différentes méthodes: piégeage des radicaux libres (DPPH et ABTS), tests de réduction de fer (test FRAP, méthode à phenanthroline, méthode à Ferrozine), test de réduction de cuivre (test CUPRAC) et test de blanchissement du β -carotène. Différents tests pour évaluer le pouvoir inhibiteur de l'extrait hydro-méthanolique des plantes étudiées sur l'activité enzymatique de l'acétylcholinestérase, la butyrylcholinestérase, l' α -glucosidase et la tyrosinase ont été utilisés. Une activité antioxydante importante a été observée pour tous les extraits notamment de *P. atlantica* et des effets antidiabétiques, anti-Alzheimer et anti-tyrosinase remarquables ont été enregistrés pour la plupart des espèces. *P. atlantica* a donné une inhibition de l' α -glucosidase considérablement élevée que l'acarbose. Un effet anti-butyrylcholinestérase supérieur que la galantamine a été enregistré pour l'extrait hydro-méthanolique de *L. antineae*. Les deux espèces *M. alysson* et *J. fruticans* sont caractérisées par une inhibition de la tyrosinase plus remarquable que l'acide kojique. Le test de la détermination de SPF a été opéré en mesurant les absorbances des extraits hydro-méthanoliques dans une gamme allant de 290 à 320 nm chaque 5 nm, *J. fruticans* a fourni la valeur SPF la plus grande. Finalement, La technique de diffusion sur l'agar a été procédée pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne des deux extraits acétate d'éthyle (AcEth) et *n*-Butanol (But) de nos cinq plantes sur *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans* ATCC 2071. Les deux extraits AcEth et But des différentes espèces ont fourni un potentiel antimicrobien modeste envers les microbes testés.

Mots clés: Plantes, Huiles essentielles, Extraits, CPG/SM, HPLC/UV, Activité antioxydante, Activité anti-enzymatique, Activité anti-microbienne.

Abstract

Five plants from two different regions (arid and semi-arid) were selected in this work: *Pistacia atlantica* and *L. antineae* from Biskra town and *Thymus algeriensis algeriensis*, *Marrubium alysson* and *Jasminum fruticans* of Batna town. First, an extraction of two species *Lavandula antineae* and *Thymus algeriensis* essential oils and a preparation of hydro-methanolic, ethyl acetate and *n*-butanol extracts were carried out from all the studied plants. Both essential oils were analyzed by GC / MS, the chromatographic profile showed a richness of *L. antineae* essential oil in hydrocarbon sesquiterpenes such as β -bisabolene while the essential oil of *T. algeriensis* was rich in oxygenated sesquiterpenes such as elemol. Subsequently, a phytochemical screening followed by an HPLC / UV analysis were performed on hydro-methanolic extract of the aerial part of the various plants, followed by the determination of the total phenol compounds, flavonoids and condensed tannins. Results from the phytochemical screening indicated the presence of several chemical families such as polyphenols, flavonoids, tannins and alkaloids. HPLC / UV analysis revealed the common existence of quercetin and catechin in all hydro-methanolic extracts. *P. atlantica* was noted by the highest levels of total phenolic compounds, flavonoids and condensed tannins. Then, the antioxidant effect of the hydro-methanolic extract was tested by various methods: free radical scavenging (DPPH and ABTS), iron reduction tests (FRAP test, phenanthroline method, Ferrozin method), copper reduction test (CUPRAC test) and β -carotene bleaching test. Various tests to evaluate the inhibitory power of the plants hydro-methanolic extract on enzymatic activity of acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, α -glucosidase and tyrosinase were used. Significant antioxidant activity was observed for all extracts especially *P. atlantica* and remarkable antidiabetic, anti-Alzheimer and anti-tyrosinase effects were recorded for most species. *P. atlantica* gave a significantly higher α -glucosidase inhibition than acarbose. A higher anti-butyrylcholinesterase effect than galantamine was recorded for hydro-methanolic extract of *L. antineae*. Both species *M. alysson* and *J. fruticans* are characterized by a tyrosinase inhibition more remarkable than kojic acid. The SPF determination test was performed by measuring the absorbances of hydro-methanolic extracts in a range of 290 to 320 every 5 nm, *J. fruticans* provided the highest SPF value. Finally, the agar diffusion technique was carried out to evaluate the antimicrobial activity of two extracts ethyl acetate (AcEth) and *n*-butanol (But) of our five plants on *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans*. ATCC 2071. Both AcEth and But extracts of different species provided modest antimicrobial potential for the microbes tested.

Key words: Plants, Essential oils, Extracts, GC/MS, HPLC/UV, Antioxidant activity, Anti-enzymatic activity, Anti-microbial activity.

الملخص

تم اختيار خمسة نباتات من منطقتين مختلفتين (جافة وشبه جافة) في هذا العمل *Lavandula antineae* و *Pistacia atlantica* من ولاية بسكرة و *Thymus algeriensis* ، *Marrubium alysson* و *Jasminum fruticans* من ولاية باتنة. أولاً ، تم إجراء استخراج من النوعين النباتيين *L. antineae* و *T. algeriensis* الزيوت الأساسية وإعداد مستخلصات الميثانول المائي و خلاص الإيثيل و -n البوتانول من جميع النباتات المدروسة. تم تحليل كل من الزيوت الأساسية بواسطة GC / MS ، وأظهرت نتائج الفحص الكروماتوغرافي وفرة في السسكيتارباتات الهيدروكربونية مثل البيتا بيسابولان في الزيت العطري لـ *L. antineae* بينما الزيت العطري لـ *T. algeriensis* كان غني بالسيسكيتارباتات الأكسجينية مثل الأيليمول. بعد ذلك ، تم إجراء فحص كيميائي نباتي متبعاً بتحليل HPLC / UV على المستخلص الميثانول المائي للجزء الهوائي من النباتات المختلفة ، يليه تحديد مركبات الفينول الكلية ، الفلافونويدات والعفص المكثفة. أشارت نتائج الفحص الكيميائي النباتي إلى وجود العديد من العائلات الكيميائية مثل البوليفينول والفلافونويد والعفص والقلويات. كشف تحليل HPLC / UV وجود مشترك للكيرسيتين و الكاتيشين في جميع مستخلصات الميثانول المائي. لوحظ احتواء *P. atlantica* على أعلى المستويات من المركبات الفينولية الكلية ، الفلافونويد والعفص المكثف. بعد ذلك ، تم اختبار تأثير مضادات الأكسدة في مستخلص الميثانول المائي بطرق مختلفة: مسح الجذور الحرة (DPPH و ABTS) ، اختبارات الحد من الحديد (اختبار FRAP ، طريقة الفينانثرولين ، طريقة Ferrozine) ، اختبار تقليل النحاس (اختبار CUPRAC) وتبييض البيتا كاروتين . واستخدمت اختبارات مختلفة لتقييم القوة المثبطة للمستخلصات الميثانولية للنباتات على النشاط الأنزيمي من أستيل كولينستراز ، بوتريل كولينستراز ، ألفا جلوكوزيداز وتيروسيناز. وقد لوحظ وجود نشاط كبير مضاد للأكسدة بالنسبة لجميع المستخلصات وخاصة *P. atlantica* ، وسجلت تأثيرات ملحوظة لمضادات السكر ومضادات الزهايمر ومضادات التيروسيناز في معظم الأنواع. أعطت *P. atlantica* تثبيطاً للألفا جلوكوزيداز أعلى بكثير من الأكاربوز. تم تسجيل تأثير أعلى مضاد لبوتريل كولينستراز من الجلانتامين في المستخلص الميثانول المائي لـ *L. antineae* . تميز كلا النوعين *M. alysson* و *J. fruticans* بتثبيط التيروسيناز بشكل ملحوظ أكثر من حمض الكوجيك. تم إجراء اختبار تحديد SPF عن طريق قياس امتصاص المستخلصات الميثانولية في مجموعة من 290 إلى 320 كل 5 نانومتر ، قدمت *J. fruticans* أعلى قيمة SPF أخيراً ، تم تنفيذ تقنية نشر أجار لتقييم النشاط المضاد للميكروبات في مستخلصي خلاص الإيثيل (AcEth) و -n البوتانول (But) من نباتاتنا الخمسة في الميكروبات العنقودية الذهبية ATCC 25923 و *Escherichia coli* ATCC 25922 و *Pseudomonas aeruginosa* و *Candida albicans* ATCC 2071. قدمت مستخلصات AcEth و But للأنواع النباتية المختلفة إمكانات متواضعة مضادة للميكروبات التي تم اختبارها.

الكلمات المفتاحية: النباتات ، الزيوت الأساسية ، المستخلصات ، GC / MS ، HPLC / UV ، النشاط المضاد للأكسدة ، النشاط المضاد للأنزيمات ، النشاط المضاد للميكروبات.

Liste des abréviations

8-OHdG	8-hydroxydésoxyguanosine
A β	Amyloïde bêta
Abs	Absorbance
ABTS	Acide 2, 2'- azino bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)
ADN	Acide désoxyribonnucléique
ACh	Acétylcholine
AChE	Acétylcholinestérase
ACP	Analyse de Composante Principale
AGPI	Acide gras polyinsaturés
ANOVA	Analysis of variance
ATCC	American Type Culture Collection
BChE	Butyrylcholinestérase
BHA	Hydroxyanisole butylé
BHT	Hydroxytoluene butyle
CAT	Catalase
CF	Correction Factor
COA	Coenzyme A
CPG/SM	Chromatographie phase gazeuse à spectrophotomètre de masse
CUPRAC	Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity
DMAPP	Diméthylallylpyrophosphate
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DPPH	2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl
DTNB	5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid)
E AcEth	Extrait Acetate d'éthyle
EAG	Equivalent Acide Gallique
E But	Extrait Butanol
EC	Equivalent Catéchine
EDTA	Éthylènediaminetétraacétique
EE	Erythémal Effect spectrum
EQ	Equivalent Quercétine
Gnt	Gentamicine
GPx	Glutathion Peroxydase
GR	Glutathion Réductase
GSSG	Glutathion oxydé
GSH	Glutathion réduit
IC ₅₀	Concentration Inhibitrice de 50%
Ir	Indice de rétention
LCR	Liquide Chéphalorachidien
L-DOPA	L-Dihydroxyphénylalanine
MA	Maladie d'Alzheimer
MEP	2-C-methyl-D-erythritol 4-phosphate
MVA	Acide mévalonique
NOS	Nitric oxyde synthase
PAL	Phénylalanine Ammonium Lyase
PEP	Phosphoénolpyruvate
PR _{0.5}	Pouvoir réducteur à 0.5
ROS	Reactive Oxygen Species

SOD
SPF

Superoxyde Dismutase
Sunburn Protection Factor

Table des Matières

Introduction	1
1 Partie Bibliographique	5
1.1 Stress oxydatif et quelques maladies et complications liées	6
1.1.1 Définition du stress oxydatif	6
1.1.2 Radicaux libres.....	7
1.1.2.1 Différent radicaux libres et peroxyde d'hydrogène	7
1.1.2.2 Mode d'action des radicaux libres sur les molécules de la cellule	8
1.1.3 Système de défense antioxydant.....	8
1.1.3.1 Systèmes non enzymatiques.....	9
1.1.3.2 Systèmes enzymatiques.....	9
1.1.4 Quelques maladies et complications liées au stress oxydatif	10
1.1.4.1 Maladie d'Alzheimer	12
1.1.4.2 Diabète type 2	14
1.1.4.3 Vieillessement de la peau et mélanogénèse	15
1.1.4.4 Maladies infectieuses	16
1.2 Métabolites secondaires	17
1.2.1 Les composés phénoliques	18
1.2.1.1 Biosynthèse.....	19
1.2.1.2 Classification des polyphénols	22
1.2.1.2.1 Flavonoïdes.....	22
1.2.1.2.2 Acides phénoliques.....	22
1.2.1.2.3 Stibènes	23
1.2.1.2.4 Lignines et subérines	23
1.2.1.2.5 Tannins	24
1.2.1.3 Rôle et bienfaits.....	25
1.2.2 Terpènes	26
1.2.2.1 Biosynthèse.....	26
1.2.2.2 Classification	27
1.2.2.3 Rôle et bienfaits.....	30
1.2.3 Alcaloïdes.....	31
1.2.3.1 Biosynthèse.....	32
1.2.3.2 Classification	33
1.2.3.3 Rôle et bienfaits.....	34
1.3 Généralités sur les plantes étudiées	34
1.3.1 <i>Pistacia atlantica</i>	34

1.3.1.1	<i>Pistacia</i> et sa distribution.....	34
1.3.1.2	Systématique et description botanique de <i>Pistacia atlantica</i>	35
1.3.1.3	Activités biologiques de <i>Pistacia</i>	36
1.3.2	<i>Lavandula antineae</i>	36
1.3.2.1	<i>Lavandula</i> et sa distribution	36
1.3.2.2	Systématique et description botanique de l'espèce <i>Lavandula antineae</i>	37
1.3.2.3	Activités biologiques de <i>Lavandula</i>	37
1.3.3	<i>Thymus algeriensis</i>	38
1.3.3.1	<i>Thymus</i> et sa distribution.....	38
1.3.3.2	Systématique et description botanique de l'espèce <i>Thymus algeriensis</i>	39
1.3.3.3	Activités biologiques de <i>Thymus</i>	39
1.3.4	<i>Marrubium alysson</i>	40
1.3.4.1	<i>Marrubium</i> et sa distribution.....	40
1.3.4.2	Systématique et description botanique de l'espèce <i>Marrubium alysson</i>	40
1.3.4.3	Activités biologiques de <i>marrubium</i>	41
1.3.5	<i>Jasminum fruticans</i>	41
1.3.5.1	<i>Jasminum</i> et sa distribution	41
1.3.5.2	Systématique et description botanique de l'espèce <i>Jasminum fruticans</i>	42
	42
1.3.5.3	Activités biologiques de <i>Jasminum</i>	42
2	Matériel et Méthodes	454
2.1	Matériel	45
2.1.1	Matériel biologique	45
2.1.2	Réactifs chimiques	47
2.2	Méthodes	47
2.2.1	Préparation des extraits.....	47
2.2.1.1	Extraction des huiles essentielles	47
2.2.1.2	Préparation des extraits hydro-méthanoliques	48
2.2.1.3	Fractionnement de l'extrait hydro-méthanolique	48
2.2.2	Analyse des extraits	50
2.2.2.1	Screening phytochimique des extraits hydro-méthanoliques.....	50
2.2.2.2	Analyse de la composition chimique des huiles essentielles par CPG /SM	51
2.2.2.3	Analyse de l'extrait hydro-méthanolique par HPLC/UV	52
2.2.3	Dosage des composés phénoliques, flavonoïdes et tanins condensés	52
2.2.3.1	Dosage des polyphénols totaux	52
2.2.3.2	Dosage des flavonoïdes	53
2.2.3.3	Dosage des tanins condensés	53

2.2.4	Activité antioxydante <i>in vitro</i>	53
2.2.4.1	Test de piégeage du radical libre DPPH	53
2.2.4.2	Test de piégeage du radical ABTS	54
2.2.4.3	Test de réduction du fer : FRAP (Ferric reducing antioxidant power)	55
2.2.4.4	Test de réduction du fer: méthode à phenanthroline	56
2.2.4.5	Test de réduction de fer par la méthode à Ferrozine	56
2.2.4.6	Test de réduction de cuivre CUPRAC (Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity)	57
2.2.4.7	Test du blanchissement du β -carotène.....	57
2.2.5	Activité anti-enzymatique <i>in vitro</i>	58
2.2.5.1	Activité anti-Alzheimer	58
2.2.5.2	Inhibition de l' α -glucosidase	59
2.2.5.3	Inhibition de la tyrosinase.....	60
2.2.6	Détermination du facteur de protection solaire (SPF)	60
2.2.7	Activité antimicrobienne	61
2.2.7.1	Technique de l'antibiogramme	62
2.2.8	Analyse statistique.....	62
3	Résultats et Discussion	63
3.1	Extraction	64
3.2	Analyse des extraits	64
3.2.1	Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Lavandula antineae</i> et <i>Thymus algeriensis</i>	64
3.2.2	Screening phytochimique	67
3.2.3	Analyse par HPLC/UV	67
3.3	Dosage des polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensées	74
3.4	Activité antioxydante.....	76
3.4.1	Test de piégeage du radical libre DPPH	76
3.4.1.1	Extraits hydro-méthanoliques.....	77
3.4.1.2	Activité antioxydante des deux extraits (acétate d'éthyle et <i>n</i> -butanol) de <i>L. antineae</i> et <i>T. algeriensis</i>	80
3.4.2	Test de piégeage du radical ABTS	82
3.4.3	Test de FRAP	84
3.4.4	Test de réduction de fer par la méthode à phénanthroline.....	89
3.4.5	Test de réduction de fer par la méthode à Ferrozine	92
3.4.6	Test de réduction de cuivre (CUPRAC)	94
3.4.7	Test de blanchissement du bêta carotène	98
3.5	Activité anti-enzymatique.....	100
3.5.1	Activité anti-Alzheimer	100
3.5.1.1	Inhibition de l'acetylcholinesterase	100

3.5.1.2	Inhibition de butyrylcholinestérase	104
3.5.2	Inhibition de l'α-glucosidase	108
3.5.3	Inhibition de la tyrosinase.....	112
3.5.4	Corrélation entre le contenu en polyphénols, flavonoides, tanins et l'activité antioxydante et l'activité anti-enzymatique	116
3.5.5	Test SPF.....	117
3.5.6	Activité antimicrobienne	117
3.5.6.1	Antibiogramme.....	118
3.5.6.1.1	<i>P. atlantica</i>	118
3.5.6.1.2	<i>Lavandula antineae</i>	120
3.5.6.1.3	<i>Thymus algeriensis</i>	121
3.5.6.1.4	<i>Marrubium alysson</i>	123
3.5.6.1.5	<i>Jasminum fruticans</i>	124
3.5.6.2	Comparaison de l'effet antimicrobien des plantes étudiées sur chaque souche testée	125
Conclusion et perspectives		132
Références Bibliographiques.....		135
Annexes.....		170

Liste des figures

Figure 1: Déséquilibre entre le système anti-oxydant et les ROS	6
Figure 2: Espèces oxygénées actives et réseau antioxydant.....	10
Figure 3: Maladies induites par le stress oxydatif.....	11
Figure 4: Squelettes carbonés des dérivés du métabolisme des phénylpropanoïdes	19
Figure 5: Conversion de la tyrosine en acide cinnamique.....	19
Figure 6: Voie de l'acide shikimique	21
Figure 7: Structure de base des flavonoïdes	22
Figure 8: Structure de quelques acides phénoliques	23
Figure 9: Structure de base des stibènes	23
Figure 10: Structure de base des lignines	24
Figure 11: Exemple de Tannins hydrolysables	24
Figure 12: Structure de flavane-3-ol.....	25
Figure 13: Unité isoprène	26
Figure 14: Biosynthèse des terpènes par la voie de mévalonate	27
Figure 15: Exemple de monoterpènes	28
Figure 16: Exemple de diterpènes	29
Figure 17: Exemple de sesquiterpènes.....	29
Figure 18: Exemple de triterpènes.....	29
Figure 19: Exemples de saponines	30
Figure 20: Quelques exemples d'alcaloïdes	32
Figure 21: Voies de biosynthèse des alcaloïdes.....	33
Figure 22: Spécimen de <i>Pistacia atlantica</i>	35
Figure 23: Spécimen de <i>Lavandula antineae</i>	37
Figure 24: Spécimen de <i>Thymus algeriensis</i>	39
Figure 25: Spécimen de <i>Marrubium alysson</i>	40
Figure 26: Spécimen de <i>Jasminum fruticans</i>	42
Figure 27: Diagramme de l'extraction des huiles essentielles	48
Figure 28: Diagramme représentant les étapes de la préparation de l'extrait hydro-méthanolique.....	49
Figure 29: Diagramme représentant le traitement de l'extrait hydro-méthanolique avec des solvants de polarité croissante.....	49
Figure 30: Chromatogramme de l'extrait hydro-méthanolique de <i>P. atlantica</i>	68
Figure 31: Chromatogramme de l'extrait hydro-méthanolique de <i>L. antineae</i>	68
Figure 32: Chromatogramme de l'extrait hydro-méthanolique de <i>Thymus algeriensis</i>	69
Figure 33: Chromatogramme de l'extrait hydro-méthanolique de <i>M. alysson</i>	70
Figure 34: Chromatogramme de l'extrait hydro-méthanolique de <i>J. fruticans</i>	70
Figure 35: Histogramme représentant les résultats de dosage des polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés dans l'extrait hydro-méthanolique des différentes plantes étudiées.....	76
Figure 36: Histogramme représentant les IC ₅₀ issues du test de piégeage de DPPH de l'extrait hydro-méthanolique des différentes plantes étudiées	79
Figure 37: Droite de pourcentages d'inhibition du radical DPPH par l'acide ascorbique	80
Figure 38: Droite de pourcentages d'inhibition du radical DPPH par l'extrait acétate d'éthyle de <i>L. antineae</i>	80
Figure 39: Droite de pourcentages d'inhibition du radical DPPH par l'extrait n-butanol de <i>L. antineae</i>	81
Figure 40: Droite de pourcentages d'inhibition du radical DPPH par l'extrait acétate d'éthyle de <i>T. algeriensis</i>	81
Figure 41: Droite de pourcentage d'inhibition du radical DPPH par l'extrait n-butanol de <i>T. algeriensis</i>	82

Figure 42: Histogramme représentant les IC ₅₀ issues du test de piégeage de l'ABTS de l'extrait hydro-méthanolique des différentes plantes étudiées	83
Figure 43: Activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique de <i>P. atlantica</i> obtenue par le test FRAP	85
Figure 44: Activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique de <i>L. antineae</i> obtenue par le test FRAP	86
Figure 45: Activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique de <i>T. algeriensis</i> obtenue par le test FRAP	86
Figure 46: Activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique de <i>M. alysson</i> obtenue par le test FRAP	87
Figure 47: Activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique de <i>J. fruticans</i> obtenue par le test FRAP	88
Figure 48: Activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique de <i>P. atlantica</i> obtenue par la méthode à phénanthroline	90
Figure 49: Activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique de <i>L. antineae</i> obtenue par la méthode à phénanthroline	90
Figure 50: Activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique de <i>T. algeriens</i> obtenue par la méthode à phénanthroline	91
Figure 51: Activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique de <i>M. alysson</i> obtenue par la méthode à phénanthroline	91
Figure 52: Activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique de <i>J. fruticans</i> obtenue par la méthode à phénanthroline	92
Figure 53: Histogramme représentant les IC ₅₀ issues du test de réduction de fer par la méthode à Ferrozine de l'extrait hydro-méthanolique des différentes plantes étudiées	93
Figure 54: Activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique de <i>P. atlantica</i> obtenue par le test CUPRAC	95
Figure 55: Activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique de <i>L. antineae</i> obtenue par le test CUPRAC	95
Figure 56: Activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique de <i>T. algeriensis</i> obtenue par le test CUPRAC	96
Figure 57: Activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique de <i>M. alysson</i> obtenue par le test CUPRAC	96
Figure 58: Activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique de <i>J. fruticans</i> obtenue par le test CUPRAC	97
Figure 59: Histogramme représentant les IC ₅₀ issues du test de blanchissement de β-carotène l'extrait hydro-méthanolique des différentes plantes étudiées	99
Figure 60: Activité anticholinestérase de l'extrait hydro-méthanolique de <i>P. atlantica</i>	102
Figure 61: Activité anticholinestérase de l'extrait hydro-méthanolique de <i>L. antineae</i>	102
Figure 62: Activité anticholinestérase de l'extrait hydro-méthanolique de <i>T. algeriensis</i>	103
Figure 63: Activité anticholinestérase de l'extrait hydro-méthanolique de <i>M. alysson</i>	103
Figure 64: Activité antibutyrylcholinestérase de l'extrait hydro-méthanolique de <i>P. atlantica</i>	105
Figure 65: Activité antibutyrylcholinestérase de l'extrait hydro-méthanolique de <i>L. antineae</i>	105
Figure 66: Activité antibutyrylcholinestérase de l'extrait hydro-méthanolique de <i>T. algeriensis</i>	106
Figure 67: Activité antibutyrylcholinestérase de l'extrait hydro-méthanolique de <i>M. alysson</i>	107
Figure 68: Activité antibutyrylcholinestérase de l'extrait hydro-méthanolique de <i>J. fruticans</i>	108
Figure 69: Activité anti-tyrosinase de l'extrait hydro-méthanolique de <i>P. atlantica</i>	113
Figure 70: Activité anti-tyrosinase de l'extrait hydro-méthanolique de <i>L. antineae</i>	114
Figure 71: Activité anti-tyrosinase de l'extrait hydro-méthanolique de <i>T. algeriensis</i>	114
Figure 72: Activité anti-tyrosinase de l'extrait hydro-méthanolique de <i>M. alysson</i>	115
Figure 73: Activité anti-tyrosinase de l'extrait hydro-méthanolique de <i>J. fruticans</i>	115
Figure 74: Histogramme comparatif de la sensibilité d' <i>E. coli</i> envers l'extrait acétate d'éthyle des plantes étudiées	126
Figure 75: Histogramme comparatif de la sensibilité d' <i>E. coli</i> envers l'extrait butanolique des plantes étudiées ..	126
Figure 76: Histogramme comparatif de la sensibilité de <i>P. aeruginosa</i> envers l'extrait acétate d'éthyle des plantes étudiées	127
Figure 77: Histogramme comparatif de la sensibilité de <i>P. aeruginosa</i> envers l'extrait butanolique des plantes étudiées	128
Figure 78: Histogramme comparatif de la sensibilité de <i>S. aureus</i> envers l'extrait acétate d'éthyle des plantes étudiées	129

Figure 79: Histogramme comparatif de la sensibilité de <i>S. aureus</i> envers l'extrait butanolique des plantes étudiées	129
Figure 80: Histogramme comparatif de la sensibilité de <i>C. albicans</i> envers l'extrait acétate d'éthyle des plantes étudiées	130
Figure 81: Histogramme comparatif de la sensibilité de <i>C. albicans</i> envers l'extrait butanolique des plantes étudiées	131

Liste des tableaux

Tableau 1: Mode d'action des radicaux libres sur les principales molécules constituant la cellule	8
Tableau 2: Les différentes plantes étudiées, lieu et mois de leur récolte	45
Tableau 3: Catégories de protection affichées sur les produits solaires en fonction des facteurs de protection mesurés, selon la Recommandation de la Commission Européenne 2006.....	61
Tableau 4: Rendement et couleur des extraits de différentes plantes étudiées	64
Tableau 5: Composition chimique d'huile essentielle de <i>Lavandula antineae</i>	65
Tableau 6: Composition chimique d'huile essentielle de <i>Thymus algeriensis</i>	66
Tableau 7: Résultat du screening phytochimique	67
Tableau 8: Composants identifiés dans les extraits méthanoliques des plantes étudiées	73
Tableau 9: Pourcentages d'inhibition du DPPH par les extraits hydro-méthanoliques des plantes étudiées et les IC ₅₀ correspondantes	77
Tableau 10: Pourcentages d'inhibition de l'ABTS par les extraits hydro-méthanoliques des plantes étudiées et les IC ₅₀ correspondantes	84
Tableau 11: PR _{0,5} (µg/ml) obtenus par le test FRAP des différentes plantes étudiées comparés aux BHA et BHT ..	88
Tableau 12: PR _{0,5} (µg/ml) obtenus par le test de réduction de fer par la méthode à phénanthroline des différentes plantes étudiées comparés aux BHA et BHT.....	92
Tableau 13: Pourcentages d'inhibition et les IC ₅₀ obtenus par le test de réduction de fer par la méthode à ferrozine des plantes étudiées comparés aux BHA et BHT	93
Tableau 14: PR _{0,5} (µg/ml) obtenus par le test CUPRAC des différentes plantes étudiées comparés aux BHA et BHT	97
Tableau 15: Pourcentages d'inhibition et les IC ₅₀ obtenus par le test de blanchissement de β-carotène des plantes étudiées et de BHA et BHT	98
Tableau 16: IC ₅₀ de l'activité anticholinestérase des différentes plantes étudiées et de la galantamine.....	104
Tableau 17: IC ₅₀ de l'activité antibutyrylcholinestérase des différentes plantes étudiées et de la galantamine	108
Tableau 18: Activité d'inhibition de l'α-glucosidase par les extraits hydro-méthanoliques des plantes étudiées et l'acarbose.....	111
Tableau 19: IC ₅₀ des extraits hydro-méthanoliques des plantes étudiées et de l'acide kojique obtenus par le test anti-tyrosinase	115
Tableau 20: Valeurs de SPF des extraits hydro-méthanoliques des plantes étudiées	117
Tableau 21: Diamètres d'inhibition obtenus pour chaque extrait (acétate d'éthyle et n-butanol) de <i>P. atlantica</i> avec leurs différentes concentrations	119
Tableau 22: Diamètres d'inhibition obtenus pour chaque extrait (acétate d'éthyle et butanol) de <i>L. antineae</i> avec leurs différentes concentrations	121
Tableau 23: Diamètres d'inhibition obtenus pour chaque extrait (acétate d'éthyle et butanol) de <i>T. algeriensis</i> avec leurs différentes concentrations	122
Tableau 24: Diamètres d'inhibition obtenus pour chaque extrait (acétate d'éthyle et butanol) de <i>M. alysson</i> avec leurs différentes concentrations	123
Tableau 25: Diamètres d'inhibition obtenus pour chaque extrait (acétate d'éthyle et butanol) de <i>J. fruticans</i> avec leurs différentes concentrations	125

Introduction

Le métabolisme de l'oxygène moléculaire (O_2) par la cellule entraîne la production de ROS (reactive oxygen species), notamment le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le radical hydroxyle (OH^\bullet) et le radical superoxyde ($O_2^{\bullet -}$), qui peuvent tous être toxiques en réagissant avec des macromolécules cellulaires. Pour cette raison, les organismes ont développé des systèmes de défense antioxydants pour éliminer les ROS. Ceux-ci incluent des enzymes, telles que la SOD et les peroxydases, et des antioxydants de faible poids moléculaire (vitamine E, vitamine C et GSH) Un déséquilibre entre les systèmes de production et d'élimination des espèces à oxygène actif et la dominance du système de production conduit à une surproduction de ROS et la constitution du stress oxydatif.

Le stress oxydatif joue un rôle crucial dans le développement de maladies connexes telles que l'arthrite, le diabète, la démence, le cancer, l'athérosclérose, les maladies vasculaires, l'obésité, l'ostéoporose et les syndromes métaboliques, le vieillissement, la maladie d'Alzheimer et la maladie de Parkinson (Tan et *al.*, 2018).

Le rôle étiologique du stress oxydant dans les mécanismes de mort cellulaire au cours des maladies neurodégénératives est évoqué depuis plusieurs années. Parmi ces affections, la maladie d'Alzheimer. Selon l'OMS (2020), la maladie d'Alzheimer est la forme la plus commune de démence (60-70%), cette dernière touche environ 50 millions de personnes dans le monde. C'est une maladie associée à l'âge et qui peut être définie comme un trouble affectant les principales zones du cerveau, et se caractérise par un déclin progressif de la mémoire (Villaflora et *al.*, 2012). L'acétylcholinestérase (AChE) est une enzyme qui hydrolyse de l'acétylcholine (ACh), un neurotransmetteur considéré comme jouer un rôle dans la maladie d'Alzheimer. Une des plus approches importantes pour le traitement de cette maladie implique l'augmentation du niveau d'acétylcholine dans le cerveau à l'aide d'inhibiteurs de l'AChE (Lane et *al.*, 2006).

De nombreuses preuves provenant d'expériences ont établi un lien entre le diabète de type 2 et le stress oxydatif en mesurant divers biomarqueurs, notamment les biomarqueurs de dommages à l'ADN et les produits de peroxydation lipidique (Inoguchi et *al.*, 2000). Le diabète est un trouble métabolique caractérisé par la présence d'une hyperglycémie attribuable à un défaut de la sécrétion d'insuline ou de l'action de l'insuline, ou des deux (Gbekley et *al.*, 2007). L'élévation rapide du taux de glucose sanguin peut être contrôlée par l'inhibition de l' α -glucosidase, une enzyme responsable de l'hydrolyse des liaisons α -glucosidiques d'oligosaccharides libérant des unités monosaccharidiques contribuant à l'élévation de niveau de sucre dans le sang.

Le stress oxydatif provoqué par une quantité excessive de ROS est lié de façon simple aux troubles dermatologiques comme l'hyperpigmentation. La tyrosinase est une enzyme importante dans la mélanogenèse, un processus qui détermine la couleur de la peau et des cheveux ainsi qu'une protection contre le rayonnement UV nocif. La surproduction et l'accumulation de pigments mélaniques dans la peau conduit au développement de diverses troubles dermatologiques (Zeitoun et *al.*, 2016).

Certaines pathologies survenant au cours de l'infection par des microorganismes peuvent être attribuées au stress oxydatif. Les réponses adaptatives microbiennes aux stress oxydatifs dans le microenvironnement de l'hôte peuvent offrir l'avantage supplémentaire de faciliter la survie pendant l'exposition aux antibiotiques (Pohanka, 2013).

Récemment, les études présentent un grand intérêt à trouver des anti-oxydants naturels à partir de matières végétales pour remplacer les synthétiques. Les composés antioxydants naturels qui sont largement distribués dans les plantes sont capables d'arrêter une réaction d'oxydation induite par un radical libre et aurait des activités bénéfiques dans la protection du corps humain de plusieurs maladies.

L'utilisation d'extraits de plantes et de leurs phytoconstituants dérivés a un avenir probable pour contrôler diverses pathologies.

Dans le présent travail nous sommes incités à la recherche de nouvelles sources de molécules naturelles disposées d'activités biologiques. Notre choix pour ces fins s'est concentré sur cinq plantes issues de deux régions (aride et semi-aride) de l'Algérie, en vue de valoriser leurs extraits. Il s'agit de *Pistacia atlantica*, *Lavandula antineae*, *Thymus algeriensis*, *Marrubium alysson* et *Jasminum fruticans*, qui sont connues par leur utilisation en médecine traditionnelle.

Les objectifs assignés dans cette étude sont les suivants:

-Screening phytochimique puis un dosage des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins suivi par une analyse par HPLC/UV des extraits méthanoliques des plantes choisies.

-Analyse par CPG/SM des huiles essentielles de *L. antineae* et *T. algeriensis*.

-Evaluation de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique des plantes étudiées par différentes méthodes: piégeage des radicaux libres (DPPH et ABTS), tests de réduction de fer (test FRAP, méthode à Phenanthroline, méthode à Ferrozine), test de réduction de cuivre (test CUPRAC) et test de blanchissement du β -carotène.

-Tester le pouvoir de ces extraits à inhiber quelques enzymes (l'acétylcholinestérase, le butyrylcholinestérase, l' α -glucosidase et la tyrosinase) impliquées dans des maladies sévères comme la maladie d'Alzheimer, le diabète type 2 et l'hyperpigmentation de la peau.

-Estimation de l'effet antimicrobien des deux extraits acétate d'éthyle et *n*-butanol des différentes plantes concernées.

1 Partie Bibliographique

1.1 Stress oxydatif et quelques maladies et complications liées

1.1.1 Définition du stress oxydatif

Le stress oxydatif peut être défini comme un déséquilibre entre les systèmes prooxydants et antioxydants en faveur des premiers et impliquant la production des espèces réactives de l'oxygène (radicaux libres) (Ichai, 2011). La formation incontrôlée d'espèces réactives de l'oxygène aura des conséquences souvent lourdes pour l'organisme mais elle n'est pas toujours synonyme de la toxicité. En effet certaines espèces réactives de l'oxygène sont des intermédiaires de processus physiologiques normaux (Pelletier et *al.*, 2004) d'un part les globules blancs utilisent les radicaux libres pour éliminer bactéries et virus, ils leur injectent un radical superoxyde, dans l'autre part les radicaux libres sont utilisés pour éliminer les cellules anciennes ou défectueuses qui sont par suite remplacées par des cellules neuves (Causse, 2005).

Les radicaux libres ont un rôle fondamental dans le signal apoptotique, il apparaît que la fonction physiologique fondamentale de l'apoptose est la protection de tissu contre le stress oxydatif en éliminant les cellules productrices des radicaux libres. Au niveau de la mitochondrie, la perméabilisation de la membrane (permettant l'entrée des protéines pro-apoptotique) et les altérations secondaires de la chaîne respiratoire augmentent la production de radicaux libres : les radicaux libres ainsi produits par la mitochondrie sont les médiateurs actifs de la régulation de l'apoptose (Martin et *al.*, 2006).

Ce n'est que lorsque les systèmes de défenses sont dépassés et ne suffisent plus à neutraliser la surproduction de ces espèces que la toxicité est apparue (Pelletier et *al.*, 2004) (Figure 1).

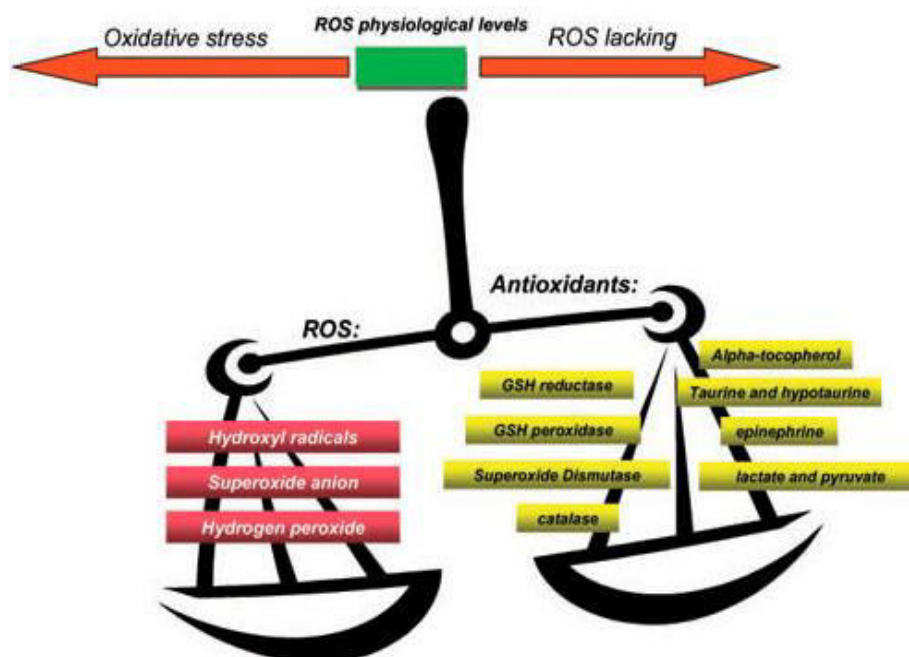


Figure 1: Déséquilibre entre le système anti-oxydant et les ROS (Garrido et *al.*, 2004)

1.1.2 Radicaux libres

Un radical libre se définit comme tout atome, groupe d'atomes ou une molécule possédant un électron non apparié (célibataire) sur leur orbitale externe. Il s'agit d'espèces chimiques très réactives qui cherchent dans leur environnement pour s'apparier (c'est-à-dire pour former une liaison chimique) (Jadot, 1994). La première source de radicaux libres est naturelle, la transformation des aliments en énergie et en eau génère environ 2% de molécules d'oxygène auxquelles il manque un électron. Ils sont aussi produits au cours des inflammations, du stress chronique (Edeas, 2005) et ils augmentent en cas de diabète (Varvarovska et al., 2003). La deuxième source des radicaux libres est externe, lors de l'exposition au soleil, avaler des légumes traités par des pesticides, l'exposition aux polluants, les additifs alimentaires, certains médicaments, les solvants... et par une mauvaise hygiène de vie (tabac, alcool) (Causse, 2005 ; Chegrani, 2010).

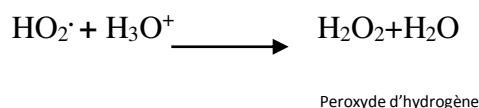
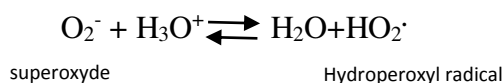
1.1.2.1 Différent radicaux libres et peroxyde d'hydrogène

Les différents radicaux libres et le peroxyde d'hydrogène interviennent dans la voie univalente de l'oxygène, il s'agit de :

- Radical superoxyde ($O_2^{\circ-}$)
- Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)
- Radical hydroxyle (OH°)
- L'oxygène singulet (O_2^*)
- Des radicaux alcoxy ($RO\cdot$) et peroxy ($ROO\cdot$)

-*Le radical superoxyde ($O_2^{\circ-}$)* il est produit par l'autooxydation de nombreuses molécules intracellulaires, soit au cours de réactions enzymatiques survenant dans la chaîne respiratoire, soit comme conséquence de l'action de différents facteurs exogènes, radiations ou produits chimiques toxiques.

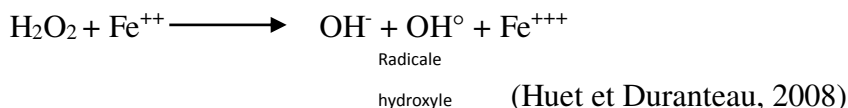
-*Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)* le peroxyde d'hydrogène, n'est pas un radical libre, il est formé secondairement à la dismutation de ($O_2^{\circ-}$) par la peroxyde dismutase ou produit par réduction bivalente de l'oxygène grâce à un grand nombre de déshydrogénase, notamment l'acyl CoA déshydrogénase, la NADH déshydrogénase, la xanthine oxydase, l'uricase, la mono-amine-oxydase...



(Baskin et Salem, 1997)

-*Le radical hydroxyle (OH°)* c'est un puissant oxydant capable de réagir avec une multitude de molécules par perte d'un hydrogène, addition ou transfert d'un électron. Sa formation peut se faire à partir de l'eau oxygénée en présence de minimes quantités de fer. Dans la cellule

l'apparition de (OH°) résulte de l'activité de la xanthine oxydase, l'action de certains médicaments antinéoplasiques entraîne aussi sa formation.



-L'oxygène singulet (O_2^*) c'est la forme excitée de l'oxygène moléculaire, il est formé en moindre quantité que les radicaux libres précédents mais il est important car il apparaît lors de la peroxydation lipidique, il est inhibé par la vitamine C qui intervient directement en diminuant la lipidoperoxydation.

-Les radicaux alcoxy (RO^\cdot) et peroxy (ROO^\cdot) ils peuvent être générés par l'action de $\text{O}_2^{\circ-}$, OH° et de l'oxygène singulet sur des acides gras.

1.1.2.2 Mode d'action des radicaux libres sur les molécules de la cellule

L'apparition dans un milieu quelconque d'un radical avide d'un électron pour s'apparier crée une réaction en chaîne, en effet l'électron perdu fait de la molécule, de l'atome ou du groupe de molécules dont il a été enlevé un nouveau radical libre, ainsi se propage les dommages qui altèrent tout les constituant de la cellule : lipides, protéines, vitamines et ADN et conduisent à la maladie (Jadot, 1994 ; Causse, 2005).

Tableau 1: Mode d'action des radicaux libres sur les principales molécules constituant la cellule (Jadot, 1994)

Les molécules altérées par les radicaux libres	Mode d'action
Les lipides	Agissent sur les acides gras insaturés Modification de la fluidité membranaire Lipidoperoxydation et la lyse des membranes cellulaires
Les protéines	Agissent sur les protéines porteuses des groupements sulfhydriles Modification du collagène et de l'acide hyaluronique Fibrose et sclérose
Les acides nucléiques	Dénaturation de l'ADN Des perturbations sur la réplication

1.1.3 Système de défense antioxydant

Il existe une formation physiologique de radicaux libres au cours de différents processus métaboliques : la chaîne oxydative mitochondriale, la synthèse de prostaglandine, la phagocytose, ces radicaux libres sont toxiques pour l'organisme directement ou indirectement (Greff, 2012).

Pour faire face à ces attaques, les organismes ont développés des systèmes d'action antioxydante, dont le siège est cytoplasmique ou membranaire (Greff, 2012), ils visent à : 1) à éliminer les espèces réactives et les catalyseurs de leurs formation, 2) à induire la synthèse des

antioxydants et 3) à augmenter l'activité des systèmes de réparation et d'éliminer les molécules endommagées (Pelletier et *al.*, 2004).

La ligne de défense comporte des molécules non enzymatiques et des enzymes. Les antioxydants non enzymatiques sont constitués de vitamines (C, E et bêta-carotènes), d'oligo-éléments (Zinc et sélénium), et de glutathion. Les enzymes antioxydantes sont le superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la peroxydase (Papazian et Rosh, 2008).

1.1.3.1 Systèmes non enzymatiques

-La vitamine C : elle comprend l'acide ascorbique et l'acide déhydroascorbique, c'est un réducteur susceptible d'influencer la peroxydation lipidique. Hydrosoluble, elle joue un rôle antioxydant dans le plasma.

-La vitamine E (le tocophérol) : il agit comme antioxydant au niveau des radicaux hydroperoxydes.

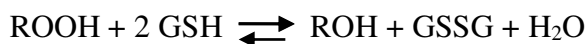
-Bêta-carotènes et caroténoïdes : ils ont un effet antioxydant lié principalement à une réaction avec les radicaux peroxydes. Le bêta-carotène utilise l'énergie du radical pour changer de conformation (passage de la forme *cis* à la forme *trans*).

-Oligoéléments : le zinc et le sélénium : le zinc exerce une action antioxydante par le biais de plusieurs mécanismes : il protège de l'oxydation les groupes sulfhydryls de certaines protéines (enzymes), il peut avoir un effet antioxydant direct en captant les radicaux OH[°], il a une action antioxydante indirecte en rentrant en compétition avec le fer et le cuivre. Le zinc a une action stabilisante au niveau des membranes ayant subi une peroxydation, il joue aussi un rôle fondamentale dans la structure des enzymes antioxydantes. Le sélénium intervient dans d'autres enzymes antioxydantes telles que la glutathion peroxydase sélénium dépendante et les transférases sélénium dépendantes (Piquet et Hébuterne, 2007).

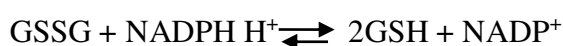
-La glutathion (tripeptide glutamyl-cystéinyl-glycine) : il agit comme donneur des électrons permettant d'éliminer les espèces réactives comme OH[°] mais surtout comme substrat des glutathion peroxydases pour la réduction des peroxydes (Pelletier et *al.*, 2004).

1.1.3.2 Systèmes enzymatiques

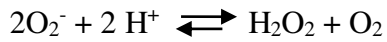
-Les peroxydases : elles catalysent la réduction conjointe d'un hydro-peroxyde et d'un peroxyde organique, le glutathion (GSH) suivant la réaction suivante :



Le maintien d'activité peroxydase implique le recyclage du NADPH-dépendant du glutathion réduit par une glutathion réductase, le NADPH étant produit par la voie des pentoses phosphates :



-Les superoxydes dismutases: métaloenzyme capable de dismuter l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène, moins réactif suivant la réaction :



-Les catalases : qui catalysent la réduction du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire :



(Pelletier et al., 2004)

Un système de défense secondaire composé d'enzymes, dont le rôle consiste à empêcher l'accumulation dans la cellule et de protéines ou d'ADN oxydés et à dégrader leurs fragments toxiques, complète la panoplie des moyens de protection (Piquet et Hébuterne, 2007).

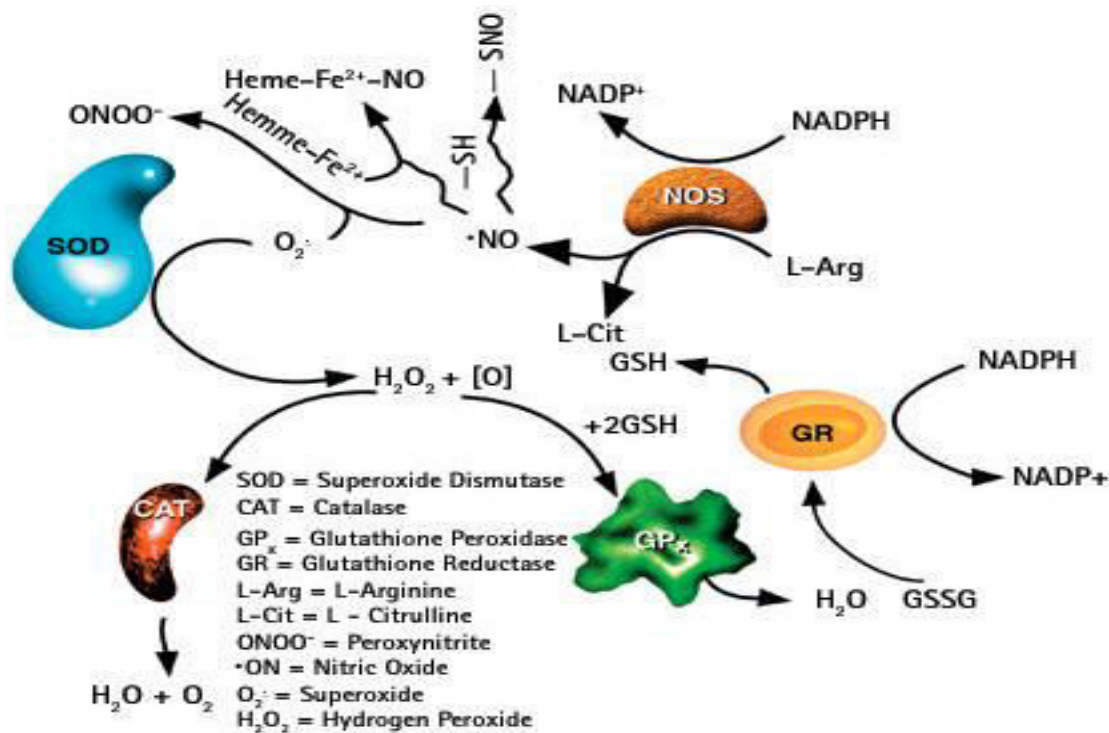


Figure 2: Espèces oxygénées actives et réseau antioxydant

1.1.4 Quelques maladies et complications liées au stress oxydatif

L'excès de radicaux libres non neutralisés par les défenses est très dommageable pour les macromolécules essentielles de nos cellules, entraînant anomalies d'expression des gènes et des récepteurs membranaires, prolifération ou mort cellulaire, troubles immunitaires, mutagenèse, dépôts de protéines ou de lipofuschine dans les tissus. Dans plusieurs maladies graves, notamment celles liées au vieillissement, le stress oxydant est le facteur déclenchant originel. C'est le cas des cancers, des pathologies oculaires (cataracte et dégénérescence maculaire), des maladies neurodégénératives (ataxies, sclérose latérale, maladie d'Alzheimer). La sclérose latérale amyotrophique familiale est l'exemple le plus démonstratif, puisque cette

maladie génétique est due à un défaut sur le gène de l'enzyme antioxydant superoxyde dismutase. Dans de nombreuses autres maladies, le stress oxydant est secondaire à l'établissement de la pathologie, mais participe à ses complications immunitaires ou vasculaires. C'est le cas de maladies infectieuses comme le sida ou le choc septique, le diabète, la maladie de Parkinson ou l'insuffisance rénale (Favier, 2006) (Figure 3).

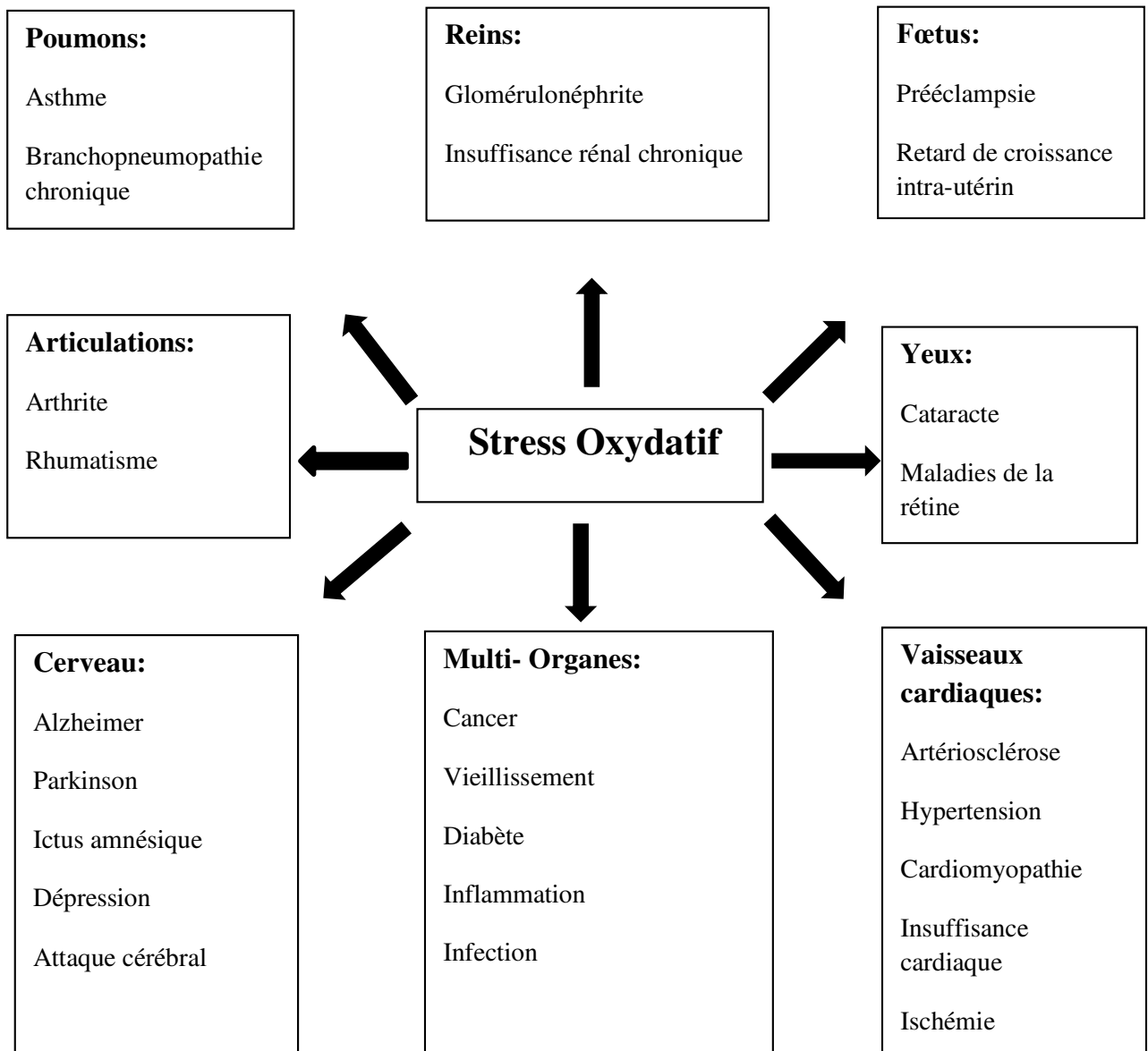


Figure 3: Maladies induites par le stress oxydatif (Pham-Huy et al., 2008)

1.1.4.1 Maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer (MA) se caractérise par un déclin progressif de la fonction cognitive. Cette maladie est considérablement accrue chez les personnes âgées de 65 ans et plus, avec un déclin progressif de la mémoire, de la pensée, de la langue et de la capacité d'apprentissage. La MA devrait être différenciée du déclin normal de la fonction cognitive lié à l'âge, qui est plus graduel et associé à moins d'incapacité (Mattson, 2008). La maladie commence souvent par des symptômes bénins et se termine par de graves lésions cérébrales. Les personnes atteintes de démence perdent leurs capacités à des rythmes différents (Gross et *al.*, 2012; Shaffer et *al.*, 2012; Honjo et *al.*, 2012; Braak et Del Tredici, 2012 ; Revett et *al.*, 2013).

La maladie d'Alzheimer est une maladie neurodégénérative chronique caractérisée par des mécanismes physiopathologiques bien définis, touchant principalement le lobe temporal interne et les structures néocorticales associatives. Les plaques neuritiques et les enchevêtrements neurofibrillaires représentent les caractéristiques pathologiques de la MA et sont respectivement liés à l'accumulation du peptide bêta-amyloïde (A β) dans les tissus cérébraux et aux modifications cytosquelettiques résultant de l'hyperphosphorylation de la protéine Tau associée aux microtubules dans les neurones (De-Paula et *al.*, 2012).

Dans 95 % des cas, la MA est de forme sporadique, sans antécédents familiaux et à l'étiologie inconnue (Rocchi et *al.*, 2003). Comme c'est le cas dans la plupart des autres maladies liées à l'âge (diabète, maladie de Parkinson, maladie cardiovasculaire.....), l'âge, l'environnement et d'autres facteurs s'y rattachant jouent un rôle non négligeable.

Le cerveau est riche en phospholipides, qui sont essentiels aux processus de neurotransmission et à la base des interactions neuronales et de la cognition. Les phospholipides du cerveau contiennent une proportion élevée d'acides gras polyinsaturés (AGPI), notamment l'acide docosahexaénoïque et l'acide arachidonique. Il a été constaté que lorsque la production de radicaux libres augmente, le contenu en AGPI dans le cerveau diminue progressivement. En outre l'augmentation du taux de protéine carbonyle, marqueur des dommages oxydatifs des protéines, a été démontrée dans le cerveau atteint de la maladie d'Alzheimer (Soderberg et *al.*, 1991; Keller et *al.*, 2005 ; Skoumalova et Hort, 2012).

L'oxydation de l'ADN peut conduire à la formation de 8-hydroxydésoxyguanosine (8-OHdG). Le niveau de 8-OHdG dans l'ADN mitochondrial isolé du cortex pariétal de patients atteints de MA est considérablement augmenté (trois fois) par rapport aux sujets témoins (Mecocci, 1994).

La modification oxydative de l'ARN est également augmentée dans le cerveau atteint de MA (Nunomura *et al.*, 1999).

Les ROS peuvent être produites par la perturbation de la phosphorylation oxydative dans les mitochondries ou par d'autres réactions. Par exemple, un dysfonctionnement de la chaîne respiratoire peut conduire à la libération de radicaux libres, y compris de ROS (Yan *et al.*, 2013, Zhao *et al.*, 2013). Pour éliminer ces radicaux libres, les neurones peuvent initier des mécanismes de prévention des dommages oxydatifs. Il est intéressant de noter que certaines études suggèrent qu'A β est initialement une compensation pour les concentrations écrasantes de ROS (Paola *et al.*, 2000, Castegna *et al.*, 2002). A β a une activité antioxydante et protège les lipoprotéines de l'oxydation dans le LCR et le plasma (Nunomura, 2000).

L'Acétylcholine est le neurotransmetteur utilisé par tous les neurones cholinergiques, qui joue un rôle très important dans les systèmes nerveux périphérique et central. Tous les neurones parasympathiques pré- et post-ganglionnaires et tous les neurones sympathiques pré-ganglionnaires utilisent l'ACh comme neurotransmetteur. De plus, une partie des neurones sympathiques post-ganglionnaires utilise également l'ACh comme neurotransmetteur (Ferreira-Vieira, 2016). Compte tenu de sa large distribution dans le cerveau, il n'est pas surprenant que la neurotransmission cholinergique soit responsable de la modulation de fonctions neurales importantes. Le système cholinergique est impliqué dans des processus physiologiques critiques, tels que l'attention, l'apprentissage, la mémoire, la réponse au stress, la veille et le sommeil et les informations sensorielles. Des données expérimentales utilisant des primates non humain et des rongeurs ont démontré que les lésions introduites dans les neurones cholinergiques basaux du cerveau antérieur qui innervent le cortex entraînent un déficit de l'attention (Voytko *et al.*, 1994 ; Bucci *et al.*, 1998). De plus, les données publiées indiquent que ACh est impliqué dans la mémoire (Dunnett *et al.*, 1991 ; Sarter *et al.*, 1996). L'importance des neurones cholinergiques du noyau basal de Meynert sur la mémoire est mise en évidence par le fait que la dégénérescence spécifique de ces neurones se produit dans la maladie d'Alzheimer et contribue à la perte de mémoire manifestée par les patients atteints de MA (Whitehouse *et al.*, 1981 ; Whitehouse *et al.*, 1982). L'enzyme choline acétyltransférase peut synthétiser l'ACh à partir de la choline et de l'acétyl-coenzyme A (acétyl-CoA). Après cela, le neurotransmetteur est transporté par le transporteur vésiculaire d'acétylcholine du cytosol dans les vésicules synaptiques (Nachmansohn *et al.*, 1943 ; Potter *et al.*, 1970). Lorsque les neurones cholinergiques sont dépolarisés, l'ACh est exocytée des vésicules synaptiques et libérée dans la fente synaptique, où elle peut activer à la fois les récepteurs muscariniques et

nicotiniques. L'ACh présent à la fente synaptique est rapidement inactivé par l'enzyme acétylcholinestérase (AChE), libérant de la choline et de l'acétate.

Plus récemment, une corrélation inverse a été trouvée entre l'activité de la choline acétyltransférase et le dépôt d'amyloïde β dans le gyrus temporal inférieur de personnes, à l'autopsie, qui avaient une fonction cognitive normale (Beach et *al.*, 2000). La stratégie thérapeutique prédominante dans la prise en charge de la maladie d'Alzheimer repose sur le rétablissement de la fonction cholinergique au moyen de composés bloquant les enzymes qui dégradent l'acétylcholine (Lovestone et Howard, 1995; Massoud et Gauthier, 2010) comme la tacrine, le donepezil, la galantamine. Les inhibiteurs de l'activité cholinestérase induisent malheureusement aussi des états dépressifs, ainsi des effets secondaires toxiques (Bachurin, 2003).

1.1.4.2 Diabète type 2

Le diabète de type 2 a été diagnostiqué chez environ 2,5 à 7% de la population mondiale (Abo et *al.*, 2008). Il s'agit d'un trouble métabolique caractérisé par la présence d'une hyperglycémie due à un manque de sécrétion d'insuline ou à un manque d'action de l'insuline, ou aux deux (Gbekley et *al.*, 2007).

Le diabète de type 2 a toujours été considéré comme une maladie des personnes âgées, mais de nos jours il est de plus en plus diagnostiqué chez les jeunes. Le développement de ce trouble chez les personnes de jeune âge semble être le résultat des changements sociaux, ainsi que l'urbanisation croissante, qui ont abouti à des modes de vie malsains (Vermunt et *al.*, 2013).

Des preuves convaincantes montrent que le stress oxydatif joue un rôle clé non seulement dans la pathogenèse du prédiabète et du diabète, mais aussi dans le développement de complications tardives (Giacco et Brownlee, 2010). Il a été observé chez les patients diabétiques que l'état hyperglycémique est associé à la génération des ROS, soumettant ainsi les cellules β du pancréas dans un environnement pro-oxydant (Dias et *al.*, 2016). Comparativement aux autres tissus, les cellules β ont une faible abondance en enzymes de défense antioxydante, telles que SOD, CAT et GPx (Lenzen et *al.*, 1996). Par conséquent, la faible capacité antioxydante inhérente aux cellules productrices d'insuline, les rend très susceptibles au dysfonctionnement par action des ROS (Evans et *al.*, 2012). L'excès de sucres dans le sang ainsi que de graisses, peut initier une série de perturbations métaboliques, telles que l'inflammation, le dysfonctionnement endothélial, le durcissement des artères et l'athérosclérose subclinique (Rao, 2019). Une approche thérapeutique importante dans le traitement du diabète de type 2 consiste

à diminuer l'hyperglycémie post-prandiale en retardant l'absorption du glucose par l'inhibition des enzymes α -amylase et α -glucosidase dans le tube digestif. Les inhibiteurs d'enzymes retardent le taux d'absorption du glucose en empêchant la digestion des glucides et par conséquent atténuent l'augmentation du glucose plasmatique postprandiale (Asgar, 2013). En général, les cliniciens gèrent le diabète en administrant des anti-glycémiques et ne prêtent que très peu d'attention aux risques métaboliques associés. L'acarbose par exemple, un anti-diabétique très utilisé, peut développer plusieurs problèmes comme l'acuité visuelle, l'iléus et subileus, la colite lymphocytaire, la thrombocytopenie, l'érythème, l'exanthème, l'urticaire, l'hépatite et l'ictère (Rao, 2019 ; Shabaz et al., 2019).

1.1.4.3 Vieillessement de la peau et mélanogénèse

Le vieillissement de la peau est un processus dynamique provoqué par le vieillissement chronologique et le photovieillessement causés par l'influence de facteurs externes, notamment les rayons ultraviolets (UV). Le stress oxydatif cumulatif, la formation de radicaux libres et leurs effets néfastes sur les systèmes biologiques des cellules de la peau sont un mécanisme courant des processus de vieillissement de la peau. Les espèces d'oxygène réactif formées peuvent conduire à l'oxydation des molécules de construction de la cellule. L'un des mécanismes de défense de la peau est la défense anti-oxydante dans laquelle les enzymes et autres substances antioxydantes réagissent directement avec les ROS, les empêchant ainsi d'atteindre leur cible biologique. Les substances antioxydantes ont la capacité de lier les radicaux libres, causés par le stress oxydatif, et peuvent avoir une importance dans la prévention et / ou le traitement de diverses maladies de la peau, ainsi que dans le ralentissement du processus de vieillissement de la peau. De nombreuses études sur le photovieillessement cutané dû à l'oxydation fournissent de nombreuses informations sur la diminution du niveau d'activité des enzymes antioxydantes et de la capacité de défense des antioxydants, qui conduisent toutes ensemble à l'accumulation de dommages oxydatifs et de produits oxydants, à l'immunomodulation, à la stimulation de la mélanogénèse et de la carcinogénèse (Peres et al., 2011). Le processus de mélanogénèse détermine la couleur de la peau et des cheveux ainsi qu'une protection contre le rayonnement UV nocif. La surproduction et l'accumulation de pigment mélanique dans la peau conduit au développement d'hyperpigmentation dermatologique (Zeitoun et al., 2016). La tyrosinase est l'une des enzymes importantes qui jouent un rôle clé dans le processus de pigmentation (Lei et al., 2002), elle synthétise la mélanine en utilisant la L-tyrosine, la dihydroxyphénylalanine (L-DOPA) et le 5,6-dihydroxyindole comme substrats. Tout d'abord, la L-tyrosine est hydroxylée pour former la L-

DOPA, qui est ensuite oxydée en L-DOPAquinone, qui sera ensuite transformée en eumélanine (pigment noir ou brun) et en phaeomélanine (pigment jaune ou rouge) (Costin et Hearing, 2007). Comme la mélanogénèse consiste en une séquence de réactions d'oxydation, il en résulte une génération continue de ROS tout au long de ce processus: H₂O₂ à ses débuts (Mastore et *al.*, 2005), mais également lors du cycle redox d'indoles en quinones (Nappi et Vass, 1996), de radicaux hydroxyle et d'anion superoxyde en raison de l'activité catalytique de la tyrosinase (Koga et *al.*, 1992; Sander et *al.*, 2004). De plus, des intermédiaires oxydants comprenant des quinones réactives, cytotoxiques vis-à-vis des protéines et de l'ADN dans les cellules, sont générés au cours de la mélanogénèse (Ito et Wakamatsu, 2008).

1.1.4.4 Maladies infectieuses

Le stress oxydatif joue un rôle dans les infections. Les radicaux libres peuvent endommager les tissus pendant l'inflammation. Au cours du processus d'infection, il y a génération d'espèces réactives par la myéloperoxydase, la NADPH oxydase et l'oxyde nitrique synthase. D'autre part, des espèces réactives peuvent être générées entre autres, par le cytochrome P450, certains métaux et la xanthine oxydase. Certaines pathologies survenant au cours de l'infection peuvent être attribuées au stress oxydatif et la génération d'espèces réactives lors de l'infection peut même avoir des conséquences fatales (Pohanka, 2013).

Les altérations de l'organisme infecté ont pour conséquences des modifications anatomiques, chimiques, biologiques et physiologiques qui forment le syndrome infectieux (la fièvre, des hypertrophies des ganglions lymphatiques, des signes variés: cardiologiques, urinaires, respiratoires, digestifs, neuropsychiques, cutanéomuqueux). (Pebret, 2003 ; Brugere-Picoux et Rey, 2010).

Il n'existe pas de vaccins contre toutes les maladies, de plus certains ne sont pas assez fréquents ou graves pour justifier une vaccination de toute la population. C'est pourquoi la guerre contre les microbes nécessite un autre type d'armes, les agents anti-infectieux. Alors que les vaccins sont destinés à des personnes chez lesquels il s'agit d'induire une immunité protectrice, les agents anti-infectieux sont au contraire destinés à des personnes déjà infectés (Schwartz et Rodhain, 2008).

Il existe différentes classes d'agents antimicrobiens : chimiques (oxydants, alcools, aldéhydes et gaz), physiques (température et rayonnement) et chimiothérapeutiques (antibiotiques). Les antibiotiques sont des substances antibactériennes d'origine naturelle (fabriquées par des champignons ou des bactéries), ou d'origine synthétique.

Un antibiotique peut agir à différents niveaux:

- Au niveau de la paroi en inhibant la synthèse de peptidoglycane.
- Au niveau cytoplasmique.
- En inhibant la synthèse de l'ADN bactérien.
- En agissant sur la synthèse des ARN des ribosomes.

La résistance aux antibiotiques se définit par l'inefficacité de la dose d'antibiotique au niveau du site infectieux. Essayer de maîtriser la résistance c'est d'abord comprendre les mécanismes qui la déterminent (Michel-Briand, 2012). Elle est génétique, soit secondaire à une mutation chromosomique, soit due à l'acquisition de gènes étrangers (plasmides, transposons).

Les bactéries résistent aux antibiotiques par plusieurs mécanismes distincts qui peuvent se cumuler:

- Interférence avec le transport; la pénétration et le maintien de l'antibiotique dans la bactérie: accélération de l'efflux système (exemple les porines de bacilles à Gram négatif).
- Détoxification enzymatique de l'antibiotique (exemple bêtalactamases, enzymes inactivant les aminoglycosides).
- Altération de la cible (bêtalactamines).
- Substitution de la cible (exemple sulfamides, triméthoptrime).
- Gènes de résistances multiples aux antibiotiques.

Les souches résistantes viennent de patients eux mêmes ou de leur environnement.

Les facteurs favorisant l'émergence de bactéries résistantes sont l'espèce bactérienne (exemple Staphylocoques; *Pseudomonas*, mycobactéries) et l'antibiotique utilisé: certains antibiotiques sont l'objet d'une fréquence de mutation élevé vers la résistance (Skurnik et Andremon, 2006).

1.2 Métabolites secondaires

Les produits de métabolismes des plantes sont classés en métabolites primaires et secondaires. Les métabolites primaires comme les protéines, les lipides, les glucides et les acides nucléiques constituent la machinerie métabolique de base de toute cellule. Au contraire les métabolites secondaires peuvent ne se rencontrer que dans des tissus spécifiques, ou à des stades particuliers

de développement, ils ne jouent pas un rôle dans le développement ni dans la survie de l'organisme (Hopkins, 2003).

Les produits du métabolisme secondaire sont en très grand nombre, plus de 200.000 structures définies (Hartmann, 2007) et sont d'une variété structurale extraordinaire mais sont produits en faible quantité. Des milliers d'entre eux ont été identifiés dans plusieurs classes de plante. Chaque famille de plantes, genre, et espèce produisent un mélange caractéristique de ces produits chimiques, et ils peuvent parfois être utilisés comme marqueurs taxonomiques dans la classification des plantes (Thrane, 2001). Dans la plupart des références, il est indiqué que les métabolites secondaires extraits de plantes sont subdivisés en trois classes principales: polyphénols, terpénoïdes, alcaloïdes. Ils contiennent de nombreux produits naturels avec activités pharmacologique intéressantes (Verpoorte, 1998; Savithramma et *al.*, 2011).

1.2.1 Les composés phénoliques

Les polyphénols (environ 8000 composés connus) représentent un groupe de métabolites secondaires complexe exclusivement synthétisés dans le règne végétal, ils sont très abondant dans les fruits et les aliments dérivés des plantes (jus des fruits, le thé, le café, le chocolat, les céréales...) (Scalbert et *al.*, 2005). Ces composés sont responsables, d'un grand part, des caractéristiques organoleptiques de l'alimentation d'origine végétale et plus particulièrement le goût et la couleur (Cheynier, 2005), comme ils jouent un rôle dans la protection des plantes contre les stressés biotiques et abiotiques et rentre dans la structure de certains tissus végétaux (Cheynier et *al.*, 2012).

Les molécules phénoliques sont des composés qui contiennent un groupe phénol (anneau aromatique avec un groupe hydroxyle). Ils peuvent avoir des substituant différents (Buchanan et *al.*, 2000), on y trouve :

-Les flavonoïdes (flavanols, chalcones, aurones, dihydrochalcones, anthocyanidines et flavones, flavanones, flavanes, isoflavones) ;

-Les acides phénoliques de type benzoïque ou cinnamique et les tannins hydrolysables (gallo et ellagitannins) ;

-Les stilbènes et les coumarines;

-Les lignines et subérines et lignanes (Collin et Crouzet, 2011).

1.2.1.1 Biosynthèse

Il existe deux voies de biosynthèse des polyphénols : la voie de phénylpropanoïde et phénylpropanoïde acétate et la voie des shikimates.

-Voie de phénylpropanoïde et phénylpropanoïde acétate

La plupart des composés phénoliques dérivent de cette voie, elle se départ par la tyrosine et la phénylalanine, L'étape d'engagement de la voie est catalysée par l'enzyme PAL (phénylalanine ammonium lyase) qui catalyse les réactions de convertissement de la tyrosine en acide p-coumarique et de la phénylalanine en acide cinnamique (Figure 4) et (Figure 5).

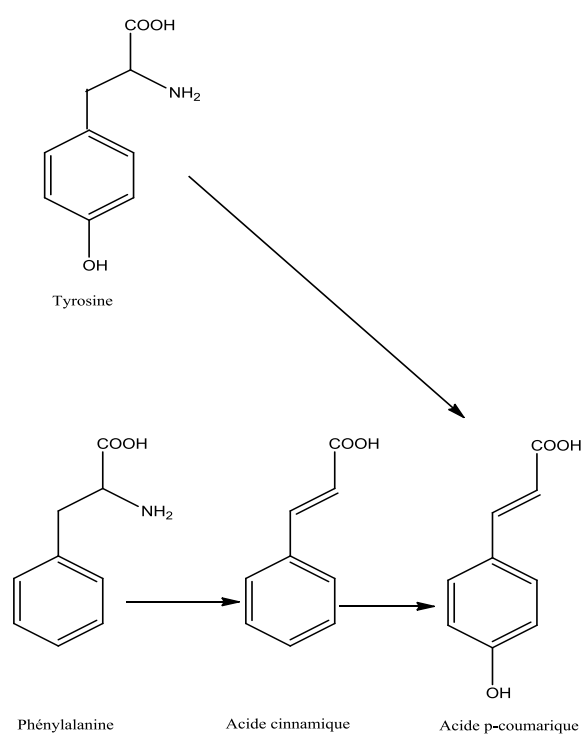


Figure 5 : Conversion de la tyrosine en acide cinnamique

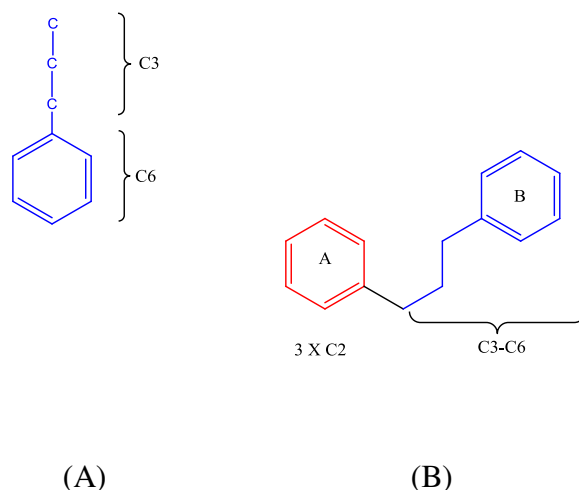
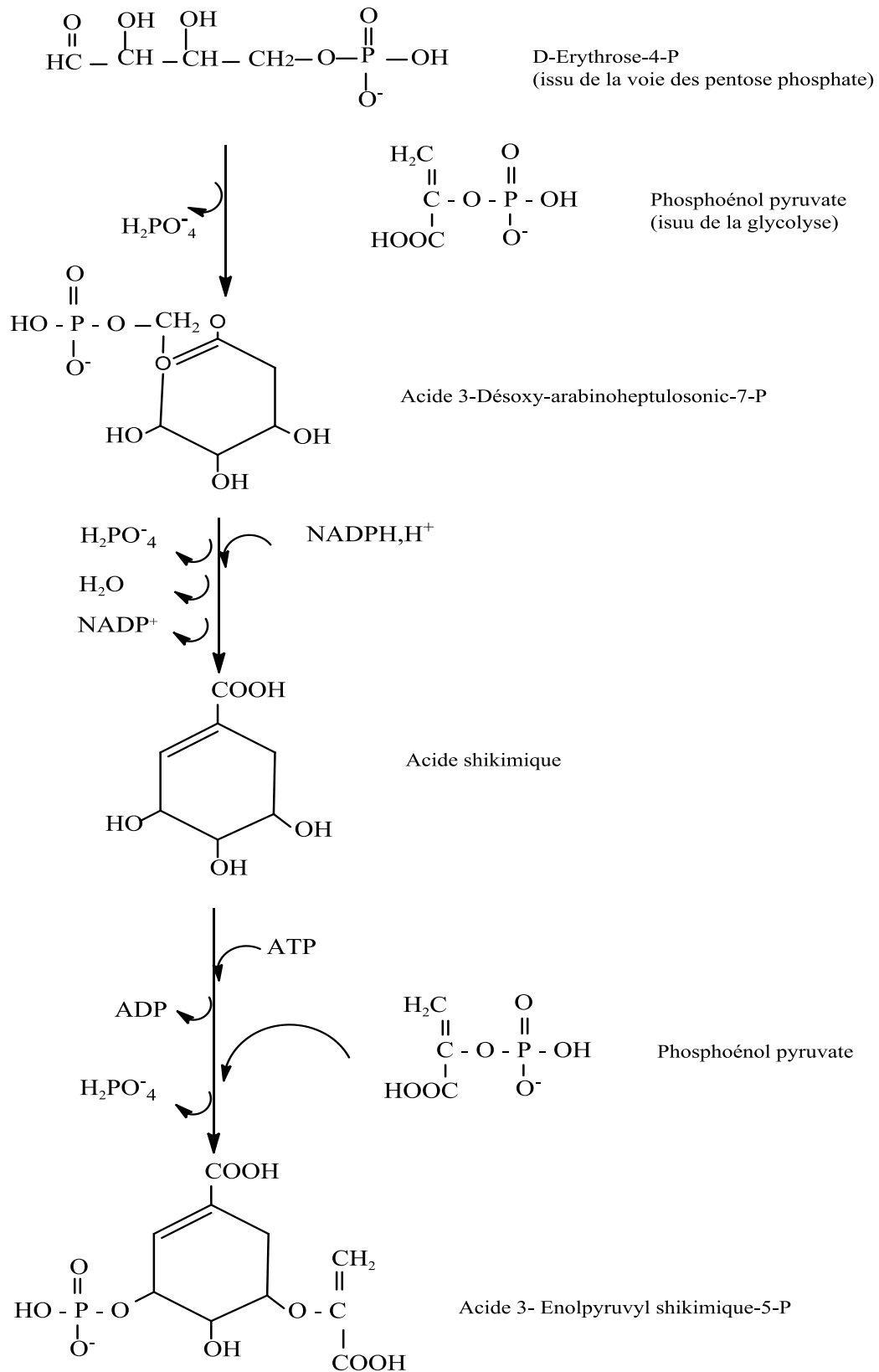


Figure 4 : Squelettes carbonés des dérivés du métabolisme des phénylpropanoïdes, A : Squelette phénylpropane : C6 – C3, dérivant du squelette carboné de la Phe, à l'origine des phénylpropanoïdes simples. B : Squelette phénylpropane - acétate : C6C3– C6, issu de la liaison entre un dérivé phénylpropane, le p-coumaroyl-CoA (bleu, B), et de la condensation de trois molécules de malonyl-CoA (noyau aromatique en rouge, A)



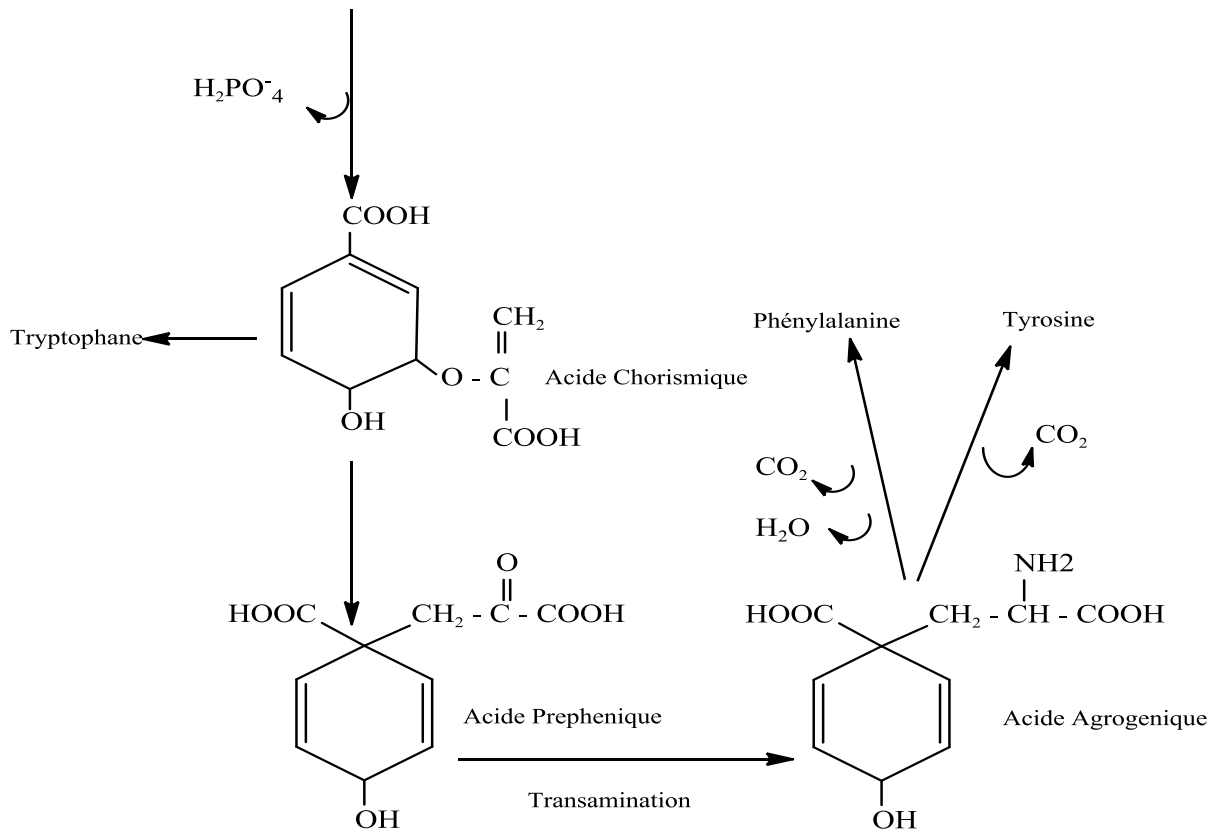


Figure 6: Voie de l'acide shikimique (Buchanan, 2000)

L'acide p-coumarique est le précurseur de certains produits secondaires: lignines, lignanes, suberines, flavonoïdes et coumarines.

-Voie des shikimates

L'acide shikimique se forme par une série de conversions biologiques dont la première étape est une condensation aldolique stéréospécifique entre le phosphoénolpyruvate (PEP) et l'érythrose-4-phosphate pour former un composé en C, dont la cyclisation conduit à l'acide déhydroquinique, qui se déshydrate pour donner l'acide déhydroshikimique qui à son tour conduit à l'acide shikimique par une réaction de réduction. L'acide shikimique qui résulte des molécules intermédiaires de la glycolyse ou de la voie des pentoses phosphate est utilisé pour la synthèse de la tyrosine et la phénylalanine (Figure 6).

A l'échelle cellulaire, les composés phénoliques ayant un caractère hydrophile sont présents dans la vacuole tandis que la lignine et les différentes formes liées à des structures lipidiques sont retrouvées au niveau de la paroi (Macheix et *al.* 2005).

1.2.1.2 Classification des polyphénols

Les polyphénols sont classés selon le nombre des cycles phénoliques et la structure de chaque cycle (Manach et *al.*, 2004).

1.2.1.2.1 Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont les polyphénols les plus abondants (Packer, 2001), ce groupe rassemble de nombreux composés naturels répartis en plusieurs familles dont les plus importants sont les flavones et les isoflavones, ce sont des pigments naturels qui donnent leurs couleurs aux plantes (Causse, 2005), presque toujours solubles, ils sont entre autres et pour certains responsables de la coloration des fleurs dont le pouvoir attracteur conditionne la pollinisation, ils sont localisés dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles assurant ainsi la protection des tissus contre les effets nocifs des rayonnements ultraviolet B (ils absorbent dans la région 280-315 nm), comme ils peuvent participer à la résistance des végétaux aux maladies (exemple : isoflavanes antifongique), voire jouer un rôle dans la relation plante-animal (insecte phytophage) (Bruneton, 2009) (Figure 7).

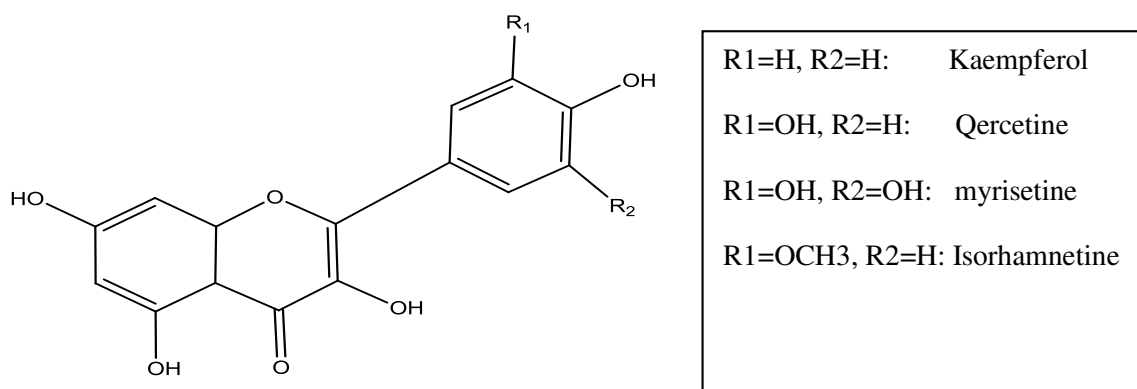


Figure 7: Structure de base des flavonoïdes

1.2.1.2.2 Acides phénoliques

Parmi les acides phénoliques, on distingue les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (C6-C1), ceux de l'acide hydroxycinnamique (plusieurs dérivés estérifiés) et des coumarines, tout possédant une structure du type (C6-C3) (Figure 8).

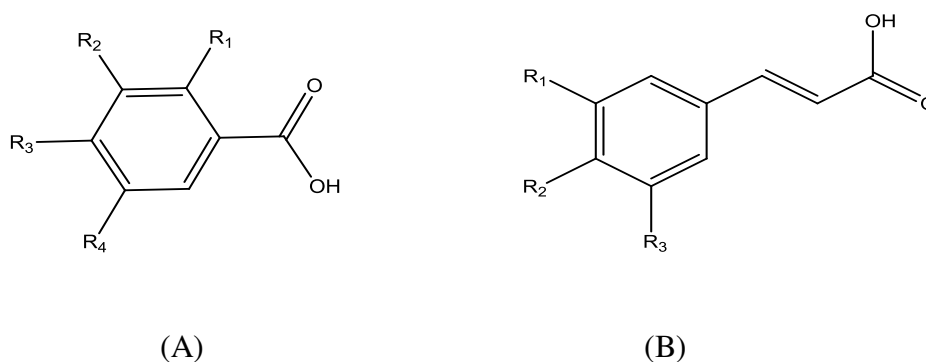


Figure 8: Structure de quelques acides phénoliques, (A): acide hydroxybenzoïque, (B): acide hydroxycinnamique

1.2.1.2.3 Stibènes

Plus de 30 stibènes et glycosides de stibènes sont présent naturellement dans le règne végétal, la structure chimique de base est composé de 2 cycles aromatiques joints par un pont méthylène (Figure 9). Les 2 formes isomères des stibènes (cis et trans) ont des propriétés chimiques et biologiques différentes.

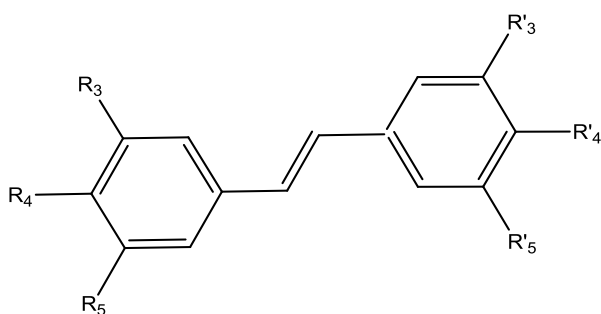


Figure 9: Structure de base des stibènes

1.2.1.2.4 Lignines et subérines

Les lignines et subérines sont des précurseurs de polymères pariétaux des plantes constituant des facteurs de défense contre les agents pathogènes. Chimiquement, les lignines sont des polymères d'alcools coniferylique, sinapylique et p-coumarylique (dérivant respectivement des acides ferulique, sinapylique et p-coumarique) (Figure 10). Par contre les subérines des polyesters des acides feruliques et p-coumariques avec des acides aliphatiques.

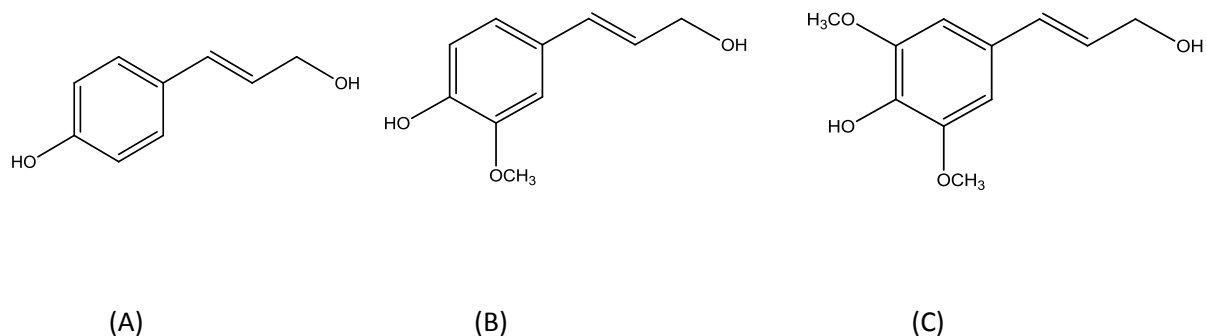


Figure 10: Structure de base des lignines, (A): alcool coumarylique, (B): alcool coniférylique, (C): alcool sinapylique

1.2.1.2.5 Tannins

Sont des polymères phénoliques complexes solubles dans l'eau, et ils peuvent précipiter les protéines. On distingue deux groupes selon leur structure et la voie de leur synthèse: les tannins condensés et les tannins hydrolysables, qu'on peut séparer par le méthanol qui n'extrait que ces derniers (Jarrige, 1995).

-**Tannins hydrolysables** plus de 1000 tannins hydrolysables sont décrits actuellement, ce sont des esters de glucose et d'acides phénols qui sont soit l'acide gallique (Gallotannins), soit l'acide ellagique (ellagitannins), qui est un dimère de l'acide gallique (Figure 11) (Gazengel et Orecchioni, 2013).

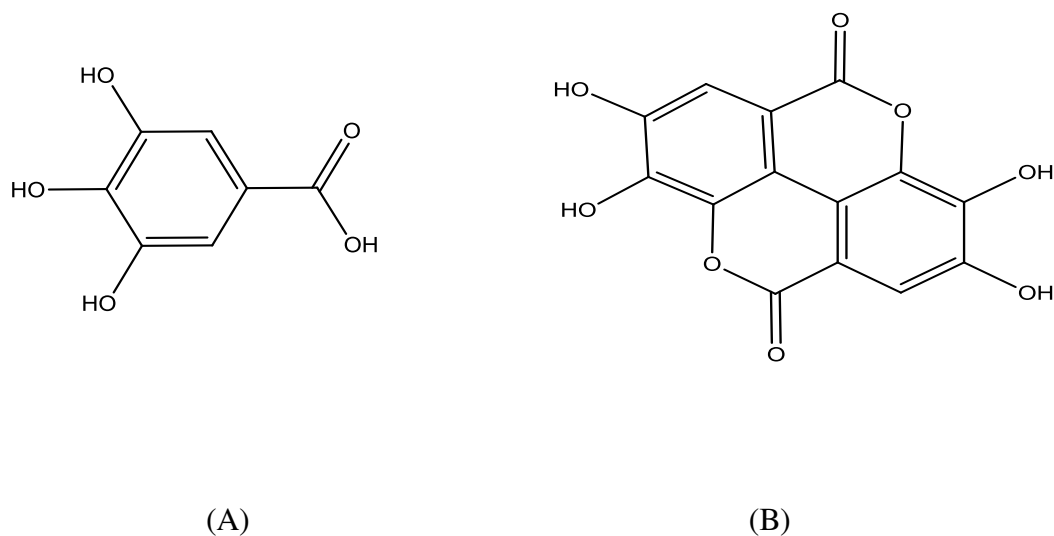


Figure 11: Exemple de Tannins hydrolysables, (A): acide gallique, (B): acide ellagique

-**Tannins condensés** connus aussi par les proanthocyanidines, sont des oligomères et des polymères de flavane-3-ol (Figure 12) et constitue la classe de polyphénols la plus abondante après la lignine. En raison de leur complexation avec les protéines salivaires, les tanins condensés sont responsables de l'astringence caractéristique des fruits avant maturité (raisin, pêche, pomme, poire, etc...) et de certaines boissons (vin, cidre, thé, etc...) et de l'amertume du chocolat (Cirillio et Lemma, 2012).

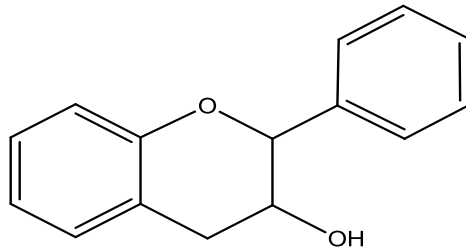


Figure 12: Structure de flavane-3-ol

1.2.1.3 Rôle et bienfaits

Au niveau de la plante, ils ont plusieurs rôles : Défense contre les pathogènes, molécules de dissuasion alimentaire, attraction des pollinisateurs, protections des rayonnements UV, molécules qui donnent couleur, arômes, parfums aux plantes, rôle structurel (exemple : lignine, constituante du bois) (Buchanan et *al.* , 2000).

Plusieurs études suggèrent qu'il existe une corrélation négative entre la consommation des polyphénols et la prévention de plusieurs maladies (De Meester, 2010).

Les polyphénols diminuent la perméabilité des capillaires et augmentent leurs résistances, elles ont aussi une action anti-oedémateuse. Atoxiques, elles sont préconisées dans le traitement de certaines maladies vasculaires : fragilité capillaire, insuffisance veineuse et symptomatologie hémorroïdaire. Elles favorisent la régénération du pourpre rétinien et peuvent être utilisé dans certains troubles circulatoires au niveau de la rétine et améliorer la vision crépusculaire. Ce sont aussi des colorants végétaux autorisés (alimentation, pharmacie).

En cas des tannins par exemple, ils ont un effet antidiarrhéique, favorisent la régénération des tissus en cas des blessures ou de brulures et ils ont aussi un effet vasoconstricteur (Roux et Catier, 2007).

1.2.2 Terpènes

Les terpènes forment une classe d'hydrocarbures insaturés non méthanique produits par de nombreuses plantes (Blierfert et Perraud, 2007). Les terpènes sont des dimères de l'isoprène C_5H_8 (Figure 13) et ont pour formule de base des multiples de celle-ci $(C_5H_8)_n$. Leur squelette de carbone est constitué d'unités isopréniques reliées entre eu. Ces squelettes peuvent être arrangés de façon linéaire ou bien former des cycles.

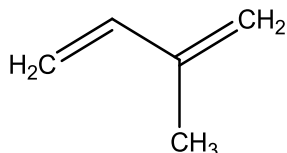


Figure 13: Unité isoprène

1.2.2.1 Biosynthèse

-Voie des mévalonates

L'acide mévalonique est obtenu à partir du métabolisme des sucres après formation de l'acétyl coenzyme A. L'acide mévalonique ou le mévalonate est considéré comme précurseur universel des terpènes. L'acide mévalonique est formé par condensations successives de 3 molécules d'acétyl-coenzyme A. La conversion de l'acide mévalonique en structures hémiterpéniques débute par une double phosphorylation : l'acide mévalonique-5-phosphate formé subit ensuite une décarboxylation et une déshydratation pour donner l'isopenténylpyrophosphate (IPP) (Figure 14). Le pyrophosphate d'isopentényle est isomérisé en diméthylallylpyrophosphate (DMAPP) qui, par additions séquentielles de l'IPP, aboutit à la formation des précurseurs des différentes classes des terpènes (Seigler, 2012).

-Voie de Shikimate

A partir de cet important précurseur se forment, par des réactions, d'éliminations, de réarrangements intramoléculeaires, etc..., les dérivés aromatiques (Figure 06) (Mann, 1987).

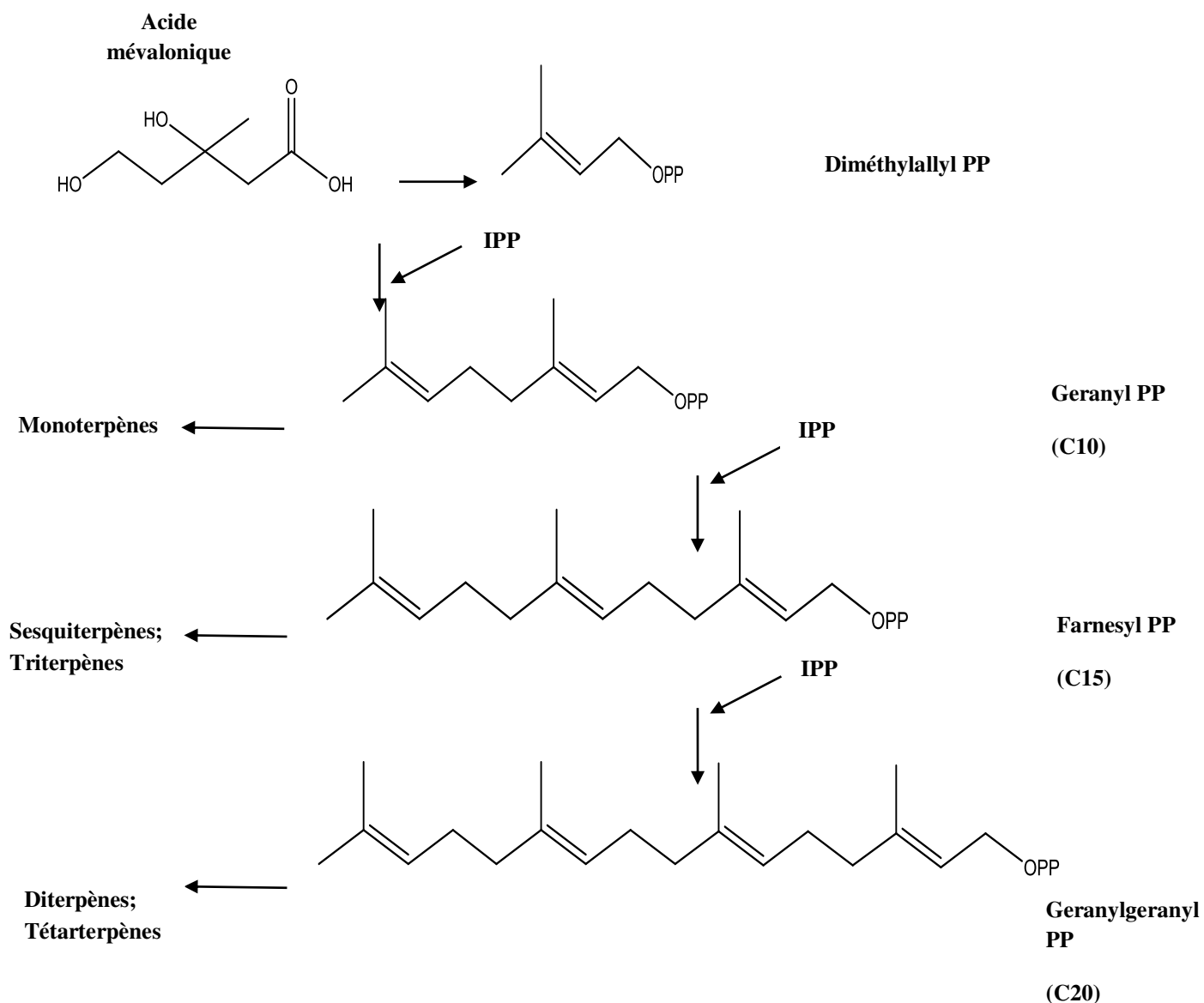


Figure 14: Biosynthèse des terpènes par la voie de mévalonate

1.2.2.2 Classification

En fonction du nombre n (entier) d'unités, on peut distinguer pour; $n = 2$: les monoterpènes (C10) (Figure 15), qui présentent une structure simple et sont très volatils, sont les principaux constituants des huiles essentielles (Collet, 2002), $n = 3$: les sesquiterpènes (C15) (Figure 17), qui sont l'objet de nombreuses cyclisations, de réarrangement et d'oxydation conduisant à un très grand nombre de structure (Milpied-Homsi, 2009), $n = 4$: les diterpènes (C20) (Figure 16), $n = 5$: les sesterpènes (C25), $n = 6$: les triterpènes (C30) (Figure18). Le carotène est un tétraterpène (C₄₀H₆₄), il joue le rôle de pigment en photosynthèse végétale. Des matières aussi diverses comme le caoutchouc, la vitamine A ou le cholestérol sont construites essentiellement

des «briques» d'isoprènes. Parmi les terpènes les plus importants on trouve: le pinène (résine de conifères), le camphre, le bornéol, le farnésol, le β -cadinène, le cadalène, le limonène, le phytol....

Il s'ajoute à la classe des terpènes, les saponines (Edreva et *al.*, 2008). Ce sont des triglucosides d'aglycones (acide médicagénique et hédéragenique et de leurs dérivés). La fixation des oses se fait sur le carbone 3 (Larbier et Leclercq, 1992). Cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires explique leur comportement moussant en solution aqueuse. Les saponines sont souvent divisées en deux classes principales, les saponines triterpéniques et les saponines stéroïdiennes selon la nature de l'aglycone (Sahu et Achari, 2001 ; Petra, 2012) (Figure 19).

-Les saponines triterpéniques: Les saponines triterpénique sont les plus courantes. Elles possèdent un squelette à 30 carbones et peuvent être classées en 10 sous-groupes selon la structure du triterpène: les dammaranes, tricullanes, cucurbitanes et lanostanes sont tétracycliques, tandis que les lupanes, hopanes, oléananes, taraxastéranes, ursanes et cycloartanes sont pentacycliques. (Vincken et *al.*, 2007 ; Bruneton, 2009).

-Les saponines stéroïdiennes: sont des composés stéroïdiens à C27 comportant des sucres. L'aglycone d'une saponine stéroïdienne est généralement un spirostanol ou un furostanol. Les parties glyconiques de ces composés sont principalement des oligosaccharides, disposés de manière linéaire ou ramifié, attaché à des groupes hydroxyle par une liaison glycosidique (Hardman ,1987; Hostettmann and Marston, 1995).

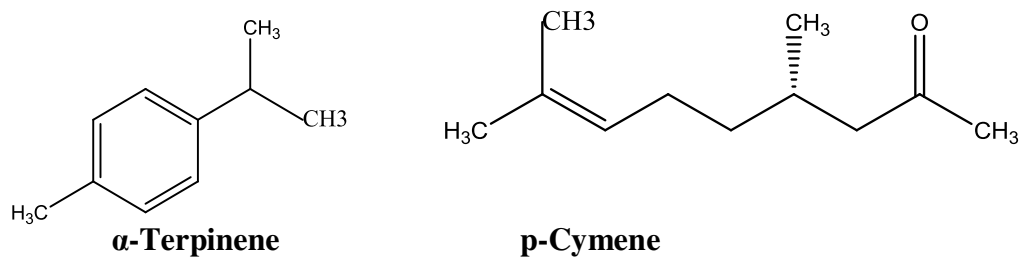
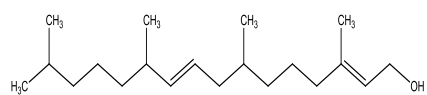
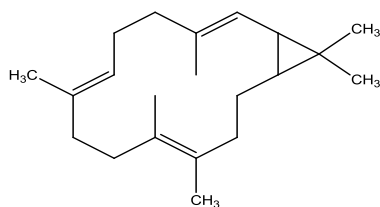


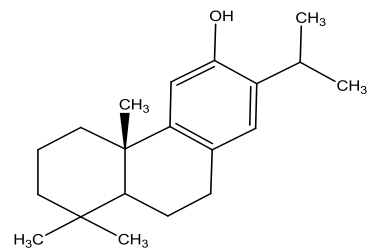
Figure 15: Exemple de monoterpènes



Phytol

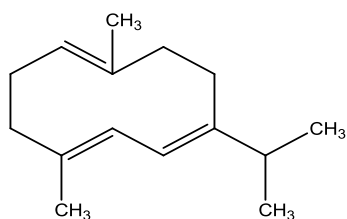


Casbene

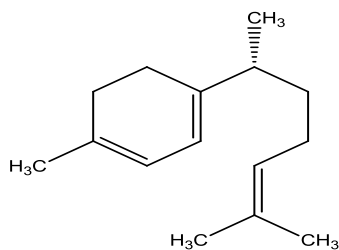


Ferruginol

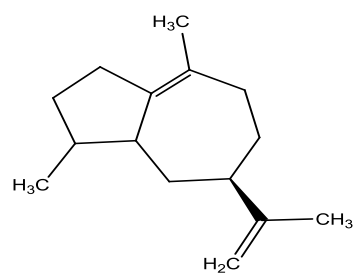
Figure 16: Exemple de diterpènes



Germacrene C

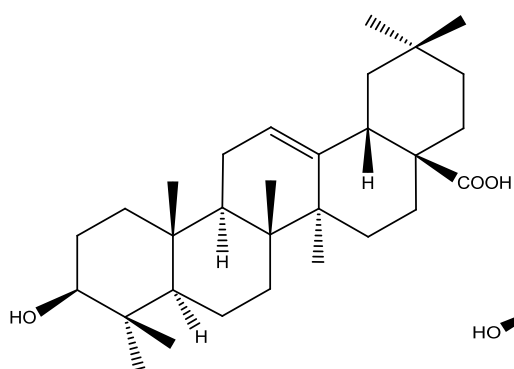


γ -Curcumene

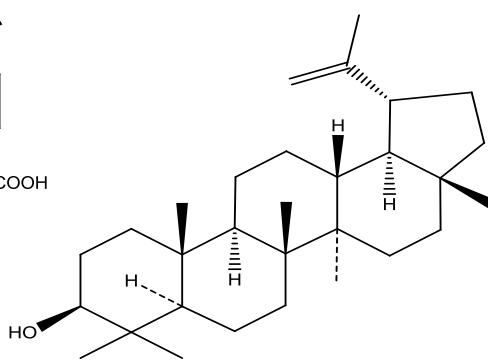


α -bulnesene

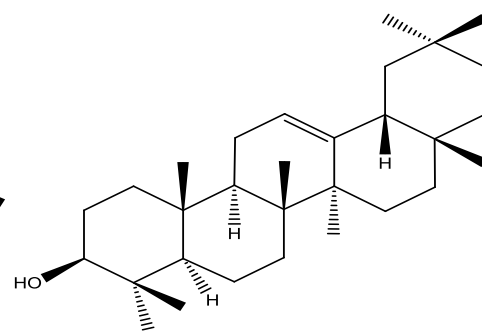
Figure 17: Exemple de sesquiterpènes



Acide oleanolique



Lupeol



β -Amyrine

Figure 18: Exemple de triterpènes

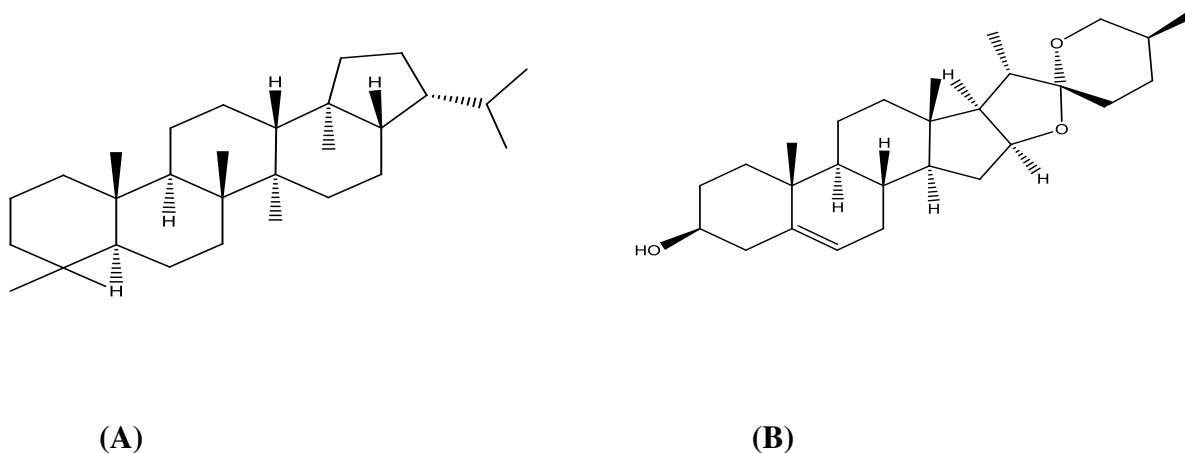


Figure 19: Exemples de saponines: (A) Hopane (triterpénoides), (B): Yamogénine (saponines stéroïdiennes)

1.2.2.3 Rôle et bienfaits

Les terpènes participent à la protection des plantes contre les agressions des champignons et des bactéries, de nombreux diterpènes à structure cyclique sont considérés comme des phytohormones (Leray, 2010).

-Bienfaits des huiles essentielles et des saponines

Les huiles essentielles sont toutes antiseptiques, désintoxicantes, revitalisantes et électives. De plus, elles ont chacune des propriétés spécifiques, les mélanges d'huiles essentielles en synergie augmentent leurs bienfaits (Grojean, 2010). Elles ont de nombreuses propriétés médicinales, susceptibles de répondre à tous les besoins des êtres humains. Elles sont antiseptiques, antibactériennes, anti-infectieuses et cicatrisantes. Elles peuvent souvent remplacer les antibiotiques, et sont extrêmement efficaces pour combattre certaines infections pulmonaires, intestinales, cutanées ou urinaires. Les huiles essentielles ont une double action: elles combattent les germes pathogènes sans détruire les tissus sains; elles assainissent et modifient si nécessaire le «terrain» de l'individu traité.

En ce qui concerne la sphère émotive et psychologique, l'aromathérapie n'a plus à prouver sa capacité, par exemple à relaxer, à réduire les tensions, à calmer, à apaiser l'esprit, à évacuer le stress, à stimuler, à donner du tonus et de la vitalité.

Employées en cosmétique, les huiles essentielles sont efficaces dans la lutte contre les rides, la peau sèche et abîmée, les cheveux ternes, les ongles cassants ... Extrêmement actives et

concentrées, les huiles essentielles doivent être administrées à très petites doses. Selon l'objectif souhaité, elles agissent sur l'ensemble de l'organisme ou sur un organe spécifique. (Moro Buronzo, 2008).

Des effets physiologiques associés à la croissance des plantes, notamment la régulation de la germination, ont été rapportés pour les saponines (Zambou et *al.*, 1993; Messiaen et *al.*, 1995). Les saponines ont montré une action sur l'asthme, les problèmes de microcirculation et sur certaines maladies intestinales comme le colon irritable (Rombi, 2005).

Les saponines triterpéniques présentent un large éventail d'activités pharmacologiques, notamment expectorant, anti-inflammatoire, des propriétés vasoprotectrices, gastroprotectrices et antimicrobiennes. Récemment, une activité anticancéreuse des saponines a été suggérée par leurs effets cytotoxiques, cytostatiques, pro-apoptotiques et anti-invasifs (Koczurkiewicz et *al.*, 2015).

Des études cliniques ont suggéré que les saponines affectent le système immunitaire de manière à protéger le corps humain contre les cancers et à abaisser le taux de cholestérol et elles diminuent les lipides sanguins, les risques de cancer et le taux de glycémie (Shi et *al.*, 2004).

1.2.3 Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques, cycliques, azotée et à caractère alcalin. Leurs structures moléculaires sont complexes, plus ou moins basiques et douées des propriétés physiologiques prononcées même à faible dose (Bustany et *al.* 1993) La morphine a été le premier alcaloïde isolé dans l'opium (vers 1803) (Chouvy, 2002). Puis on découvrit la strychnine (1818). Les autres alcaloïdes plus connus sont: la colchicine, l'atropine, le tubocurarine, la théine, la cocaïne, la mescaline, l'acide lysergique et l'aconitine. Ils ont une distribution limitée parmi les êtres vivants. Au début, ces substances naturelles ont surtout été isolées à partir de végétaux, mais sont de nos jours isolées de la plupart des organismes vivants, des champignons jusqu'aux mammifères. Avec plus de 5000 composés connus, les alcaloïdes représentent la classe de métabolites secondaires la plus structurellement diversifiée (Hesse, 2002) (Figure 20).

Tous les organes peuvent en contenir mais on ne trouve pas les mêmes alcaloïdes dans les différents organes de la même plante, dans les végétaux, ils sont dissout dans le suc vacuolaire sous forme de sels organiques ou à l'état de combinaison insolubles avec les tannins.

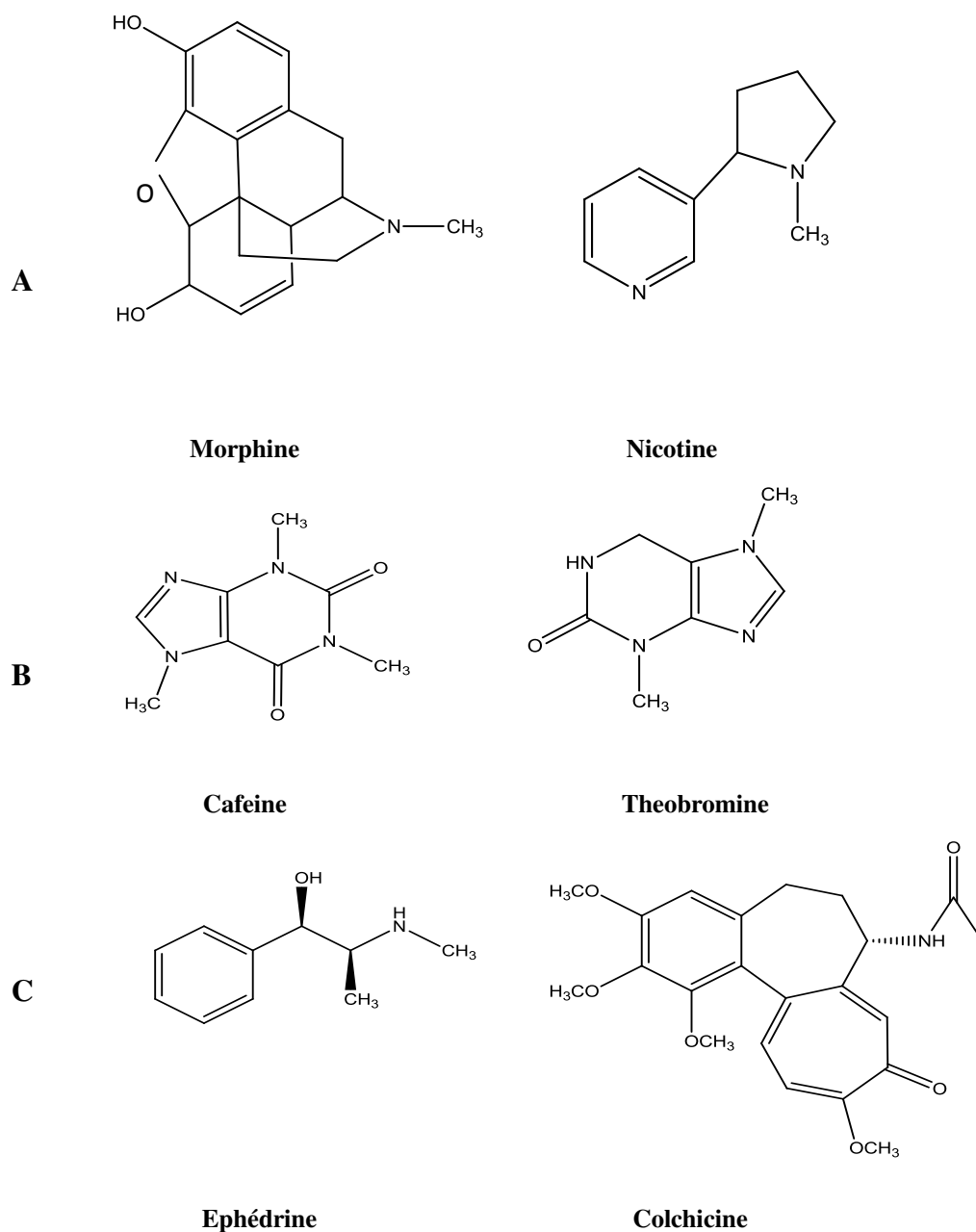


Figure 20: Quelques exemples d'alcaloïdes, A: alcaloïdes vrais, B: pseudo-alcaloïdes, C: proto-alcaloïdes

1.2.3.1 Biosynthèse

Malgré leur structure variée, les alcaloïdes proviennent d'un petit nombre de précurseurs simples. La plupart des alcaloïdes sont synthétisés à partir d'un petit nombre d'acides aminés ordinaires (tyrosine, tryptophane, arginine et lysine) (Hopkins, 2003).

La synthèse des alcaloïdes commence à partir des voies de l'acétate, du shikimate, du mévalonate et de la voie de 2-C-méthyl-D-érythritol 4-phosphate (MEP). La voie de l'acétyl

coenzyme A (voie de l'acétate) est la source de certains alcaloïdes et de leurs précurseurs, par exemple, les alcaloïdes de la pipéridine ou l'acide anthranilique sous forme d'ester de CoA aromatisé (antraniloïl-CoA).

La voie de l'acide shikimique est la source d'alcaloïdes tels que la quinazoline, la quinoline et acridine. La voie du mévalonate qui est étroitement liée à la voie de l'acétate, tandis que la voie de MEP repose sur une combinaison d'acide pyruvique et de glycéraldéhyde 3-phosphate (tous deux de la voie glycolytique). Ensemble, la voie de mevalonate et la voie de MEP phosphate produisent des composés terpénoïdes et stéroïdes (Figure 21). Les acides aminés (précurseurs) peuvent être dérivés de différents points dans les cycles de glycolyse et de Krebs (Aniszewski, 2007).

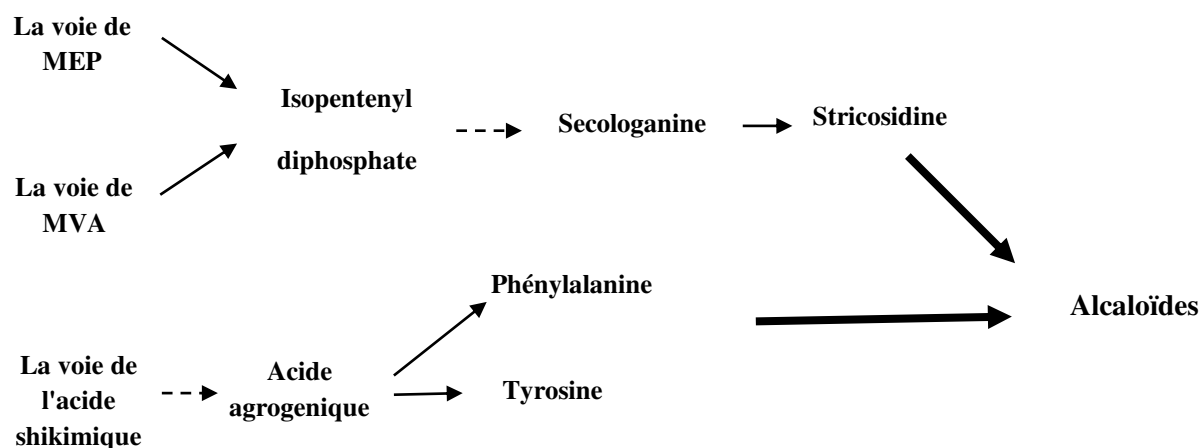


Figure 21: Voies de biosynthèse des alcaloïdes, MEP: 2-C-methyl-D-erythritol 4-phosphate, MVA: acide mévalonique. (Oudin et al., 2007 ; Buchanan, 2007)

1.2.3.2 Classification

Les alcaloïdes sont des composés organiques naturels hétérocycliques avec un atome d'azote comme hétéroatome (Gazengel et Orecchion, 2013). On compte environ 1500 structures connues issues des plantes (Bouloc, 2006). Les alcaloïdes peuvent être classés selon leur origine biosynthétique en trois types: les alcaloïdes vrais, les pseudo- alcaloïdes et les proto- alcaloïdes.

Alcaloïdes vrais : leur biosynthèse implique à l'origine un ou plusieurs acides aminés. Ils comportent au moins un atome d'azote hétérocyclique. Ils présentent une activité biologique

même à faible dose. Ils apparaissent comme un solide blanc, à l'exception de la nicotine qui est un liquide brun. Ils forment des sels solubles dans l'eau (Aniszewski, 2007).

Pseudo-alcaloïdes : Ils sont dérivés des précurseurs ou des postcurseurs (dérivés de processus de dégradation) des acides aminés. Ils peuvent aussi résulter de l'amination et réactions de transamination des différentes voies reliées à précurseurs ou postcurseurs d'acides aminés. Ces alcaloïdes peuvent également être dérivés de précurseurs non aminoacides et ils peuvent être des acétates et des dérivés de phénylalanine ou des terpénoïde, ainsi que des alcaloïdes stéroïdiens. (Dewick, 2002).

Proto-alcaloïdes: sont des composés dans lesquels l'atome d'azote qui dérive d'un acide aminé n'est pas inclus dans le système hétérocyclique. Ces types d'alcaloïdes comprennent des composés dérivés de la L-tyrosine et du L-tryptophane. Les proto-alcaloïdes sont des alcaloïdes parfaits mais structurellement simples. Elles forment une minorité de tous les alcaloïdes (Jakubke, 1994).

1.2.3.3 Rôle et bienfaits

Chez les plantes, ces composés agissent soit comme agent protecteur contre les champignons, les insectes ou encore les herbivores, soit comme source d'azote nécessaire au développement de la plante, ou encore comme agents de régulation de la croissance similaires aux hormones, ou encore comme agents protecteurs du rayonnement UV.

Bien que beaucoup d'entre eux soient toxiques (comme la strychnine ou l'aconitine), certains sont employés dans la médecine pour leurs propriétés analgésiques (comme la morphine, la codéine), dans le cadre de protocoles de sédation (anesthésie, atropine) souvent accompagnés des hypnotiques, ou comme agents antipaludéens (quinine, chloroquinine) ou agents anticancéreux (taxol, vinblastine, vincristine) (Prota, 2008; Sofowora, 2010; Boutamina, 2014). Des inhibiteurs compétitifs de la cholinestérase, et de ce fait utile dans le traitement de la maladie d'Alzheimer (galantamine).

1.3 Généralités sur les plantes étudiées

1.3.1 *Pistacia atlantica*

1.3.1.1 *Pistacia* et sa distribution

Le pistachier fait partie de la famille des Anacardeacée (Sokolov, 1993) est originaire d'Asie Centrale. Présent en Turquie depuis 7000 ans avant J. C., il a été introduit en Italie dès le premier siècle avant J. C. et par la suite, sa culture s'est étendue aux autres pays méditerranéens et aux USA en 1854 (Moghtader, 2010).

1.3.1.2 Systématique et description botanique de *Pistacia atlantica*


Division : Angiospermes	
Classe : Eudicots	
Ordre : Sapindales Dumort	
Famille : Anacardiaceae	
Genre : <i>Pistacia</i>	
Espèce : <i>Pistacia atlantica</i> Desf.	

Figure 22: Spécimen de *Pistacia atlantica*

(http://europeana.nialloleary.ie/index.php?navigation_function=2&navigation_item=%2F11616%2F_OPENUP_SPECIMENS_RBGE_UK_E00436411&repid=1)

Le pistachier de l'atlas (Figure 22) est une espèce dioïque, ligneuse et spontanée pouvant atteindre 10 à 20 mètres de haut, à tronc bien individualisé et à frondaison hémisphérique, le port est arrondi et à ramifications étalées. Le rameau jeune est rougeâtre à feuillage caduc, composé, imparipenné (7 à 9 folioles ovales acuminées, tomenteuses puis coriaces à l'âge adulte).

Les fleurs sont apétales et rougeâtres, en grappes lâches, terminales pour les mâles et axillaires pour les femelles, la pollinisation est effectuée par le vent (anémophile).

Les fruits gros comme un pois, ce sont des drupes (ne dépassant pas le centimètre) légèrement ovales quelque fois allongés à épiderme qui se ride en séchant sur un endocarpe induré mais très mince abritant deux cotylédons, riches en huile dense très énergétique

L'écorce est d'abord rougeâtre, puis grisâtre assez claire avant de devenir craquelée et crevassée (rhytidome), se détachant du tronc (Monjause, 1980 et Belhadj et al., 2008).

1.3.1.3 Activités biologiques de *Pistacia*

Les huiles essentielles de certaines espèces du pistachier ont plusieurs usages : en aromathérapie, dans le traitement de plusieurs troubles circulatoires, les problèmes de prostate, les douleurs digestives, la sinusite (Festy et Pacchioni, 2014). ainsi que les huiles essentielles de la plante ont été considérées comme de bons inhibiteurs de AChE et BChE (Labeled-Zouad et al., 2017) et donc dans leur implication dans le traitement de la maladie d'Alzheimer.

Plusieurs études ont trouvé que les extraits et les huiles essentielles de différentes parties de *Pistacia*, notamment les fruits, les fleurs et les feuilles, possèdent une activité antioxydante puissante et qui peut être introduit comme source d'antioxydant naturel (Belyagoubi-Benhammou et al., 2008; Malekzadeh et al., 2015 ; Labeled-Zouad et al., 2017).

Les fruits de la plante ont été utilisés comme un arôme buccal, bronzage et fourrage (Tzakou et al., 2007).

Sa résine a connu plusieurs utilisations telles que: rafraîchisseur de bouche, antiseptique, renforteur de tissu gingival, chewing-gum, apéritif, dissolvant de flegme, astringent, laxatif, émulsifiant, diurétique, emmenagogue, carcinatif, inflammation viscérale, gale, estomac, foie et reins tonique, troubles gastro-intestinaux (Avicenna, 2008).

L'extrait aqueux de *P. atlantica* était actif sur plusieurs souches bactériennes telles que *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* et *Bacillus cereus*, ce qui confirme l'efficacité de cette plante dans le traitement de maladies d'origine bactérienne (Abdenbi et al., 2016). *P. atlantica* a un pouvoir remarquable dans la diminution du taux de glucose dans le sang (Hamdan et Afifi, 2004).

1.3.2 *Lavandula antineae*

1.3.2.1 *Lavandula* et sa distribution

Le genre *Lavandula* fait partie de la famille des Lamiacées (Labiées), la classification définitive de ce genre n'est pas encore accomplie, actuellement *Lavandula* comprend trente deux espèces décrites dans la littérature en plus des sous espèces et des hybrides. Quelques espèces ont été cultivées depuis l'antiquité. Ce genre a une distribution qui s'étend des îles canariennes, des îles de Cap-vert, traversant le bassin méditerranéen, l'Afrique du nord, sud-ouest de l'Asie, la péninsule arabique, l'Afrique tropicale, avec une disjonction à l'Inde. Certaines lavandes poussent dans les collines incultes, d'autres préfèrent les bordures de forêts de chênes verts ou les lisières de bois d'oliviers. Leurs stations naturelles s'étendent du bord de la mer jusqu'à des altitudes de

2500 m, mais toutes aiment les terrains secs, légers, sablonneux et pierreux, bien drainés (Vialard, 2013).

1.3.2.2 Systématique et description botanique de l'espèce *Lavandula antineae*

Division : Magnoliophyta
Classe : Magnoliopsida
Ordre : Lamiales
Famille : Lamiaceae
Genre : <i>Lavandula</i>
Espèce : <i>Lavandula antineae</i>

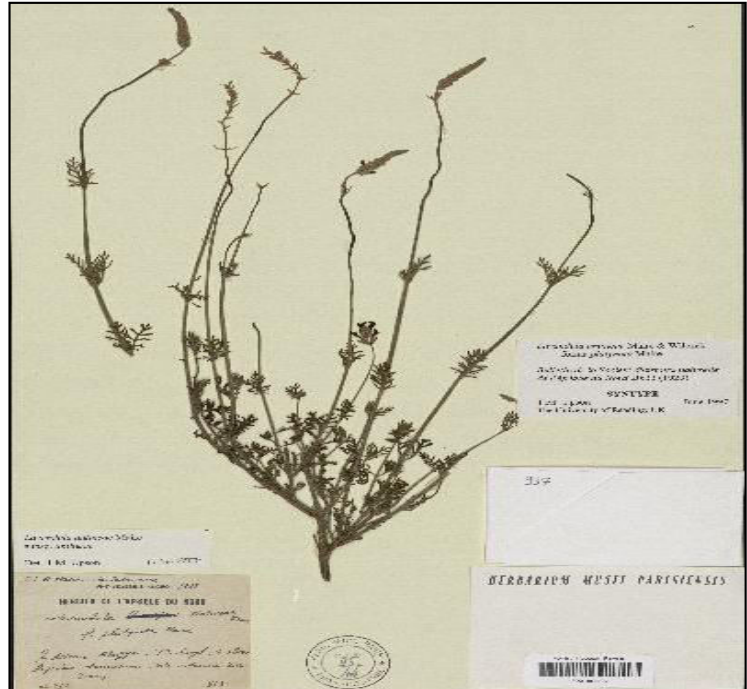


Figure 23: Spécimen de *Lavandula antineae*

(https://science.mnhn.fr/institution/mnhn/collection/p/item/p00150986?lang=fr_FR)

L. antineae est une espèce vivace, endémique en Algérie à très forte odeur de lavande, sa hauteur varie de 80 à 100 cm (Ozenda, 2004). Elle est caractérisée par une base ligneuse et pérenne, les tiges sont ramifiées et annuelles habituellement très verdoyantes comportant des poils courts et blanc clairsemés à une densité variables, les feuilles sont pennatiséquées, ovales à ovales lancéolées. Les bractées 0.5-0.75× longueur du calice, ovales lancéolées avec des petites ailes minces, l'apex est long et acuminé. Les tube de la corolle sont bleu violet foncé et les lobes devenant bleu vif (Lis-Balchin, 2003) (Figure 23).

1.3.2.3 Activités biologiques de *Lavandula*

Plante médicinale et ornementale, elle est indispensable en aromathérapie, connues par leurs qualité anti inflammatoire (Zuzarte et *al.*, 2011; Nikolic, 2014). Des études ont montré la présence de plusieurs composants chimiques dans les huiles essentielles de *Lavandula* tels que: l'épi- α -cadinol, la cryptone, le 1,8-cinéole et l'oxyde de caryophyllène, d'acétate de linalyle et de linalol (Nurzyńska-Wierdak et Zawislak, 2016).

Les huiles essentielles de *Lavandula* sont des antifongiques naturels très efficaces et peuvent être une source très importante de constituants phytopharmaceutiques utilisés pour éradiquer les infections d'origine fongique (Mohammedi et Atik, 2011). Des propriétés antimicrobiennes ont été attribuées aux huiles essentielles et autres extraits de *Lavandula*, sur des germes pathogènes comme *Enterococcus. faecalis*, *Staphylococcus. aureus*, *Escherichia. coli* et *Candida. albicans* (Danh et al., 2013 ; Bachiri et al., 2016). Les extraits de *Lavandula* peuvent être considéré comme des antioxydants à une efficacité remarquable (Gulçin et al., 2004 ; Laib et Barkat, 2011).

1.3.3 *Thymus algeriensis*

1.3.3.1 *Thymus* et sa distribution

Le genre *Thymus* est l'un des huit genres les plus importants de la famille des lamiacées en ce qui concerne le nombre d'espèces incluses, il englobe 350 espèce (Botineau, 2010). Le mot anglais thym a été traditionnellement utilisé pour nommer à la fois le genre et ses espèces utilisés commercialement. Généralement le thym est une plante aromatique utilisée pour des fins médicinales ou culinaires dans tout le monde. Le genre *Thymus* est très fréquent dans les régions méditerranéennes, bien adapté au climat sec et chaud de l'été, ils vivent sur les rochers ou des pierres et il est très important que les sols sont bien drainés.

1.3.3.2 Systématique et description botanique de l'espèce *Thymus algeriensis*

Division : Magnoliophyta
Classe : Magnoliopsida
Ordre : Lamiales
Famille : Lamiaceae
Genre : <i>Thymus</i>
Espèce : <i>Thymus algeriensis</i>



Figure 24: Spécimen de *Thymus algeriensis*

(http://europeana.nialloleary.ie/index.php?navigation_function=2&navigation_item=%2F11647%2F_Botany_AMD_88033&repid=1)

C'est une espèce endémique de l'Afrique du nord (Maroc, Algérie, Tunisie, Lybie) représente un nombre de chromosome $2n=30$ (Morales, 1997). Plante généralement sous-tendus, les tiges à pilosité, les feuilles habituellement dépourvues de poils. Les Feuilles florales sont peu différentes des feuilles caulinaires, peu dilatées, les épis florifères sont courts et étroits ne dépassant guère 15×12 mm. Fleurs de 5-6 mm, à corolle moins de 2 fois plus longue que le calice (Figure 24), rencontrée dans les pelouses, rocailles et dans toutes les régions montagneuses (Quézel et Santa, 1963 ; Stahl-Biskup, 2003 ; Chermat et Gharzouli, 2015).

1.3.3.3 Activités biologiques de *Thymus*

Le thym est utilisé depuis l'antiquité pour ces propriétés médicales comme diurétique, mucolytique, antalgique, vulnéraire, comme fortifiant du poumon, du foie et de la rate, dans les troubles digestifs, dans le traitement des plaies superficielles (Goatez et Guédira, 2012).

Son huile essentielle est constituée principalement de Geranyl acetate (80.8%) (Salhiet *al.*, 2016). Il a démontré une activité inhibitrice remarquable contre les souches de bactéries à Gram

positif et les souches fongiques (Zouari et *al.*, 2011). L'huile essentielle de la plante peut être utilisée comme herbicide naturel. De plus, ces huiles se sont avérées posséder une forte activité insecticide (Ben El Hadj Ali et *al.*, 2015).

Thymus algeriensis possède des propriétés antioxydantes et pourrait servir d'inhibiteurs de radicaux libres ou de piègeurs (Delgado et *al.*, 2014 ; Guesmi et *al.*, 2014).

1.3.4 *Marrubium alysson*

1.3.4.1 *Marrubium* et sa distribution

Le genre *Marrubium* fait partie de la famille des Lamiacées (Hoefler, 1860), répandues principalement le long de la méditerranée, les zones tempérées du continent eurasien et quelques pays d'Amérique latine (Rigano, 2006).

1.3.4.2 Systématique et description botanique de l'espèce *Marrubium alysson*

Division : Magnoliophyta
Classe : Magnoliopsida
Ordre : Lamiales
Famille : Lamiaceae
Genre : <i>Marrubium</i>
Espèce : <i>Marrubium alysson</i>



Figure 25: Spécimen de *Marrubium alysson*

(http://europeana.niallOLEARY.ie/index.php?navigation_function=2&navigation_item=%2F11616%2F_OPENUP_SPECIMENS_RBGE_UK_E00118253&repid=1)

Sous-arbrisseau rencontrée dans le pâturage surtout argileux, elle est facile à distinguer par ses feuilles en éventail, rétrécies en coin à leur base, blanchâtres et crépues, par ses tiges tomenteuses et tombantes (Figure 25). La corolle est rose ou rouge, le calice est velu à cinq dents roides. Cette plante croit dans les contrées les plus méridionales de l'Europe et en Barbarie (Hoefler, 1860 ; Quezel et Santa, 1963).

1.3.4.3 Activités biologiques de *marrubium*

La racine séchée et pulvérisée et les fruits sont utilisés par les femmes, mélangés dans la nourriture pour prendre de l'embonpoint. En fumigations sur les parties génitales, elle intervient dans le traitement des maladies de la femme. Les racines et les feuilles sont utilisées contre l'asthme et le rhume (Bamm et Douira, 2002).

Les feuilles de *Marrubium* contiennent des concentrations élevées d'acide quinique, d'acide p-coumarique et d'acide malique et le genre est surtout connu pour produire une grande variété de diterpénoïdes (Rigano et al., 2006 ; Bursal et al., 2018). Les extraits de genre *Marrubium* présentent des propriétés antioxydantes, antidiabétiques, antivirales et cicatrisantes (Edziri et al., 2011 ; Abd El-Mohsen et al., 2014; Amri et al., 2017).

1.3.5 *Jasminum fruticans*

1.3.5.1 *Jasminum* et sa distribution

Le genre *Jasminum* fait partie de la famille des Oleacée, il comporte environ 200 espèces (Grieve, 1971). Les espèces du genre *Jasminum* sont originaires de l'Inde, Bengale jusqu'au Sri Lanka Myanmar et la chine.

1.3.5.2 Systématique et description botanique de l'espèce *Jasminum fruticans*

Division : Magnoliophyta
Classe : Magnoliopsida
Ordre : Scrophulariales
F a m i l l e : O l e a c e a e
Genre : <i>Jasminum</i>
Espèce : <i>Jasminum fruticans</i>



Figure 26: Spécimen de *Jasminum fruticans*

(http://europeana.nialloleary.ie/index.php?navigation_function=2&navigation_item=%2F11616%2F_OPENUP_SPECIMENS_RBGE_UK_E00747990&repid=1)

Sous-arbrisseau de 30 cm à un peu plus d'un mètre, dressé, à tiges et rameaux raides, anguleux, cassants, verts, glabres. Les feuilles sont alternes, pétiolées, simples ou 3 folioles obovales ou oblongues, obtuses entières, épaisses, luisantes. Les fleurs sont jaunes, odorantes, brièvement pédonculées, 1-4 au sommet des rameaux. Le calice est vert, à lobes linéaires, obtus, atteignant à peine la moitié du tube de la corolle (Figure 26). La corolle est en entonnoir, à limbe plan. *Jasminum fruticans* pousse dans les coteaux secs et rocaillieux de l'Europe méditerranéenne, l'Asie occidentale, jusqu'en Perse et l'Afrique septentrionale. C'est une plante hermaphrodite dont la période de floraison est entre Juin et Juillet (Bertrand et *al.*, 1992 ; Naghiloo et *al.*, 2013).

1.3.5.3 Activités biologiques de *Jasminum*

Les études phytochimiques ont montré la présence de plusieurs phytoconstituants comme les alcaloïdes, les glycosides (sambacine, Jasminine, Sambacoside...), les saponines, les

flavonoïdes (quercetine, isoquercetine, rutine, kempferol...) et les terpénoïdes (Methyl jasmonate, Jasminoside, Jasminol....) (Sabharwal et *al.*, 2013) .

Jasminum a des anciennes utilisations en parfumerie (Gast, 2011), il a été utilisé traditionnellement dans la fièvre ou de la toux, dans le traitement d'ulcère indolent, la distension abdominale, la diarrhée, pour nettoyer les reins des déchets, les yeux enflammés. Les fleurs et feuilles agissent comme lactifuge (Sabharwal et *al.*, 2013). Il a été reporté que plusieurs espèces du genre *jasminum* ont des activités pharmacologiques, comme antioxydantes, antimicrobiennes, antihelminthique, hypotensive, analgésiques, anti-inflammatoires et antidépresseur (Abdoul-Latif et *al.*, 2010; Lim, 2014; Kozan et *al.*, 2006).

Les extraits de certaines espèces de *Jasminum* possèdent des propriétés favorisant la cicatrisation et l'activité antidiabétique (Saini et Verma, 2017). Ainsi, certaines plantes de ce genre peuvent être des inhibiteurs potentiels de l'enzyme AChE et pour le traitement de la maladie d'Alzheimer et d'autres formes de démence telles que la maladie de Parkinson, la maladie de Huntington, la démence vasculaire (Darshan et *al.*, 2017).

2 Matériel et Méthodes


2.1 Matériel




2.1.1 Matériel biologique


-Matériel végétal

L'identification de *Pistacia atlantica* et *Lavandula antineae* a été réalisée dans le centre de recherche scientifique et technique des régions arides (C.R.S.T.R.A) de la wilaya de Biskra, *Thymus algeriensis*, *Marrubium alysson* et *Jasminum fruticans* ont été identifiés dans le parc national de Bellezma, wilaya de Batna. La récolte du lavande de désert a été faite au période de floraison (la fin du mois de Février jusqu'au début du mois d'Avril), *Pistacia atlantica* a été récoltée dans le mois de Mars, les deux plantes proviennent de la wilaya de Biskra-Algérie (latitude 34°51' N, longitude 05°43' E, altitude 113 m), l'échantillonnage de *Thymus algeriensis* a été fait durant le mois d'Avril, la période de récolte de *Marrubium alysson* et *Jasminum fruticans* était durant le mois de Mai, ces trois plantes dérivent de la wilaya de Batna-Algérie (latitude 35°45' N, longitude 06°19' E, altitude 821.29 m) (Tableau 2). Les parties aériennes (fleurs, feuilles et tiges) ont été séchées à l'air libre et à l'ombre pour une extraction ultérieure des huiles essentielles et la préparation des extraits.

Tableau 2: Les différentes plantes étudiées, lieu et mois de leur récolte

Plante	Lieu de récolte	Mois de récolte
 <p><i>Pistacia atlantica</i></p>	Ouled Djellel (Biskra)	Février-Mars

 <p><i>Lavandula antineae</i></p>	<p>Coucha (Biskra)</p>	<p>Février-Mars- Avril</p>
 <p><i>Thymus algeriensis</i></p>	<p>Ghoufi (Batna)</p>	<p>Avril</p>
 <p><i>Marribium alysson</i></p>	<p>Fesdis (Batna)</p>	<p>Mai</p>

	Djerma (Batna)	Avril-Mai
<i>Jasminum fruticans</i>		

-Souches microbiennes

Les souches utilisées dans notre travail sont les suivantes:

-Deux souches de collection internationale ATCC (American type culture collection) :

Staphylococcus aureus ATCC 25923, et *Escherichia coli* ATCC 25922 ;

-*Pseudomonas aeruginosa* qui a été isolée de patients hospitalisés (de l'hôpital Hakim Saadan de Biskra);

-Une levure de référence *Candida albicans* ATCC 2071, elles sont toutes conservées à 5°C dans des boîtes de Pétri stériles contenant de la gélose nutritive.

2.1.2 Réactifs chimiques

Les produits chimiques, les réactifs et les enzymes utilisés dans cette étude proviennent de Biochem Chemopharma (France), Biochem chemopharma (Montréal Qubec), VWR (Belgique) et Sigma Aldrich (Allemagne). Tous les solvants et les réactifs de divers fournisseurs étaient de la plus haute pureté nécessaire pour chaque application.

Les milieux de culture employés pour l'activité antimicrobienne sont: la gélose nutritive, la gélose Mueller Hinton et la gélose Sabouraud.

2.2 Méthodes

2.2.1 Préparation des extraits

2.2.1.1 Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée sur les parties aériennes des deux plantes *L. antineae* et de *T. algeriensis* exclusivement. Selon le protocole décrit par Mesplede (2004), et

Rodrigues et *al.* (2012), 150 g de la plante sèche ont subit une hydrodistillation pendant 3 heures, la phase organique est extraite par l'éther di éthylique, l'huile essentielle est récupérée après évaporation (Figure 27).

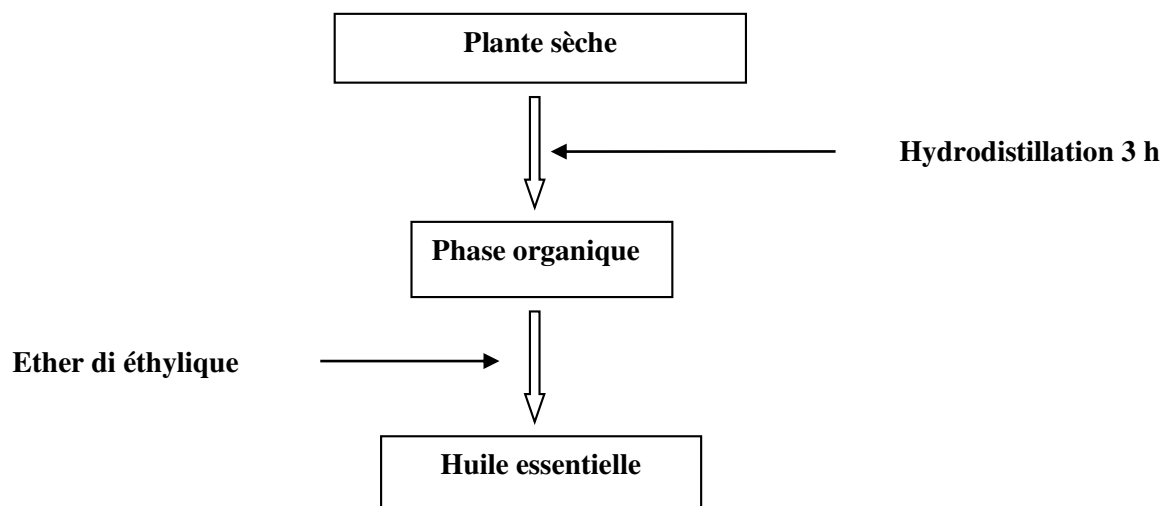


Figure 27: Diagramme de l'extraction des huiles essentielles

2.2.1.2 Préparation des extraits hydro-méthanoliques

Une prise d'essai de 2.5 g de poudre des feuilles a été mise à macérer dans 25 ml de méthanol 80%. Ensuite le macérât a été filtré et le solvant évaporé à sec sous pression réduite à 40-50°C à l'aide d'un évaporateur rotatif. L'extrait a été stocké à 4°C (Falleh et *al.*, 2008) (Figure 28).

2.2.1.3 Fractionnement de l'extrait hydro-méthanolique

La méthode utilisée pour le fractionnement de l'extrait hydro-méthanolique a été faite par des solvants organiques selon le protocole décrit par Bakht et *al.* (2014). La figure 29 résume les différentes étapes suivies.

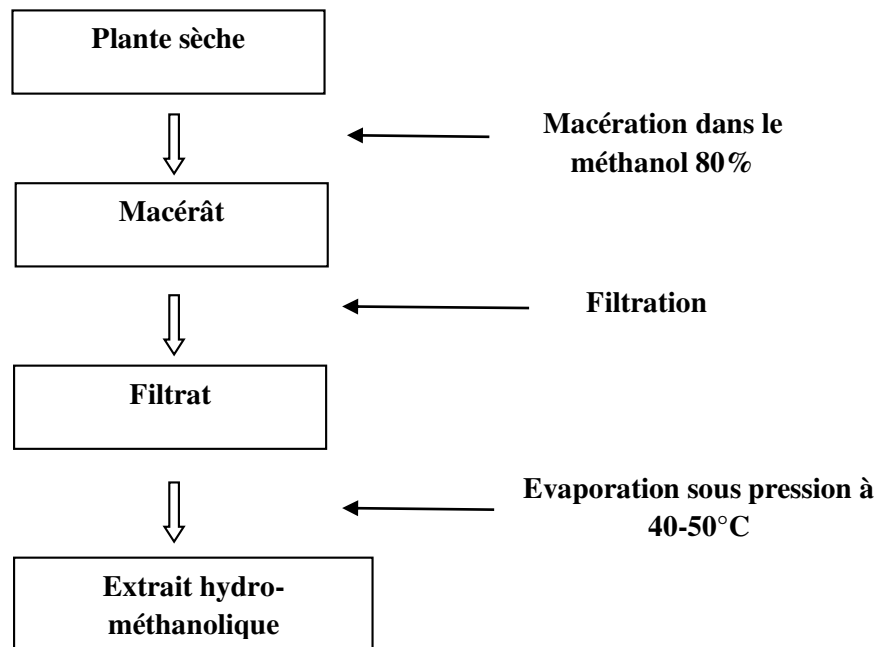


Figure 28: Diagramme représentant les étapes de la préparation de l'extrait hydro-méthanolique

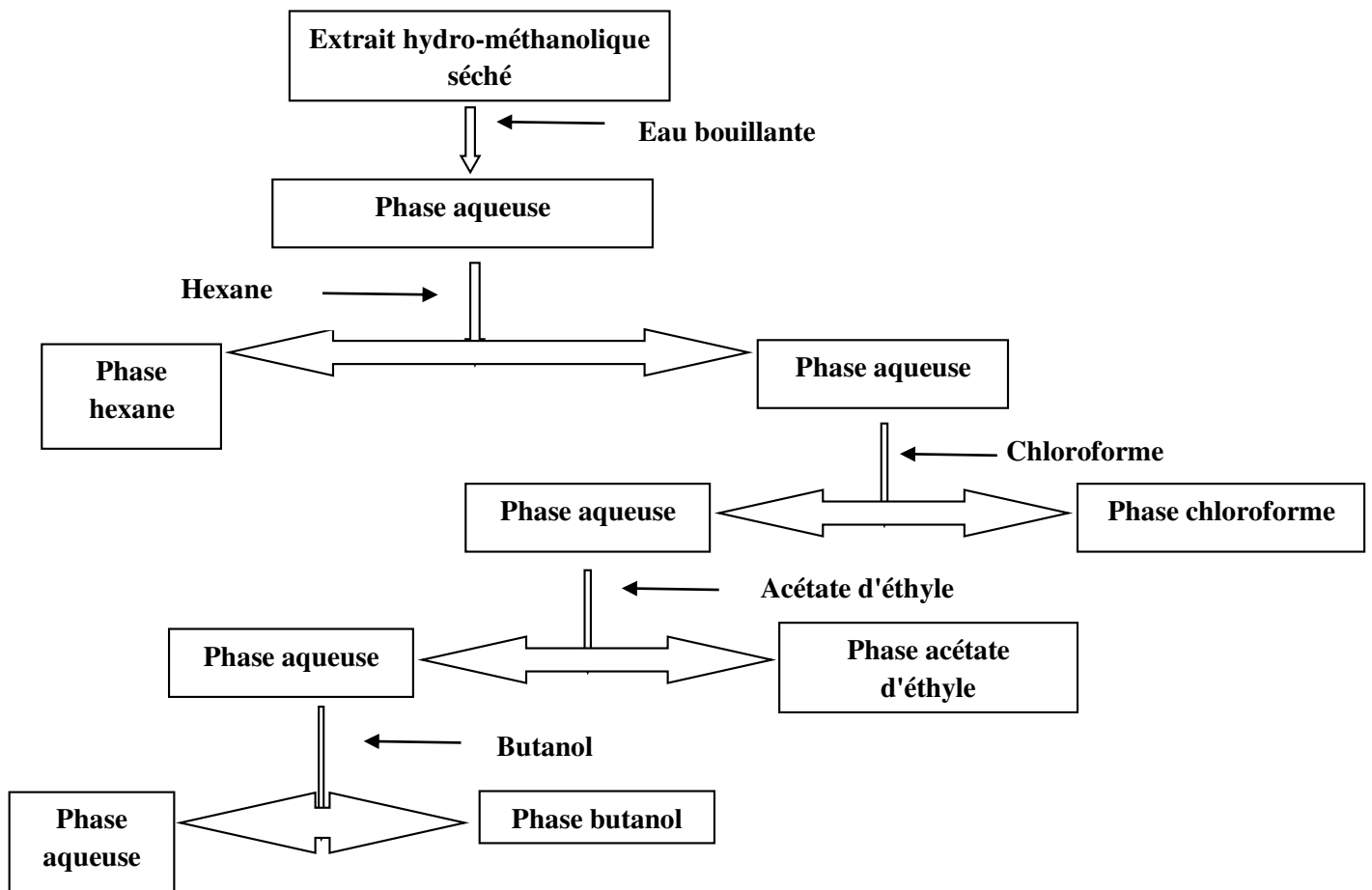


Figure 29: Diagramme représentant le traitement de l'extrait hydro-méthanolique avec des solvants de polarité croissante

Une macération méthanolique (2 L) est réalisée à partir de 200 g de la poudre sèche des feuilles de chaque plante. L'extrait est concentré au rotavapor à 40-50°C sous une pression réduite. Le résidu est repris avec de l'eau bouillante, dégraissé avec l'hexane puis successivement épuisé avec le chloroforme, l'acétate d'éthyle et le butanol. Les deux phases acétate d'éthyle et *n*-butanol ont été évaporé sous pression sec à 40-50°C et conservés pour leur utilisation ultérieure.

2.2.2 Analyse des extraits

2.2.2.1 Screening phytochimique des extraits hydro-méthanoliques

La recherche de métabolites secondaires a été réalisée sur l'extrait hydro-méthanolique des cinq plantes étudiées:

-Détection des stérols et les polyterpènes: Les stérols et les polyterpènes ont été détectés par le traitement à chaud de 5 ml de l'extrait hydro-méthanolique, préalablement évaporé, avec 1 ml d'anhydride acétique, puis 0.5 ml de H₂SO₄ concentré sont coulés. L'apparition d'une coloration violette qui vire au bleu puis au vert indique une réaction positive. (Békro et *al.*, 2007).

-Détection des polyphénols: La réaction au chlorure ferrique (FeCl₃) a permis de détecter les polyphénols; une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2% a été ajoutée à 2 ml de l'extrait hydro-méthanolique. L'apparition d'une coloration bleu-noirâtre ou verte plus ou moins foncée fut le signe de la présence de polyphénols (N'guessan, 2009).

-Détection des flavonoïdes: Les flavonoïdes ont été mis en évidence par la réaction à la cyanidine. 5 ml d'alcool chlorhydrique dilué 2 fois ont été ajoutés à 2 ml de l'extrait hydro-méthanolique, ensuite, quelques copeaux de magnésium ont été additionnés, il y a un dégagement de chaleur puis une coloration rose orangé ou violacée qui confirme la présence de flavonoïdes (Bammou, 2015).

-Détection des tanins catéchiques (tanins condensés): 5 ml d'extrait sont évaporés à sec. On y ajoute 15 ml de réactif de STIASNY. Le mélange est maintenu au bain-marie 80°C pendant 30 mn puis refroidir sous courant d'eau. L'observation de gros précipités en flocons caractérise les tanins catéchiques.

-Détection des tanins galliques: La solution est filtrée et le filtrat recueilli est saturé d'acétate de sodium. On y ajoute 3 gouttes de chlorure ferrique 2%. L'apparition d'une coloration bleu noir intense dénote la présence de tanins galliques (Bagre et *al.*, 2007).

-Détection des alcaloïdes aglycones: 25 ml de l'extrait hydro-méthanolique sont évaporés à sec, le résidu est repris avec 5 ml de HCl 2N, le mélange est mis au bain marie à 45°C. Quelques

gouttes de réactif de MAYER sont rajoutées au filtrat; la formation d'un précipité blanc confirme la positivité de la réaction (Ciulei, 1982).

-Détection des terpenoïdes: Le test de Salkowski a été utilisé pour rechercher les terpenoïdes: l'extrait a été mélangé avec 2 ml de chloroforme et du H₂SO₄ concentré (3 ml). Une coloration brun rougeâtre de l'interface est formée pour montrer résultat positif de la présence de terpenoïdes (Rimjhim Sheel et *al.*, 2014).

-Détection des saponosides: 10 ml de l'extrait total aqueux ont été versés. Le tube était agité pendant 15 s puis laissé au repos durant 15 min. Une hauteur de mousse persistante, supérieure à 1 cm indiquait la présence de saponosides (N'guessan, 2009).

2.2.2.2 Analyse de la composition chimique des huiles essentielles par CPG /SM

La composition chimique des huiles essentielles récupérées de *L. antineae* et *T. algeriensis* a été déterminée en réalisant une chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

-Principe :

En CPG, l'échantillon est vaporisé à l'entrée d'une colonne qui renferme une substance active solide ou liquide appelée phase stationnaire, puis il est transporté à travers celle-ci à l'aide d'un gaz vecteur. Les différentes molécules du mélange vont se séparer et sortir de la colonne en fonction de l'affinité de la phase stationnaire (Littlewood, 2013).

-Conditions opératoires :

Les analyses en CPG ont été réalisées à l'aide d'un appareil Perkin Elmer autosystem, équipé d'un injecteur diviseur, de deux colonnes (50 x 0.22 mm d.i. épaisseur du film: 0.25 µm) apolaire (BP-1, polyméthylsiloxane), polaire (BP-20, polyéthylène glycol) et de deux détecteurs à ionisation de flamme. Les conditions opératoires sont les suivantes : gaz vecteur hélium pression en tête de colonne de 20 psi ; température de l'injecteur et des détecteurs 250 °C ; programmation de température: de 60 à 220 °C (80 mn) à 2°C/mn, avec un palier de 20 mn à 220 °C ; injection mode split 1/60.

Identification des composés

L'identification des composés dans chaque huile essentielle est basée sur la comparaison de leur indice de rétention (Ir) sur les colonnes apolaires et polaires, déterminées par rapport aux indices de rétention des composés de référence.

2.2.2.3 Analyse de l'extrait hydro-méthanolique par HPLC/UV

Plusieurs études utilisent l'extrait hydro-méthanolique pour une rapide détermination et identification des métabolites secondaires (Engida, 2014)

Les détecteurs UV sont populaires parmi tous les détecteurs parce qu'ils offrent une sensibilité élevée et aussi parce que la majorité des composés naturels rencontrés ont une certaine absorbance à l'UV. Les composés phénoliques sont fréquemment identifiés en utilisant des détecteurs UV-Vis à des longueurs d'onde de l'ordre de 190-380 nm (Sasidharan *et al.*, 2011; Boligon, 2014).

Le système HPLC utilisé est de la marque de Young line YL 9100, comprenant une pompe quaternaire Young line YL 9110, un détecteur à UV-visible Young line YL 9120. La colonne ZORBA Eclipse XDB C18 (150 mm× 4.6 mm, 5µm). La phase mobile avait 2 phases: A (solution H₂O acidifiée avec 1% d'acide acétique) et B (méthanol pur), un gradient de solvant a été désigné comme suit: 0 min: 95% A en décroissant jusqu'à la 55 min: 5% A. Les échantillons ont été dilués dans le méthanol puis filtrés par des filtres seringues de 0.45 µm. 20 standards disponibles (composés phénoliques), à des fines quantités, ont été dilués dans le méthanol. Une aliquote de 20 µl de chaque échantillon était injecté dans le système HPLC couplé d'un détecteur UV-Vis à la température ambiante et avec un débit constant de 1.0 ml/ml.

L'identification des composés dans chaque échantillon est basée sur la comparaison des temps de rétention des composants déterminés par rapport aux temps de rétention des standards.

2.2.3 Dosage des composés phénoliques, flavonoïdes et tanins condensés

2.2.3.1 Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé selon la méthode au folin ciocalteu décrite par Djeridani (2006): Un volume de 100 µl de chaque extrait brut (hydro-méthanolique) est introduit dans des tubes à essai, le mélange (500 µl du réactif de Folin- Ciocalteu dilué 10 fois et 1000 µl d'eau distillée) est additionné, agité puis incubé pendant 1 min à la température ambiante. Après 1 min 1500 µl de carbonate de sodium à 20% est ajouté Les tubes sont agités et conservés durant 1 heure à la température ambiante et à l'obscurité. L'absorbance est mesuré à 765 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg EAG/g).

2.2.3.2 Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes totaux ont été dosés selon le protocole décrit par Zheizen (1999) :

500 µl de l'extrait hydro-méthanolique est mélangé avec 1500 µl d'eau distillé suivis de 150 µl de nitrite de sodium à 5% après 5 min, 150 µl de trichlorure d'aluminium à 10% est ajouté au mélange, après 6 min d'incubation à la température ambiante, 500 µl d'hydroxyde de sodium à 4% est additionnée immédiatement, le mélange est complètement agité afin d'homogénéiser le contenu, l'absorbance de la solution de couleur rosâtre est déterminée à 510 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre. Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la quercétine comme contrôle positif. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent de quercétine par gramme de la matière végétale sèche (mg EQ/g).

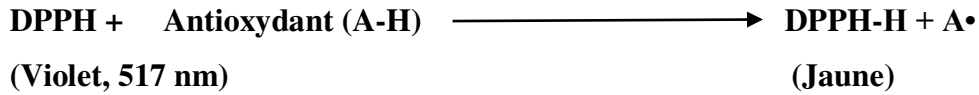
2.2.3.3 Dosage des tanins condensés

Les tanins condensés ont été déterminé par la méthode à la vanilline en milieu acide (Broadhurst, 1978) avec une légère modification. Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés en présence d'acide pour produire un complexe coloré mesuré à 550 nm (Ba et *al.*, 2010). Sur une microplaque de 96 puits, un volume de 20 µl d'extrait hydro-méthanolique sont ajouté à 150 µl d'une solution de vanilline (4% dans le méthanol) et 30 µl d'acide chlorhydrique concentré. Après 20 min d'incubation, l'absorbance a été lue à 550 nm. La catéchine est utilisée comme standard et les résultats sont exprimés en mg équivalent catéchine par g de matière végétale sèche (mg EC/g).

2.2.4 Activité antioxydante *in vitro*

2.2.4.1 Test de piégeage du radical libre DPPH

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote (Figure 30). Du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères, c'est à dire le DPPH• reste dans sa forme monomère relativement stable à température ordinaire. La délocalisation provoque aussi la couleur bleue bien caractéristique de la solution de DPPH•. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration bleue, due à une recombinaison des radicaux DPPH•, mesurable par spectrophotométrie à 515-518 nm (Popovici et *al.* 2009).

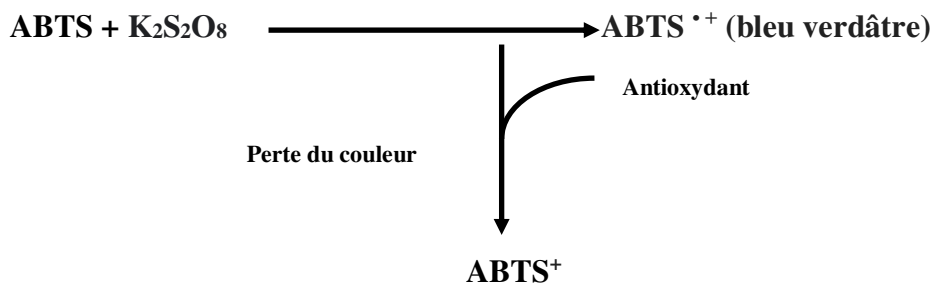


Le test antioxydant au DPPH a été réalisé selon le protocole décrit par Sanchez-Moreno et *al.* (1998) et Bougandoura et Bendimerad (2013). 50 µl de chaque extrait (acétate d'éthyle et *n*-butanol) à différentes concentrations (de 0.0125 à 5 mg/ml) et de 6.25 à 400 µg/ml pour les extraits méthanoliques sont ajoutés à 2 ml de la solution méthanolique du DPPH (0.025 g/l). Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 50 µl de méthanol avec 2 ml de la solution méthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 515 nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard; l'acide ascorbique, BHA (hydroxyanisole butylé) et BHT (hydroxytoluène butylé) dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration. Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (I%).

$$I\% = \frac{(\text{Abs contrôle} - \text{Abs test})}{\text{Abs contrôle}} \times 100 \text{ (Popovici et al. 2009).}$$

2.2.4.2 Test de piégeage du radical ABTS

Ce test est basé sur le mécanisme d'oxydoréduction de l'ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2, 2'- azino bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)). Au cours de ce test le sel d'ABTS perd un électron pour former un radical cation (ABTS^{•+}) de couleur sombre en solution. En présence de l'agent antioxydant, le radical ainsi formé est réduit pour donner le cation ABTS⁺, ce qui entraîne la décoloration de la solution.



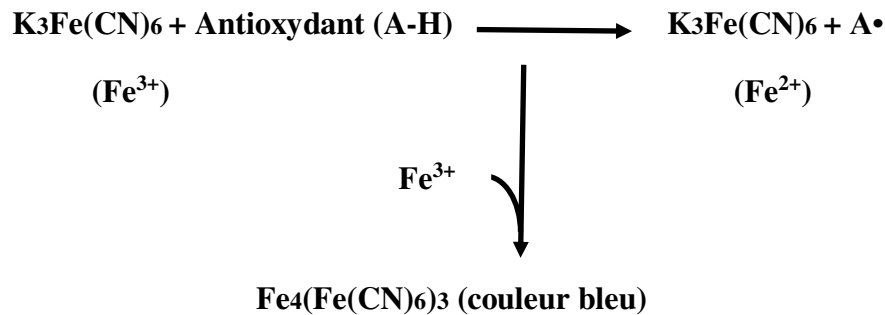
L'ABTS a été dissous dans de l'eau jusqu'à une concentration de 7 mM. Le cation (ABTS^{•+}) a été produit par la réaction de la solution mère ABTS avec 2.45 mM de persulfate de potassium en présence d'une solution tampon phosphate de potassium. La solution tampon est constituée de KH₂PO₄ (100 mM) pH (7.4) et de 150 mM de NaCl. Le mélange est incubé à l'obscurité et à la température ambiante pendant 12-16 h avant utilisation. L'ABTS et le persulfate de

potassium réagissent stoechiométriquement à un rapport de 1: 0.5, en entraînant une oxydation incomplète de l'ABTS. L'Oxydation de l'ABTS commence immédiatement, mais l'absorbance ne sera pas maximal et stable qu'à plus de 6 h, jusqu'à ce que la concentration du complexe radical cation ABTS (ABTS^{•+}) bleu-verdâtre donne une absorbance comprise entre 0.65 et 0.7 à 734 nm équilibrée à 30 ° C. 10 µl de l'extrait hydro-méthanolique dilué de chaque plante sont ajoutée à 1 ml de la solution d'ABTS^{•+}. La lecture de l'absorbance a été prise à 30 °C exactement 1 min après et jusqu'à 6 min. Une droite d'étalonnage est établie avec des solutions de BHT et BHA préparées à différentes concentrations. Les résultats sont exprimés en pourcentages d'inhibition (Re et *al.*, 1998).

$$I\% = \frac{(\text{Abs contrôle} - \text{Abs test})}{\text{Abs contrôle}} \times 100.$$

2.2.4.3 Test de réduction du fer : FRAP (Ferric reducing antioxidant power)

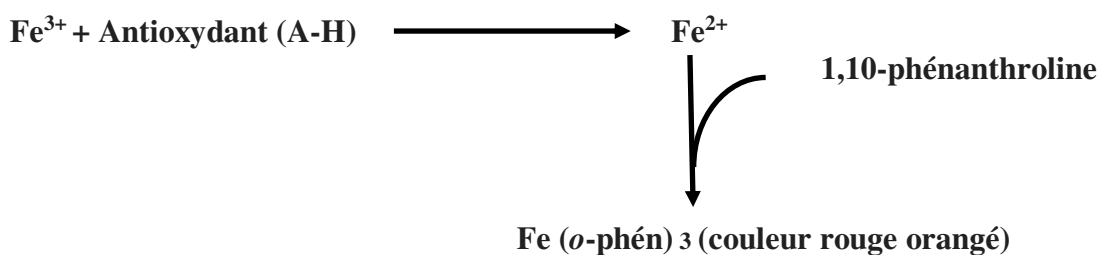
Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. Cette technique a été développée pour mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe³⁺) présent dans le complexe ferricyanure de potassium K₃Fe(CN)₆ en fer ferreux (Fe²⁺) (Oyaizu, 1986).



Différentes concentrations (6.25, 12.5, 25, 50, 100, 200, 400, 800, 1600 µg/ml) de l'extrait hydro-méthanolique (2.5 ml) de chaque plante ont été mélangés avec 2.5 ml de tampon phosphate de sodium (pH 6.6) et 2.5 ml de ferricyanure de potassium à 1%. Le mélange a été incubé à 50 °C pendant 20 min. Après 2.5 ml de l'acide trichloroacétique à 10% (w / v) ont été ajoutés, le mélange a été centrifugé à 3000×g pendant 10 min. Le surnageant (2.5 ml) a été mélangé avec 2.5 ml d'eau distillée et 0.5 ml de 0.1% de chlorure ferrique. L'absorbance a été mesurée à 700 nm: absorbance plus élevée indique une puissance de réduction plus élevée. Les mêmes expériences ont été effectuées pour l'acide ascorbique, l'acide gallique, le BHA et le BHT (Ferreira et *al.*, 2007).

2.2.4.4 Test de réduction du fer: méthode à phenanthroline

C'est une méthode colorimétrique qui se base sur la capacité du 1,10-phénanthroline de réagir avec le fer ferreux (Fe^{2+}) et de former un complexe de couleur orange en proportion directe avec la concentration en fer ferreux. Dans cette expérience le milieu réactionnel contient des ions de fer ferrique (Fe^{3+}), si l'extrait testé possède une activité antioxydante ceci va permettre la réduction du fer ferrique en fer ferreux. Le complexe orange formé absorbe à une longueur d'onde comprise entre 400 et 800 nm.



La procédure expérimentale (Szydłowska-Czerniaka *et al.*, 2008) comprend l'addition de 10 μl de différentes concentrations de l'extrait hydro-méthanolique (6.25, 12.5, 25, 50, 100, 200, 400, 800 $\mu\text{g/ml}$) de chaque plante à 50 μl de FeCl_3 (0.2%), puis 30 μl d'une solution méthanolique de phenanthroline (0.5%) et 110 μl de méthanol sont ajoutés, le mélange est incubé à l'obscurité pendant 20 min à 30 °C et la lecture a été effectuée à 510 nm. Le BHA et le BHT sont utilisés comme standard.

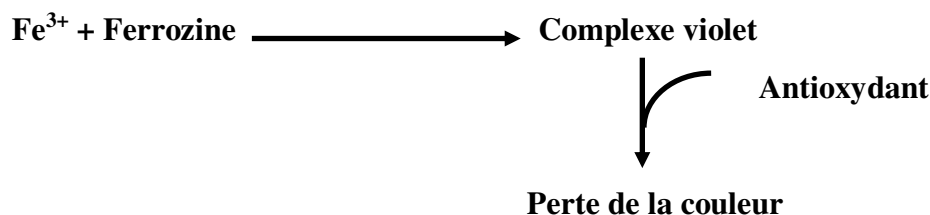
2.2.4.5 Test de réduction de fer par la méthode à Ferrozine

La Ferrozine réagit avec le fer formant un complexe violet avec une intensité de couleur directement proportionnelle à la concentration de fer. En présence d'un antioxydant, le fer sera réduit et le complexe violet ne se formera pas et ceci sera traduit par une perte de couleur. L'activité de chélation des métaux a été mesurée comme la méthode décrite par Decker et Welch, (1990), en ajoutant 40 μL de méthanol et 40 μl de l'extrait hydro-méthanolique à différentes concentrations puis 40 μl Fe^{2+} (0.2 mM) ont été ajoutés, par la suite 80 μl de Ferrozine (0.5 Mm) ont été additionnés. Après incubation à température ambiante pendant 10 minutes, l'absorbance du mélange a été enregistrée à 593 nm. L'EDTA est utilisée comme standard.

L'activité de chélation a été calculée en utilisant la formule suivante:

$$\text{Fe}^{2+} \text{ chelating effect } (\%) = [(Abs_e - Abs_c) / Abs_c] \times 100.$$

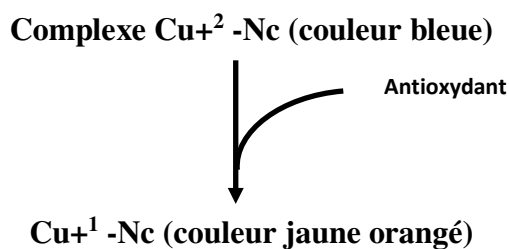
A_c: absorbance du control, A_e: absorbance des solutions d'extrait.



2.2.4.6 Test de réduction de cuivre CUPRAC (Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity)

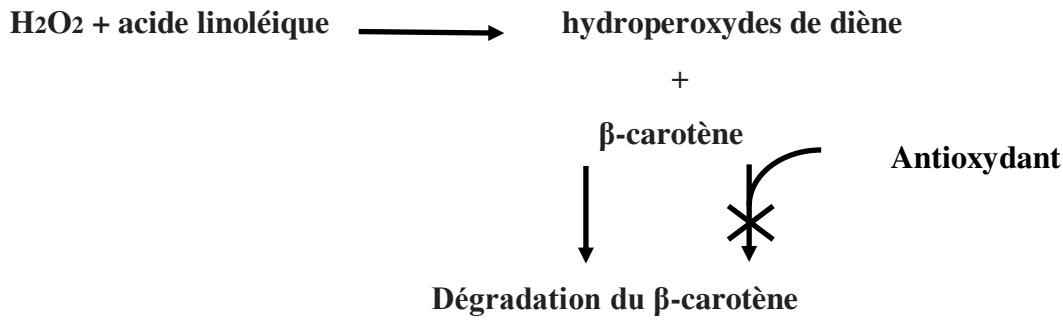
Le principe de ce test se base sur la conversion des hydroxyles phénoliques en quinones à travers la réduction du complexe Cu⁺²-Nc, produisant ainsi un complexe chromogène de Cu⁺¹-Nc qui absorbe à 450 nm.

Ce test a été réalisé selon la méthode décrite par Apak et *al.* (2004), qui consiste à produire un mélange de 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 hydro-méthanolique de chaque plante à différentes concentrations. Après une heure du temps l'absorbance a été enregistrée contre un blanc à 450 nm.



2.2.4.7 Test du blanchissement du β-carotène

Dans ce dosage, l'activité antioxydante est déterminée en mesurant l'inhibition de la volatilité des composés organiques et les hydroperoxydes de diène conjugué issus de l'oxydation de l'acide linoléique (Dapkevicius et *al.*, 1998).



Une solution mère de β -carotène / acide linoléique a été préparée comme suit: premièrement, 0,5 mg de β -carotène a été dissous dans 1 ml de chloroforme, puis 25 μl d'acide linoléique et 200 mg de Tween 40 ont été ajoutés. Le chloroforme a été ensuite évaporé en utilisant un évaporateur à vide. Ensuite, 100 ml d'eau oxygénée a été ajoutée avec une agitation vigoureuse. 40 μl de la solution d'extrait hydro-méthanolique de chaque plante étudiée (solubilisé dans le méthanol) sont additionnés à 160 μl de l'émulsion précédente avant d'être incubés. La même procédure a été répétée avec le BHA et le BHT (antioxydants de référence) aux mêmes concentrations. La décoloration de l'émulsion en présence et en absence d'antioxydant (contrôle négatif dans lequel l'échantillon est remplacé par 40 μl de méthanol) est lue à 470nm. L'activité antioxydante de l'extrait de chaque plante a été comparé à celles de BHA et BHT (Marco, 1968; Barrière et *al.*, 2001; Kartal et *al.*, 2007).

2.2.5 Activité anti-enzymatique *in vitro*

Plusieurs enzymes sont impliquées dans des processus liés aux déclenchements et de développement de certaines pathologies, c'est le cas par exemple de l'acétylcholinestérase et la butyrylcholinestérase et la maladie d'Alzheimer, l' α -glucosidase et le diabète type 2, la tyrosinase et certains troubles dermatologiques. L'activité inhibitrice des extraits hydro-méthanolique des différentes plantes étudiées a été testée sur ces enzymes.

2.2.5.1 Activité anti-Alzheimer

Pour évaluer l'activité anti-Alzheimer *in vitro*, Les activités acétylcholinestérase (AChE) et butyrylcholinestérase (BChE) ont été mesurées avec une modification légère de la méthode spectrophotométrique décrite par Ellman et *al.* (1961). AChE de l'anguille électrique et BChE

du sérum de cheval ont été utilisés, tandis que l'iodure d'acétylthiocholine et le chlorure de butyrylthiocholine ont été employés comme substrats. Le DTNB [5,5-dithio-bis (2-nitrobenzoïque)] a été utilisé pour la mesure de l'activité du cholinestérase. L'éthanol a été utilisé comme solvant pour dissoudre les composés d'essai 0 et les contrôles. 150 µl de tampon phosphate de sodium (100 Mm, pH 8.0), 10 µl d'une solution d'échantillon dissoute dans de l'éthanol à différentes concentrations et un volume de 20 µl l'AChE (5.32×10^{-3} U/ml) ou BChE (6.85×10^{-3} U/ml) ont été mélangés et incubés pendant 15 min à 25 °C puis 10 µl de DTNB (0.5 mM) ont été ajoutés. Ensuite, la réaction a été initiée par l'addition de 20 µl d'iodure d'acétylthiocholine (0.71 mM) ou le chlorure de butyrylthiocholine (0.2 mM). Les hydrolyses de ces substrats ont été suivies par spectrophotométrie par la formation d'une couleur jaune d'anion 5-thio-2-nitrobenzoate de méthyle, selon le résultat de la réaction de DTNB avec thiocholine, libéré par l'hydrolyse enzymatique de l'iodure d'acétylthiocholine ou le chlorure de butyrylthiocholine, respectivement, à une longueur d'onde de 412 nm. Le pourcentage d'inhibition de l'AChE ou BChE a été déterminé par comparaison des absorbances d'échantillons par rapport à l'échantillon témoin (éthanol dans du tampon phosphate, pH 8) qui représentent l'activité enzymatique en utilisant la formule suivante:

$$I (\%) = (E - S)/E \times 100$$

E : l'activité de l'enzyme sans extrait S : l'activité de l'enzyme en présence de l'extrait. La galantamine a été utilisé comme composé de référence.

2.2.5.2 Inhibition de l' α -glucosidase

L'activité inhibitrice de l' α - glucosidase a été réalisée par la méthode décrite par Palanisamy et *al.* (2011) avec quelques modifications.

Les solutions d'enzyme (0.1 U/ml) et de substrat ont été préparés dans une solution tampon phosphate (pH= 6.9), 50 µl de la solution d'échantillon ont été mélangée avec 50 µl de 4-Nitrophenyl α -D-glucopyranoside (5 mM) et 100 µl de l'enzyme et incubé pendant 15 min à 37 °C. De même, un blanc a été préparé en ajoutant une solution échantillon à tous les réactifs de la réaction. Les absorbances des échantillons et de blanc ont été lues à 405 nm (à 0 mn et 15 mn). L'absorbance du blanc a été soustraite de celle de l'échantillon. L'acarbose a été utilisé comme standards dans cette expérience. L'activité inhibitrice de l' α -glucosidase a été exprimée comme suit:

$$\% \text{ d'inhibition} = (\text{Abs de l'extrait}-\text{Abs de Blanc})/\text{Abs de control} \times 100$$

Control : Enzyme + Substrat + Solvant de l'extrait.

2.2.5.3 Inhibition de la tyrosinase

L'activité inhibitrice de la tyrosinase a été mesurée en utilisant la méthode de dopachrome rapportée par Erdogan Orhan et *al.* (2015) ou la L-DOPA est le substrat, avec une légère modification. 150 µl de tampon phosphate de sodium (pH 6.8), 10 µl de différentes concentration de l'extrait ont été ajoutés, puis 20 µl d'une solution de tyrosinase a été additionnée, le mélange a été incubé durant 10 mn à 37 °C, ensuite 20 µl de L-DOPA est ajouté, l'incubation a été faite durant 10 mn à 37 °C suivie d'une lecture à 475 nm. L'acide kojique a été utilisé comme standards dans cette expérience.

L'activité inhibitrice de la tyrosinase a été exprimée comme suit:

$$\% \text{ d'inhibition} = (\text{Abs de control} - \text{Abs échantillon}) / \text{Abs de control} \times 100$$

Control : Enzyme + Substrat + Solvant de l'extrait.

Tous les tests de l'activité antioxydante et de l'activité anti-enzymatique ont été faits dans des microplaques à 96 puits, la lecture des absorbances a été effectuée en utilisant un lecteur de microplaques à 96 puits (SpectraMax PC340, Molecular Devices, États-Unis).

2.2.6 Détermination du facteur de protection solaire (SPF)

Le SPF est une mesure quantitative de l'efficacité d'une formulation ou d'une substance à protéger contre le rayonnement solaire, en particulier les rayons UV. Pour être efficace dans la prévention des coups de soleil et autres dommages cutanés, un filtre solaire doit avoir une gamme d'absorbance étendue entre 290 et 400 nm (Dutra, 2004). Dans notre travail, 2 mg de chaque extrait hydro-méthanolique des plantes étudiées sont dilués dans 1 ml de méthanol, Les absorbances des échantillons en solution ont été mesurées dans la gamme de 290 à 320 nm en utilisant un lecteur monochromateur, une microplaque à 96 et le méthanol comme un blanc. Les données d'absorption étaient obtenues dans l'intervalle de 290 à 320 chaque 5 nm, et la valeur du SPF est calculé par l'application de l'équation mathématique de Mansur (1986)

$$\text{SPF}_{\text{spectrophotometric}} = \text{CF} \times \sum_{290}^{320} \text{EE}(\lambda) \times I(\lambda) \times A(\lambda)$$

EE: erythemal effect spectrum

I: solar intensity spectrum

A: absorbance of sunscreen product

CF: correction factor (= 10).

L'efficacité de nos extraits a été conclue en comparant les valeurs de SPF obtenues avec les facteurs de protection solaire mesurés qui sont représentés dans le tableau.

Tableau 3: Catégories de protection affichées sur les produits solaires en fonction des facteurs de protection mesurés, selon la Recommandation de la Commission Européenne 2006

Catégorie indiquée	Facteur de protection indiqué	Facteur de protection solaire mesuré	Facteur de protection UVA minimal recommandé	Longueur d'onde critique minimale recommandée
« Faible protection »	6	6 – 9.9	1/3 du facteur de protection solaire indiqué sur l'étiquette	370 nm
	10	10 – 14.9		
« Protection moyenne »	15	15 – 19.9		
	20	20 – 24.9		
	25	25 – 29.9		
Haute » « protection »	30	30 – 49.9		
	50	50 – 59.9		
« Très haute protection »	50+	60 ≤		

2.2.7 Activité antimicrobienne

L'activité antibactérienne doit être réalisée sur des souches bactériennes jeunes en phase de croissance exponentielle. La réactivation des cultures est effectuée par repiquage à la surface de la gélose nutritive pré coulée en boîte de Pétri ensuite incubée à 37 °C pendant 18 à 24h.

A partir d'un isolement des souches obtenu après 24 heures, 1 à 10 colonies sont prélevées et ajoutées à 5 ml de l'eau physiologique stérile pour faire une suspension équivalente à 0.5 McFarland d'une absorbance de 0.08 à 0.10 lue à 625 nm (Macfarland, 1907; Washington et al., 1972 et Baker et al., 1983). Des concentrations différentes sont préparées à partir des extraits *n*-butanol (E But) et acétate d'éthyle (E AcEth) de chaque plante. Chaque extrait est dissout dans le DMSO pour avoir les concentrations suivantes: 2, 3.125, 6.25, 12.5, 25 et 50 mg/ml. Chaque concentration a été testée par la méthode de diffusion sur gélose (Bolou et al., 2011 ; Al-Jadidi et Hossain, 2015).

2.2.7.1 Technique de l'antibiogramme

-l'ensemencement a été fait par la technique d'écouvillonnage: l'écouvillon est trempé dans la suspension bactérienne et essoré dans les bords, la boîte est ensemencée en frottant délicatement l'écouvillon sur la gélose. Pour obtenir des stries croisées, la boîte est tournée, le séchage est inutile.

Des disques de papier Wattman n°03 de 6 mm de diamètre (Garcia Rowe et *al.*, 1999), chargés d'un volume connu d'extrait (30 μ l), sont déposés à la surface en les appuyant légèrement à l'aide de la pince stérilisée. La technique est répétée trois fois.

Des disques de gentamicine sont pris comme antibiotique de référence (pour les souches bactériennes), ainsi que des disques imbibés de DMSO sont utilisés comme témoins.

Les boîtes sont placées dans l'étuve à 37 °C pendant 24 heures.

L'activité antimicrobienne se manifeste par la formation d'un halo autour du disque, où la culture est absente, ce qu'on appelle diamètre d'inhibition qui sera mesuré en millimètre et comparé avec des diamètres de référence.

2.2.8 Analyse statistique

Les données sont exprimées sous forme de moyenne statistique de trois répétitions, les valeurs de l'IC₅₀ (la concentration inhibitrice de 50% de radical) ont été déterminées graphiquement par la régression linéaire. Pour mieux comparer le pouvoir réducteur des extraits méthanoliques des différentes plantes étudiées, la valeur PR_{0.5} (la quantité d'une substance en μ g/ml du volume réactionnel correspondant à une absorbance de 0.5) a été déterminée par la régression linéaire (Ardestani et Yazdanparast, 2007).

Les calculs ont été faits par le logiciel Excel 2007 ainsi que les régressions linéaires, les courbes et les histogrammes ont été tracés par le même logiciel. L'analyse de la corrélation entre les résultats des différents tests et les taux de métabolites dosés a été réalisée par le test de corrélation Pearson. La comparaison des moyennes a été effectuée par l'ANOVA à un facteur avec le test tukey où la différence était considéré comme significative à un degré ≤ 0.05 . L'ACP aussi a été réalisé. Pour ces fins on a fait recours au programme SPSS Statistics version 25.

3 Résultats et Discussion

3.1 Extraction

L'huile essentielle de *L. antineae* extraite par hydrodistillation était d'une couleur jaune pâle et représentait un rendement de 0.1%.

L'huile essentielle de *Thymus algeriensis* obtenu a été d'une couleur jaune pâle et avec un rendement de 1.54%.

Chaque extrait (hydro-méthanolique, acétate d'éthyle et n-butanol) de chaque plante a été caractérisé par sa couleur et son rendement (Tableau 4) les rendements sont calculés par rapport au poids de la plante sèche

Tableau 4: Rendement et couleur des extraits de différentes plantes étudiées

Extrait		Rendement	Couleur
<i>P. atlantica</i>	Acétate d'éthyle	6.8%	Vert
	Butanol	20.44%	Marron
	Brut	32%	Vert foncé
<i>L. antineae</i>	Acétate d'éthyle	0.15%	Jaune
	Butanol	2.23%	Marron
	Brut	8.6%	Marron
<i>T. algeriensis</i>	Acétate d'éthyle	0.27%	Jaune
	Butanol	1.57%	Marron clair
	Brut	10.6%	Marron
<i>Marrubium alysson</i>	Acétate d'éthyle	0.065%	Jaune verdâtre
	Butanol	1.18%	Marron clair
	Brut	15.8%	marron
<i>Jasminum fruticans</i>	Acétate d'éthyle	0.10%	Jaune
	Butanol	2.23%	Vert foncé
	Brut	30%	vert

3.2 Analyse des extraits

3.2.1 Composition chimique de l'huile essentielle de *Lavandula antineae* et *Thymus algeriensis*

L'analyse chimique de l'huile essentielle de *L. antineae* a mis en évidence 11 composés représentant 95.73% des composants élusés (Tableau 5). Le profil chromatographique a montré que l'huile est riche en sesquiterpènes hydrocarbonés avec un pourcentage de 32.65% comme le Béta-bisabolene (24.36%) et Caryophyllene (6.9%). On a noté aussi la présence de Thymol avec un pourcentage considérable (15.33%). Les sesquiterpènes oxygénés ont représenté un pourcentage de 22.89% comme le Caryophyllene oxide (10.46%), Spathulenol (7.41%), Hanamanthagouda *et al.* (2010) ont trouvé des valeurs en Thymol et Caryophyllene oxide qui

égale à 2.35% et 3.68% respectivement dans l'huile essentielle de *L. bipinnata* et Pala-Paul et al. (2003) ont obtenu une valeur en Spathulenol équivalent à 2.6% dans l'huile essentielle de *Lavandula canariensis*.

Tableau 5: Composition chimique d'huile essentielle de *Lavandula antineae*

No	Composant	Ir	(%)
1	2,4,6-Octatriene, 2,6-dimethyl	19.211	1.06
2	Thymol	25.127	15.33
3	Caryophyllene	29.531	6.90
4	Isocaryophyllene	30.131	1.39
5	β -bisabolene	31.901	24.36
6	Eudesma-3,7(11)-diene	33.255	1.08
7	Spathulenol	34.337	7.41
8	Caryophyllene oxide	34.577	10.46
9	Tau-Cadinol	36.025	2.06
10	α -Cadinol	36.438	1.88
11	Cyclopropane, 1-(1-hydroxy-1-heptyl)-2-methylene-3-pentyl-	41.124	23.80

L'analyse chimique de l'huile essentielle de *T. algeriensis* a révélé 30 composés qui représentent 99.96% de la composition totale de cette huile (Tableau 6) avec la prédominance de sesquiterpènes oxygénés (40.32%) comme l'Elemol (18.38) et le β -eudesmol (11.50%), suivi d'un pourcentage considérable en monoterpènes oxygénés comme le Camphor (14.22 %) ainsi que les sesquiterpènes hydrocarbonés (23.61%) comme α -caryophyllene (9.68%). Une étude rapportée par Ben Elhadj Ali et al. (2012), sur les huiles essentielles de l'espèce *T. algeriensis* issue de huit échantillons du nord africain, a trouvé que β -eudesmol a un pourcentage qui varie de 0.1 à 0.9%, le Camphor prend des valeurs de 0.2% à 12.7% et une valeur considérable en Thymol qui peut atteindre 54.9% dans certains échantillons. El Ouariachi et al. (2014) ont marqué l'absence du Thymol dans l'huile essentielle du *T. algeriensis* marocain.

La différence de rendement en huile essentielle peut être expliquée par des facteurs climatiques tel que la sécheresse ou le stress thermique qui peuvent influencer la photosynthèse au niveau des plantes qui vont réagir en augmentant la production des métabolites secondaires (Lee et Ding, 2016).

La variabilité dans la composition chimique des huiles essentielles peut être due à des facteurs biotiques et abiotiques qui agissent sur les gènes qui codent pour les voies de biosynthèse des terpènes (Pratt et *al.*, 2014; Lee et Ding, 2016 ; Wahid et *al.*, 2016).

Tableau 6: Composition chimique d'huile essentielle de *Thymus algeriensis*

No	Composant	Ir	(%)
1	Eucalyptol	16.043	2.84
2	Linalol	18.154	1.39
3	Camphor	20.154	14.22
4	Borneol	20.832	6.44
5	Carvomenthenol	21.170	1.04
6	p-menth-1-en-8-ol	21.581	2.11
7	β -Myrcene	23.511	0.79
8	Thymol	24.746	0.70
9	Bornyl acetate	24.862	2.41
10	Terpinyl acetate	26.867	1.50
11	Copaene	27.995	0.61
12	α -Bourbonene	28.370	1.77
13	Gurjunene	29.150	0.75
14	α -Caryophyllene	29.518	9.68
15	β -Cubebene	29.757	1.00
16	Germacrene D	30.247	0.67
17	α -Bisabolene	30.559	0.63
18	Gurjunene isomer	30.827	0.86
19	Germacrene isomer	31.397	4.55
20	τ -Cadinene	32.322	0.88
21	δ -Cadinene	32.499	2.21
22	Elemol	33.288	18.38
23	Caryophyllene oxide	34.564	3.51
24	Cubenol	35.339	1.57
25	τ -Eudesmol	35.820	2.19
26	Cadinol	36.019	2.23
27	β -Eudesmol	36.451	11.50
28	Phthalic acid, mono-(2-ethylhexyl) ester isomer	36.902	1.34
29	Phthalic acid, mono-(2-ethylhexyl) ester	37.006	1.25
30	Isoaromadendrene epoxide	37.376	0.94

3.2.2 Screening phytochimique

Le résultat du screening phytochimique est résumé dans le Tableau 7. Toutes les espèces de plantes étudiées ont été marquées par la présence de polyphénols, flavonoïdes, de terpénoïdes et de saponosides.

Les stérols et les polyterpènes n'ont été présents que dans les extraits hydro-méthanoliques de *T. algeriensis* et *M. alysson*.

Les alcaloïdes n'ont marqué leur présence que dans les extraits de *P. atlantica* et *J. fruticans*.

La présence des tanins catéchiques a été marquée dans toutes les plantes, par contre les tanins galliques ont été absents chez toutes les espèces étudiées.

Tableau 7: Résultat du screening phytochimique

Test	<i>Pistacia atlantica</i>	<i>Lavandula antineae</i>	<i>Thymus algeriensis</i>	<i>Marrubium alysson</i>	<i>Jasminum fruticans</i>
Stérols et polyterpène	-	-	+	+	-
Polyphénols	+	+	+	+	+
Flavonoïdes	+	+	+	+	+
Tanins catéchiques	+	+	+	+	+
Tanins galliques	-	-	-	-	-
Alcaloïdes	+	-	-	-	+
Terpénoïdes	+	+	+	+	+
Saponosides	+	+	+	+	+

3.2.3 Analyse par HPLC/UV

Une méthode d'analyse par HPLC/UV a été mise au point afin d'évaluer la composition en polyphénols de l'extrait méthanolique de chaque plantes étudiées. L'identification des composants phénoliques dans les différents échantillons a été faite en comparant les temps de rétentions avec les temps de rétentions de 20 standards disponibles.

Le profile de l'analyse par HPLC/UV de l'extrait hydro-méthanolique de *Pistacia atlantica* a montré des pics remarquables dans un intervalle de temps entre 3 min et 33 min (Figure 30), les composants phénoliques majeurs de cet extrait ont été déterminés à des temps de rétention de 8.2 min 18.0 min, et 16.0 min, leurs pourcentages étaient respectivement 19.7%, 32.2% et 6%.

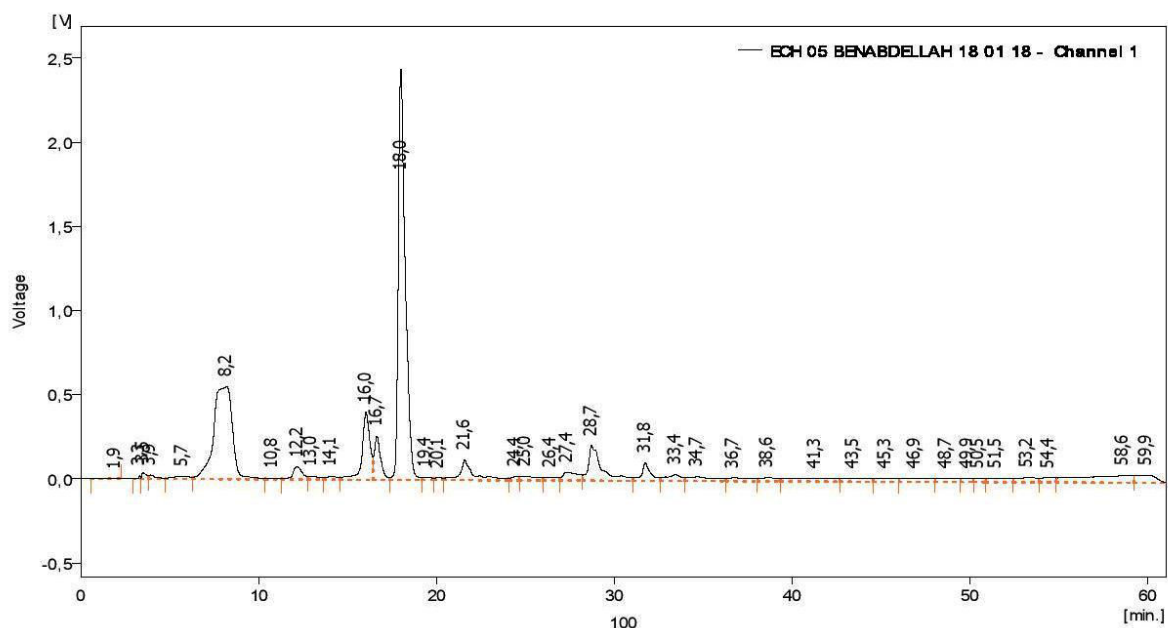


Figure 30: Chromatogramme de l'extrait hydro-méthanolique de *P. atlantica*

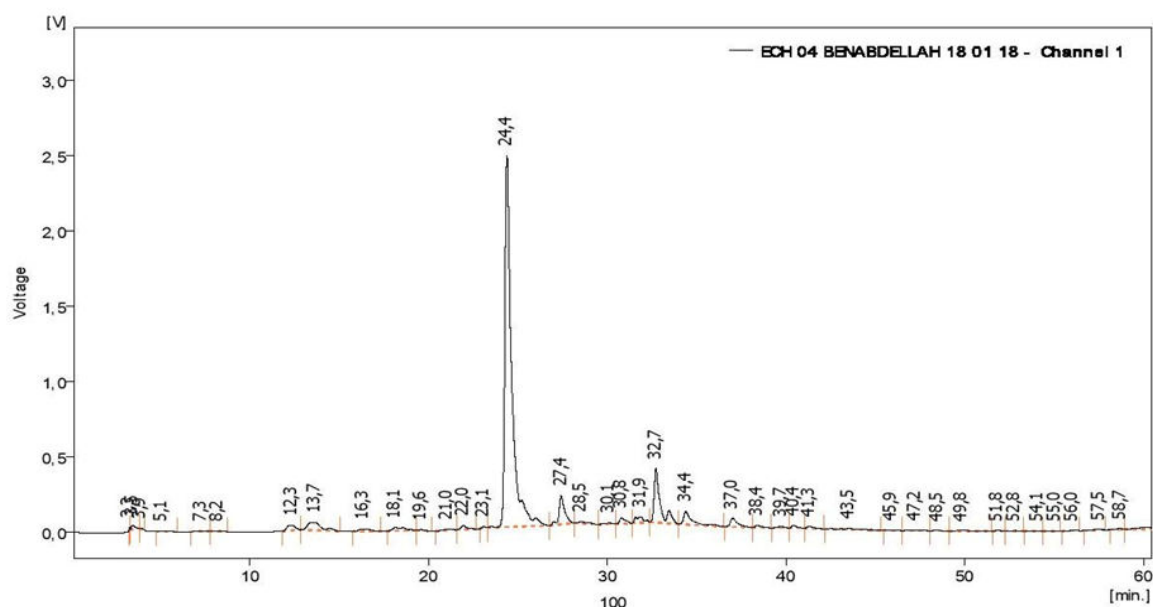


Figure 31: Chromatogramme de l'extrait hydro-méthanolique de *L. antineae*

Dans un intervalle de temps entre 3 min et 42 min, des pics ont été marqués sur le profile chromatographique de l'extrait de *Lavandula antineae* (Figure 31), un composant dominant avec un pourcentage de 67.2%, a été détecté à un temps de rétention de 24.4 min, suivi par deux autres composants avec les pourcentages suivants: 8.8% et 4.4%, leurs temps de rétention étaient de 32.7 min et 27.4 min respectivement.

De nombreuses pics ont été constaté, dans un intervalle de temps de 3 min jusqu'à 60 min, sur le profile chromatographique de l'extrait de *Thymus algeriensis*. Trois composants phénoliques constituant plus de 50% de l'extrait total, avec des pourcentages de 26.4%, 17.3% et 8.2%, leurs temps de rétention correspondants étaient, respectivement, 32.8 min, 36.4 min et 40 min (Figure 32).

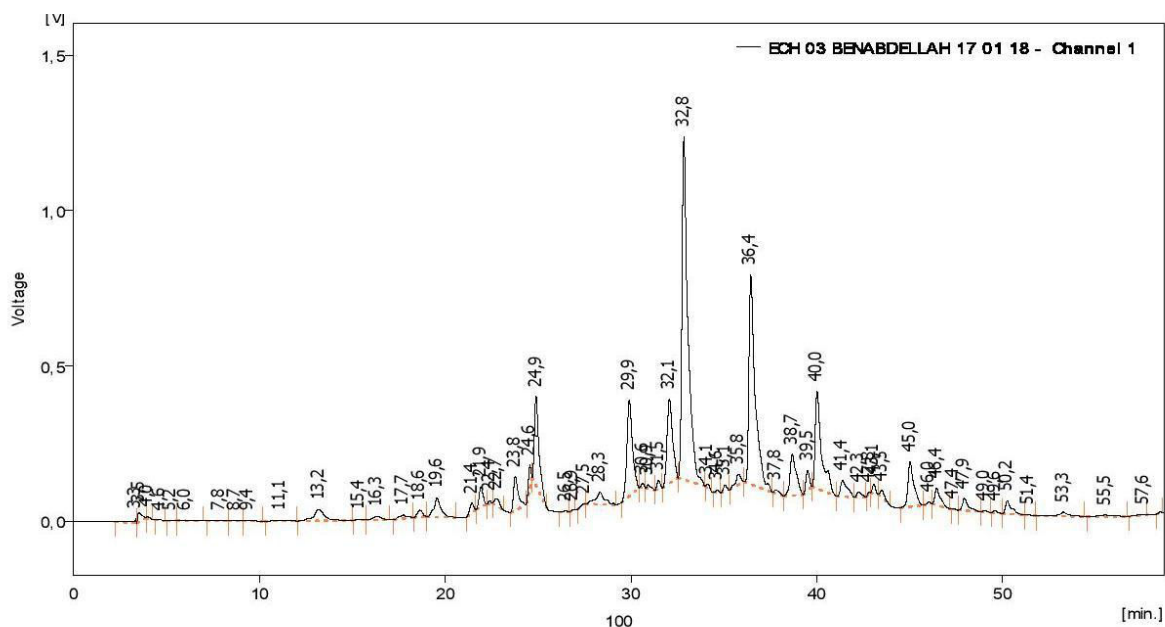


Figure 32: Chromatogramme de l'extrait hydro-méthanolique de *Thymus algeriensis*

Le profile chromatographique de l'extrait de *Marrubium alysson* a présenté plusieurs pics (Figure 33), elles ont été bien décelées à un intervalle de temps entre 3 min et 42 min, les trois composants phénoliques qui ont été marqués par les pourcentages les plus important (9.9%, 8.7% et 8.2%) avaient les temps de rétention suivants: 33.5 min, 30.4 min et 27.17 min respectivement.

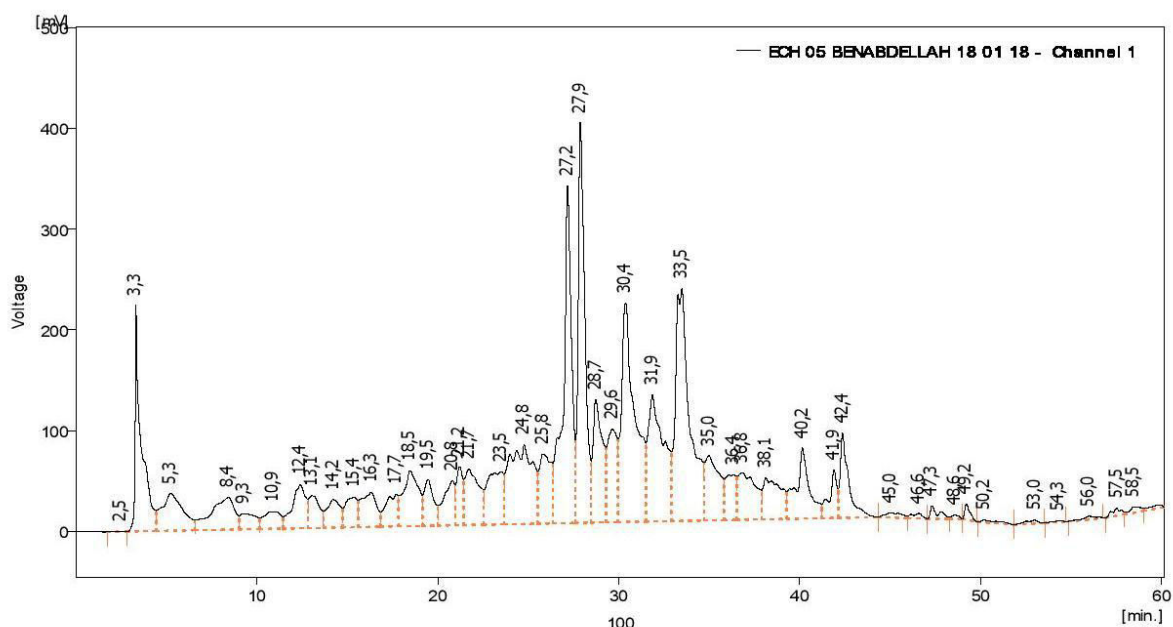


Figure 33: Chromatogramme de l'extrait hydro-méthanolique de *M. alyson*

Des pics bien distingués ont été enregistré dans le profil chromatographique de l'extrait de *Jasminum fruticans* dans un intervalle de temps entre 3 min et 44 min (Figure 34), les pourcentages les plus importants étaient de 26.3%, 12% et 11.1% qui représentent des temps de rétention qui égalent à 38.5 min, 32.6 min et 31.9 min respectivement.

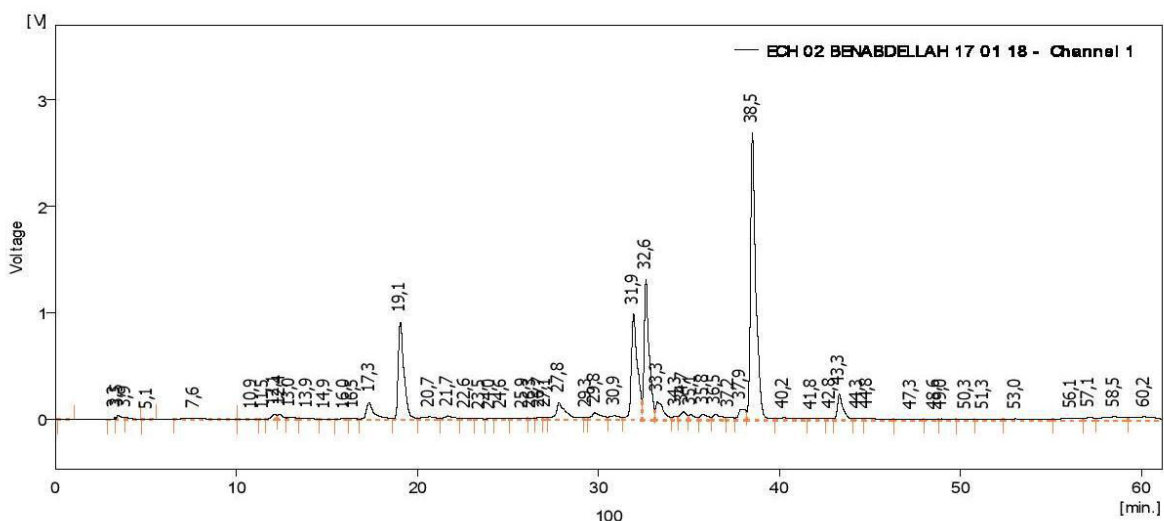


Figure 34: Chromatogramme de l'extrait hydro-méthanolique de *J. fruticans*

Rendant compte que la polarité de la phase mobile était décroissante (en augmentant le pourcentage de méthanol) et en comparant les chromatogrammes de nos plantes, on a pu constater que l'extrait de *T. algeriensis* peut contenir les composants phénoliques les moins polaires, *P. atlantica* peut avoir les molécules phénoliques les plus polaires, *M. alysson* peut comporter une variété de molécules phénoliques à différente polarité.

La comparaison des temps de rétention des pics dans les différents chromatogrammes avec ceux des standards disponibles, nous a permis de détecter la présence ou l'absence de certains composés phénoliques (Tableau 8), notamment:

L'acide p-coumarique n'a été identifié dans aucun extrait des cinq plantes étudiées.

L'acide 3-hydroxy-4-méthoxycinnamique a été détecté dans l'extrait de *P. atlantica* (5.2%), l'extrait de *T. algeriensis* (1.5%) et l'extrait de *L. antineae* (0.5%).

L'acide caféique était présent dans l'extrait de *M. alysson* (1.4%), l'extrait de *J. fruticans* (0.7%) et l'extrait de *P. atlantica* (0.2%).

L'acide férulique a été détecté à des faibles pourcentages équivalents à 0.1%, 0.3% et 0.5% dans les extraits de *T. algeriensis*, *J. fruticans* et *P. atlantica* respectivement.

L'acide gallique n'a été identifié que dans l'extrait de *L. antineae* avec un pourcentage qui égale à 0.1%.

L'acide anisique a été marqué par sa présence dans l'extrait de *T. algeriensis* avec un pourcentage considérable (26.4%), ainsi que dans l'extrait de *M. alysson* (9.9%). A des pourcentages moins importants, cet acide a été trouvé dans l'extrait de *J. fruticans* (2.5%) et l'extrait de *P. atlantica* (1.1%).

L'acide salicylique était présent dans l'extrait de *L. antineae* (0.9%), de *T. algeriensis* (0.2%) et dans l'extrait de *J. fruticans* à un pourcentage de 0.8%.

L'extrait de *M. alysson* a compris l'acide syringique avec un pourcentage de 2.3%, *T. algeriensis* avec le pourcentage de 1% et l'extrait de *L. antineae* avec le pourcentage de 7%.

L'acide trans-2,3-diméthoxycinnamique n'a été révélé que dans l'extrait de *T. algeriensis* avec un pourcentage de 0.9%.

Un pourcentage de 5.4% de l'acide trans-cinnamique a été marqué dans l'extrait de *T. algeriensis* tandis que cet acide est présent à un faible pourcentage (0.8%) dans l'extrait de *P. atlantica*.

L'acide vanillique était parmi les composants phénoliques rencontrés dans les extraits de *T. algeriensis* (0.2%), *L. antineae* (0.3%), *J. fruticans* (0.8%) et *M. alysson* (8.7%).

La berbérine n'était présente que dans l'extrait de *M. alysson* (2.6%) et l'extrait de *J. fruticans* (0.2%).

La catéchine a été détecté dans les extraits de toutes les plantes à des pourcentages de 3.1% pour *P. atlantica*, 1.1% pour *M. alysson*, 0.7% pour *J. fruticans* et *L. antineae* et 0.5% pour *T. algeriensis*.

A un pourcentage et qui ne dépassant pas le 0.5%, l'épicatéchine n'était présent que dans les extraits de *T. algeriensis* et *J. fruticans*.

L'euleropeine a été parmi les composants phénoliques les plus importants de l'extrait de *J. fruticans* (12%) et de l'extrait de *T. algeriensis* (6.1%).

La présence de kaempferol a été enregistrée dans les extraits de *P. atlantica* (1.9%), *T. algeriensis* (1.5%) et *L. antineae* (0.4%).

La myricétine a été détecté à des pourcentages de 3% pour *L. antineae*, 1.3% pour *P. atlantica*, 0.2% pour *T. algeriensis*, 0.3% pour *J. fruticans*.

On a noté la présence de la quercétine dans les extraits de toutes les plantes étudiées, elle a été représenté par les valeurs de pourcentage de 17.3% pour *T. algeriensis*, 2.5% pour *M. alysson*, 1.7% pour *L. antineae*, 0.9% pour *P. atlantica* et *J. fruticans*.

La résorcinol n'était présente que dans l'extrait de *J. fruticans* (0.1%), l'extrait de *P. atlantica* (0.2%) et l'extrait de *M. alysson* (0.9%).

La rutine n'a été détectée que dans l'extrait de *T. algeriensis* (0.2%).

Tableau 8: Composants identifiés dans les extraits méthanoliques des plantes étudiées

Plantes Composant	Temps de rétention (min)	<i>P.</i> <i>atlantica</i> (%)	<i>L.</i> <i>antineae</i> (%)	<i>T.</i> <i>algeriensis</i> (%)	<i>M.</i> <i>alysson</i> (%)	<i>J.</i> <i>fruticans</i> (%)
Acide p-coumarique	25.217	-	-	-	-	-
Acide 3-hydroxy-4-méthoxycinnamique	28.287	5.2	0.5	1.5	-	-
Acide caféique	20.523	0.2	-	-	1.4	0.7
Acide férulique	26.56	0.5	-	0.1	0.5	0.3
Acide gallique	6.543	-	0.1	-	-	-
Acide anisique	33.037	1.1	-	26.4	9.9	2.5
Acide salicylique	30.747	-	0.9	0.2	-	0.8
Acide syringique	21.967	-	0.7	1	2.3	-
Acide trans-2,3-diméthoxycinnamique	39.28	-	-	0.9	-	-
Acide trans-cinnamique	25.173	0.8	-	5.4	-	-
Acide vanillique	22.623	-	0.3	0.2	8.7	0.8
Berbérine	29.287	-	-	-	2.6	0.2
Catéchine	21.553	3.1	0.7	0.5	1.1	0.7
Epicatéchine	22.503	-	-	0.1	-	0.3
Euleropeine	32.367	-	-	6.1	-	12
Kaempferol	41.103	1.9	0.4	1.5	-	-
Myricétine	34.27	1.3	3	0.2	-	0.3
Quercétine	36.85	0.9	1.7	17.3	2.5	0.9
Résorcinol	10.403	0.2	-	-	0.9	0.1
Rutine	30.687	-	-	0.2	-	-

Une étude par Rézaie et *al.* (2015) réalisée sur l'extrait méthanolique de *P. atlantica* a montré la dominance de la luteoline avec un pourcentage qui égale à 46.53%. L'acide gallique, la catéchine et l'epicatechin ont été identifiés dans les feuilles de la plante (DerMarderosian et Beutler, 2010; Tomaino et *al.*, 2010).

Il n'existe pas une étude sur la composition chimique des extraits de *L. antineae*, la majorité des recherches sont portées sur d'autres espèces du même genre tel que *L. angustifolia*. Les extraits de cette dernière ont été montrés riche en acide caffeique, acide rosmarinique, et l'acide 4-hydroxybenzoïc (Turgut, 2017).

Une étude par Boutaoui et *al.* (2018) a montré aussi la présence de l'acide férulique et la catéchine dans l'extrait éthanolique de *T. algeriensis*.

L'analyse chimique des extraits méthanolique de *M. incanum*, *M. candidiss*, *M. thessalum* et *M. peregrinum* a révélé aussi la présence de l'acide férulique, l'acide p-coumarique et l'acide caféique (Kozyra et *al.*, 2018).

3.3 Dosage des polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés

Les polyphénols totaux sont estimés par la méthode colorimétrique au folin ciocalteu, basé sur le protocole de Djeridani (2006), en utilisant l'acide gallique comme standard. Une courbe d'étalonnage linéaire a été tracée à partir des concentrations en acide gallique allant de 0.1 à 1.2 mg/ml, avec une valeur de $r^2 = 0.996$ (Annexe I). La composition en polyphénols totaux a été exprimée en mg d'équivalent en acide gallique par g de matière végétale sèche.

Un taux considérable en polyphénols a été rencontré dans l'extrait de *P. atlantica* qui égale à 36.089 ± 0.047 mg EAG/g de la matière sèche. Malekzadeh et *al.* (2015) ont trouvé un taux en polyphénols très faible qui est équivalent à 0.514 ± 1.40 mg EAG/g de la plante sèche. Dans les fruits de *P. atlantica*, Hatamnia et *al.* (2014) ont trouvé des taux en polyphénols variant de 1.7 jusqu'à 39.69 mg EAG/g de la matière sèche.

Le taux de polyphenols totaux présent dans *L. antineae* égale à 2.013 ± 0.009 EAG/g de la matière sèche, Gulçin et *al.* (2004) ont trouvé un rendement en polyphénols plus inférieur et qui égale à une valeur de 226.76 μ g (0.227 mg) à partir de 25g d'un extrait éthanolique de *L. stoechas*. Un taux de polyphenols plus supérieur et qui égale à 3.78 mg/g a été estimé par Costa et *al.* (2013) à partir d'une extraction par un mélange éthanol-eau des composés phénoliques à partir de *L. viridis*.

Le taux de polyphenols totaux présent dans *T. algeriensis* égale à 1.337 ± 0.001 mg EAG/g de la matière sèche. Zeghad et merghem (2013) ont trouvé un taux de polyphénols plus important que le notre (9.07 mg/g d'acide tannique) dans l'extrait éthanolique du *T. vulgaris*.

Marribium alysson a compris un taux en polyphénols totaux équivalent à une valeur de 1.384 ± 0.002 mg EAG/g de la matière sèche. Edziri et *al.* (2011) ont trouvé un contenu en

polyphénols clairement supérieur et qui rapproche à une valeur de 120 mg EAG/g par gramme d'extrait.

Les polyphénols dans l'extrait de *Jasminum fruticans* représente une valeur de 1.319 ± 0.002 mg EAG/g de la matière sèche.

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium décrite par Zheizen (1999), une courbe d'étalonnage linéaire a été établie en utilisant la quercitine comme standard à différentes concentrations variant de 0.01 à 0.25 mg/ml (Annexe I). Avec un $r^2 = 0.996$.

Pistacia atlantica a présenté une valeur en flavonoïdes qui égale à 0.775 ± 0.01 mg EQ/g de la matière végétale sèche. Hatamnia et al. (2014) ont révélé des valeurs en flavonoïdes allant de 0.46 jusqu'à 7.73 mg de catechine/g de matière sèche dans les fruits de *Pistacia atlantica*.

Le taux de flavonoïdes est déduit à une valeur de 0.587 ± 0.003 mg EQ/g de la matière végétale sèche pour *L. antineae*.

Un taux qui égale 0.339 ± 0.001 mg EQ/g de la matière végétale sèche est obtenu dans l'extrait de *T. algeriensis*. Zeghad et merghem (2013) ont estimé un taux en flavonoïdes supérieur que le notre (équivalent à une valeur de 8.56 mg EQ/g).

Les taux en flavonoïdes dans les extraits de *Marrubium alysson* et *Jasminum fruticans* se rapprochent et égales respectivement à des valeurs de 0.225 ± 0.007 et 0.252 ± 0.002 mg EQ/g de la matière végétale sèche. Stanković (2011) a trouvé un taux en flavonoïdes plus élevé dans l'extrait méthanolique de *Marrubium peregrinum* et qui égale à 54.77 mg de rutine /g d'extrait.

Le dosage des tanins condensés a été réalisé suivant le protocole décrit par Broadhurst (1978), par la méthode à la vanilline en milieu acide avec une légère modification. Une courbe d'étalonnage linéaire a été établie en utilisant la catéchine comme standard à différentes concentrations (Annexe I) avec un $r^2 = 0.958$.

P. atlantica a présenté un taux qui égale à 18.4 ± 0.23 mg EC/g, suivie par *J. fruticans* avec un taux qui égale 13.35 ± 0.21 mg EC/g de la plante sèche. Des taux allant de 2.79 jusqu'à 8.29 mg EC/g de la plante sèche, ont été estimés dans les extraits hydro-méthanoliques de *L. antineae*, *T. algeriensis* et *M. alysson*.

Une concentration très élevée en tanins condensés a été trouvée dans les feuilles de *P. lentiscus* où la valeur égale à 359.83 ± 2.12 mg EC /g extrait (Hemma et al., 2018).

La figure 35 représente un histogramme des résultats de dosage des polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés dans l'extrait hydro-méthanolique des différentes plantes étudiées.

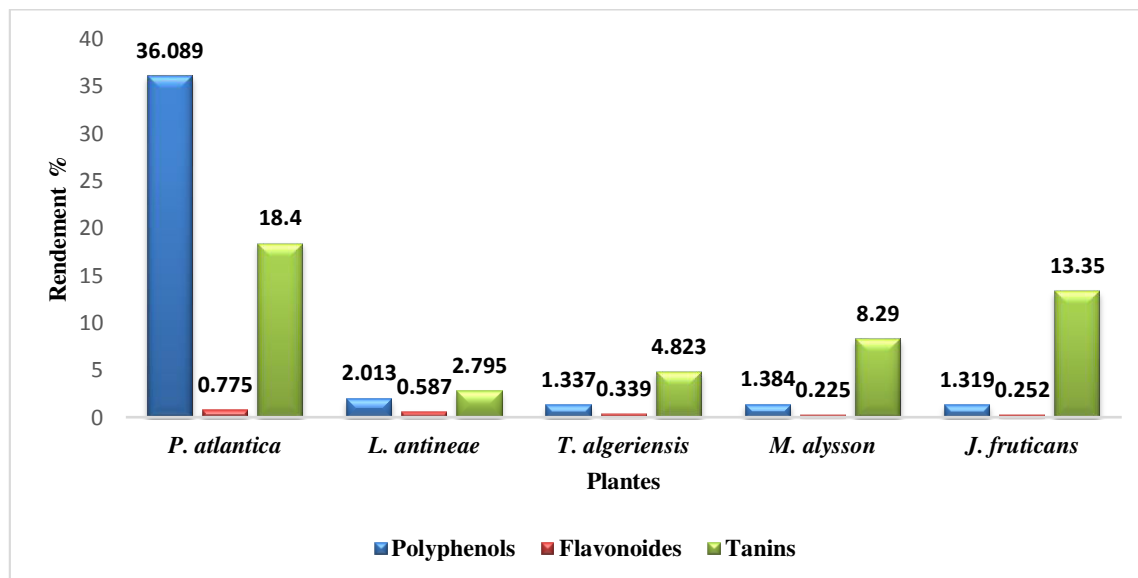


Figure 35: Histogramme représentant les résultats de dosage des polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés dans l'extrait hydro-méthanolique des différentes plantes étudiées

3.4 Activité antioxydante

3.4.1 Test de piégeage du radical libre DPPH

Le mécanisme principal d'action dans ce test est le piégeage des radicaux libres par le transfert de l'atome H sur le DPPH• (couleur violette) alors transformé en une molécule stable DPPHH (couleur jaune) mesurable à 515 nm. Pour évaluer l'activité antioxydante, cette dernière est définie par le pourcentage d'inhibition de l'activité anti-radicalaire (I%), où l'absorbance du mélange réactionnel qui contient le radical libre et l'échantillon de l'antioxydant est reliée avec l'absorbance du mélange sans aucun antioxydant (solution témoin ou contrôle).

Pour les extraits hydro-méthanoliques des plantes étudiées les standards utilisés étaient le BHT et le BHA, alors que pour les deux extraits (acétate d'éthyle et butanol) de *L. antineae* et *T. algeriensis*, la comparaison a été faite avec l'acide ascorbique.

Tableau 9: Pourcentages d'inhibition du DPPH par les extraits hydro-méthanoliques des plantes étudiées et les IC₅₀ correspondantes

Extrait	% d'inhibition							IC ₅₀ µg/ml
	6.25 µg/ml	12.5 µg/ml	25 µg/ml	50 µg/ml	100 µg/ml	200 µg/ml	400 µg/ml	
<i>P. atlantica</i> b	87.86±0.64	89.44±0.23	90.34±0.23	91.02±0.13	91.13±0.13	91.20±0.11	91.28±0.07	5.61±0.06
<i>L. antineae</i> a b	19.03±1.86	35.87±1.18	68.39±1.32	87.07±0.13	87.86±0.07	88.27±0.20	88.54±0.23	18.59±0.07
<i>T. algeriensis</i> a b	22.23±2.58	35.50±1.70	66.92±3.39	87.71±0.11	88.42±0.47	89.66±0.17	90.26±0.99	18.40±0.42
<i>M. alysson</i> a	4.83±2.33	14.64±3.23	27.79±0.95	53.43±2.29	88.35±0.69	88.91±1.93	89.81±0.17	46.47±2.00
<i>J. fruticans</i> a b	7.57±0.97	12.64±2.52	18.66±0.53	33.36±2.36	62.79±0.96	87.71±0.11	88.35±0.33	78.02±2.14
BHA ^{a b}	36.46±2.45	59.63±1.50	78.91±0.77	83.11±0.46	84.21±0.50	85.31±0.35	85.91±0.50	10.03±0.84
BHT ^{a b}	18.55±2.46	32.60±3.72	53.80±2.58	74.97±2.14	83.41±0.86	84.59±0.46	85.76±0.91	23.54±1.83

$p \leq 0.05$, a, b: sous ensembles déterminés par le test Tukey.

3.4.1.1 Extraits hydro-méthanoliques

Le tableau 9 englobe les pourcentages d'inhibition du DPPH et les IC₅₀ calculées de l'extrait hydro-méthanolique des cinq plantes étudiées, la figure 36 montre une comparaison entre les IC₅₀. *P. atlantica* a été marqué par la capacité antioxydante la plus puissante ou les pourcentages d'inhibition dépassant le 80% pour toutes les concentrations testées, l'IC₅₀ a été déterminée à une valeur de 5.61±0.06 µg/ml. *P. atlantica* a présenté un potentiel antioxydant plus élevé par rapport aux deux antioxydants de synthèse: BHT (23.54±1.83 µg/ml) et BHA (10.03±0.84 µg/ml). Plusieurs études qui ont testé le pouvoir piègeur du radical DPPH des huiles essentielles de *P. atlantica*, ont trouvé des IC₅₀ supérieures à celles obtenues dans la présente étude, où les valeurs allant de 23 jusqu'à 2000 µg/ml (Rezaie et al., 2015; Sifi et al., 2015 et Labeled-Zouad et al., 2017), ceci peut être expliqué par le fait que l'extrait hydro-méthanolique, par rapport aux huiles essentielles, comporte une variété de molécules bioactives telles que les composés phénoliques qui possèdent des propriétés d'oxydo-réduction agissant comme agents réducteurs, donneurs de l'hydrogène et de l'oxygène singulier (Rice-Evans et al., 1995). Des études portées

sur les feuilles et les fruits de *P. atlantica* ont montré une activité antioxydante similaire ou significativement supérieure à celui des composés antioxydants standards, *in vitro* (Bozorgi et al., 2013).

Un pouvoir antioxydant quasi similaire pour *L. antineae* et *T. algeriensis* et plus puissant que le BHT a été remarqué, leurs IC₅₀ ont pris les valeurs de 18.59±0.07 µg/ml et 18.40±0.42 µg/ml respectivement. Les pourcentages d'inhibition ont pris leurs valeurs maximales à la concentration 400 µg/ml: 90.26±0.99% pour *T. algeriensis* et 88.54±0.23% pour *L. antineae*. Bouzidi et al. (2018) ont marqué des valeurs d'IC₅₀ allant de 0,33 jusqu'à 1,84 mg/ml qui ont été obtenues par les extraits méthanoliques de différentes parties de *L. dentatae*. La plupart des études de l'activité antioxydante par le test de piègeage de DPPH qui sont portées sur des espèces du genre *Lavandula*, sont réalisées sur les huiles essentielles, leurs résultats montrent une forte activité antioxydante (Mohamedi et Atik, 2012; Bettaieb Rebey, 2012; El Hamdaoui, 2018). En comparant les résultats de ces études et le résultat dans notre travail, on peut attribuer à l'extrait méthanolique de *L. antineae* une capacité antioxydante remarquable.

Khled khoudja et al. (2014) ont trouvé une IC₅₀ de l'extrait méthanolique de *T. algeriensis* égale à 179±0,012 µg/ml, une valeur nettement supérieure à celle obtenue dans nos résultats. Dans une autre étude réalisé sur l'extrait méthanolique de la même plante, l'IC₅₀ a été estimée à une valeur de 7± 0,02 µg/ml (Megdiche-Ksouri, 2015).

Nos résultats ne sont pas d'accord avec les résultats obtenus par Guesmi et al. (2014) qui a trouvé que le BHT a exercé une activité antioxydante plus puissante que l'extrait méthanolique de *T. algeriensis*.

Cette différence en pouvoir antiradicalaire au sein d'une même espèce peut être attribuée aux plusieurs facteurs, plusieurs études ont prouvé que l'addition d'eau à de faibles taux au solvant améliore l'extraction des antioxydants puissants (Turkmen et al. 2006; Zhao et al. 2006). Les différentes provenances d'une même espèce peuvent aussi influencer la potentialité antioxydante (Bettaieb Rebey et al., 2012).

Une étude rapportée par Laib (2011) a déterminée l'IC₅₀ à une valeur qui égale à 584±0.58 µg/ml pour *L. officinalis*.

L'IC₅₀ pour *M. alysson* égale à une valeur de 46.47±2.00 µg/ml, une valeur élevée en la comparant avec celles enregistrées pour les antioxydants synthétiques, les pourcentages d'inhibition ont pris des valeurs supérieures à 80% pour les concentrations 100, 200 et 400 µg/ml. Des espèces voisines de *M. alysson* ont présenté des valeurs d'IC₅₀ inférieures que celle

obtenue dans notre étude, c'est le cas par exemple de *M. vulgare* où l'IC₅₀ a pris la valeur de 25 µg/ml dans une étude faite par Ghazghazi et al. (2013). L'extrait méthanolique de *Marrubium deserti* de Noé a montré une efficacité antiradicalaire plus importante avec une IC₅₀ qui égale à 15.1 µg/ml, dans une étude réalisée par Ghedadba et al. (2015).

J. fruticans a été montré comme la moins performante par rapport aux autres plantes étudiées et par rapport aux antioxydants synthétiques, son IC₅₀ a atteint une valeur de 78.02±2.14 µg/ml. Aux deux concentrations 200 et 400 µg/ml, les pourcentages d'inhibitions ont dépassé le 80% (87.71±0.11 et 88.35±0.33%). Les extraits méthanoliques de *J. sambac* et *J. matthewii* ont été marqués par des IC₅₀ nettement inférieures que celle trouvée dans notre étude, les valeurs étaient de 2.30 µg/ml et 49.34±0.45 µg/ml respectivement (Abdoul-Latif et al., 2010 et Sharmin et al., 2016).

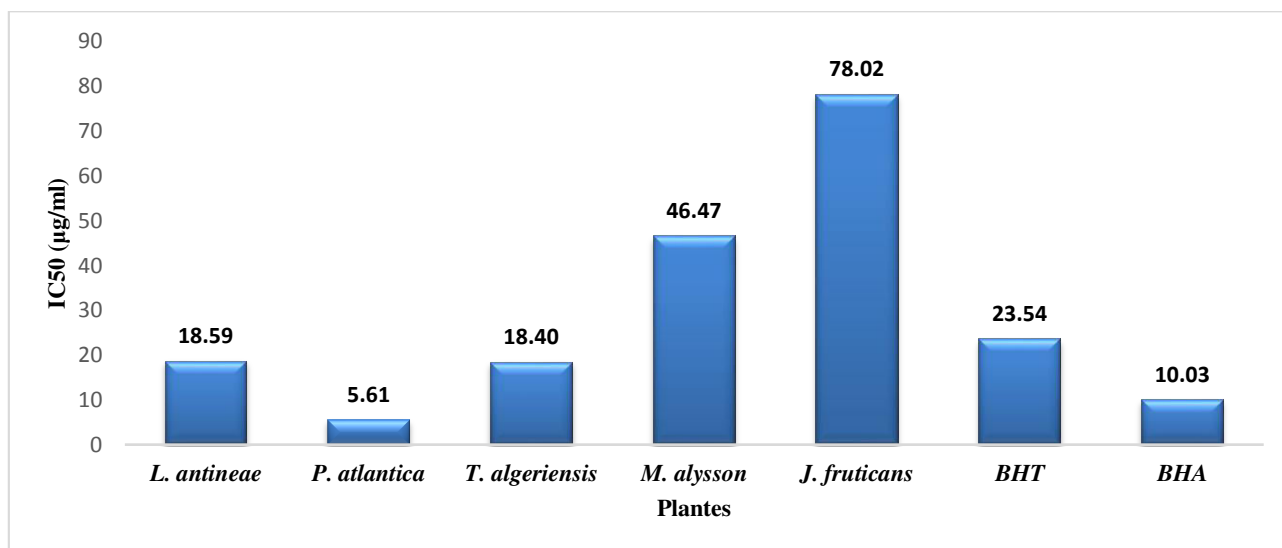


Figure 36: Histogramme représentant les IC₅₀ issues du test de piégeage de DPPH de l'extrait hydro-méthanolique des différentes plantes étudiées

3.4.1.2 Activité antioxydante des deux extraits (acétate d'éthyle et *n*-butanol) de *L. antineae* et *T. algeriensis*

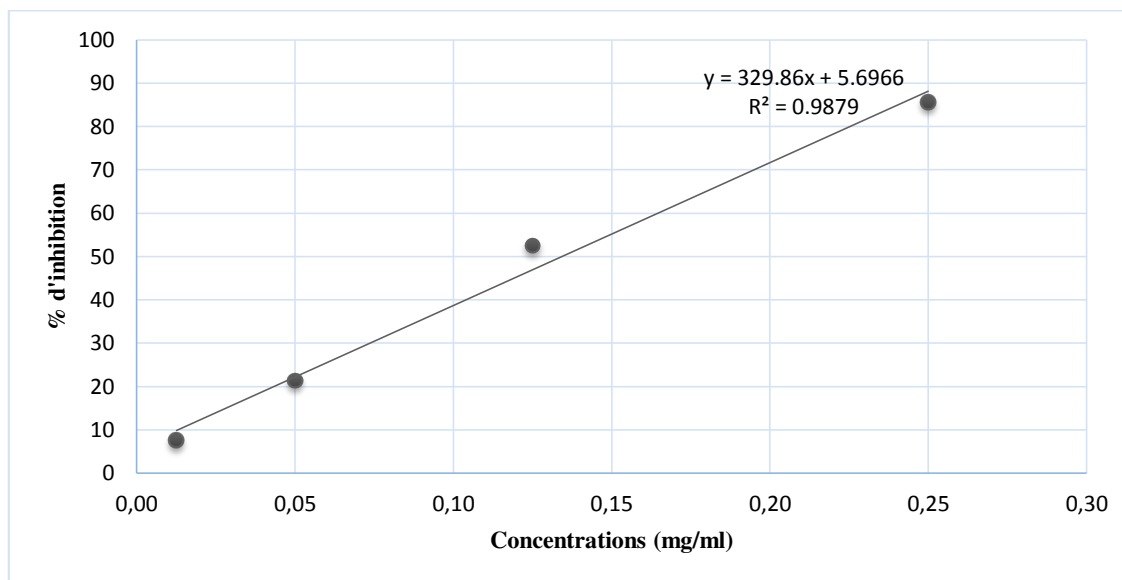


Figure 37: Droite de pourcentages d'inhibition du radical DPPH par l'acide ascorbique

D'après les résultats enregistrés, l'acide ascorbique et les deux extraits acétate d'éthyle et *n*-butanol de *L. antineae* ont présentés des valeurs d'IC₅₀ de 0.134, 0.047, 0.385 mg/ml successivement (Figure 37, 38, 39), l'extrait acétate d'éthyle est doté d'un pouvoir antioxydant plus important que l'acide ascorbique.

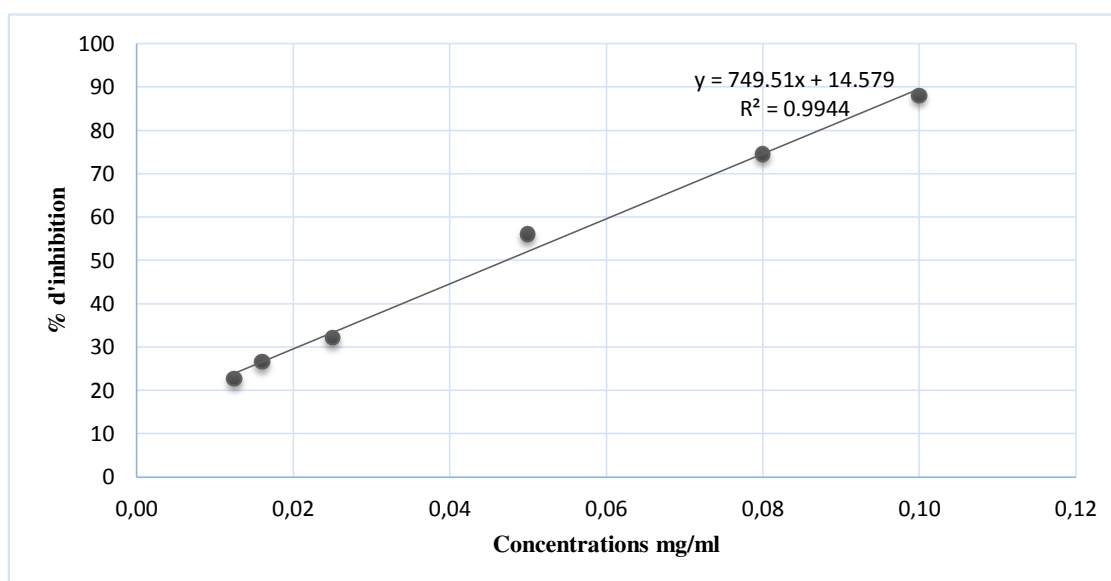


Figure 38: Droite de pourcentages d'inhibition du radical DPPH par l'extrait acétate d'éthyle de *L. antineae*

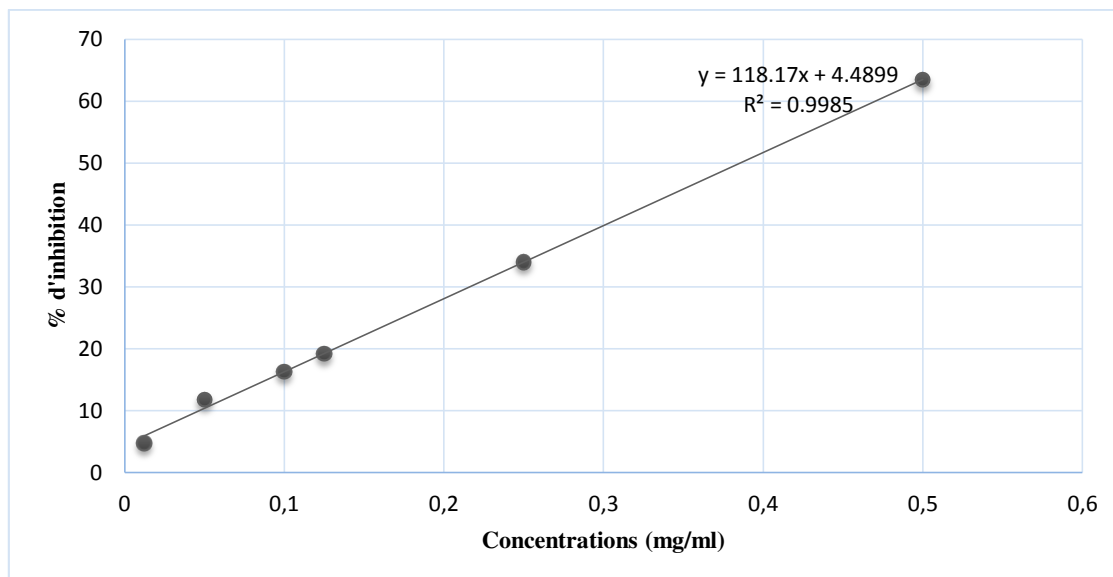


Figure 39: Droite de pourcentages d'inhibition du radical DPPH par l'extrait n-butanol de *L. antineae*

Thymus algeriensis a été marqué par une IC₅₀ égale à 0.290 mg/ml pour l'extrait acétate d'éthyle et par une IC₅₀ égale à 0.385 mg/ml pour l'extrait n-butanol (Figure 40 et Figure 41), Khled Khoudja et *al.* (2014) ont trouvé des valeurs d'IC₅₀ qui égale à 0.048 et 0.987 mg/ml successivement pour l'extrait acétate d'éthyle et l'extrait n-butanol de *T. algeriensis*. Notre extrait n-butanol semble plus efficace que le même extrait de Khled Khoudja et *al.* (2014).

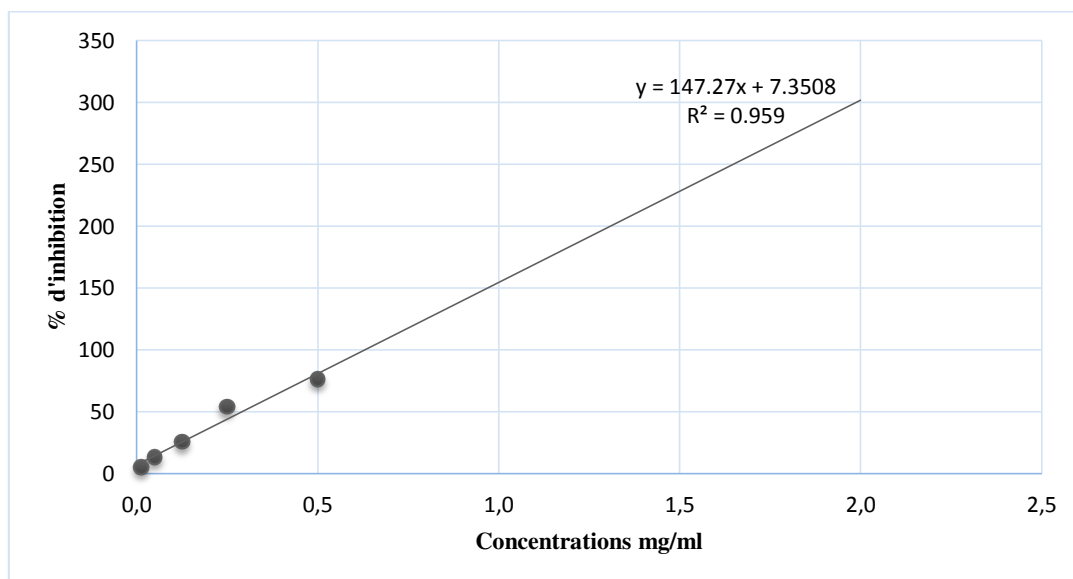


Figure 40: Droite de pourcentages d'inhibition du radical DPPH par l'extrait acétate d'éthyle de *T. algeriensis*

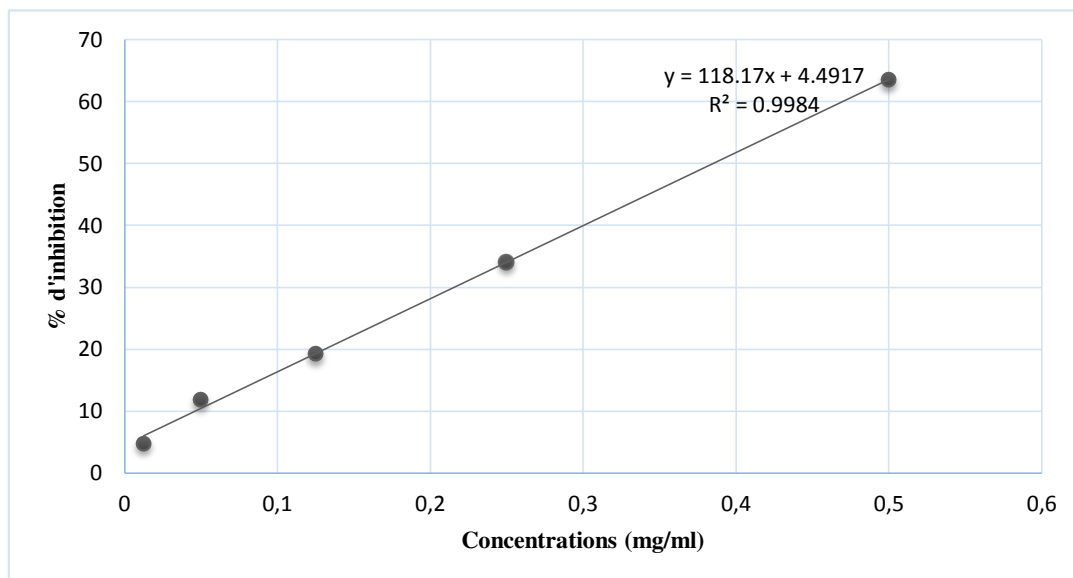


Figure 41: Droite de pourcentage d'inhibition du radical DPPH par l'extrait n-butanol de *T. algeriensis*

3.4.2 Test de piégeage du radical ABTS

Le test a été réalisé selon le protocole décrit par Re et *al.* (1998), l'ABTS^{•+} qui a été obtenu par une réaction entre l'ABTS et le persulfate de potassium est réduit en présence de l'agent antioxydant pour donner le cation ABTS⁺, cette réaction est manifesté par la décoloration de la solution.

L'IC₅₀ qui représente la concentration en échantillon (extrait) capable d'inhiber la moitié (50%) du radical, cette concentration a été déterminé pour chaque plante à partir des pourcentages d'inhibitions qui correspondent aux différentes concentrations.

Le tableau 10 résume les pourcentages d'inhibition du radical ABTS et les IC₅₀ calculées des extraits hydro-méthanoliques des cinq plantes étudiées, la figure 42 montre une comparaison entre les IC₅₀. Même à des faibles concentrations, l'extrait méthanolique de *P. atlantica* a présenté une forte inhibition du radical ABTS ou les valeurs d'inhibition ont dépassé le 90%. L'IC₅₀ est égale à 3.50 ± 0.05 µg/ml.

L. antineae a présenté des pourcentages d'inhibitions supérieurs à 90% à partir de la concentration de 50 µg/ml.

Des valeurs d'inhibition considérables ont été enregistrées pour l'extrait hydro-méthanolique de *T. algeriensis* à partir de la concentration de 50 µg/ml. L'IC₅₀ est déterminée à une valeur de 11.73±0.20 µg/ml.

Les pourcentages d'inhibition ne dépassent le 90% qu'à partir la concentration de 200 µg/ml pour l'extrait hydro-méthanolique de *M. alysson*.

Pour l'extrait hydro-méthanolique de *J. fruticans*, le pourcentage d'inhibition est maximale (91.78±0.20%) à la concentration de 400 µg/ml.

En comparant les différentes valeurs d'IC₅₀ des cinq plantes étudiées avec celles des deux standards (BHT et BHA) (Figure 42) on trouve que:

P. atlantica avait la valeur d'IC₅₀ la plus faible (3.50±0.05µg/ml) par rapport aux autres plantes, mais cette valeur reste supérieure à celles obtenues avec le BHT (1.29±0.30 µg/ml) et le BHA (1.81±0.10 µg/ml). Une étude réalisée par Labed-Zouad et al. (2017) a montré des valeurs d'IC₅₀ des huiles essentielles de *P. atlantica* supérieures aux celles trouvé dans la présente étude; 4.7±0.20 et 6.5±0.54µg/ml pour les feuilles et les fleurs successivement.

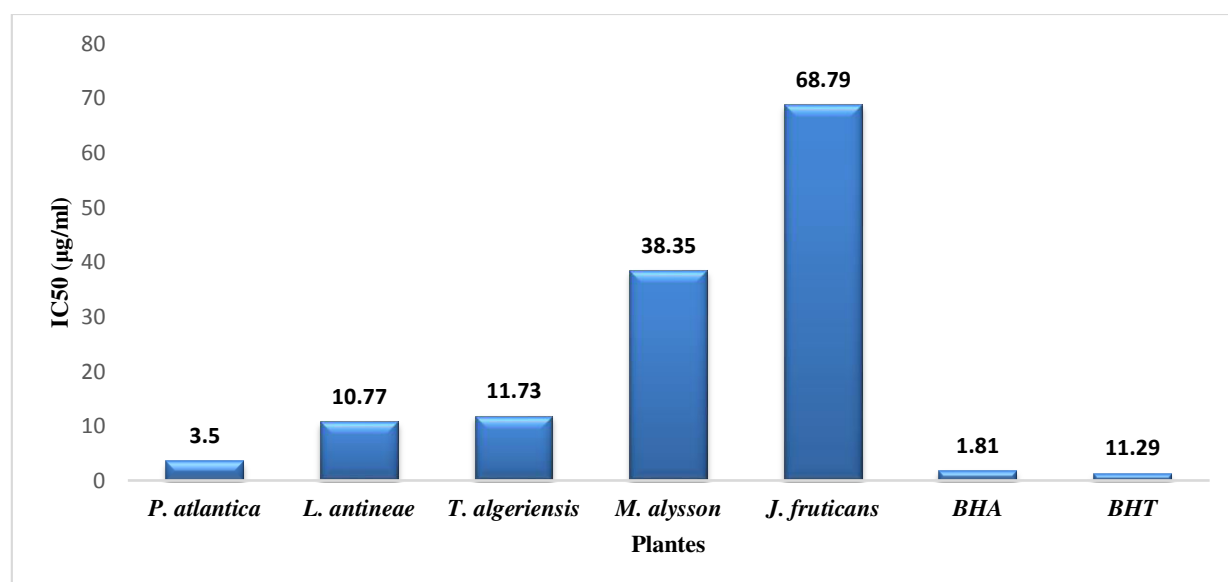


Figure 42: Histogramme représentant les IC₅₀ issues du test de piégeage de l'ABTS de l'extrait hydro-méthanolique des différentes plantes étudiées

J. fruticans a présenté la capacité antioxydante, vis à vis le radical ABTS, la plus faible. L'IC₅₀ a été déterminé à une valeur de 68.79±3.80 µg/ml.

T. algeriensis et *L. antineae* ont montré des valeurs d'IC₅₀ proches, 11.73±0.20 et 10.77±1.14 µg/ml respectivement. Leur capacité antioxydante est inférieure à celle de BHT et de BHA. Selon une étude de Ben El Hadj Ali et al. (2015), portée sur l'activité antioxydante des huiles essentielles de *T. algeriensis*, les valeurs d'IC₅₀ varient de 11.69 à 28.23 µgTrolox/mg de la plante sèche.

L'IC₅₀ de *M. alysson* a pris la valeur de 38.35±2.14 µg/ml et qui est une valeur très faible par rapport à celles de BHT et de BHT.

Tableau 10: Pourcentages d'inhibition de l'ABTS par les extraits hydro-méthanoliques des plantes étudiées et les IC₅₀ correspondantes

Extraits	% d'inhibition							IC ₅₀ µg/ml
	6.25 µg/ml	12.5 µg/ml	25 µg/ml	50 µg/ml	100 µg/ml	200 µg/ml	400 µg/ml	
<i>P. atlantica</i> ^c	92.18±1.47	92.47±0.40	92.81±0.20	92.87±0.10	92.98±0.10	92.98±0.10	93.10±0.00	3.50±0.05
<i>L. antineae</i> ^c	29.73±3.63	60.38±3.78	88.44±0.69	92.01±0.20	92.70±0.10	92.81±0.10	92.87±0.20	10.77±1.14
<i>T. algeriensis</i> ^{bc}	29.96±0.75	55.20±0.85	84.93±1.25	92.01±0.26	92.58±0.35	92.93±0.17	92.98±0.10	11.73±0.20
<i>M. alysson</i> ^{ab}	11.50±1.13	20.82±2.54	33.53±0.20	64.06±3.97	87.81±0.43	92.29±0.20	92.58±0.46	38.35±2.14
<i>J. fruticans</i> ^a	5.35±0.65	12.94±1.94	18.63±2.00	39.97±2.51	67.97±2.16	88.27±0.60	91.78±0.20	68.79±3.80
BHA ^c	93.50±0.09	93.55±0.09	93.60±0.16	93.60±0.95	94.17±0.90	95.37±2.63	95.42±2.69	1.81±0.10
BHT ^{bc}	61.38±0.57	62.02±3.82	76.50±1.40	82.55±1.04	88.60±2.66	90.38±0.67	95.83±0.15	1.29±0.30

$p \leq 0.05$, a, b, c: sous ensembles déterminés par le test Tukey.

3.4.3 Test de FRAP

Le pouvoir réducteur de l'extrait méthanolique de toutes les plantes étudiée, en fonction de différentes concentrations, a été déterminé selon la méthode décrite par Oyaizu (1986).

Dans ce test, la couleur jaune de la solution d'essai change à diverses nuances de vert et bleu, en fonction de la puissance de réduction. La présence de réducteurs (antioxydants) provoque la réduction du Fe³⁺ / ferricyanure, complexe à la forme ferreuse. Donc, mesurer la formation de la couleur bleu à 700 nm peut surveiller la concentration de Fe²⁺. (Ferreira et al., 2007).

Une augmentation du pouvoir réducteur de l'extrait hydro-méthanolique de chaque plante a été enregistrée en fonction de la concentration.

L'acide gallique avait le pouvoir réducteur le plus puissant par rapport aux résultats obtenus avec les différentes plantes et les autres témoins.

Toutes nos plantes ont exhibé un pouvoir réducteur plus puissant que celui mené par le BHT.

P. atlantica a présenté un pouvoir réducteur très important, la progression de l'activité antioxydante de l'extrait de la plante était quasi similaire à la progression obtenue avec l'acide ascorbique (Figure 43). A 50 µg/ml les absorbances étaient de $0,534 \pm 0,0025$ et $0,522 \pm 0,0021$ pour *P. atlantica* et l'acide ascorbique respectivement. A partir de la concentration de 400 µg/ml l'absorbance pour la plante et l'acide ascorbique a atteint une valeur de 3.

L'extrait méthanolique de *P. atlantica* a montré plus puissant que les deux antioxydants de synthèse (BHA et BHT), dès la concentration 25 µg/ml, les pouvoirs antioxydants de l'extrait de la plante, de BHA et BHT ont connu un écart magistral. L'absorbance du BHA n'a pris la valeur de 3 que lorsque sa concentration a arrivé à une valeur de 1600 µg/ml.

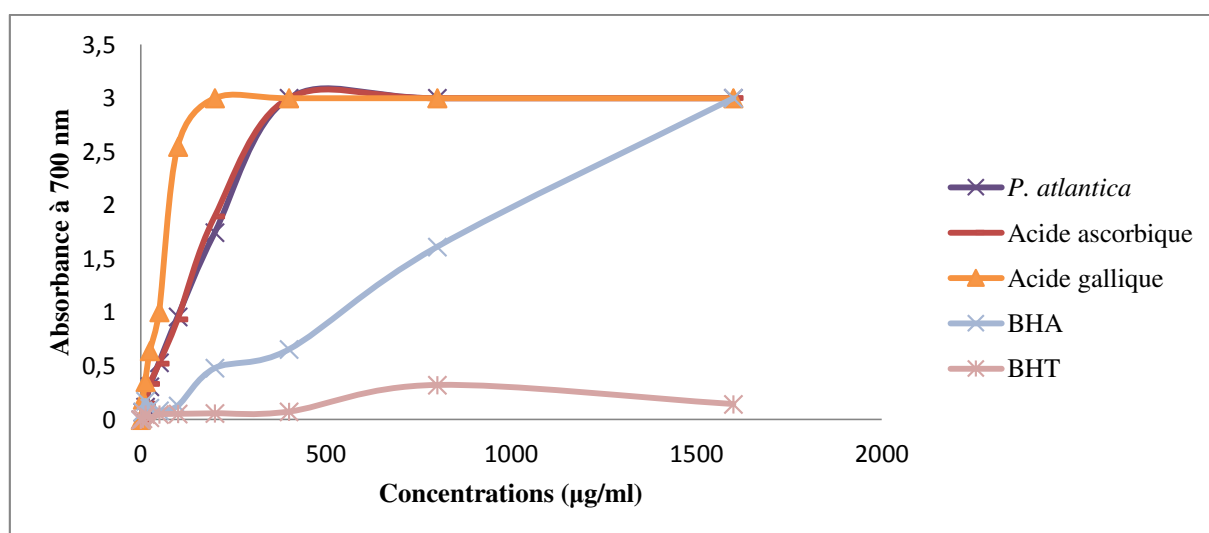


Figure 43: Activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique de *P. atlantica* obtenue par le test FRAP

A 6.25 et 12.5 µg/ml *L. antineae* a présenté des propriétés antioxydantes négligeables. A partir de la concentration 50 µg/ml, les absorbances ont été marquées par un accroissement notable, jusqu'à la valeur de 1600 µg/ml où l'absorbance a abordé la valeur de 3. Cet accroissement était plus important que celui produit par le BHA et le BHT, mais ça reste plus faible en le comparant avec l'acide ascorbique et l'acide gallique qui ont été distingués par des valeurs d'absorbances plus marquantes (Figure 44).

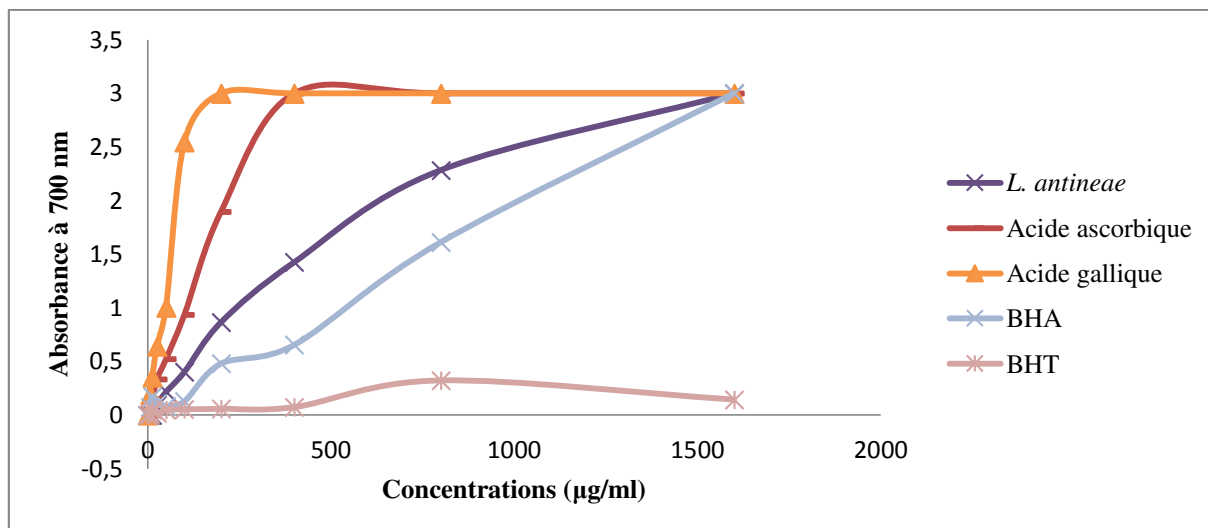


Figure 44: Activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique de *L. antineae* obtenue par le test FRAP

A partir de la concentration de 25 µg/ml, *T. algeriensis* avait des valeurs d'absorbances considérablement supérieures aux valeurs obtenues avec le BHA et le BHT (Figure 45). Une augmentation plus intéressante a été décelée à partir de 400 µg/ml. Néanmoins, l'acide ascorbique et l'acide gallique ont été signalés comme les plus performants.

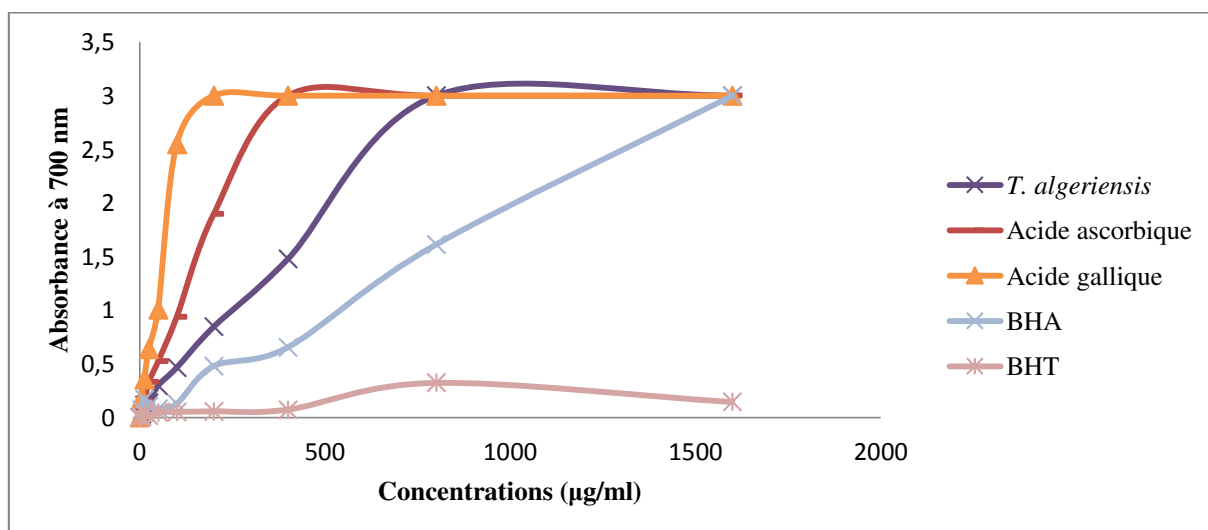


Figure 45: Activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique de *T. algeriensis* obtenue par le test FRAP

M. alysson a été marqué par un pouvoir réducteur moyen, la valeur de l'absorbance à la concentration 50 µg/ml pour la plante ($0,121 \pm 0,002$) était supérieure à la valeur d'absorbance parvenue par le BHA ($0,083 \pm 0,001$). Les courbes des absorbances de *M. alysson* et du BHA (Figure 46) ont enregistré un chevauchement au niveau des valeurs de 100, 200 et 400 µg/ml, puis les absorbances ont connu une divergence où le BHA a été marqué comme le plus efficace. L'extrait de *M. alysson* a présenté un pouvoir réducteur plus puissant que le BHT, mais qui est faible par rapport aux pouvoirs donnés par l'acide ascorbique et l'acide gallique.

J. fruticans était l'espèce qui a présenté le pouvoir réducteur le plus modeste. A partir de la concentration 25 µg/ml, la plante a montré plus performante que le BHT, l'absorbance a aboutit à une valeur de $1,546 \pm 0,003$ à la concentration 1600 µg/ml (Figure 47).

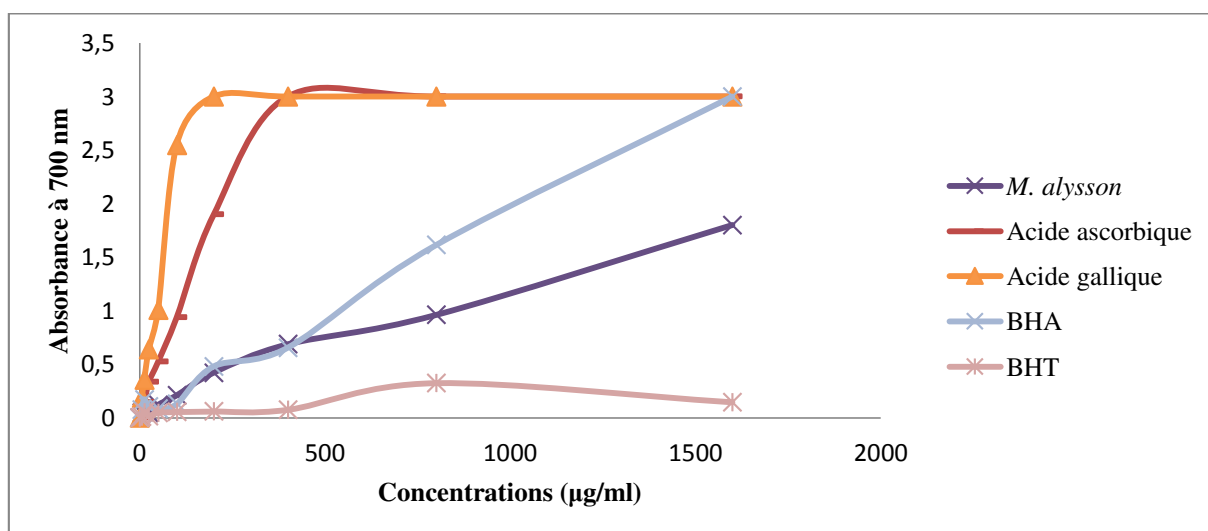


Figure 46: Activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique de *M. alysson* obtenue par le test FRAP

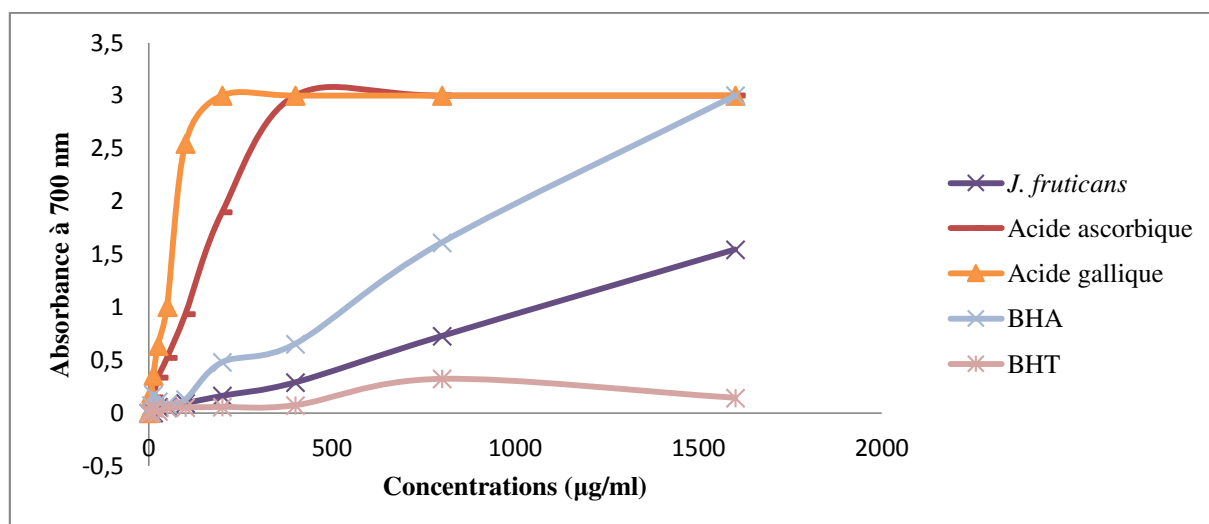


Figure 47: Activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique de *J. fruticans* obtenue par le test FRAP

Le Tableau (11) rapporte les valeurs de $PR_{0.5}$ de l'extrait méthanolique des plantes étudiées et des témoins.

Tableau 11: $PR_{0.5}$ (µg/ml) obtenus par le test FRAP des différentes plantes étudiées comparés aux BHA et BHT

Plante ou témoin	$PR_{0.5}$
<i>P. atlantica</i> ^{b c}	58.097±0.297
<i>L. antineae</i> ^{a b c}	155.733±0.196
<i>T. algeriensis</i> ^{a b c}	147.44±0.191
<i>M. alysson</i> ^{a b}	474±0.000
<i>J. fruticans</i> ^{a b}	490±0.000
Acide ascorbique ^{a b c}	54.573±0.248
Acide gallique ^c	20.62±0.04
BHA ^{a b}	464±0.007
BHT ^a	7566.66±0.0007

$p \leq 0.05$, a, b, c: sous ensembles déterminés par le test Tukey.

Le $PR_{0.5}$ représente la concentration qui correspond à une absorbance de 0.5. Elle est inversement proportionnelle au pouvoir réducteur, plus la concentration est faible plus le pouvoir à réduire le ferrocyanure de fer est important. Donc ces valeurs peuvent nous informer sur l'efficacité de l'activité antioxydante.

L'acide gallique a présenté la concentration la plus faible (20.62±0.04 µg/ml) conséquemment, il possède l'activité antioxydante la plus forte, cependant, le BHT a exhibé la concentration la

plus élevée ($7566.66 \pm 0.0007 \mu\text{g/ml}$) et qui se traduit par l'activité antioxydante la plus faible. Toutes nos plantes ont montré avoir une efficacité antioxydante plus remarquable que le BHT.

P. atlantica et l'acide ascorbique avaient des $\text{PR}_{0.5}$ avoisinants, $54.573 \pm 0.248 \mu\text{g/ml}$ et $58.097 \pm 0.297 \mu\text{g/ml}$ respectivement.

Le BHA a produit un pouvoir antioxydant faible par rapport à *P. atlantica*, *T. algeriensis* et *L. antineae*, avec un $\text{PR}_{0.5} = 464 \pm 0.007 \mu\text{g/ml}$, et qui est légèrement plus puissant que le pouvoir antioxydant de *M. alysson* et *J. fruticans*.

Megdiche-Ksouri et al. (2015) ont trouvé une $\text{PR}_{0.5}$ supérieure à celle trouvée dans notre étude et qui égale $210 \pm 2.11 \mu\text{g/ml}$, à partir de l'extrait méthanolique de *T. algeriensis*.

3.4.4 Test de réduction de fer par la méthode à phénanthroline

Le test, se basant sur la mesure de l'absorbance du complexe formé par la réaction du 1,10-phénanthroline avec le fer ferreux (Fe^{2+}) à 510 nm, a été réalisé selon le protocole décrit par Szydłowska-Czerniaka et al. (2008).

Les résultats de l'extrait hydro-méthanolique des différentes plantes ainsi que les standards (BHA et BHT) ont été représentés sous forme de courbes (Figure 48, 49, 50, 51, 52), les $\text{PR}_{0.5}$ ont été calculés à partir des régressions linéaires des absorbances en fonction des différentes concentrations testées (Tableau 12).

A des concentrations inférieures à $3 \mu\text{g/ml}$, la capacité antioxydante du *P. atlantica* et du BHA était semblable et plus importante que la capacité antioxydante présentée par le BHT.

Dans l'intervalle des concentrations comprises entre 6 à $15 \mu\text{g/ml}$, le pouvoir antioxydant du BHT a approché de celui de *P. atlantica*, puis les absorbances ont connu une légère augmentation pour le BHT par rapport à *P. atlantica* et le BHA.

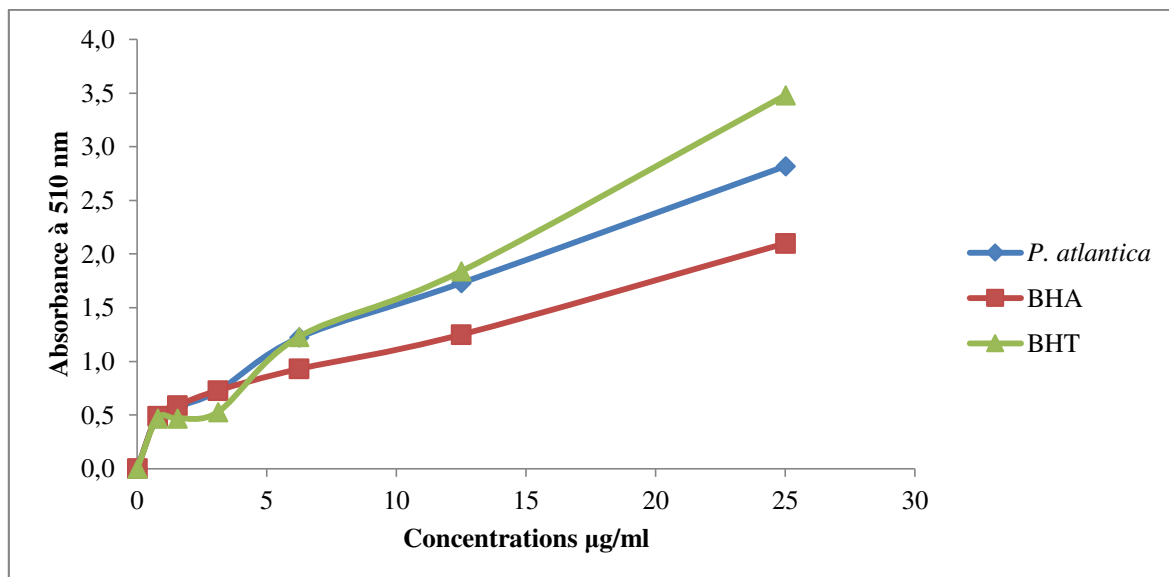


Figure 48: Activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique de *P. atlantica* obtenue par la méthode à phénanthroline

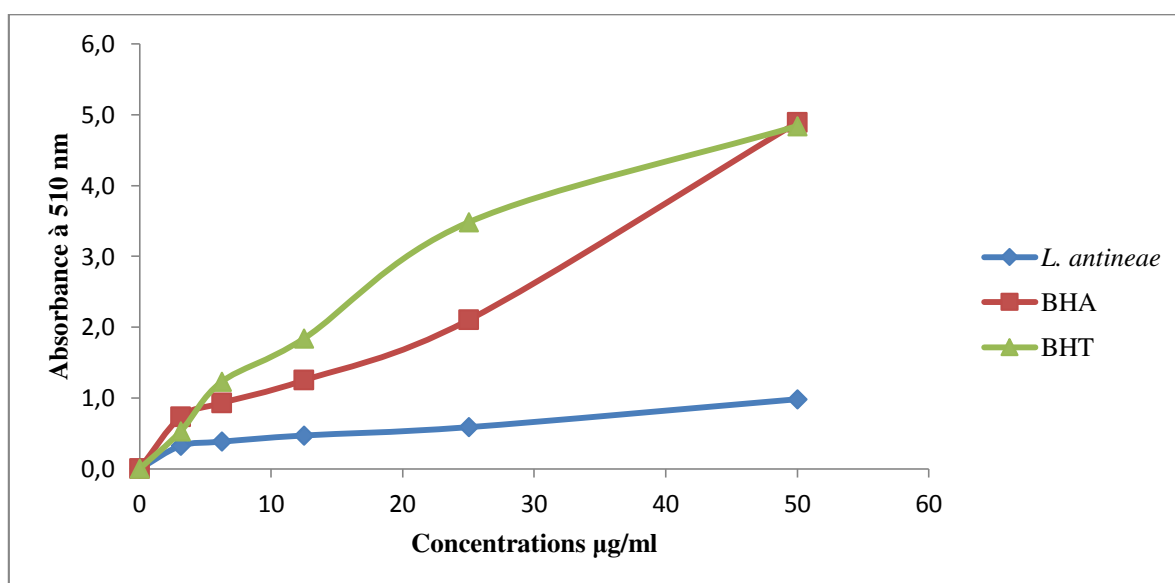


Figure 49: Activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique de *L. antineae* obtenue par la méthode à phénanthroline

Le $PR_{0.5}$ de *P. atlantica* était plus important que les $PR_{0.5}$ obtenus avec le BHA et le BHT.

Le résultat de ce test a montré que l'extrait hydro-méthanolique de *L. antineae* se dispose d'un pouvoir réducteur important qui est représenté par un $PR_{0.5}$ égale à 16.61 ± 0.39 µg/ml mais cette valeur reste inférieure par rapport aux valeurs des $PR_{0.5}$ obtenues avec le BHA (0.93 ± 0.07 µg/ml) et le BHT (2.24 ± 0.17 µg/ml).

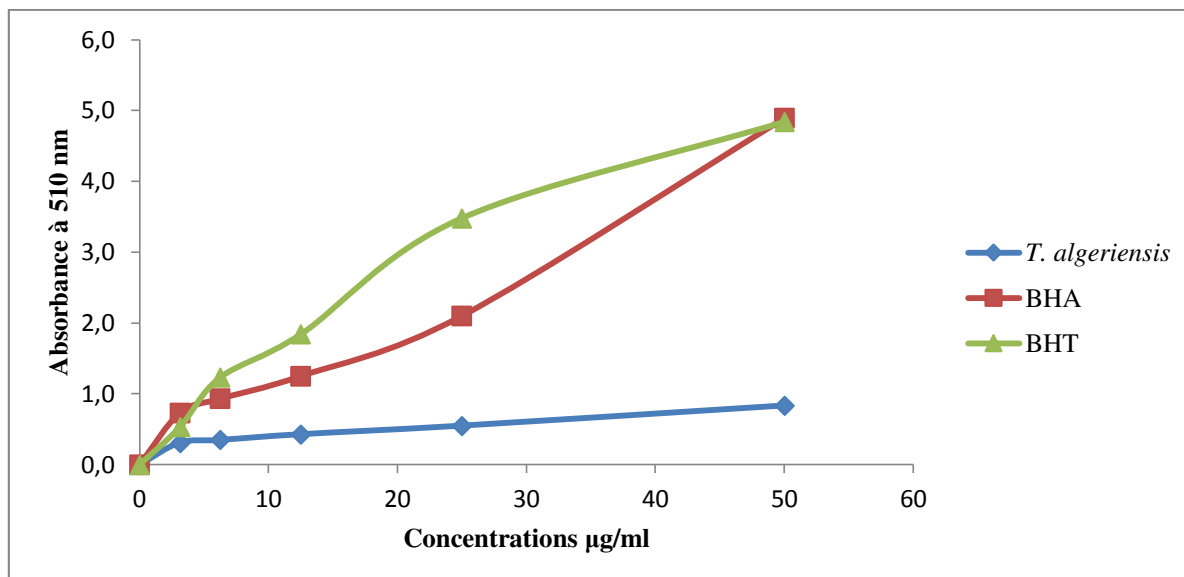


Figure 50: Activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique de *T. algeriens* obtenue par la méthode à phénanthroline

A sa part aussi, l'extrait hydro-méthanolique de *T. algeriens* était pourvu d'un pouvoir réducteur important, où le PR_{0.5} a été estimé par la valeur de 21.55 ± 1.03 µg/ml.

M. alysson et *J. fruticans* se sont avérés moins efficaces que les autres plantes et les standards, mais des PR_{0.5} qui égalent à 44.13 ± 2.65 µg/ml et 79.75 ± 2.47 µg/ml sont considérées comme remarquables.

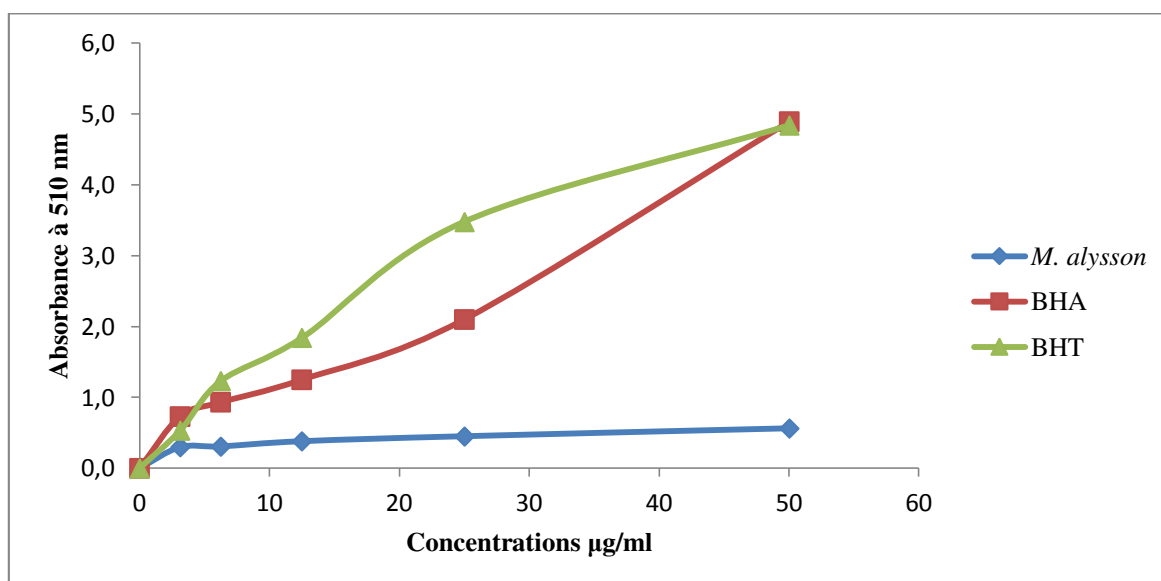


Figure 51: Activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique de *M. alysson* obtenue par la méthode à phénanthroline

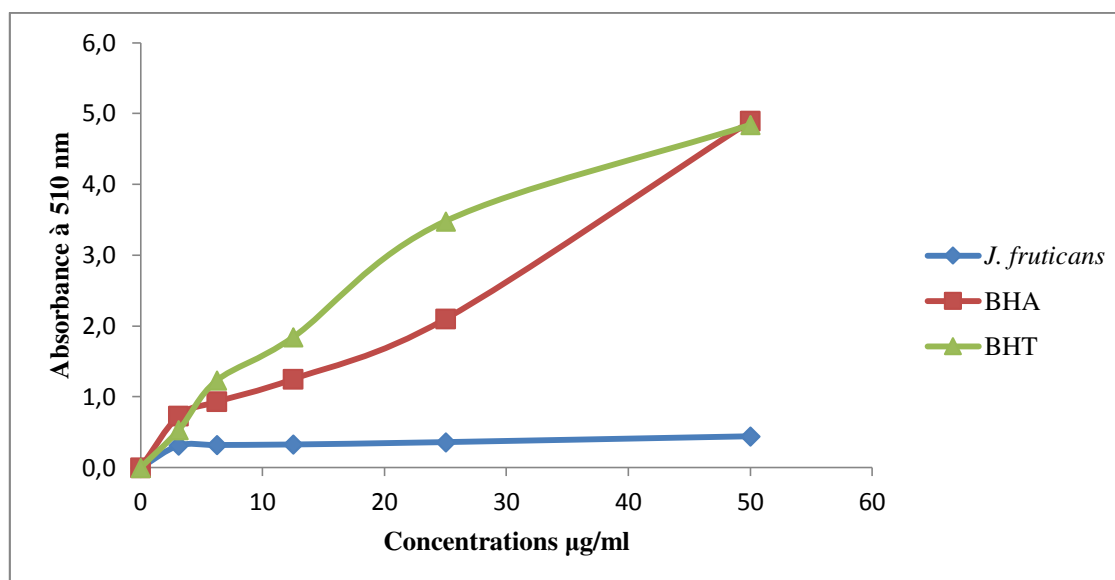


Figure 52: Activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique de *J. fruticans* obtenue par la méthode à phénanthroline.

Tableau 12: $\text{PR}_{0.5}$ ($\mu\text{g/ml}$) obtenus par le test de réduction de fer par la méthode à phénanthroline des différentes plantes étudiées comparés aux BHA et BHT

Plante ou témoin	$\text{PR}_{0.5}$
<i>P. atlantica</i> ^{a b}	0.84 ± 0.08
<i>L. antineae</i> ^a	16.61 ± 0.39
<i>T. algeriensis</i> ^a	21.55 ± 1.03
<i>M. alysson</i> ^a	44.13 ± 2.65
<i>J. fruticans</i> ^a	79.75 ± 2.47
BHA ^{a b}	0.93 ± 0.07
BHT ^b	2.24 ± 0.17

$p \leq 0.05$, a, b: sous ensembles déterminés par le test Tukey.

3.4.5 Test de réduction de fer par la méthode à Ferrozine

La méthode de chélation des métaux (metal chelating) réalisée selon le protocole décrit par Decker et Welch (1990), a montré que toutes les plantes étudiées sont pourvues d'une capacité antioxydante (Tableau 13), cette dernière était faible en ce qui concerne *P. atlantica*, *L. antineae* et *T. algeriensis* (les IC_{50} sont supérieures à $800 \mu\text{g/mL}$), plus considérable mais largement inférieure par rapport aux standards (EDTA) en ce qui concerne *M. alysson* ($560.78 \pm 2.86 \mu\text{g/ml}$) et *J. fruticans* ($702.79 \pm 6.86 \mu\text{g/ml}$) (Figure 53).

Tableau 13: Pourcentages d'inhibition et les IC₅₀ obtenus par le test de réduction de fer par la méthode à ferrozine des plantes étudiées comprises aux BHA et BHT

Extrait	% d'inhibition							IC ₅₀ µg/ml
	12.5 µg/ml	25 µg/ml	50 µg/ml	100 µg/ml	200 µg/ml	400 µg/ml	800 µg/ml	
<i>P. atlantica</i> ^a	2.248±2.14	2.758±5.70	4.231±0.96	4.158±1.20	5.558±12.0 6	8.358±10.2 5	16.770±0.6 5	>800
<i>L. antineae</i> ^a	-11.00±5.33	2.49±1.96	4.21±0.65	12.74±0.19	18.64±8.49	20.19±0.97	24.86±1.93	>800
<i>T. algeriensis</i> ^a	-1.54±10.10	-10.93±1.87	2.23±3.65	11.68±0.75	36.93±2.43	37.26±0.09	42.42±3.27	>800
<i>M. alysson</i> ^a	-10.67±1.50	-4.91±0.65	4.47±0.09	6.48±4.28	27.55±0.93	48.66±1.68	61.30±2,82	560.78±2.86
<i>J. fruticans</i> ^a	-21.77±0.00	-12.52±1.31	3.55±1.40	5.13±0.09	15.18±1.03	36.21±1.03	55.11±0.09	702,79±6.86
EDTA ^b	73.00±1.59	73.60±1.20	73.80±1.51	95.78±0.10	95.80±0.06	95.84±0.22	95.87±0.06	8.80±0.47

$p < 0.05$, a, b: sous ensembles déterminés par le test Tukey.

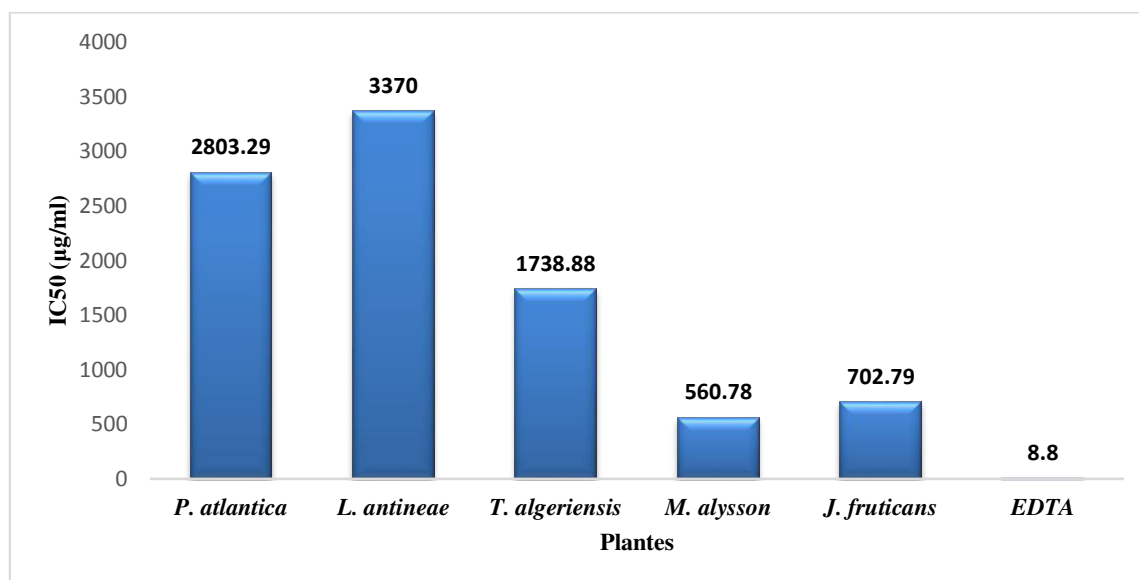


Figure 53: Histogramme représentant les IC₅₀ issues du test de réduction de fer par la méthode à Ferrozine de l'extrait hydro-méthanolique des différentes plantes étudiées

3.4.6 Test de réduction de cuivre (CUPRAC)

La méthode CUPRAC permet d'évaluer la capacité antioxydante d'une grande variété de polyphénols, y compris acides phénoliques, acides hydroxycinnamiques, flavonoïdes, caroténoïdes, anthocyanes, ainsi que pour les thiols, les antioxydants synthétiques, et vitamines C et E. Dans cette réaction, les groupes réactifs ($-OH$) des antioxydants sont oxydés en quinones ($-O$) et les $Cu(II)-Nc$ sont réduites au $Cu(Nc)_2$ qui donnent naissance à une couleur jaune orangé (Ozyurek et al., 2011).

Les absorbances en fonction des différentes concentrations (0 jusqu'à 800 $\mu g/ml$) de l'extrait hydro-méthanolique de chaque plante étudiée sont représentées sous forme de courbes (Figure 54, 55, 56, 57, 58). On a noté une proportionnalité positive avec tous les échantillons. Une forte augmentation de l'activité antioxydante a été remarquée avec l'extrait de *P. atlantica* jusqu'à la concentration de 40 $\mu g/ml$ où cette augmentation est devenue plus modérée. A la concentration de 100 $\mu g/ml$, l'absorbance a dépassé la valeur de 4. L'effet antioxydant de *P. atlantica* était plus efficace que l'effet de BHA qui a connu une élévation significative avec une absorbance qui dépasse 3.5. Le BHT a eu son effet maximal à la concentration de 100 $\mu g/ml$ où l'absorbance a abordé la valeur 2 ± 0.14 . *P. atlantica* a été caractérisé par la valeur de $PR_{0.5}$ le plus faible (2.93 ± 0.21 $\mu g/ml$), qui peut être traduit par le pouvoir antioxydant le plus élevé, même par rapport aux BHA et BHT (Tableau 14).

L'extrait hydro-méthanolique de *L. antineae* avait un pouvoir réducteur considérable, les absorbances ont été marquées par une forte augmentation avec toutes les concentrations testées. En le comparant avec le BHA et le BHT, l'extrait de *L. antineae* était moins performant que le BHA, avec une absorbance qui égale à 2.53 ± 0.19 à la concentration de 100 $\mu g/ml$ mais plus efficace que le BHT. Le $PR_{0.5}$ de l'extrait a été estimé par une valeur égale à 10.57 ± 0.38 $\mu g/ml$.

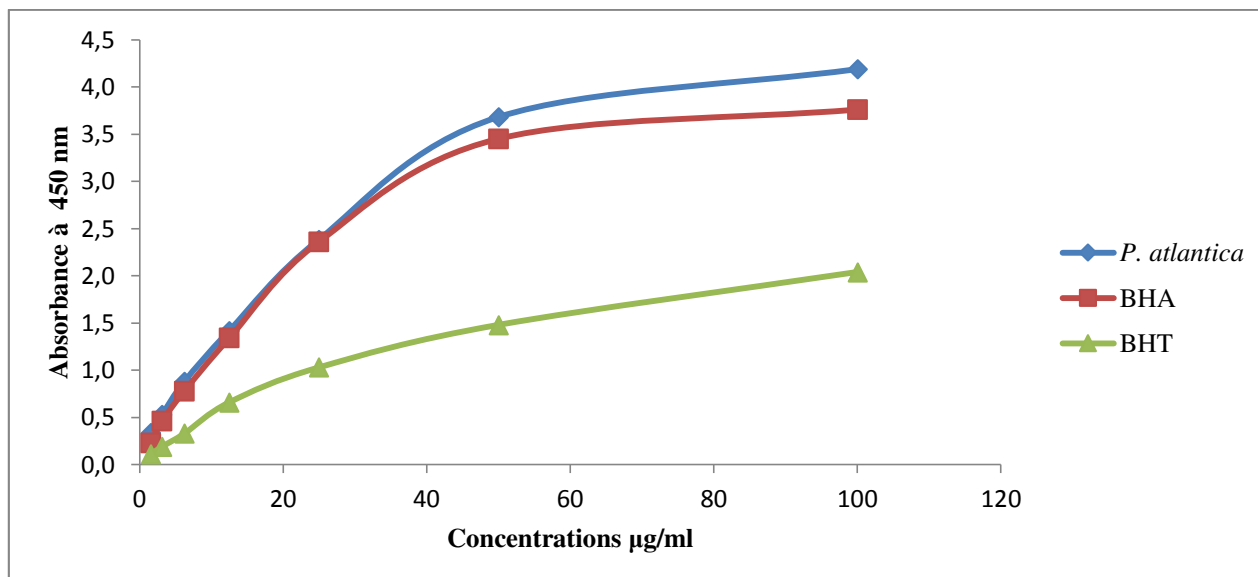


Figure 54: Activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique de *P. atlantica* obtenue par le test CUPRAC

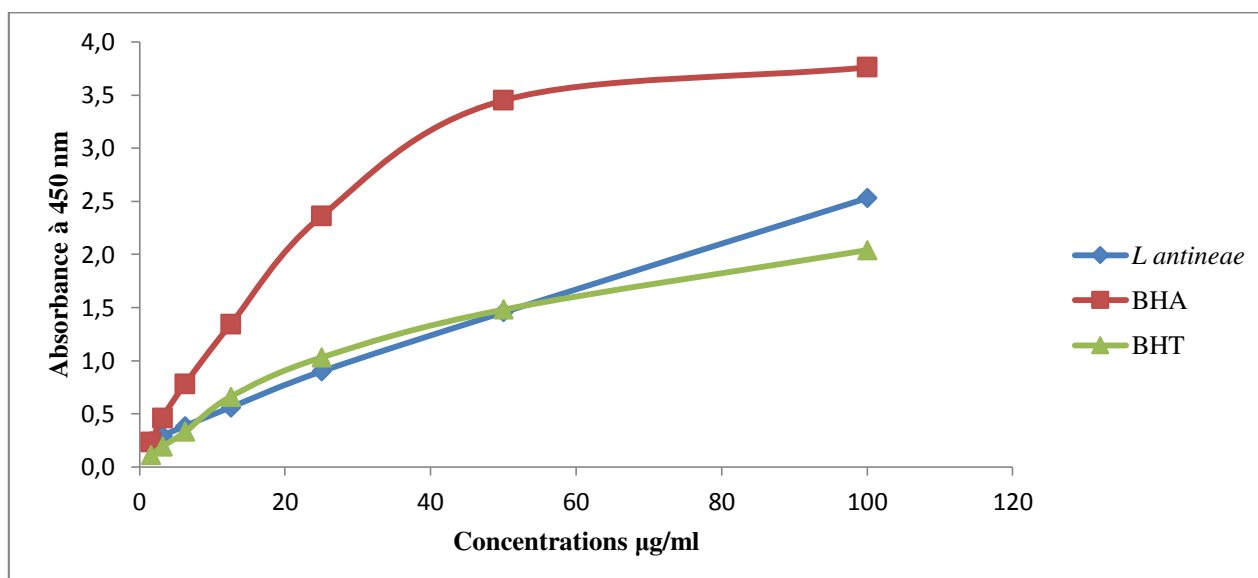


Figure 55: Activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique de *L. antineae* obtenue par le test CUPRAC

L'extrait hydro-méthanolique de *T. algeriensis* a exhibé un pouvoir réducteur remarquable, son effet était plus puissant que le BHT à des concentrations supérieures à 200 µg/ml. A des concentrations plus de 400 µg/ml, L'extrait de la plante a présenté une performance proche de

celle de BHA. Le PR_{0.5} de l'extrait étudié a été déterminé à une valeur qui égale 25.04 ± 0.86 µg/ml (Tableau 14).

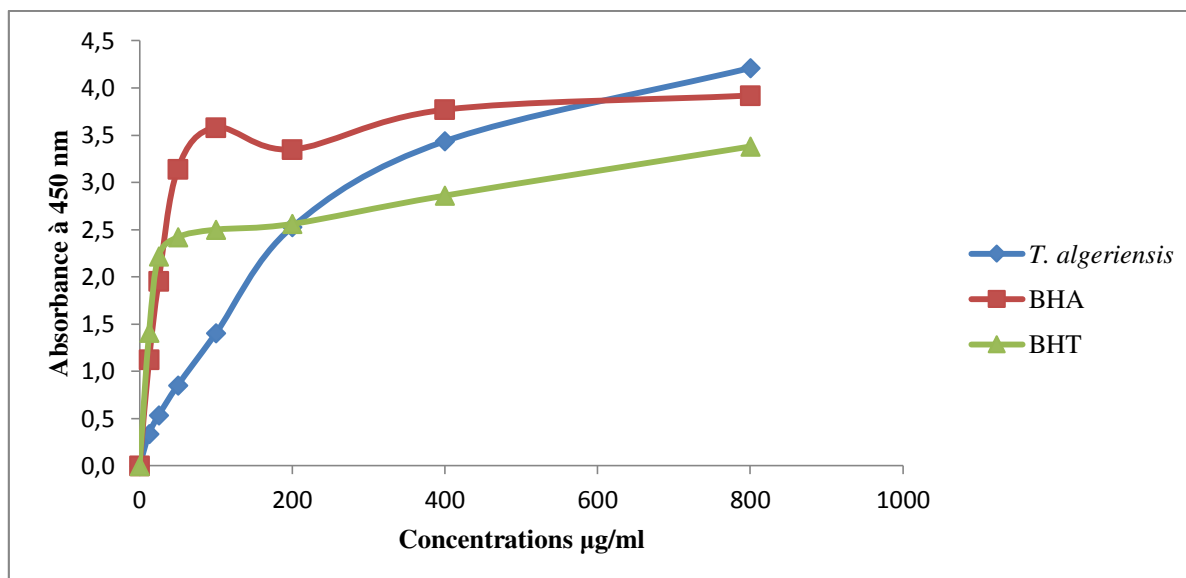


Figure 56: Activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique de *T. algeriensis* obtenue par le test CUPRAC

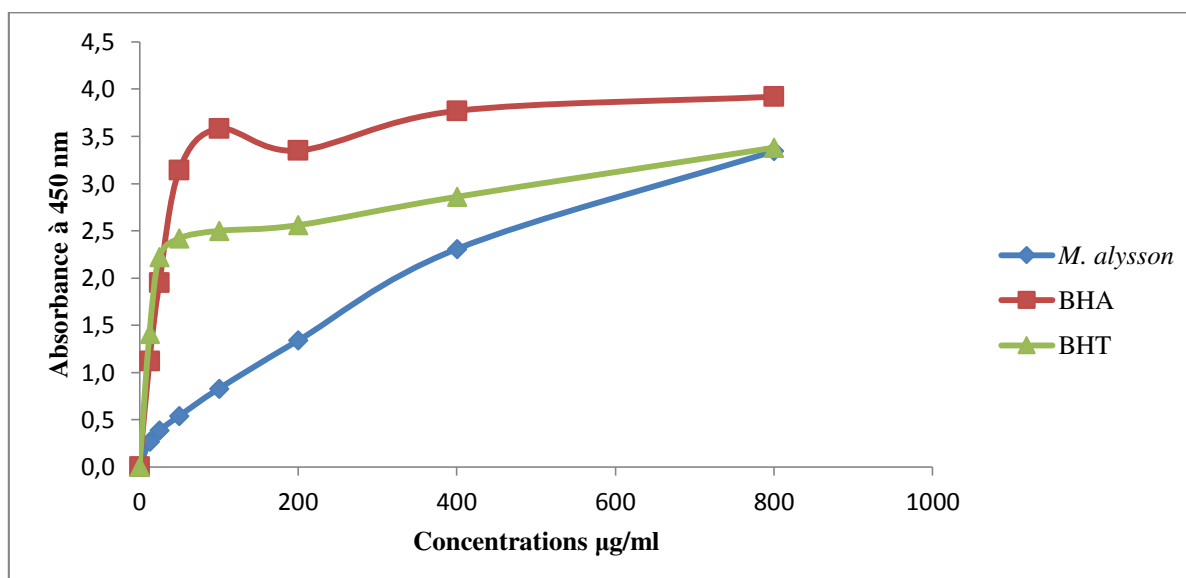


Figure 57: Activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique de *M. alysson* obtenue par le test CUPRAC

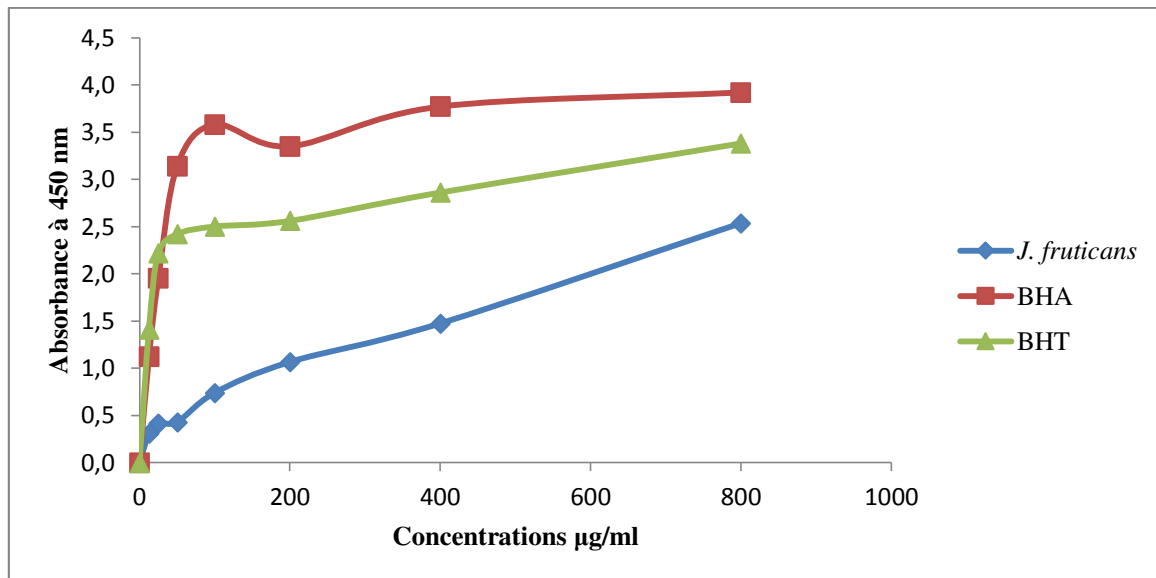


Figure 58: Activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique de *J. fruticans* obtenue par le test CUPRAC

Les extraits hydro-méthanolique de *M. alysson* et *J. fruticans* ont fournit une activité réductrice intéressante avec des valeurs de PR_{0.5} qui égalent 48.39±1.31 et 59.88±4.07 µg/ml respectivement. A la concentration 800 µg/ml, l'absorbance a dépassé la valeur de 3 pour *M. alysson*, par contre et pour la même concentration, l'absorbance n'a atteint que la valeur 2.5 pour *J. fruticans*.

Tableau 14: PR_{0.5} (µg/ml) obtenus par le test CUPRAC des différentes plantes étudiées comparés aux BHA et BHT

Plante ou témoin	PR _{0,5}
<i>P. atlantica</i> ^b	2.93± 0.21
<i>L. antineae</i> ^{a b}	10.57± 0.38
<i>T. algeriensis</i> ^a	25.04± 0.86
<i>M. alysson</i> ^a	48.39±1.31
<i>J. fruticans</i> ^a	59.88±4.07
BHA ^b	3.64±0.19
BHT ^{a b}	9.62±0.87

$p \leq 0.05$, a, b: sous ensembles déterminés par le test Tukey.

3.4.7 Test de blanchissement du bêta carotène

L'activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique de chaque plante a été estimée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydatif du β -carotène par les produits d'oxydation de l'acide linoléique selon la méthode décrite par Marco (1968), Barrière et al. (2001) et Kartal et al. (2007).

Les résultats ont été exprimés dans le Tableau 15 en pourcentages d'inhibition. Toutes les plantes étudiées ont présentées un pouvoir inhibant de la dégradation du β -carotène aux différentes concentrations. L'extrait de *P. atlantica* était le plus efficace par rapport aux extraits des autres espèces. Mais en comparant ces résultats avec ceux des standards, la différence était remarquable ou les pourcentages d'inhibition de BHA et de BHT ont dépassé la valeur de 80% même à des faibles concentrations (12.5 μ g/ml). Une IC₅₀ qui égale à 11.11 \pm 4.03 μ g/ml est considérée comme importante pour l'extrait de *P. atlantica*. *M. alysson* a été caractérisée par une IC₅₀ remarquable et qui égale a 48.64 \pm 1.78 μ g/ml. Des IC₅₀ intéressantes ont été fournies par les extraits de *L. antineae* et *T. algeriensis*, où les valeurs égalent à 194.24 \pm 4.22 μ g/ml et 134.48 \pm 1.84 μ g/ml successivement. L'IC₅₀ de l'extrait de *J. fruticans* a été estimée à une valeur supérieure à 800 μ g/ml (Figure 59).

Tableau 15: Pourcentages d'inhibition et les IC₅₀ obtenus par le test de blanchissement de β -carotène des plantes étudiées et de BHA et BHT

Extrait	% d'inhibition							IC ₅₀ μ g/ml
	12.5 μ g/ml	25 μ g/ml	50 μ g/ml	100 μ g/ml	200 μ g/ml	400 μ g/ml	800 μ g/ml	
<i>P. atlantica</i> ^d	51.00 \pm 1.54	52.61 \pm 0.93	55.55 \pm 0.63	59.24 \pm 0.56	63.01 \pm 0.50	NT	NT	11.11 \pm 4.03
<i>L. antineae</i> ^b	42.20 \pm 0.94	42.40 \pm 1.72	43.21 \pm 1.83	45.69 \pm 0.68	49.75 \pm 1.33	57.17 \pm 0.07	64.45 \pm 0.76	194.24 \pm 4.22
<i>T. algeriensis</i> ^{bc}	42.99 \pm 1.13	43.57 \pm 1.60	46.01 \pm 2.09	47.91 \pm 2.44	55.00 \pm 0.93	59.36 \pm 1.30	65.99 \pm 0.58	134.48 \pm 1.84
<i>M. alysson</i> ^{cd}	48.06 \pm 1.53	50.94 \pm 1.10	51.02 \pm 0.90	54.22 \pm 1.13	57.57 \pm 0.81	60.13 \pm 0.95	63.72 \pm 1.24	48.64 \pm 1.78
<i>J. fruticans</i> ^a	11.84 \pm 2.54	14.28 \pm 6.53	20.16 \pm 0.23	25.33 \pm 4.67	28.72 \pm 0.34	35.60 \pm 0.00	42.62 \pm 2.28	>800
BHT ^e	88.29 \pm 0.10	91.70 \pm 0.36	93.65 \pm 0.30	93.68 \pm 0.46	94.49 \pm 0.07	94.88 \pm 0.10	95.58 \pm 0.19	0.91 \pm 0.01
BHA ^e	93.48 \pm 0.44	95.52 \pm 0.33	96.34 \pm 0.55	97.56 \pm 0.19	97.64 \pm 2.22	97.85 \pm 0.32	99.66 \pm 0.52	1.05 \pm 0.03

NT: not tested, $p \leq 0.05$, a, b, c, d, e: sous ensembles déterminés par le test Tukey.

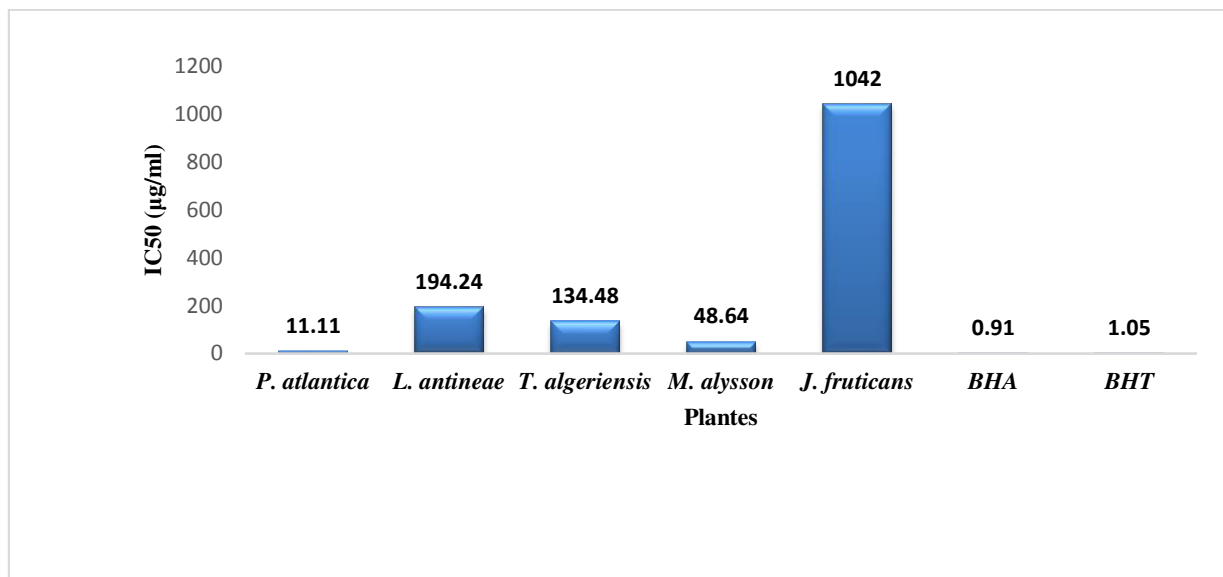


Figure 59: Histogramme représentant les IC₅₀ issues du test de blanchissement de β-carotène l'extrait hydro-méthanolique des différentes plantes étudiées

Il a été rapporté que la plupart des molécules hydrophiles et hydrophobes (acides phénoliques, flavonoïdes et composés phénoliques de haut poids moléculaire) sont plus solubles dans les solvants hydroalcooliques. Plusieurs études ont montré que le méthanol est le meilleur solvant qui peut fournir le plus grande teneur en polyphénols et flavonoïdes ainsi que l'extrait méthanolique a souvent le pouvoir antioxydant le plus efficace. En général, les composés phénoliques des plantes ont une activité antioxydante très efficace et considérés comme des agents anti-radicaux libres. L'effet antioxydant des composés phénoliques peut être attribué à leurs propriétés rédox, qui leur permettent d'agir en tant que donneurs d'atomes d'hydrogène ou agents réducteurs, leur capacité à chélater les métaux, à inhiber la lipoxygénase et à piéger les radicaux libres (Jouki et Khazaei, 2010; Malekzadeh, 2015; Belyagoubi, 2016; Hemma et al., 2018).

Les études rapportées par Van Acker et al. (1996) sur la chélation des ions du fer par certains flavonoïdes ont mis en évidence les sites essentiels pour la chélation des ions métalliques:

- les groupes 3'-hydroxy et 4'-hydroxy du cycle B (les fonctions catéchol),
- les groupes 3-hydroxy et 4-oxo du cycle C (le motifénone),
- les groupes 4-oxo et 5-hydroxy en position 3. Ainsi, la quercétine qui combine tous ces substituant est un complexant métallique particulièrement efficace. Le profil chromatographique a révélé la présence de quercétine dans l'extrait méthanolique des cinq

plantes étudiées, ce qui peut expliquer le pouvoir réducteur important obtenu dans le présent travail.

3.5 Activité anti-enzymatique

3.5.1 Activité anti-Alzheimer

L'inhibition d'AChE et BChE est un outil efficace pour le traitement de la maladie d'Alzheimer (Subhashini, 2011). Le stress oxydatif joue un rôle majeur dans la pathogenèse de la maladie d'Alzheimer. Plusieurs agents de protection comme les anti-oxydants, les anti-inflammatoires, les agents cholinergiques, les œstrogènes, les facteurs neurotrophiques et le calcium ont été proposés pour la prévention et le traitement de cette maladie, mais aucun d'entre eux n'a prouvé avoir un effet thérapeutique définitif. Les flavonoïdes sont bien connus comme des composés naturels possédant une large gamme de propriétés pharmacologiques liées à la maladie d'Alzheimer (shi et *al.*, 2004). Des études récentes ont prouvé la présence de molécules dans les extraits de plantes, qui peuvent être considérés comme des bons inhibiteurs de AChE (Haque et *al.*, 2012; Villaflores et *al.*, 2012; Mathew et Subramanian, 2014).

L'activité anticholinestérase et antibutyrylcholinestérase a été testée selon la méthode d'Ellman (1961).

3.5.1.1 Inhibition de l'acetylcholinestérase

Les résultats sont représentés sous forme de courbes (Figure 60, 61, 62, 63), le Tableau 16 englobe les valeurs des IC₅₀. L'extrait hydro-méthanolique de *P. atlantica* a présenté un potentiel anti cholinestérasique important et prometteur avec une IC₅₀ qui égale à 42.91±3.05 µg/ml (Tableau 16). L'effet inhibiteur a augmenté clairement jusqu'à la concentration 50 µg/ml puis il a connu un état plus stable, les pourcentages d'inhibition ont pu atteindre ou dépasser la valeur de 80% à des concentrations plus de 200 µg/ml. La galantamine avait un effet inhibiteur plus remarquable où les pourcentages d'inhibition ont dépassé 90% à une concentration moins de 200 µg/ml (Figure 70). L'IC₅₀ a pris la valeur de 6.27±1.15 µg/ml. Une étude réalisée par Labed-Zouad et *al.* (2017) a montré que les huiles essentielles de *P. atlantica*, qui ont été extraites à partir des feuilles et des fleurs, ont donné des IC₅₀ égales à 18.5±0.5 µg/ml et 20.5±0.5 µg/ml respectivement.

Une activité anti cholinestérasique intéressante a été fournie par l'extrait hydro-méthanolique de *T. algeriensis*. L'augmentation des pourcentages d'inhibition était remarquablement constatée avec l'augmentation des concentrations. A la concentration 200 µg/ml, le pourcentage d'inhibition a dépassé 50% (Figure 62) et l'IC₅₀ de l'extrait a été déduit à une valeur de 154.47±3.55 µg/ml (Tableau 16). Dans notre étude, l'extrait hydro-méthanolique de *T. algeriensis* a présenté un effet inhibiteur d'AChE plus considérable que l'effet qui a été donné par les extraits éthanoliques de six autres espèces de *Thymus* à savoir *T. longicaulis*, *T. praecox* subsp. *polytrichus*, *T. pulegioides*, *T. serpyllum* subsp. *serpyllum*, *T. striatus*, et *T. vulgaris* où les IC₅₀ ont pris des valeurs entre 656.06 et 837.96 µg/ml (Kindl et al., 2015). Notre extrait semble moins efficace que les huiles essentielles des feuilles de la même plante qui ont fourni une valeur d'IC₅₀ égale à 98.84 ± 1.81 µg/ml, dans l'étude de Bendjabeur et al. (2018).

L. antineae et *M. alysson* ont montré un effet inhibiteur sur l'acétylcholinestérase qui a augmenté lentement avec l'augmentation des concentrations. Les pourcentages d'inhibition n'ont pas dépassé la valeur de 20% que lorsque la concentration a dépassé la valeur de 200 µg/ml (Figure 61 et Figure 63). Les IC₅₀ ont été estimés à des valeurs supérieures à 200 µg/ml (Tableau 16). Même à une concentration équivalente à 1mg/ml, les extraits éthanoliques de *L. angustifolia* et *L. pedunculata* ont établi une inhibition de l'AChE moins que l'inhibition fournie par *L. antineae*, avec des pourcentages d'inhibition égaux à 28.4±3.8% et 42.0±16.8% (Ferreira et al., 2016).

Dans une étude d'Orhan et al. (2010), l'extrait acétone de la partie aérienne de *Marrubium vulgare* a donné à la concentration 25 µg/ml un pourcentage d'inhibition plus intéressant que *M. alysson* et qui égale à 62,70%.

J. fruticans n'a pas présenté un effet inhibiteur sur l'enzyme même à des concentrations élevées (200 µg/ml). L'étude de Ferreres et al. (2014), qui a été portée sur l'extrait hydro-méthanolique des fleurs de *J. grandiflorum*, a estimé l'IC₅₀ à une valeur élevée et qui égale à 1913.06 µg/mL.

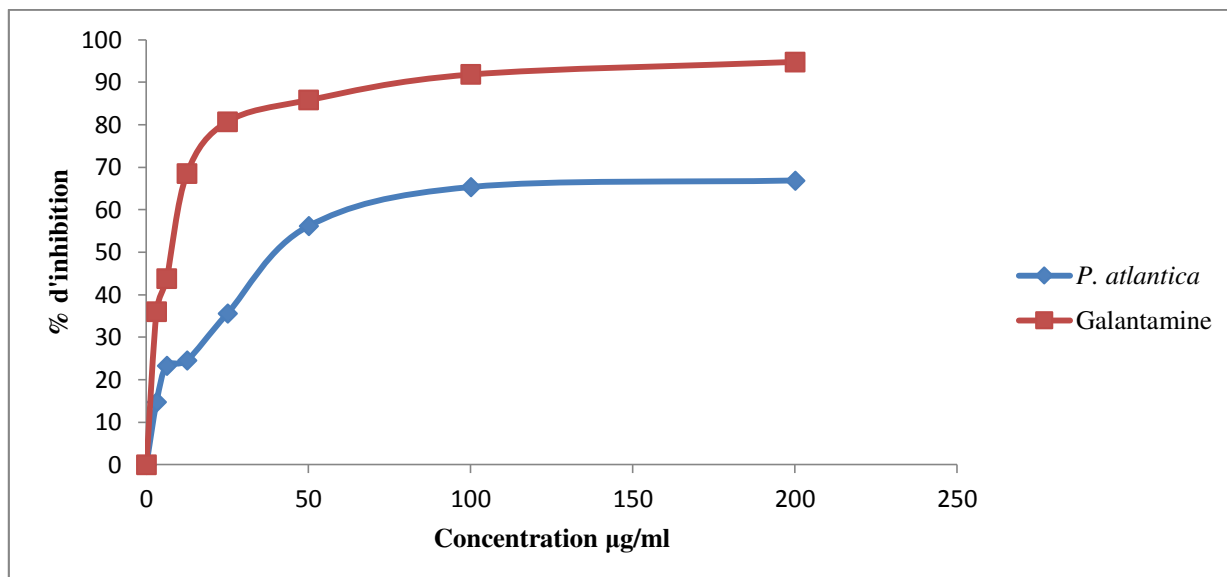


Figure 60: Activité anticholinestérase de l'extrait hydro-méthanolique de *P. atlantica*

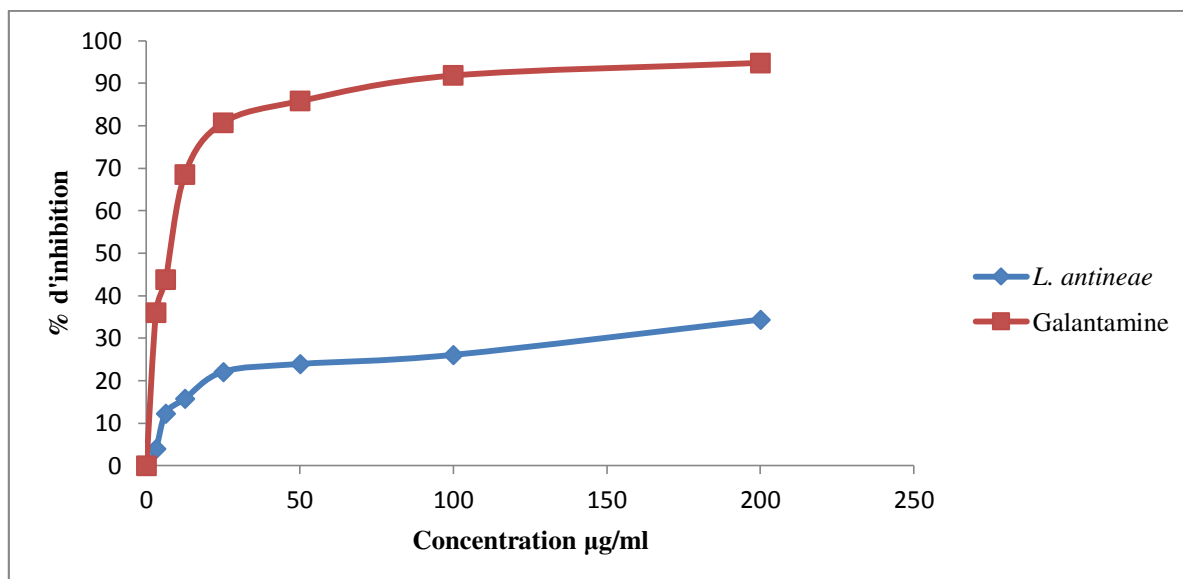


Figure 61: Activité anticholinestérase de l'extrait hydro-méthanolique de *L. antineae*

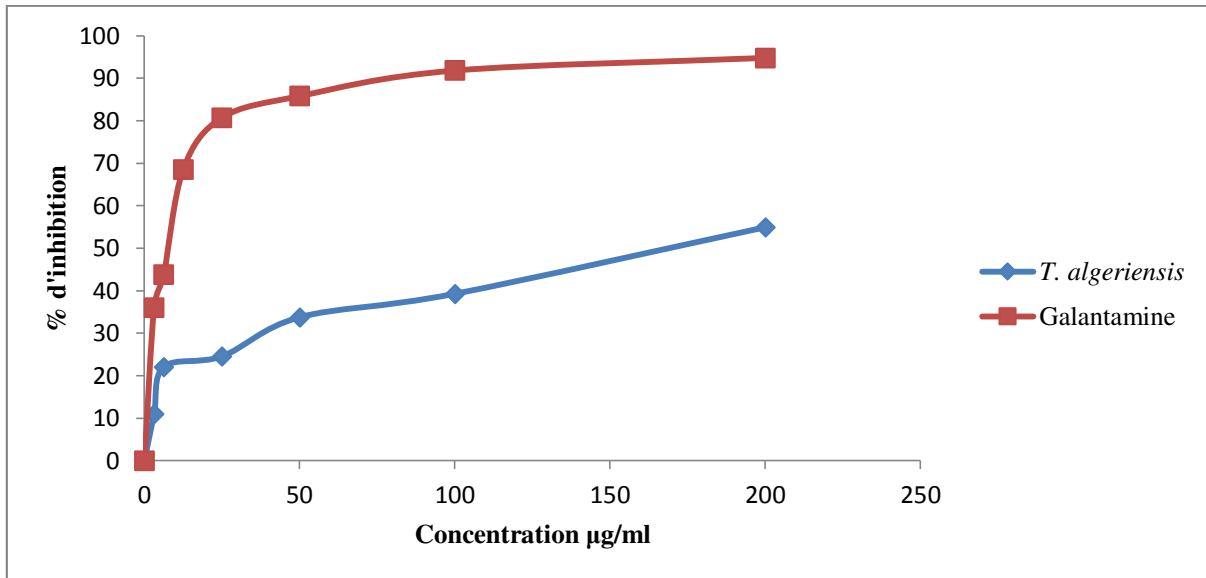


Figure 62: Activité anticholinestérase de l'extrait hydro-méthanolique de *T. algeriensis*

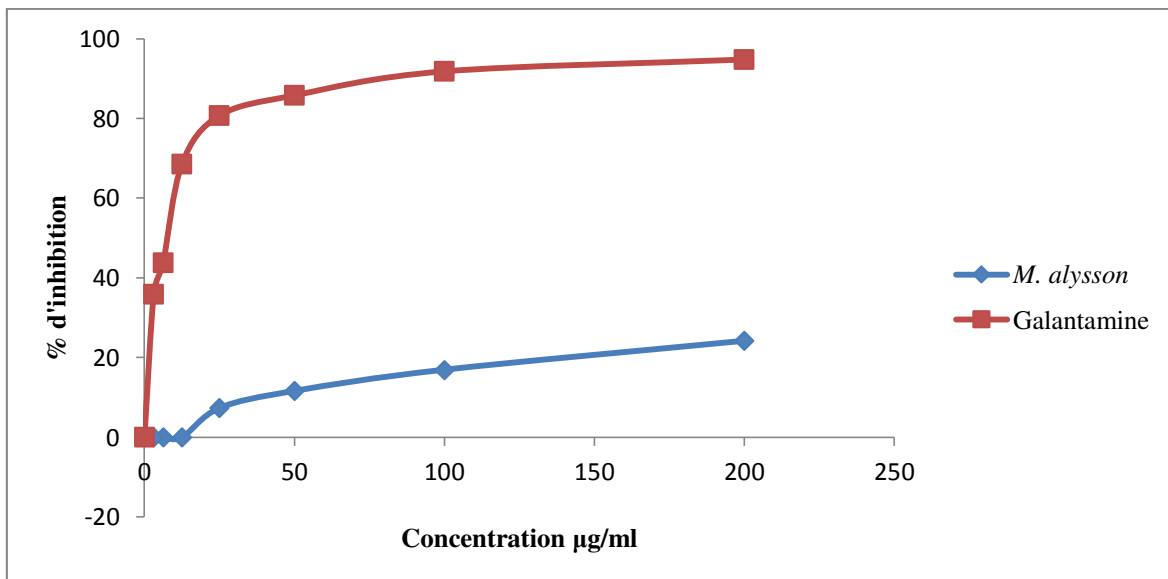


Figure 63: Activité anticholinestérase de l'extrait hydro-méthanolique de *M. alysson*

Tableau 16: IC₅₀ de l'activité anticholinestérase des différentes plantes étudiées et de la galantamine

Plante ou témoin	IC ₅₀ (µg/ml)
<i>P. atlantica</i> ^d	42.91± 3.05
<i>L. antineae</i> ^{b c}	>200
<i>T. algeriensis</i> ^c	154.47±3.55
<i>M. alysson</i> ^{a b}	>200
<i>J. fruticans</i>	Pas d'activité
Galantamine ^d	6.27±1.15

$p \leq 0,05$, a, b, c, d: sous ensembles déterminés par le test Tukey.

3.5.1.2 Inhibition de butyrylcholinestérase

Toutes les plantes étudiées ont présenté un effet inhibiteur sur l'enzyme butyrylcholinestérase avec des degrés différents.

L'extrait hydro-méthanolique de *P. atlantica* a été marqué par un effet antibutyrylcholinestérase intéressant avec une IC₅₀ qui égale à 134.54±8.04 µg/ml (Tableau 17). La progression des pourcentages d'inhibition était presque similaire avec la galantamine à des concentrations inférieures à 12 µg/ml, l'effet inhibiteur de la galantamine était plus important où le pourcentage d'inhibition a abordé 80% à la concentration 200 µg/ml, son IC₅₀ a été déduite pour une valeur de 34.75±1.99 µg/ml. Le pourcentage d'inhibition pour *P. atlantica* a dépassé la valeur de 65% pour la concentration 200 µg/ml (Figure 64). Les huiles essentielles de la même espèce ont présentées des IC₅₀ plus importantes et qui égales à 79.7±2.1 µg/ml pour les feuilles et 107.0±1.6 µg/ml pour les fleurs (Labed-Zouad *et al.*, 2017). Ceci peut être expliqué par l'effet synergique des terpénoïdes qui confère aux huiles essentielles leur potentiel anti cholinestérase (Miyazawa *et al.*, 1997; Salleh et Ahmed, 2016).

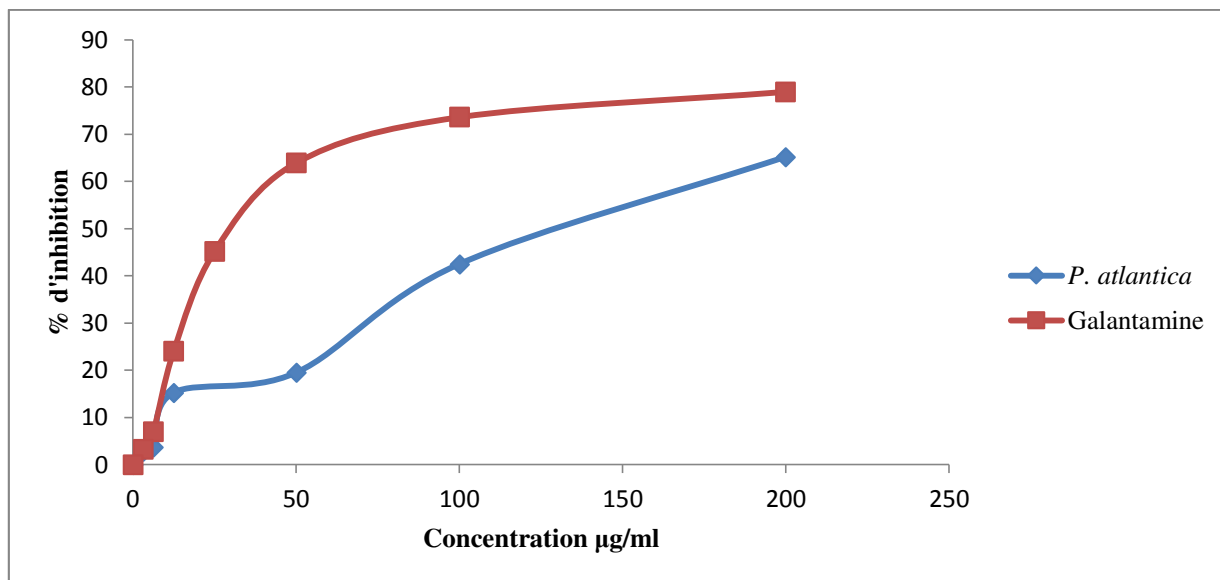


Figure 64: Activité antibutyrylcholinestérase de l'extrait hydro-méthanolique de *P. atlantica*

Une augmentation marquante a été enregistrée dans les pourcentages d'inhibition obtenus avec l'extrait hydro-méthanolique de *L. antineae*, même à des faibles concentrations (3,125, 6,25 et 12,25 µg/ml), cette augmentation était plus considérable que l'augmentation parvenue par la galantamine. A partir de la concentration 100 µg/ml, une différence légère a été observé entre l'extrait de la plante et le standard (Figure 65). L'IC₅₀ de la plante a été déterminée à une valeur de 20.84±9.74 µg/ml, tandis que la galantamine a été dénoté par une IC₅₀ qui égale à 34.75±1.99 µg/ml (Tableau 17), ce qui peut être traduit par une efficacité prometteuse de la plante pour la lutte contre la maladie d'Alzheimer.

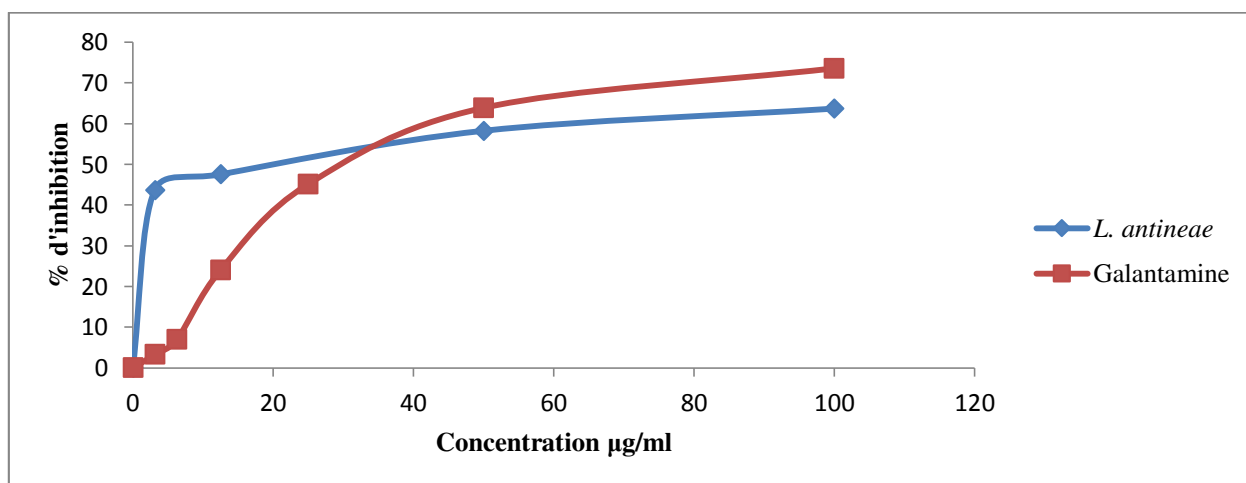


Figure 65: Activité antibutyrylcholinestérase de l'extrait hydro-méthanolique de *L. antineae*

L'extrait hydro-méthanolique de *T. algeriensis* a été caractérisé par une IC₅₀ intéressante et qui égale à la valeur de 161.53 ± 22.65 µg/ml (Tableau 17). Les pourcentages d'inhibition ont augmenté proportionnellement avec les concentrations. A partir de la concentration de 25 µg/ml, la différence de performance de l'extrait par rapport au standard est devenue significativement élevée (Figure 66). Les huiles essentielles des feuilles de la même plante ont fourni une IC₅₀ légèrement plus faible que notre extrait et qui égale 124.09 ± 2.84 µg/ml, dans une étude menée par Bendjabeur et *al.* (2018).

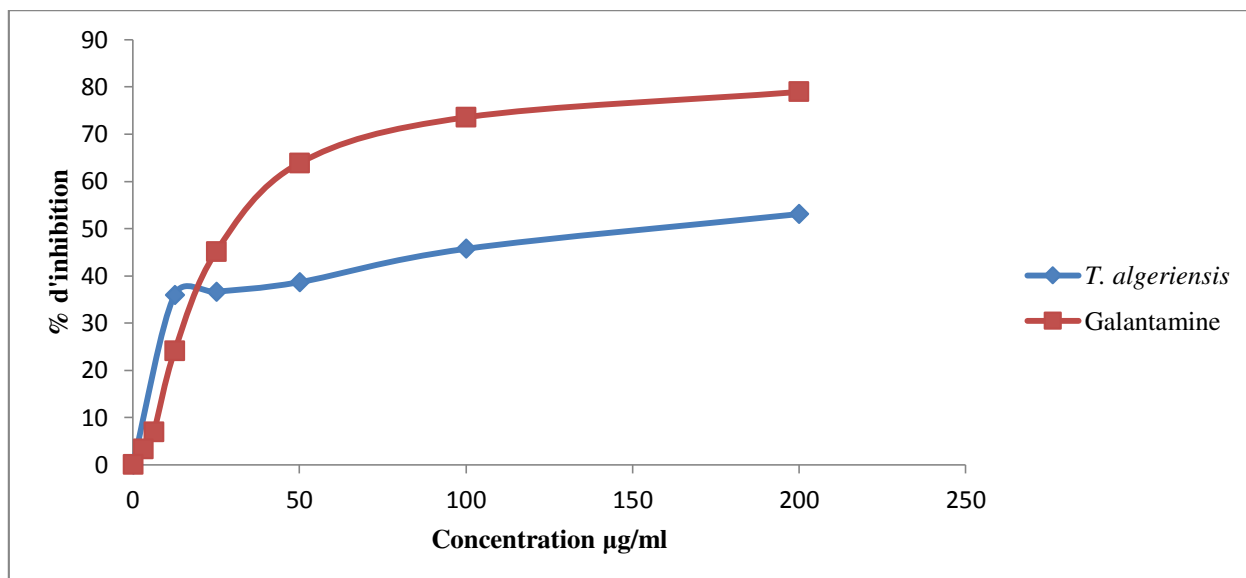


Figure 66: Activité antibutyrylcholinestérase de l'extrait hydro-méthanolique de *T. algeriensis*

D'après la Figure 67, *M. alysson* a présenté un effet inhibiteur de l'enzyme, mais avec une efficacité moindre par rapport au standard et aux autres plantes. Son IC₅₀ s'est montré plus que la valeur 200 µg/ml (Tableau 17).

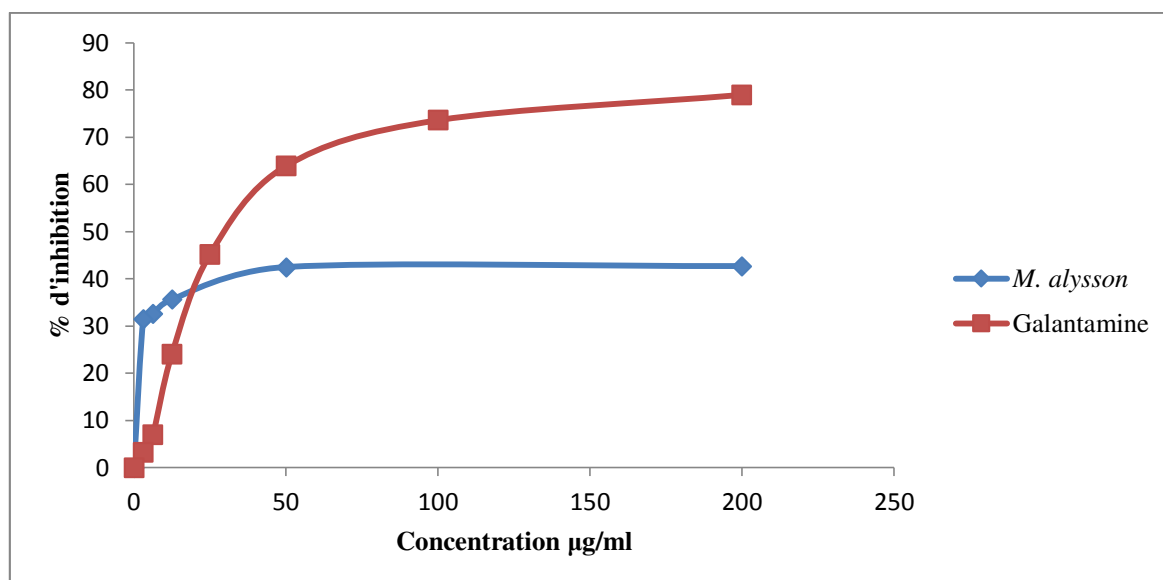


Figure 67: Activité antibutyrylcholinestérase de l'extrait hydro-méthanolique de *M. alysson*

Les pourcentages d'inhibition de la butyrylcholinestérase obtenus par l'extrait hydro-méthanolique de *J. fruticans* ont augmenté lentement avec l'augmentation des concentrations. A partir de la concentration 100 µg/ml, cette augmentation était plus significative et qui a dépassé le 90% (Figure 68). L'IC₅₀ a été apprécié à une valeur de 114.13±2.72 µg/ml (Tableau 17). Notre extrait de *J. fruticans* était considérablement plus efficace que l'extrait hydro-méthanolique des fleurs de *J. grandiflorum*, où cette dernière a été caractérisée par une IC₅₀ qui égale 2610.87 µg/ml (Ferrerres et al., 2014).

Les molécules bioactives d'origine végétale sont très prometteuses avec une activité anti-AChE et anti-BChE élevée par rapport aux médicaments de synthèse. Plusieurs classes de molécules sont impliquées dans l'effet cholinergique il s'agit de flavonoïdes (noyau chalcones), alcaloïdes, terpenoïdes, glycosides, et coumarines. Il a été démontré que les alcaloïdes sont le groupe aux propriétés inhibitrices puissantes d'AChE. Parmi les familles des plantes, la famille Lamiaceae a possédé le potentiel inhibiteur maximal (Bhadra et al., 2015).

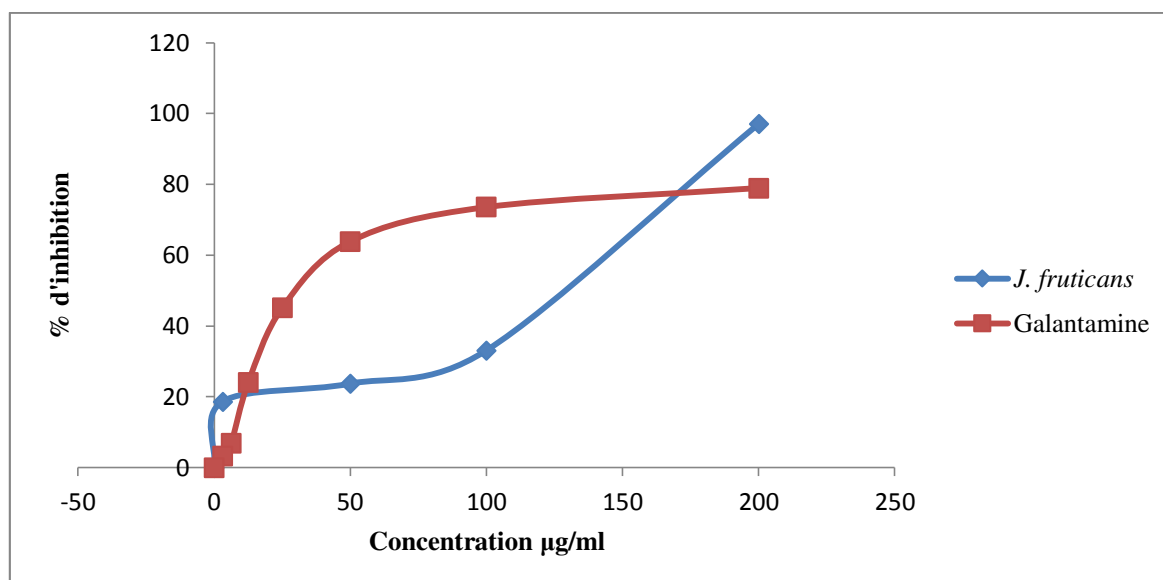


Figure 68: Activité antibutyrylcholinestérase de l'extrait hydro-méthanolique de *J. fruticans*

Tableau 17: IC₅₀ de l'activité antibutyrylcholinestérase des différentes plantes étudiées et de la galantamine

Plante ou témoin	IC ₅₀ (µg/ml)
<i>P. atlantica</i> ^a	134.54± 8.04
<i>L. antineae</i> ^a	20.84±9.74
<i>T. algeriensis</i> ^a	161.53±22.65
<i>M. alysson</i> ^a	>200
<i>J. fruticans</i> ^a	114.13±2.72
Galantamine ^a	34.75±1.99

$p \leq 0.05$, a: sous ensemble déterminé par le test Tukey.

3.5.2 Inhibition de l' α -glucosidase

Pour évaluer *in vitro* l'effet anti-diabétique de l'extrait hydro-méthanolique des différentes plantes, le test de l'inhibition de l' α -glucosidase a été réalisé selon la méthode de Palanisamy et al. (2011). Les résultats ont été exprimés dans le Tableau 18 sous forme de pourcentages d'inhibition correspondant aux concentrations. L'IC₅₀ a été calculé à partir des régressions linéaires. L'acarbose a été utilisé comme standard.

Parmi les cinq plantes étudiées, trois seulement ont présenté un pouvoir inhibiteur sur l'enzyme. Il s'agit de *P. atlantica*, *L. antineae* et *J. fruticans*. L'acarbose, qui est utilisé comme médicament pour le traitement du diabète type II du fait de sa capacité à inhiber les α -

glucosidases digestives (maltase, lactase, saccharase ou invertase) (Wemeau et al., 2014) a montré un effet inhibiteur nettement inférieur à celui donné par les extraits hydro-méthanoliques de *P. atlantica*, *L. antineae* et *J. fruticans*, les pourcentages d'inhibition n'ont pas dépassé la valeur 90% que lorsque la concentration a abordé la valeur 5000 µg/ml. L'IC₅₀ a été définie à une valeur de 275.43±1.59 µg/ml.

P. atlantica a exhibé une activité inhibitrice de l'α-glucosidase très puissante. Les pourcentages d'inhibition ont dépassé la valeur 90% à partir de la concentration 25 µg/ml. L'IC₅₀ a été déterminée à une valeur de 4.64±1.49 µg/ml.

J. fruticans a exercé un effet inhibiteur très important sur l'enzyme (α-glucosidase), l'IC₅₀ a été déduite à une valeur qui égale à 50.125±0.89 µg/ml. L'extrait méthanolique des feuilles de *J. officinale* a présenté une activité anti-α-glucosidase nettement inférieure de celle présentée par notre extrait de *J. fruticans*, l'IC₅₀ a pris une valeur de 4810 ±0.18 µg/ml (Dubey et al., 2018). L'extrait hydro-méthanolique de *L. antineae* a montré une activité inhibitrice importante vis à vis l'α-glucosidase, l'IC₅₀ a été estimée à une valeur qui égale à 168.61±7.60 µg/ml.

Une étude *in vivo* réalisée par Alaa et al. (2016), a montré que l'extrait méthanolique de *M. alysson* a provoqué la diminution du taux de glutathion dans le sang de rats diabétiques, mais il n'a pas abaissé le taux de glucose dans leurs sang.

Avant d'être absorbés dans l'intestin et pénétrés dans la circulation sanguine, l'amidon et les autres polysaccharides complexes sont hydrolysés par une amylase en oligosaccharides, qui sont par la suite hydrolysés en glucose plus simple par voie intestinale par l'α-glucosidase. Par conséquent, les inhibiteurs de l'α-amylase et de l'α-glucosidase finiront par réduire le débit de glucose des glucides alimentaires dans le sang, conduisant à la décroissance de l'hyperglycémie postprandiale (Dubey et al., 2018).

L'inhibition des enzymes digestives de l'amidon par les agents synthétiques, tels que l'acarbose, est une stratégie clinique importante pour contrôler la glycémie postprandiale. L'acarbose a été approuvé par sa capacité de réduire la glycémie, en parallèle il a été rapporté que cet inhibiteur a des effets indésirables critiques, tels que des troubles au niveau du foie, alors que les inhibiteurs d'enzymes à base de plantes sont potentiellement efficaces et plus sûrs (Asgar, 2013).

Les polyphénols et les flavonoïdes sont connus par leur pouvoir d'inhiber l'activité de l'α-glucosidase *in vitro* (Hanhineva et al. 2010). Les composés polyphénoliques rencontrés dans les plantes ont été longtemps reconnus pour leur capacité à inhiber l'activité des enzymes digestives en raison de leur habilité de se lier avec des protéines (Bothon et al., 2013).

Des interactions non covalentes peuvent se produire entre les polyphénols et les enzymes (protéines). Les groupes hydroxyles et les groupes galloyles sont présents dans la structure moléculaire de polyphénols. Les groupes hydroxyles peuvent former des liaisons hydrogène avec les groupes polaires des enzymes et les groupes galloyles présentent un caractère hydrophobe peuvent se lier avec les enzymes par association hydrophobe.

Le fragment galloyle peut jouer un rôle important d'interagir avec l' α -amylase et l' α -glucosidase de mammifères (Asgar, 2013).

Tableau 18: Activité d'inhibition de l' α -glucosidase par les extraits hydro-méthanoliques des plantes étudiées et l'acarbose

Extraits	% d'inhibition										IC ₅₀ (µg/ml)
	3.125µg/ml	6.25µg/ml	12.5µg/ml	25µg/ml	50µg/ml	100µg/ml	200µg/ml	800µg/ml			
<i>P. atlantica</i> ^c	35.33 ± 14.78	68.37± 0.35	72.66± 2.93	91.96± 1.38	97.86± 0.81	NT	NT	NT	NT	NT	4.64±1.49
<i>L. antineae</i> ^{a b}	NT	NT	0.00±0.0	0.00±0.0	12.815± 3.41	48.079± 1.62	53.899± 2.21	63.702±0.0			168.61±7.60
<i>J. fruticans</i> ^b	NT	NT	NT	33.84 ±0.0	46.36 ± 3.41	84.30 ± 2.21	NT	NT			50.125±0.89
<i>T. algeriensis</i> <i>M. alysson</i>	Absence d'activité										
Acarbose ^{a b}	78.125 µg/ml	156.25µg/ml	312.5µg/ml	625 µg/ml	1250 µg/ml	2500µg/ml	5000µg/ml			IC ₅₀ (µg/ml)	
	27.43±2.1 8	38.91±3.20	54.86±1.79	67.29±2.63	80.19±1.66	85.54±0.45	91.05±0.72			275.43±1.59	

NT: Not tested, $p \leq 0.05$, a, b, c: sous ensembles déterminés par le test Tukey.

3.5.3 Inhibition de la tyrosinase

Les inhibiteurs de la tyrosinase sont des agents chimiques capables de réduire les réactions enzymatiques, telles que le brunissement des aliments et mélanisation de la peau humaine (Salleh et *al.*, 2014). La quantité de mélanine produite par les mélanocytes détermine principalement la couleur de la peau. La surproduction de mélanine est initiée par des facteurs externes : exposition chronique au soleil ou par différentes maladies d'hyperpigmentation, telles que le mélasma ou hypermélanose post-inflammatoire. Les maladies d'hyperpigmentation sont de nature psychosociale et d'importance cosmétique en raison de leur commune apparence principalement sur les zones exposées au soleil comme le visage et le cou (Petit et Pierard, 2003 et Briganti et *al.*, 2003).

La synthèse de la mélanine est catalysée par de nombreuses enzymes ou la tyrosinase est l'enzyme essentielle (singh et *al.*, 2005). L'inhibition de cette enzyme importante joue un rôle clé dans la recherche, la découverte et l'utilisation des agents cosmétiques naturels de dépigmentation, commercialisés sous forme d'agents éclaircissants de la peau ou dans les médicaments utilisés pour le traitement des maladies d'hyperpigmentation (Sturm et *al.*, 2001; Zuidhoff et van Rijsbergen, 2001).

Plusieurs inhibiteurs de la tyrosinase ont été mis au point à partir des plantes médicinales (Mukherjee et *al.*, 2018).

Pour évaluer l'activité anti-tyrosinase la méthode décrite par Erdogan Orhan et *al.* (2015) a été suivie. L'acide kojique a été utilisé comme control positif.

Toutes les plantes étudiées ont montré une activité inhibitrice sur la tyrosinase, cette activité a varié du faible, modérée et forte.

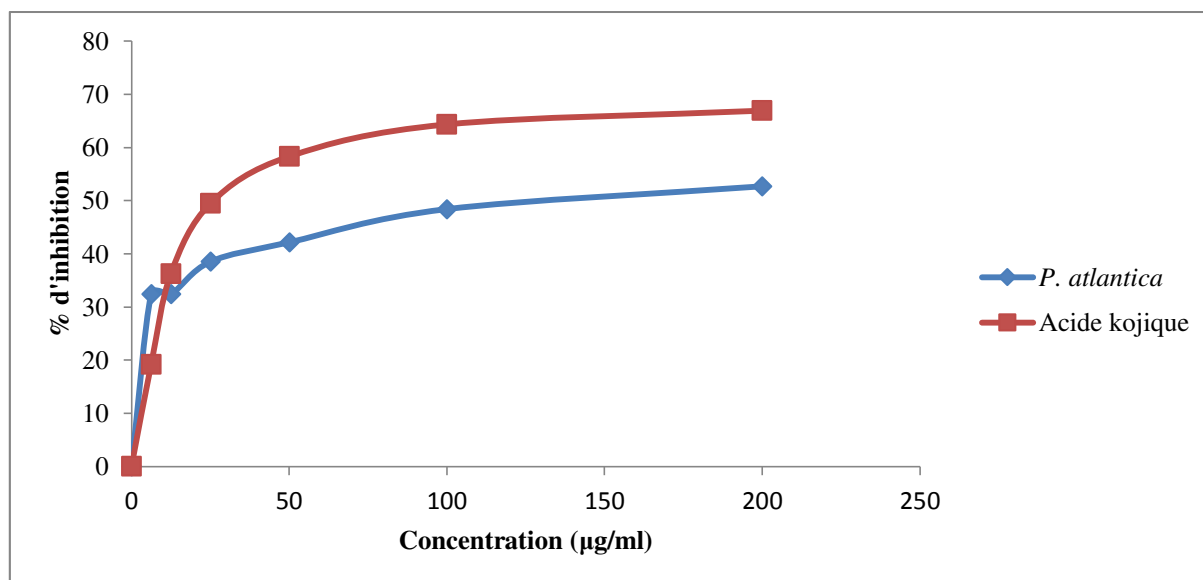


Figure 69: Activité anti-tyrosinase de l'extrait hydro-méthanolique de *P. atlantica*

P. atlantica a donné un effet inhibiteur notable sur la tyrosinase. Cet effet était traduit par une augmentation continue des pourcentages d'inhibition en augmentant les concentrations de l'extrait méthanolique (Figure 69). En le comparant avec l'acide kojique qui a présenté une IC_{50} égale à $25.23 \pm 0.78 \mu\text{g/ml}$, l'extrait hydro-méthanolique de *P. atlantica* est apparu plus faible avec une IC_{50} qui égale à $153.07 \pm 2.63 \mu\text{g/ml}$ (Tableau 19). Nos résultats ne sont pas en accord avec les résultats de Eghbali-Feriz et al. (2018) qui ont trouvé une valeur d' IC_{50} plus inférieure ($60.78 \mu\text{g/ml}$).

Les figures 70 et 71 indiquent que les deux plantes *L. antineae* et *T. algeriensis* possèdent un effet inhibiteur sur l'enzyme où les pourcentages d'inhibition augmentent avec les concentrations, mais cet effet est considéré comme faible en le comparant avec les autres plantes et avec l'acide kojique. Les IC_{50} ont été estimées à des valeurs supérieures à $200 \mu\text{g/ml}$ (Tableau 19).

L'extrait hydro-méthanolique de *M. alysson* a montré une activité inhibitrice puissante vis à vis la tyrosinase. Les pourcentages d'inhibition ont hautement accru même à des faibles concentrations. La différence était largement claire entre l'extrait de la plante et l'acide kojique (Figure 72). La valeur d' IC_{50} a égale une valeur de $8.85 \pm 3.22 \mu\text{g/ml}$ (Tableau 19). Une étude

réalisée par Namjoyan *et al.* (2015) sur l'extrait éthanolique de la partie aérienne de *M. vulgare* a montré que cette dernière possède un effet inhibiteur faible avec une IC₅₀ égale à 2820 µg/ml. *J. fruticans* a été caractérisée par une action inhibitrice considérable sur l'enzyme, la valeur calculée d'IC₅₀ égale à 16.06±4.34 µg/ml qui est plus importante de celle calculée pour l'acide kojique (Tableau 19). Les pourcentages d'inhibition étaient grands même à des faibles concentrations (Figure 73).

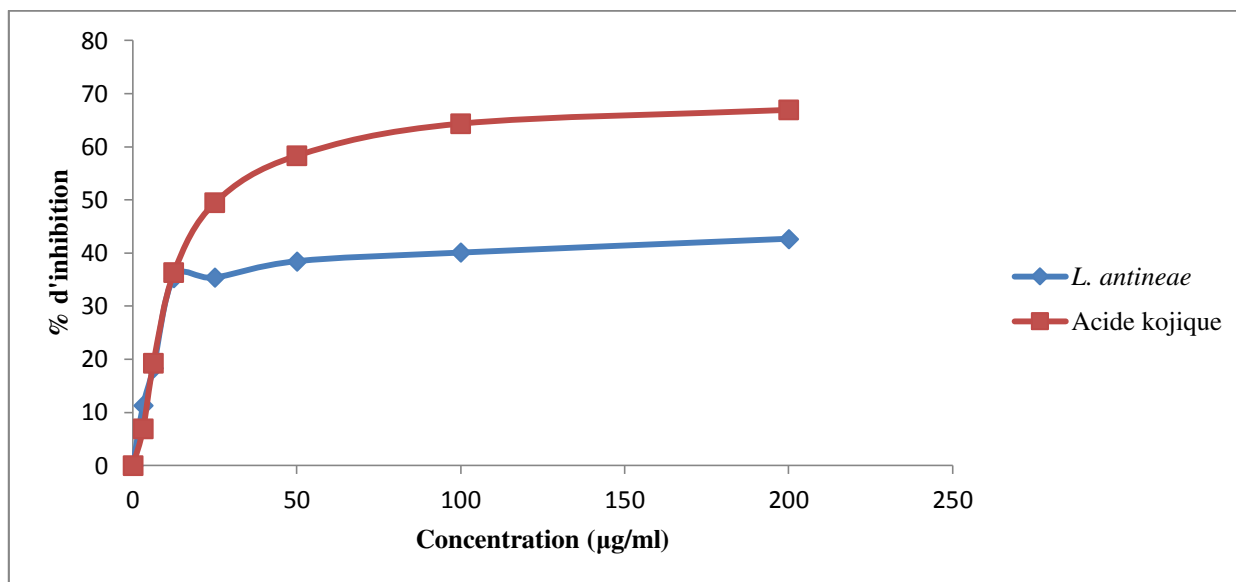


Figure 70: Activité anti-tyrosinase de l'extrait hydro-méthanolique de *L. antineae*

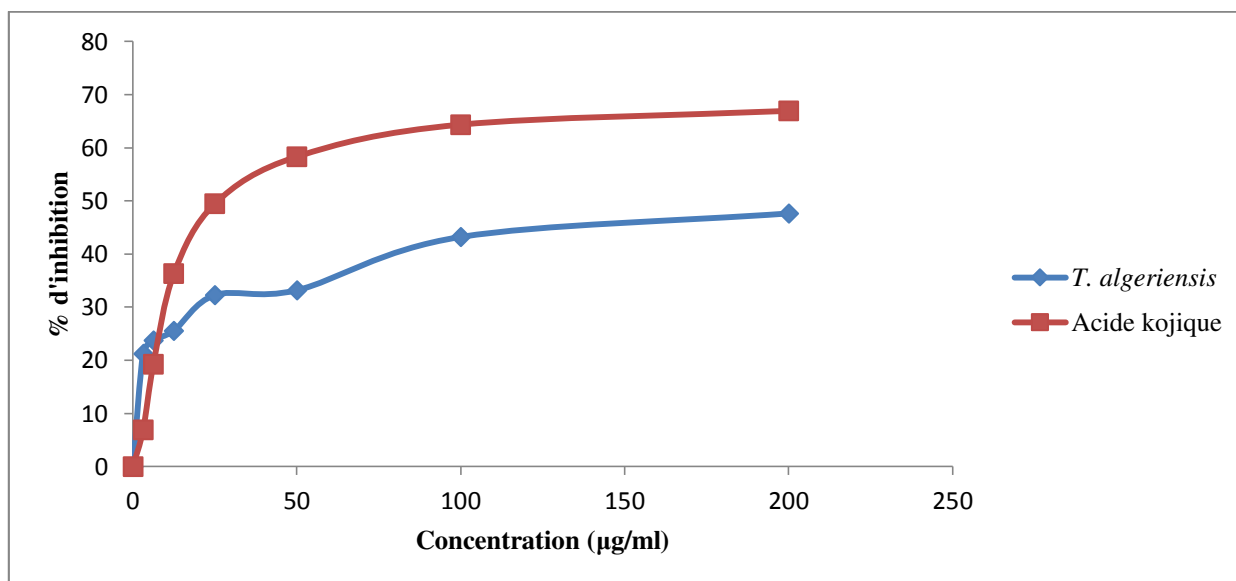


Figure 71: Activité anti-tyrosinase de l'extrait hydro-méthanolique de *T. algeriensis*

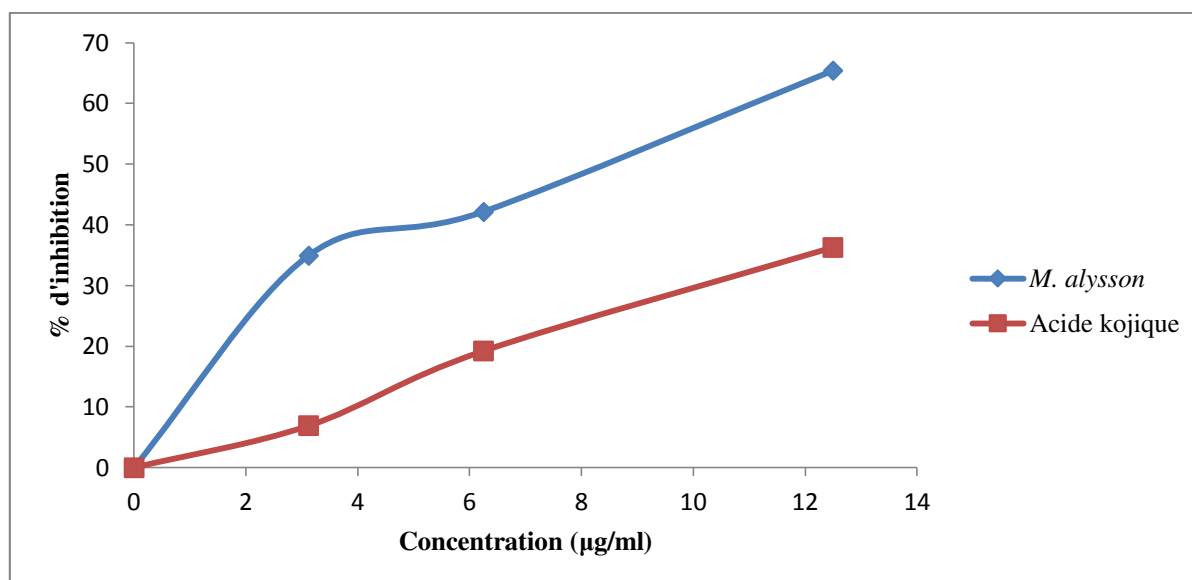


Figure 72: Activité anti-tyrosinase de l'extrait hydro-méthanolique de *M. alysson*

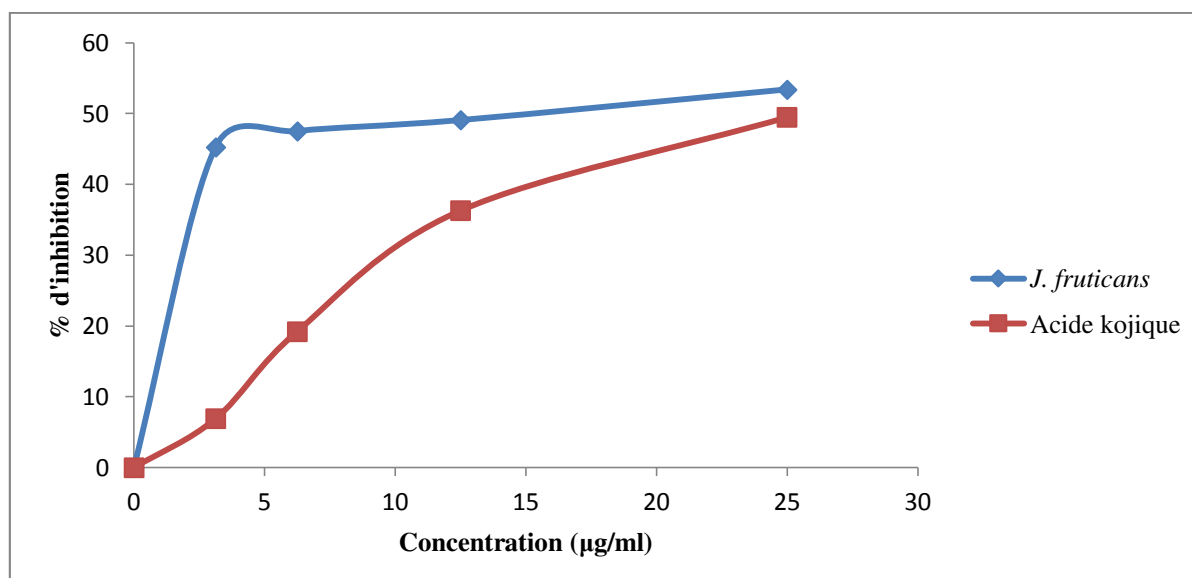


Figure 73: Activité anti-tyrosinase de l'extrait hydro-méthanolique de *J. fruticans*

Tableau 19: IC₅₀ des extraits hydro-méthanoliques des plantes étudiées et de l'acide kojique obtenus par le test anti-tyrosinase

Plante ou témoin	IC ₅₀ (µg/ml)
<i>P. atlantica</i> ^a	153.07 ± 2.63
<i>L. antineae</i> ^a	>200
<i>T. algeriensis</i> ^a	>200
<i>M. alysson</i> ^a	8.85 ± 3.22
<i>J. fruticans</i> ^a	16.06 ± 4.34
Acide kojique ^a	25.23 ± 0.78

$p < 0.05$, a: sous ensemble déterminé par le test Tukey.

3.5.4 Corrélation entre le contenu en polyphénols, flavonoïdes, tanins et l'activité antioxydante et l'activité anti-enzymatique

L'analyse de corrélation par la méthode de Pearson a révélé des corrélations importantes entre le contenu phénolique et le contenu en flavonoïdes ($r = 0.810, p < 0.01$), le contenu phénolique et le contenu en tanins condensés ($r = 0.770, p < 0.01$). Les teneurs en flavonoïdes et en tanins condensés étaient faiblement corrélées ($r = 0.331$). Des corrélations fortes et significatives ont été observées entre le contenu phénolique et le test de piégeage de DPPH ($0.539, p < 0.05$), le test FRAP ($r = 0.701, p < 0.01$), le test CUPRAC ($r = 0.838, p < 0.01$), le test de réduction de fer par la méthode à la phénanthroline ($0.892, p < 0.01$), le test d'inhibition de l'acétylcholinestérase ($r = 0.739, p < 0.01$) et l'activité anti- α -glucosidase ($r = 0.791, p < 0.01$).

Des corrélations considérables et significatives ont été observées entre la teneur en flavonoïdes et le test DPPH ($r = 0.576, p < 0.05$), le test ABTS ($r = 0.745, p < 0.05$), le test FRAP ($r = 0.676, p < 0.05$), le test CUPRAC ($r = 0.805, p < 0.01$), le test de réduction de fer par la méthode à la phénanthroline ($r = 0.750, p < 0.01$), le test d'inhibition de l'acétylcholinestérase ($r = 0.756, p < 0.01$) et l'activité anti- α -glucosidase ($r = 0.641, p < 0.05$).

Il existe aussi des corrélations importantes et significatives entre le contenu en tanins condensés et le test CUPRAC ($r = 0.530, p < 0.05$), le test à la phénanthroline ($r = 0.648, p < 0.01$) et l'activité anti- α -glucosidase ($r = 0.816, p < 0.01$). Ces résultats peuvent être expliqués par l'implication importante des polyphénols, flavonoïdes et tanins dans le potentiel antioxydant et le potentiel anti-enzymatique.

On a constaté aussi des corrélations élevées entre les tests de l'effet antioxydant et les activités anti-enzymatiques, il s'agit par exemple de l'activité anti-acétylcholinestérase et le test de piégeage de l'ABTS ($r = 0.869, p < 0.01$), l'activité anti- α -glucosidase et le test à la phénanthroline ($r = 0.710, p < 0.01$), l'activité anti-tyrosinase et le test FRAP ($r = 0.526, p < 0.05$). (Annexe II).

L'analyse de composantes principales (ACP) qui a été réalisée en utilisant les résultats dosage, de l'activité antioxydante et anti-enzymatique par les différents tests réalisés, nous a permis de suggérer la possibilité d'exploiter ces résultats dans la classification des plantes. *T. algeriensis*, *L. antineae* et *M. alysson* font partie de la même famille, sont présentées dans des endroits proches dans la représentation graphique (Annexe II), ceux-ci peuvent être expliqués par le fait de l'existence de biomolécules communes entre les espèces d'une même famille.

3.5.5 Test SPF

Le test a été fait selon la méthode spectrophotométrique de Mansur et *al.* (1986), où les absorbances des échantillons étaient mesurées dans une gamme allant de 290 à 320 nm chaque 5 nm. Une haute protection peut être désignée aux extraits hydro-méthanoliques de *P. atlantica*, *L. antineae*, *T. algeriensis* et *J. fruticans*, cette dernière a été qualifiée par la valeur de SPF la plus élevée: 48.08 ± 0.50 (Tableau 20).

M. alysson s'est caractérisée par une protection moyenne avec un SPF qui égale 28.55 ± 3.08 .

Tableau 20: Valeurs de SPF des extraits hydro-méthanoliques des plantes étudiées

Plante	Valeur de SPF
<i>P. atlantica</i>	44.43 ± 2.17
<i>L. antineae</i>	46.54 ± 0.65
<i>T. algeriensis</i>	47.21 ± 0.83
<i>M. alysson</i>	28.55 ± 3.08
<i>J. fruticans</i>	48.08 ± 0.50

3.5.6 Activité antimicrobienne

Nous avons testé *in vitro* le pouvoir antimicrobien de deux extraits butanolique et acétate d'éthyle de nos plantes par la méthode de diffusion sur un milieu solide vis à vis trois souches bactériennes (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Pseudomonas aeruginosa*) et une levure (*Candida albicans* ATCC 2071).

L'activité antimicrobienne a été estimée en terme de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques pour chaque extrait et avec ses différentes concentrations (2, 3, 125, 6.25, 12.5, 25 et 50 mg/ml).

La sensibilité des souches envers les extraits a été déduite par rapport aux diamètres d'inhibition comme suit (Ponce et *al.*, 2003; Moreira et *al.*, 2005):

- Pas sensible pour un diamètre total inférieur à 8 mm;
- Sensible pour un diamètre total de 9 à 14 mm;
- Très sensible pour un diamètre total de 15 à 19 mm;
- Extrêmement sensible pour un diamètre total supérieur à 20 mm.

3.5.6.1 Antibiogramme

3.5.6.1.1 *P. atlantica*

Les deux extraits acétate d'éthyle et n-butanol de *P. atlantica* ont présenté un effet antimicrobien sur la plupart des microorganismes testés, cet effet diffère d'une souche à une autre et selon le type de l'extrait (Tableau 21):

-Pour l'extrait acétate d'éthyle, *E. coli* et *S. aureus* étaient les souches les plus sensibles où les diamètres d'inhibitions variant de 8.5 à 22 mm et de 9 à 20 mm respectivement.

Les diamètres d'inhibitions enregistrés pour *P. aeruginosa* et *C. albicans* varient de 8 à 14 mm.

-Pour l'extrait butanolique, *S. aureus* était la souche la plus sensible avec des diamètres d'inhibition allant de 11.5 à 19 mm avec l'absence d'un halos pour la concentration de 3.125mg/ml.

C. albicans était la souche la plus résistante envers cet extrait, des zones d'inhibitions qui égalent à 8 et 10 mm ont été décelées pour les deux concentrations 25 et 50 mg/ml successivement.

La sensibilité des deux bactéries à Gram (-) était proche avec des diamètres d'inhibitions de 8 à 14 mm.

E. coli et *C. albicans* étaient plus sensibles pour l'extrait acétate d'éthyle que pour l'extrait butanolique. *S. aureus* a présenté une sensibilité quasi similaire envers les deux extraits, il était de même pour *P. aeruginosa*.

Tableau 21: Diamètres d'inhibition obtenus pour chaque extrait (acétate d'éthyle et n-butanol) de *P. atlantica* avec leurs différentes concentrations

Concentrations (mg/ml)	E AcEth						E But						Gnt	DMSO
	2	3.125	6.25	12.5	25	50	2	3.125	6.25	12.5	25	50		
<i>E. coli</i>	-	8.5± 0.7	12± 1.41	13± 0.00	16± 1.15	22± 0.57	-	9± 00	10± 00	11± 1.41	11.5 ± 0.70	14.6 6± 0.04	21± 1,41	-
<i>P. aeruginosa</i>	-	8±0.7 0	9.5± 0.70	11± 00	12± 1.41	14± 00	-	8.5± 0.70	10± 1.41	11± 00	13± 1.41	14.3 3± 2.08	17± 2,8	-
<i>S. aureus</i>	-	9±00	11± 0.7	15± 00	17.5 ± 3.53	20± 00	-	-	11.5 ±0. 70	12± 1.41	13± 1.41	19± 00	26,5± 2,12	-
<i>C. albicans</i>	-	-	8± 00	10± 1.41	12.5 ±0. 70	14± 0.57	-	-	-	-	8± 00	10± 00		-

Les diamètres d'inhibition (moyenne±écart type) sont exprimés en mm, Les concentrations sont exprimées en mg/ml. $p \geq 0.05$: E AcEth/E But, $p \leq 0.05$: E AcEth /Gnt (avec toutes les souches).

Plusieurs études sont consacrées sur l'effet biologique, notamment antimicrobien, des huiles essentielles de la plante (Benabderrahmane et al. ,2009; Ghalem et Mohamed, 2009; Sharifi et Hazell, 2011; Hosseini et al., 2013 et Benabdallah et al. , 2015) où l'huile essentielle de son oléorésine, particulièrement, a montré un pouvoir antimicrobien considérable avec plusieurs microbes.

Peu d'études sur l'effet antimicrobien des autres extraits de *P. atlantica* sont réalisées. Benhammou et al. (2008) a trouvé qu'à une concentration de 338 mg/ml de l'extrait éthanolique de *P. atlantica*, *E. coli* était résistante tan disque *S. aureus* et *C. albicans* étaient sensibles envers cet extrait.

L'extrait méthanolique et éthanolique de la plante ont révélé une activité antimicrobienne significative vis à vis *Agrobacterium tumefaciens* et *Pseudomonas savastanoi* et *Bacillus subtilis* (Rhouma et al., 2009).

Une étude par Takhi et *al.* (2011) portant sur l'extrait méthanolique de *P. atlantica* a trouvé que ce dernier n'a aucun effet sur *E. coli*, *S. aureus* et *P. aeruginosa*.

De nombreux auteurs ont suggéré que les polyphénols inhibent la croissance des microorganismes en formant des complexes avec des enzymes microbiennes ou des protéines. L'un des mécanismes d'inhibition connus consiste à l'inhibition du fer (Mila et *al.*, 1996). (Karamanoli et *al.*, 2011).

3.5.6.1.2 *Lavandula antineae*

Les résultats représentés dans le Tableau 22 ont montré que les deux extraits acétate d'éthyle et n-butanol ont exercé un effet antimicrobien faible voir nulle contre les quatre souches microbiennes, on a marqué l'absence d'un halo d'inhibition autour des disques aux différentes concentrations testées pour la plupart des souches, ce qui nous laisse suggérer d'augmenter les concentrations testées afin d'avoir un effet remarquable.

Plusieurs études portées sur les huiles essentielles d'autres espèces du genre *Lavandula* tel que *L. stoechas*, *L. dentata*, *L. angustifolia* et *L. Officinalis* ont trouvé que ses essences possèdent un effet antimicrobien moyen et parfois fort vis à vis plusieurs souches microbiennes (Danh et *al.* , 2013; Chahboun et *al.* , 2015 et Bachiri et *al.* ,2016). Bachiri et *al.* (2016), dans son étude, a trouvé que les huiles essentielles de deux espèces de lavande (*Lavandula stoechas* L. et *Lavandula dentata* L.) procurent un pouvoir antimicrobien considérable par rapport aux extraits aqueux bruts.

Les mécanismes probables du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles contre les bactéries à Gram (+) sont évoqué par l'altération de la membrane cellulaire et notamment de sa perméabilité qui peut entraîner des pertes anormales d'ions, voire de macromolécules, chez les bactéries Gram (-) des effets délétères ont été observés sur l'homéostasie en potassium ainsi que sur la respiration glucose dépendante (Bakkali et *al.* 2008; Degryse et *al.*, 2008).

Tableau 22: Diamètres d'inhibition obtenus pour chaque extrait (acétate d'éthyle et butanol) de *L. antineae* avec leurs différentes concentrations

Concentrations (mg/ml)	E AcEth						E But						Gnt	DMSO
	2	3.125	6.25	12.5	25	50	2	3.125	6.25	12.5	25	50		
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	6.5± 0.7	-	-	-	-	-	-	-	21± 1.41	-
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	7± 1.41	-	-	-	-	-	-	6.66 ± 1.52	17± 2.8
<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	7.5± 0.7	7.66 ± 0.57	-	-	-	-	-	-	26.5 ± 2.12	-
<i>C. albicans</i>	-	-	-	-	-	7± 1	-	-	-	-	-	-	-	-

Les diamètres d'inhibition (moyenne±écart type) sont exprimés en mm, Les concentrations sont exprimées en mg/ml. $p \geq 0.05$: E AcEth/E But, $p \leq 0.05$: E AcEth /Gnt (avec toutes les souches).

3.5.6.1.3 *Thymus algeriensis*

D'après les résultats englobés dans le Tableau 23:

Pour l'extrait acétate d'éthyle, *S. aureus* et *C. albicans* étaient les souches les plus sensibles par rapport aux autres microorganismes, les diamètres d'inhibitions varient de 8 à 13.5 mm pour *S. aureus* avec l'absence d'un halo autour du disque imbibé par la concentration de 2 mg/ml.

E. coli a présenté une faible sensibilité à la concentration de 50 mg/ml (10.5 mm) et *P. aeruginosa* était la souche la plus résistante.

Les zones d'inhibitions pour *C. albicans* ont pris des valeurs entre 7.66 mm et 12 mm.

Pour l'extrait butanolique, *S. aureus* était sensible envers les quatre concentrations: 50 mg/ml, 25 mg/ml, 12.5mg/ml et 6.25mg/ml où les diamètres d'inhibition ont pris les valeurs de 14.13.5, 11 et 10 mm respectivement.

E. coli et *C. albicans* étaient sensibles aux deux concentrations de 50 et 25 mg/ml tandis que *P. aeruginosa* était résistante envers toutes les concentrations testées.

Ce faible voir moyen effet marqué peut être expliqué par le fait que les composés non polaires renfermant la plupart des composants d'huiles essentielles ont été retirés du matériel végétal pendant l'extraction par les solvants apolaires (Megdiche Ksouri et al., 2015)

Tableau 23: Diamètres d'inhibition obtenus pour chaque extrait (acétate d'éthyle et butanol) de *T. algeriensis* avec leurs différentes concentrations

Concentrations (mg/ml) Souches	E AcEth						E But						Gnt	DMSO
	2	3.12 5	6.25	12.5	25	50	2	3.1 25	6.2 5	12. 5	25	50		
<i>E. coli</i>	-	-	7.5± 0.11	8± 00	9± 00	10.5 ± 0.7	7.3 3± 1.0 2	-	8.5± 0.7	9.5± 0.7	10± 00	12.6 6± 0.41	22.33 ± 0.04	-
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	7.5± 1.02	8.5± 0.7	9± 00	-	-	-	-	8.5 ± 0.7	9±0 0	17± 00	-
<i>S. aureus</i>	-	8±00	9.5± 0.57	11± 00	12.5 ± 0.11	13.5 ± 0.7	9.3 3± 0.0 2	9± 00	10± 00	11± 00	13.5 ± 0.02	14± 00	24.66 ± 2.08	-
<i>C. albicans</i>	7.6 6± 0.0 4	8.5± 0.7	9± 0.7	9± 00	11.5 ± 1.02	12± 00	8±0 0	8±0 0	9±0 0	9±0 0	10.5 ± 0.7	11.5 ± 0.11		-

Les diamètres d'inhibition (moyenne±ecart type) sont exprimés en mm, Les concentrations sont exprimées en mg/ml. $p \geq 0.05$: E AcEth/E But, $p \leq 0.05$: E AcEth /Gnt (avec toutes les souches).

La plupart des études sont réalisées sur les huiles essentielles de *T. algeriensis* (Amarti et al. , 2010; Ait-Ouazzou et al. , 2011; Zouari et al. , 2011; Giweli et al. , 2012; Mehalaine et al. , 2017) où les résultats ont montré un grand effet anti microbien.

Peu d'études sont consacrées sur d'autres extraits de la plante. Une très faible activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de *T. algeriensis* vis à vis *E. coli* , *P. aeruginosa* et *C. albicans* et une activité moyenne vis à vis *S. aureus* a été enregistrée dans l'étude de Megdiche Ksouri et al. (2015).

3.5.6.1.4 Marrubium alysson

Une sensibilité variable a été observée envers les deux extraits (acétate d'éthyle et butanolique) de *Marrubium alysson* (Tableau 24) selon les souches testées et les différentes concentrations de chaque extrait.

Pour l'extrait acétate d'éthyle, *E. coli* a été montré résistante aux concentrations 2 et 3,125 mg/ml, faiblement sensible à la concentration de 6,25 mg/ml et une sensibilité moyenne a été présentée par la même souche aux concentrations 12,5, 25 et 50 mg/ml.

Les zones d'inhibition variant de 7 à 13,5mm pour *P. aeruginosa*, la bactérie semble sensible aux concentrations 12,5, 25 et 50 mg/ml.

Tableau 24: Diamètres d'inhibition obtenus pour chaque extrait (acétate d'éthyle et butanol) de *M. alysson* avec leurs différentes concentrations

Concentrations (mg/ml)	E AcEth						E But						Gnt	DMSO
	2	3.125	6.25	12.5	25	50	2	3.125	6.25	12.5	25	50		
<i>E. coli</i>	7± 0.00	7± 0.00	9± 0.00	10.5 ± 0.7	11.5 ± 0.57	12.3 3± 0.57	-	7± 0.00	8.5± 0.7	10.5 ± 0.7	12.3 3± 0.7	12.5 ± 0.7	21.5 ± 2.12	-
<i>P. aeruginosa</i>	7± 0.00	8± 0.00	8.5± 0.7	11.5 ± 0.7	12.5 ± 0.7	13.5 ± 0.7	-	7± 0.00	7± 0.00	10.3 3± 0.57	11.3 3± 0.57	11.5 ± 0.7	17± 2.82	-
<i>S. aureus</i>	7± 0.00	9± 0.00	10± 0.00	11.5 ± 0.7	12.5 ± 0.7	13.3 3± 0.57	-	7± 0.00	9± 0.00	10,5 ± 0.7	11.5 ± 0.7	12.5 ± 0.7	22± 2.82	-
<i>C. albicans</i>	-	-	-	7± 0.00	7± 0.00	10± 0.00	-	-	-	-	-	7± 0.00	7.33 ± 0.57	-

Les diamètres d'inhibition (moyenne±ecart type) sont exprimés en mm, Les concentrations sont exprimées en mg/ml. $p \geq 0.05$: E AcEth/E But, $p < 0.05$: E AcEth /Gnt (avec toutes les souches), $p \geq 0.05$: E But/Gnt (avec *C. albicans*).

S. aureus n'a présenté aucune sensibilité envers la concentration 2 mg/ml (7mm) et elle est sensible aux restes des concentrations.

C. albicans était la plus résistante, elle n'est apparue sensible qu'à la concentration de 50 mg/ml.

Nos résultats ne sont pas d'accord avec ceux d'Edziri et al. (2007) qui a trouvé que *E. coli* et *S. aureus* étaient résistantes pour l'extrait acétate d'éthyle de *M. alysson*, et que ce dernier était d'une bonne activité antimicrobienne contre *C. albicans*.

Pour l'extrait butanolique, les diamètres d'inhibition variant de 7 à 12.5mm pour *E. coli*, sa sensibilité est considérée moyenne aux concentrations 12.5, 25 et 50 mg/ml, quant à *P. aeruginosa* les zones d'inhibition ont pris des valeurs entre 7 et 11.5mm.

C. albicans n'a présenté aucune sensibilité envers l'extrait aux différentes concentrations.

Buzayan et El-Garbuli (2012) n'ont pas trouvé un effet antimicrobien de l'extrait aqueux de *M. alysson* sur d'autre espèce (*Mycobacterium tuberculosis*).

Les extraits méthanolique, acétate d'éthyle et butanolique de cette espèce ont été doués d'une activité antivirale significative (Edziri et al., 2011).

Une étude de l'activité antibactérienne des composés flavoniques isolés des feuilles de l'espèce *Marrubium vulgare* L. vis-à-vis des souches bactériennes pathogènes et multirésistantes, a montré que ces substances possèdent un pouvoir antibactérien important sur les germes testés (Boutlelis Djahra, 2012).

3.5.6.1.5 *Jasminum fruticans*

Le Tableau 25 représente les résultats du test antimicrobien des deux extraits de la plante *J. fruticans*. On a constaté que les deux extraits n'ont pas présenté une efficacité antimicrobienne vis à vis les trois souches bactériennes testées.

Le seul effet marqué pour les deux extraits était contre *C. albicans*, où les diamètres d'inhibition ont pris des valeurs entre 10 et 14 mm pour l'extrait acétate d'éthyle. On a noté une absence de sensibilité aux deux concentrations 2 et 3.125 mg/ml et une sensibilité moyenne envers le reste des concentrations.

Des résultats quasi similaires sont obtenus pour l'extrait butanolique où les zones d'inhibition étaient observées aux concentrations 6.25, 12.5, 25 et 50 mg/ml avec des diamètres qui égalent à 10, 11.5, 11.5 et 14 mm respectivement.

Tableau 25: Diamètres d'inhibition obtenus pour chaque extrait (acétate d'éthyle et butanol) de *J. fruticans* avec leurs différentes concentrations

Concentrations (mg/ml)	E AcEth						E But						Gnt	DMSO
	2	3.125	6.25	12.5	25	50	2	3.125	6.25	12.5	25	50		
<i>E. coli</i>	-	-	-	9± 00	-	-	-	7± 1.41	-	-	-	-	21± 1,41	-
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	8.5± 0.71	-	-	-	-	-	-	-	-	17± 2,8	-
<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	26,5 ± 2,12	-
<i>C. albicans</i>	-	-	10± 00	11.5± 0.71	11.5 ± 0.71	14± 1.41	-	-	10± 00	12.5 ± 0.71	12.5 ± 0.71	14.5 ± 0.71	-	-

Les diamètres d'inhibition (moyenne±écart type) sont exprimés en mm, Les concentrations sont exprimées en mg/ml. $p \geq 0.05$:E AcEth/E But (avec *E. coli* et *C. albicans*), $p \leq 0.05$:E AcEth/E But (avec *P. aeruginosa*), $p \leq 0.05$: E AcEth /Gnt (avec toutes les souches).

Peu d'études sont réalisées sur l'effet antimicrobien des extraits de l'espèce *J. fruticans*. L'extrait n-butanol des fleurs de *J. officinalis* a été montré très efficace contre *C. albicans*, *P. aeruginosa* et *S. aureus* avec des diamètres d'inhibition qui égalent à 20.9, 19.2 et 20.1 mm respectivement (Rama et Ampati, 2013).

Abdoul-Latif et al. (2010) a trouvé que *P. aeruginosa* et *S. aureus* étaient résistantes à l'extrait méthanolique de *J. sambac* tandis que *E. coli* et *C. albicans* s'est avérée sensible à ce même extrait avec un diamètre d'inhibition de 15 mm pour les deux souches.

3.5.6.2 Comparaison de l'effet antimicrobien des plantes étudiées sur chaque souche testée

E. coli était sensible envers l'extrait acétate d'éthyle de *P. atlantica*, *M. alysson* et *T. algeriensis*, cette sensibilité augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait. *P. atlantica* a présenté l'effet le plus élevé et qui se rapproche de l'effet de la gentamicine à la concentration

de 50 mg/ml. Les extraits acétate d'éthyle de *L. antineae* et *J. fruticans* n'ont présenté aucun effet sur *E. coli* même à une concentration qui égale 50 mg/ml (Figure 74).

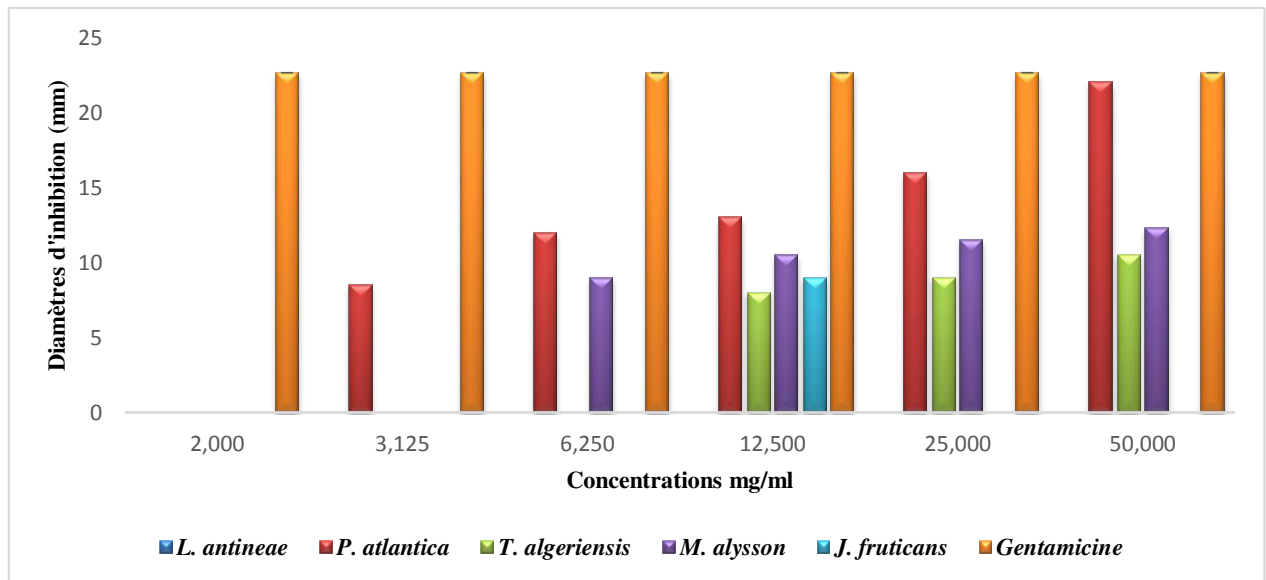


Figure 74: Histogramme comparatif de la sensibilité d'*E. coli* envers l'extrait acétate d'éthyle des plantes étudiées ($p \leq 0.05$)

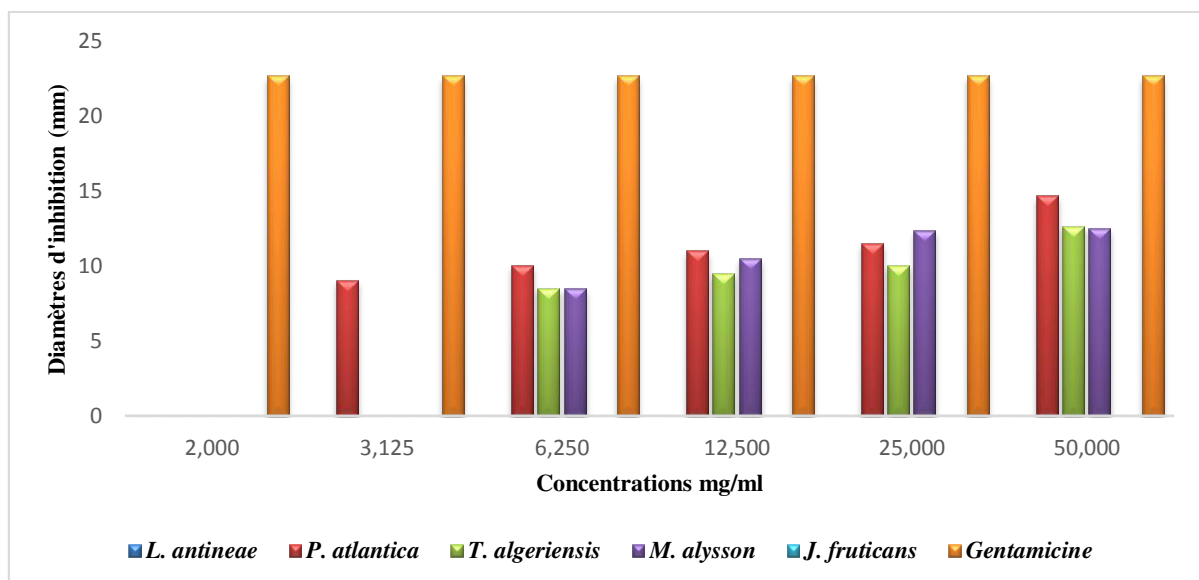


Figure 75: Histogramme comparatif de la sensibilité d'*E. coli* envers l'extrait butanolique des plantes étudiées ($p \leq 0.05$)

Il est de même pour l'extrait butanolique (Figure 75) où *E. coli* n'était sensible que pour *P. atlantica*, *M. alysson* et *T. algeriensis*, mais cette sensibilité est plus faible par rapport à celle de l'extrait acétate d'éthyle. Cela peut être expliqué par le caractère autant qualitatif des composés présents dans l'extrait acétate d'éthyle (Basli et al., 2012).

P. aeruginosa était le plus sensible envers l'extrait acétate d'éthyle de *P. atlantica* et *M. alysson*. Une sensibilité qui n'a été observée qu'à partir la concentration 25 mg/ml pour *T. algeriensis* (Figure 76).

L'extrait butanolique de *P. atlantica* était plus efficace sur *P. aeruginosa* en le comparant avec l'effet des deux plantes *M. alysson* et *T. algeriensis* qui n'ont pas présenté un effet qu'à partir les concentrations 12.5 et 25 mg/ml successivement.

Les extraits des deux plantes *L. antineae* et *J. fruticans* n'ont présenté aucun effet sur *P. aeruginosa* même à une concentration qui égale 50 mg/ml (Figure 77).

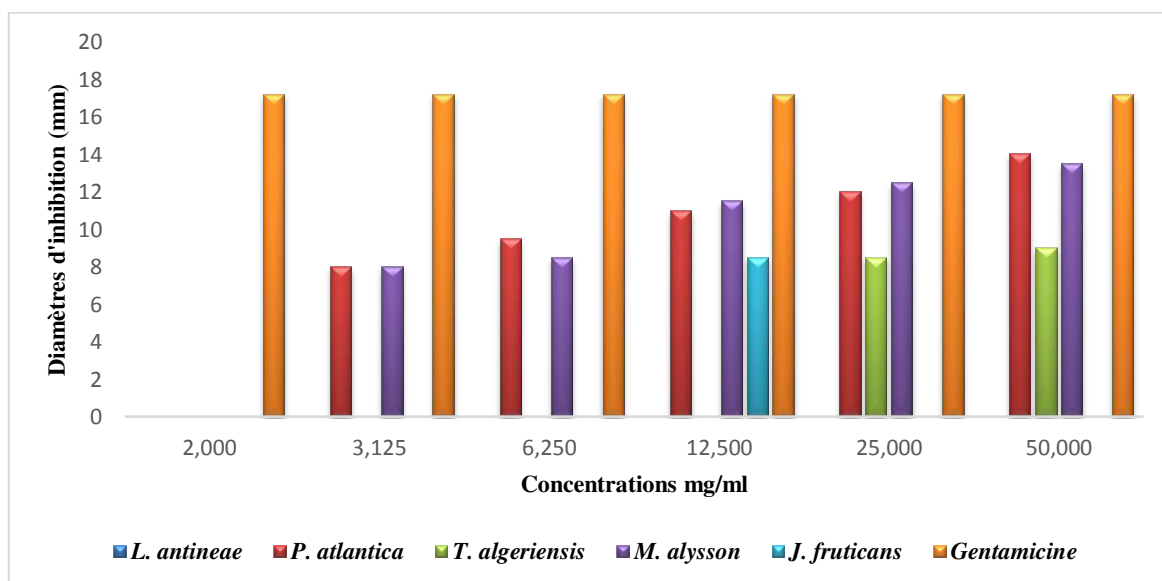


Figure 76: Histogramme comparatif de la sensibilité de *P. aeruginosa* envers l'extrait acétate d'éthyle des plantes étudiées ($p \leq 0.05$)

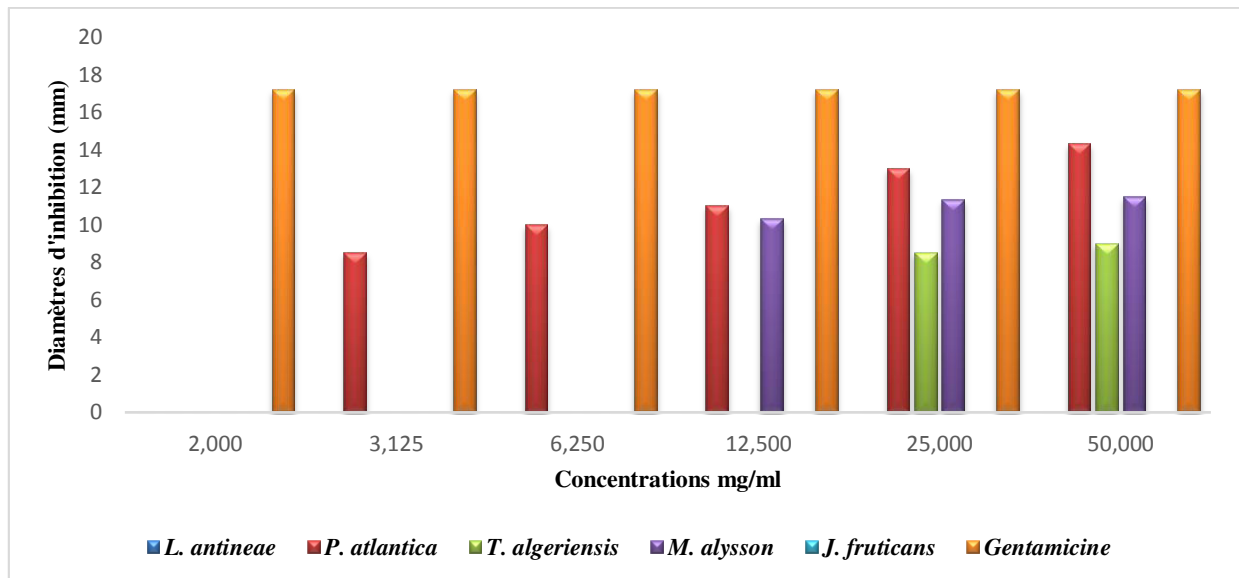


Figure 77: Histogramme comparatif de la sensibilité de *P. aeruginosa* envers l'extrait butanolique des plantes étudiées ($p \leq 0.05$)

S. aureus a présenté une sensibilité pour l'extrait acétate d'éthyle de *P. atlantica*, *M. alysson* et *T. algeriensis* à partir de la concentration 3.125 mg/ml (Figure 78). Cette bactérie à Gram (+) semble plus sensible que les bactéries (étudiées) à Gram (-). Ceci est peut être expliqué par la composition de la paroi de chaque Gram où la paroi des bactéries Gram (+) est riche en protéines tandis que chez les souches Gram (-), elle est surtout constituée de lipopolysaccharides (LPS), la membrane extérieure de ces dernières constitue une barrière de perméabilité efficace. Le LPS comporte des charges négatives de surface qui empêchent la diffusion des molécules hydrophobes, et les protéines excluent le passage des molécules hydrophiles de poids moléculaire élevé. Alors que les bactéries Gram (+) sont moins protégées contre les agents antibactériens, le peptidoglycane n'empêche que la diffusion des molécules supérieures à plus de 50 000 Da (Hogan et Kolter, 2002).

L'extrait butanolique de *T. algeriensis* a été marqué par un effet antimicrobien contre *S. aureus* à partir d'une concentration de 2 mg/ml. La concentration de 6.25 mg/ml était la concentration dont laquelle les extraits butanolique de *P. atlantica* et *M. alysson* ont donné un pouvoir d'inhibition sur *S. aureus*.

Les extraits des deux plantes *L. antineae* et *J. fruticans* n'ont présenté aucun effet sur *S. aureus* même à une concentration qui égale 50 mg/ml (Figure 79).

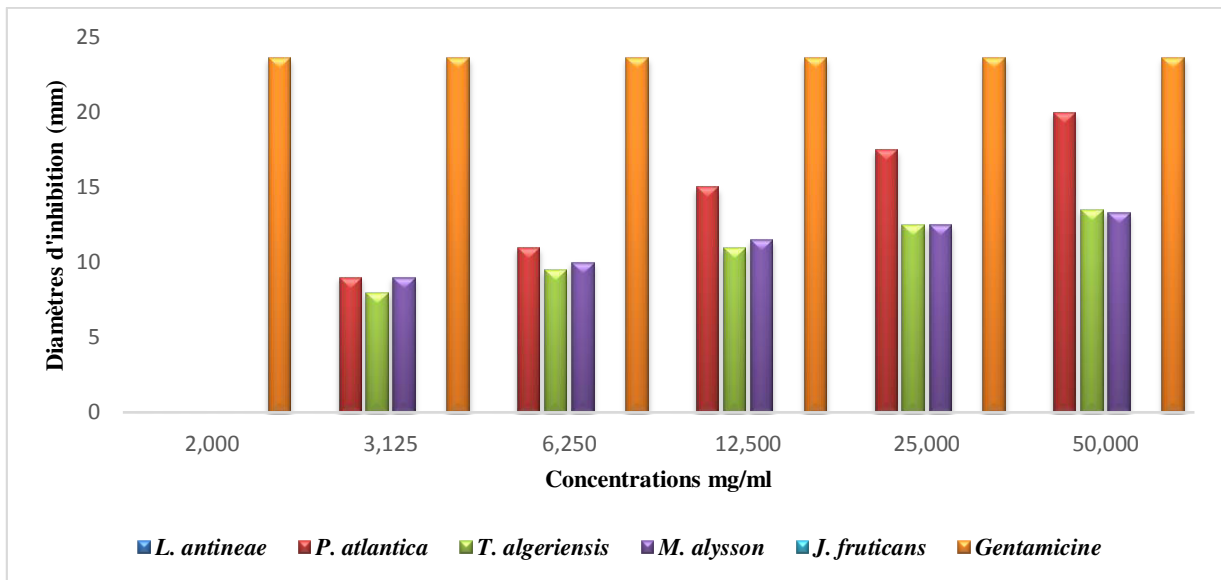


Figure 78: Histogramme comparatif de la sensibilité de *S. aureus* envers l'extrait acétate d'éthyle des plantes étudiées ($p \leq 0.05$)

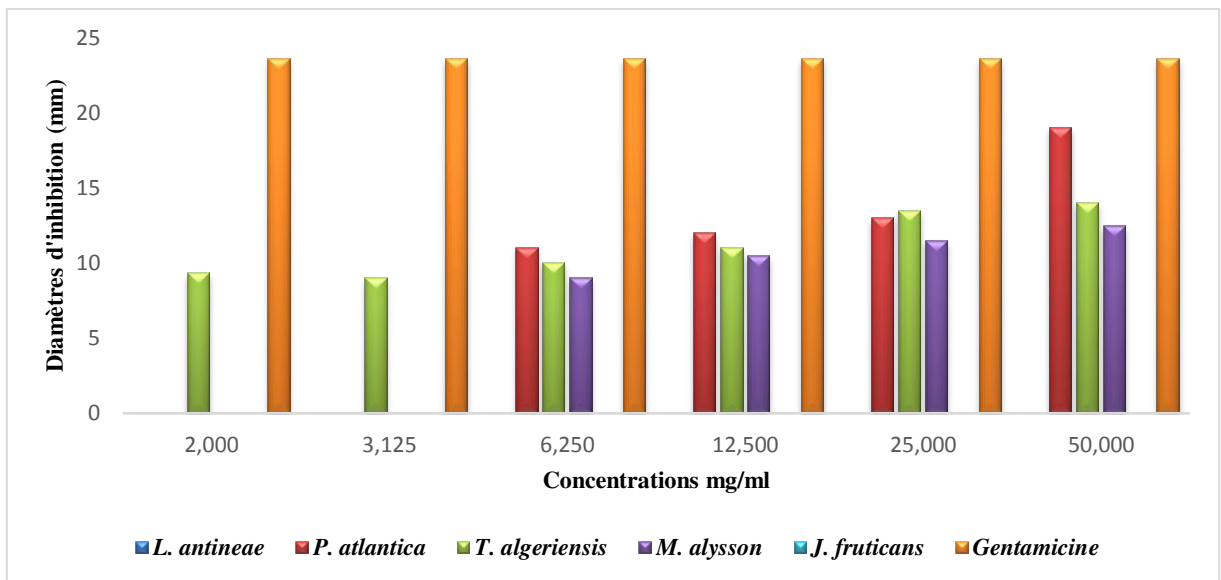


Figure 79: Histogramme comparatif de la sensibilité de *S. aureus* envers l'extrait butanolique des plantes étudiées ($p \leq 0.05$)

C. albicans était sensible pour l'extrait acétate d'éthyle de *T. algeriensis* à partir d'une concentration de 3.125 mg/ml. La concentration de 6.25mg/ml était la concentration dont laquelle les extraits acétate d'éthyle de *P. atlantica*, *M. alysson* et *J. fruticans* ont été doués d'un pouvoir d'inhibition sur la levure. L'extrait de *J. fruticans* a présenté les diamètres d'inhibition les plus élevés.

M. alysson avait un effet antimicrobien très faible sur *C. albicans* et qui ne se révèle qu'à la concentration de 50 mg/ml pour l'extrait acétate d'éthyle, certains extraits peuvent inhiber la croissance des bactéries pathogènes et ne montrent aucune activité contre les bactéries inoffensives ou contre les champignons (Shene et al., 2009).

L. antineae n'a présenté aucun effet sur *C. albicans* même à une concentration qui égale à 50 mg/ml (Figure 80).

L'extrait butanolique de *T. algeriensis* a été le plus efficace contre *C. albicans*, il a donné un effet à partir de la concentration 2 mg/ml. Un effet antimicrobien a été observé contre *C. albicans* à partir de la concentration de 6.25 mg/ml pour *P. atlantica*, et *J. fruticans* où cette dernière a présenté les diamètres d'inhibition les plus remarquables. Les extraits butanoliques des deux plantes *L. antineae* et *M. alysson* n'ont présenté aucun effet sur *C. albicans* même à une concentration qui égale à 50 mg/ml (Figure 81).

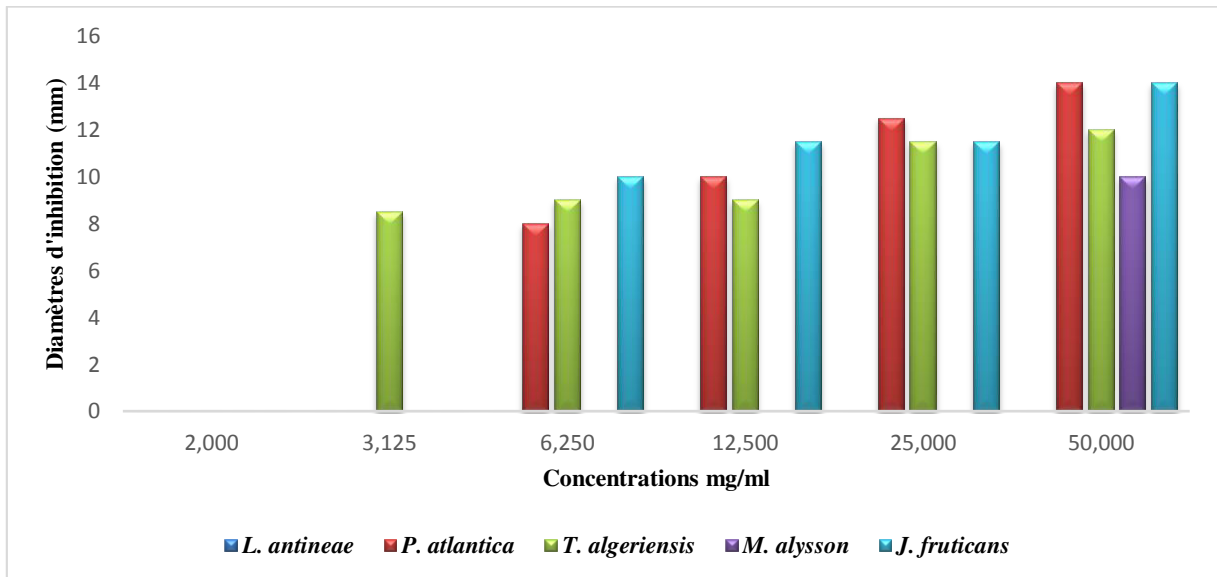


Figure 80: Histogramme comparatif de la sensibilité de *C. albicans* envers l'extrait acétate d'éthyle des plantes étudiées ($p \leq 0.05$)

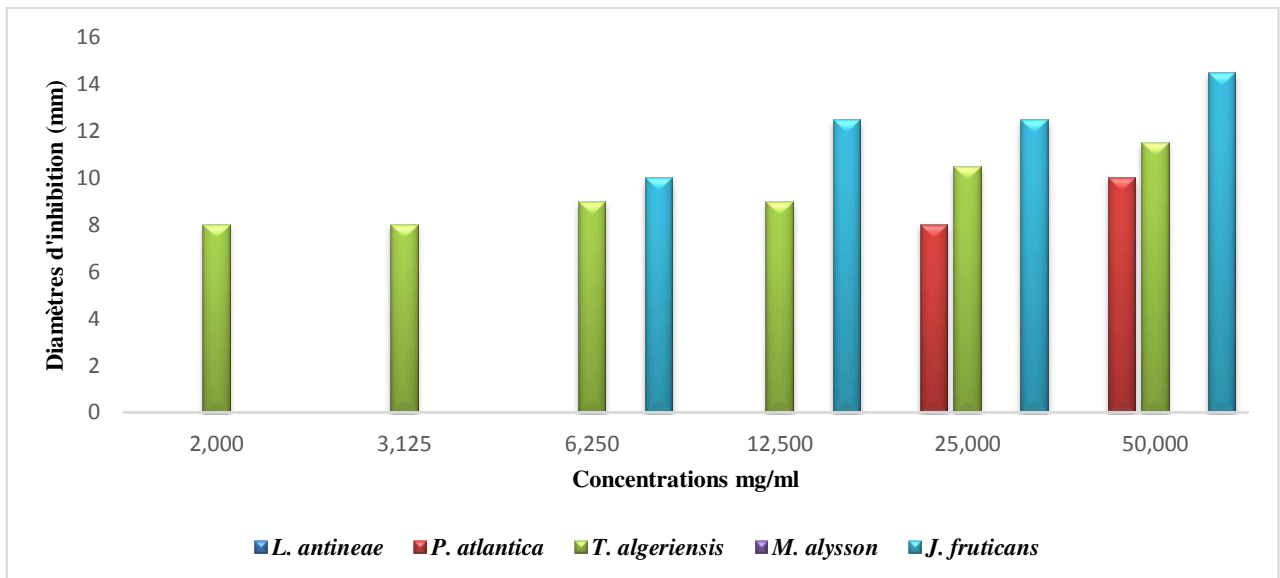


Figure 81: Histogramme comparatif de la sensibilité de *C. albicans* envers l'extrait butanolique des plantes étudiées ($p \leq 0.05$)

L'activité antibactérienne des substances actives d'origine végétale dépend sur les facteurs intrinsèques (l'espèce végétale, les caractéristiques génétiques, les composants chimiques présents dans les extraits de la plante, la partie de la plante utilisés, l'étape physiologique d'utilisation de la plante) et les facteurs extrinsèques (conditions environnementales, la méthode d'extraction réalisée, le type de solvant, les méthodes de traitement et la manière d'évaluation de l'activité antimicrobienne et les facteurs synergiques, résultat de l'interaction de divers composés dans le milieu). L'activité dépend aussi des dose et de type de souches microbiennes utilisées (Boorn et *al.*, 2010; Obeidat et *al.*, 2012; Sekar et *al.*, 2012; El Matani et *al.*, 2015; Reyes-Munguía et *al.*, 2016; Swamy et *al.*, 2016).

Conclusion et perspectives

Il est incroyable que l'oxygène, élément indispensable à la vie, exerce dans certaines situations des effets délétères sur le corps humain. Les effets négatifs de l'oxygène sont dus à la formation et à l'activité du nombre de composés chimiques, appelés espèces réactives de l'oxygène (ROS). L'action des ROS peut toutefois être bloquée par des substances antioxydantes qui piègent les radicaux libres et détoxifient l'organisme. Le large éventail de processus dans lesquels les molécules antioxydantes sont impliquées suggère que ces dernières jouent un rôle protecteur dans la pathogenèse des maladies liées à l'âge tels que la maladie d'Alzheimer et le diabète et elles sont incluses aussi dans la prévention de la progression de certaines infections. L'utilisation d'extraits de plantes en tant qu'antioxydants naturels suscite un intérêt croissant en raison des préoccupations suscitées par les effets néfastes sur la santé développés par l'utilisation d'antioxydants synthétiques (Anbudhasan et *al.*, 2014 ; Tan et *al.*, 2018). A cet égard, nous sommes persuadés de chercher de nouvelles sources de molécules bioactives.

Les résultats obtenus dans cette recherche ont montré la présence de plusieurs composés comme les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins dans l'extrait hydro-méthanolique des différentes espèces étudiées, l'analyse par HPLC/UV a révélé l'existence en commun de la quercétine et de la catéchine. L'analyse de la composition chimique des huiles essentielles de *L. antineae* et de *T. algeriensis* par CPG/SM a affirmé la richesse de l'huile essentielle de *L. antineae* en sesquiterpènes hydrocarbonés comme le β -bisabolène tandis que l'huile essentielle de *T. algeriensis* était riche en sesquiterpènes oxygénés comme l'elemol.

L'activité antioxydante a été testée par plusieurs méthodes, piégeage des radicaux libres: DPPH et ABTS, tests de réduction de fer: FRAP, méthode à phenanthroline, méthode à Ferrozinin, test de réduction de cuivre: CUPRAC et test de blanchissement du β -carotène. Ainsi que le pouvoir à inhiber quelques enzymes (l'acétylcholinestérase, le butyrylcholinestérase, l' α -glucosidase et la tyrosinase) a été expérimenté. Une activité antioxydante et anti-enzymatique importante, voire même parfois plus efficace que les standards utilisés, a été notée avec la majorité des extraits, notamment, l'extrait hydro-méthanolique de *P. atlantica* qui a été particularisé par un pouvoir antioxydant et réducteur plus élevé que le reste des extraits et une inhibition remarquable de l'activité des enzymes, plus particulièrement l' α -glucosidase, d'où l'éventualité de son application comme alternative des médicaments chimiques pour traiter le diabète de type 2.

De même, *L. antineae* a présenté une activité antioxydante intéressante et un pouvoir très prometteur d'inhibition de la butyrylcholinestérase, par conséquent, la possibilité de son utilisation pour le traitement de la maladie d'Alzheimer.

T. algeriensis a été marqué également par une activité antioxydante et anti-enzymatique estimable.

M. alysson et *J. fruticans* sont apparues les espèces les moins performantes, cependant, un pouvoir entravant l'activité de la tyrosinase, appréciable et mieux que le control positif, a été décelé. En plus, *J. fruticans* s'est caractérisée par une valeur de SPF très remarquable, d'où la suggestion de l'incorporation de son extrait hydro-méthanolique dans le traitement de certains troubles dermatologiques et en cosmétologie dans la composition de crèmes solaires.

Ces effets peuvent être attribués aux diverses molécules que les différents extraits comportent. Ceci a été prouvé partiellement et statistiquement par les fortes corrélations rencontrées entre les taux de polyphénols, flavonoïdes et tanins et les résultats des différents tests.

La technique de diffusion sur l'agar a été procédée pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne de deux extraits (AcEth et But) de nos cinq plantes. Les deux extraits AcEth et But des différentes espèces ont fourni un potentiel antimicrobien modeste envers les microbes testés. *E. coli* était plus sensible devant E AcEth de *P. atlantica* et *M. alysson* et E but de *M. alysson* et *T. algeriensis*. En outre, E AcEth et E But de *P. atlantica* et *M. alysson* ont été plus efficient sur *P. aeruginosa* que les autres extraits. En plus E AcEth et E But de *P. atlantica* et *M. alysson* et *T. algeriensis* étaient plus actifs que les autres extraits vis à vis *S. aureus*. En fin, *C. albicans* était plus sensible envers E AcEth de *J. fruticans*, *P. atlantica* et *T. algeriensis* et E But de *J. fruticans* et *T. algeriensis*.

L'implication potentielle d'antioxydants et d'agents antimicrobiens naturels dans le remplacement de traitements conventionnels de plusieurs maladies, telles que les maladies liées à l'âge et certaines infections, pourrait être importante et devrait être élucidée lors d'essais cliniques à long terme.

Les résultats obtenus dans cette étude peuvent être approfondis par des études suivantes:

- Tester d'autres extraits de ces plantes et essayer de purifier et de déterminer les molécules responsables de leurs effets.
- Confirmer *in vivo*, les potentiels anti diabétiques et anti-Alzheimer trouvé *in vitro* dans cette étude.
- Une étude de la toxicité aigue et chronique des plantes étudiées est indispensable afin de déterminer leur sécurité en vue de leur exploitation dans le domaine pharmacologique et cosmétique.

Références Biobibliographiques

- **AAbd El-Mohsen M.M., Rabeh M.A., Abou-Setta L., El-Rashedy A.A. and Hussein A.A. (2014)** Marrubiin: a potent α -glucosidase inhibitor from *Marrubium alysson*. International Journal of Applied Research in Natural Products, 7 (1): 21-27.
- **Abdoul-Latif F., Edou P., Eba F., Mohamed N., Ali A., Djama S., Obame L. C., Ismael Bassolé and Dicko M. (2010)** Antimicrobial and antioxidant activities of essential oil and methanol extract of *Jasminum sambac* from Djibouti. African Journal of Plant Science, 4 (3):038-043.
- **Abdenbi A., Touati B., Bouazza M., Tail N. and Boutercha M. (2016)** Antibacterial activity and physicochemical characteristics of *Pistacia atlantica* extracts. Der Pharma Chemica, 8(12):162-168.
- **Ait-Ouazzou A.,Loran S., Bakkali M., Laglaoui A., Rota C.,Herrera A.,Pagan R. and Conchello P. (2011)** Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Thymus algeriensis*, *Eucalyptus globulus* and *Rosmarinus officinalis* from Morocco. Journal of the Science of Food and Agriculture, 91: 2643–265.
- **Alaa R., Abd-Alhaseeb M. M., Habib E. S., Ibrahim A. K. and Ahmed S. A. (2016)** Screening of *Marrubium alysson* L. extract for pharmacological activity. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 8(4):283-289.
- **Al-Jadidi H. S. K. and Hossain M. A. (2015)** Studies on total phenolics, total flavonoids and antimicrobial activity from the leaves crude extracts of neem traditionally used for the treatment of cough and nausea. Journal of Basic and Applied Sciences 4: 93-98.
- **Al-Matani S. K., Said Al-Wahaibi R. N. and Hossain M. A. (2015)** Total flavonoids content and antimicrobial activity of crude extract from leaves of *Ficus sycomorus* native to Sultanate of Oman. Karbala International Journal of Modern Science 1:166-171.
- **Amarti F., Satrani B., Ghanmi M., Farah A., Aafi A., Aarab L., El Ajjouri M. et Chaouch A. (2010)** Composition chimique

et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. du Maroc. Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement, 14(1): 141-148.

- **Amri B., Martino E., Vitulo F., Corana F., Bettaieb-Ben Kaâb L., Rui M., Rossi D., Mori M., Rossi S., and Collina S. (2017)** *Marrubium vulgare* L. Leave Extract: Phytochemical Composition, Antioxidant and Wound Healing Properties. *Molecules*, 22(11): 1-18.

- **Anbudhasan P., A. Surendraraj A., Karkuzhali S. and Sathishkumaran S. (2018)** Natural Antioxidants and its benefits. *International Journal of Food and Nutritional Sciences*, 3(6): 225-232.

- **Aniszewski T. (2007)** Alkaloids – secrets of life: Alkaloid chemistry, biological significance, applications and ecological role. First edition. Elsevier, 316 p.

- **Apak, R., Guclu, K., Ozyurek, 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*, 52:7970–7981.

- **Ardestani A. and Yazdanparast R. (2007)** Antioxidant and Free Radical Scavenging Potential of *Achillea santolina* Extracts. *Food Chemistry*, 10: 21-29.

- **Asgar M. A. (2013)** Anti-diabetic potential of phenolic compounds. *International Journal of Food Properties*, 16:91–103.

- **Avicenna, *The Canon*, Soroush Press, Tehran, Iran (2008)** Translated by: A. Shrafkandi.

- **Ba, K. (2010)** Étude comparative des composés phénoliques, du pouvoir antioxydant de différentes variétés de sorgho sénégalais et des enzymes amylolytiques de leur malt. *Base*, 14:1-14.

- **Bachiri L., Echchegadda G., Ibjibijon J. et Nassiri L. (2016)** Etude phytochimique et activité antibactérienne de deux espèces de Lavande autochtones Au

Maroc : *Lavandula stoechas* L. et *Lavandula dentata* L. European Scientific Journal ,12(30) :313-333.

- **Bachurin S. O. (2003)** Medicinal chemistry approaches for the treatment and prevention of Alzheimer's disease. Medicinal Research Reviews, 23 (1), 48-88.
- **Bagre I., Bahi C., Gnahou G. et Djaman A. J. (2007)** composition phytochimique et évaluation in vitro de l'activité antifongique des extraits des feuilles de *Morinda morindoides* (Baker) *Milne redhead* (Rubiaceae) sur *Aspergillus fumigatus* et *Candida albicans*. Journal of Pharma and Bio Sciences. 8(1): 15-23.
- **Bahorun T. (1997)** Substances Naturelles actives. La flore Mauricienne. Une source d'approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research council Mauritiias, 83-94.
- **Baker C., Thornsberry C. and Hawkinson R. W. (1983)** Inoculum standardization in antimicrobial susceptibility testing: evaluation of overnight agar cultures and the rapid inoculum standardization system. American Society for Microbiology, 17(3): 450-457.
- **Bakht J. , Naqash G. and Shafi M.(2014)** *In vitro* antibacterial and antifungal activity of different solvent extracted samples of *Alhagi maurorum*. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 27(6):1955-1961.
- **Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. and Idaomar M. (2008)** Biological effects of essential oils – A review. Food and Chemical Toxicology, 46(2):446-75.
- **Bamm J. et Douira A. (2002)** Les plantes medicinales dans la foret de l'achach (plateau central, maroc). Acta Botanica Malacitana, 27: 131-145.
- **Bammou M., Daoudi A., Slimani I., Najem M., El Houssine Bouiamrine E. H., Ibjibjen J. et Nassiri L. (2015)** Valorisation du lentisque «*Pistacia lentiscus* L.»: Étude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien. Journal of Applied Biosciences, 86:7966– 7975.
- **Barrière C., Centeno D., Lebert A., Leroy-Sétrin S., Berdagué J. L., Talon R. (2001)** Roles of superoxide dismutase and catalase of *Staphylococcus xylosus* in the inhibition of linoleic acid oxidation. FEMS Microbiology Letters, 201: 181-185.

- **Basli A., Chibane M., Madani K. et Oukil N. (2012)** d'une plante médicinale de la flore d'Algérie: *Origanum glandulosum* Desf. *Phytotherapie* 10(1):2-9.
- **Bhadra S., Dalai M. K., Chanda J. and Mukherjee P. K. (2015)** Evaluation of Bioactive Compounds as Acetylcholinesterase Inhibitors from Medicinal Plants. . *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 273-306.
- **Bahorun T. (1997)** Substances Naturelles actives. La flore Mauricienne. Une source d'approvisionnement potentielle. *Food and Agricultural Research council Mauritias*, 83-94.
- **Baskin S. et Salem H. (1997)** Oxidants, Antioxidants And Free Radicals. CRC Press, 450 p.
- **Beach T.G., Kuo Y.M., Spiegel K., Emmerling M.R., Sue L.I., Kokjohn K. and Roher A.E. (2000)** The cholinergic deficit coincides with Abeta deposition at the earliest histopathologic stages of Alzheimer disease. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 59(4): 308-13.
- **Békro Y. A., Mamyrbekova Békro J. A., Boua B. B., Trabi F. H. et Éhilé E. E. (2007)** Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (Caesalpinaceae). *Sciences et Nature*, 4(2) : 217 - 225.
- **Belhadjd S., Derridj A., Auda Y. , Gers C. et Gauquelint T. (2008)** Analyse de la variabilité morphologique chez huit populations spontanées de *Pistacia atlantica* en Algérie. *Presse scientifique du CNRC Canada*, 86, 520-532.
- **Belyagoubi-Benhammou N., Belyagoubi L., El Zerey-Belaskri A. and Atik-Bekkara F. (2014)** *In vitro* antioxidant properties of flavonoid fractions from *Pistacia atlantica* Desf. subsp. *atlantica* fruit using five techniques. *Journal of Materials and Environmental Science*, 6 (4): 1118-1125.
- **Belyagoubi, L., Belyagoubi-Benhammou, N., Atik-Bekkara, F., and Coustard, J.M. (2016)** Effects of extraction solvents on phenolic content and antioxidant properties of *Pistacia atlantica* Desf. fruits from Algeria. *International Food Research Journal*, 23(3): 948-953.

- **Benabdallah F. Z., Kouamé R. O., El Bentchikou M. Zellagui A. et Gherraf N. (2015)** Études ethnobotanique, phytochimique et valorisation de l'activité antimicrobienne des feuilles et de l'oléorésine du pistachier de l'atlas (*Pistacia atlantica* Desf.). *Phytothérapie*, 13 :1-8.
- **Benabderrahmane M., Benali M., Aoissat H., et Jordan Bueso M. J. (2009)** Activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Pistacia atlantica* Desf. de l'Algérie. *Phytotérapie*, 7:304-8.
- **Ben El Hadj Ali I., Guetat A. and Boussaid M. (2012)** Chemical and genetic variability of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. (Lamiaceae), a North African endemic species. *Industrial Crops and Products*, 40: 277– 284.
- **Ben El Hadj Ali I., Chaouachi M., Bahri R., Chaiebc I., Boussaïda M. and Harzallah-Skhiri F. (2015)** Chemical composition and antioxidant, antibacterial, allelopathic and insecticidal activities of essential oil of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. *Industrial Crops and Products* 77:631–639.
- **Benhammou N., Bekkara F. A. and Panovska T. K. (2008)** Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2 (2): 022-028.
- **Bendjabeur S., Benchabane O., Bensouici C., Hazzit M., Baaliouamer A. and Bitam A. (2018)** Antioxidant and anticholinesterase activity of essential oils and ethanol extracts of *Thymus algeriensis* and *Teucrium polium* from Algeria. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12:2278-2288.
- **Ben El Hadj Alia I., Chaouachi M., Bahri R. and Chaieb I., (2015)** Chemical composition and antioxidant, antibacterial, allelopathic and insecticidal activities of essential oil of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. *Industrial Crops and Products*, 77:631-639.
- **Bertrand D., Thompson J. D. et Cristini F. (1992)** Distylie chez *Jasminum fruticans* L. : hypothèse de la pollinisation optimale basée sur les variations de l'écologie interflorale. *Bulletin de la Société Botanique de France*, 5 : 223-234.

- **Bettaieb Rebey I., Bourgou S., Ben Slimen Debez I., Jabri Karoui I., Hamrouni Sellami I., Msaada K., Ferid Limam and Marzouk B. (2012)** Effects of Extraction Solvents and Provenances on Phenolic Contents and Antioxidant Activities of Cumin (*Cuminum cyminum* L.) Seeds. *Food Bioprocess Technology*, 5:2827–2836.
- **Blierfert C. et Perraud R. (2007)** Chimie de l'environnement: Air, eau, sols, déchets. Edition De Boeck Supérieur, 478 p.
- **Boligon A. A. and Athayde M. L. (2014)** Importance of HPLC in Analysis of Plants Extracts. *Austin Chromatography*, 1(3): 2.
- **Boorn K.L., Khor Y.Y., Sweetman E., Tan F., Heard T.A. and Hammer K.A. (2010)** Antimicrobial activity of honey from the stingless bee *Trigona carbonaria* determined by agar diffusion, agar dilution, broth microdilution and time-kill methodology. *Journal of Applied Microbiology*, 108:1534-1543.
- **Bothon, F., Debiton, E., Avlessi, F., Forestier, C., Teulade, J., and Sohounhloue, D. (2013)** *In vitro* biological effects of two antidiabetic medicinal plants used in Benin as folk medicine. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13(1):51-59.
- **Botineau M. (2010)** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Lavoisier, 1403 p.
- **Bougandoura N. et Bendimerad N. (2013)** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp.Nepeta* (L.) Briq. *Nature et Technologie* 09 : 14-19.
- **Bouloc P. (2006)** Le chanvre industriel: production et utilisations. France Agricole Editions, 431 p.
- **Boulou G. E. K., Attioua B., N'guessan A. C. et Coulibaly A. N'guessan J. D. et Djaman A. J. (2011)** Évaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne des extraits de *Terminalia glaucescens* planch. sur *Salmonella typhi* et *Salmonella typhimurium*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 80: 2772 - 790.
- **Boutamina N. E. (2014)** Les fondateurs de la Pharmacologie. BoD - Books on Demand, 204 p.

- **Boutaoui N., Zaiter L., Benayache F., Benayache S. Carradori S. Cesa S. Anna Maria Giusti A. M. C., Menghini L., Innosa D. and Locatelli M. (2018)** Qualitative and quantitative phytochemical analysis of different extracts from *Thymus algeriensis* aerial parts. *Molecules*, 23: 1-11.

- **Boutlelis Djahra A., Bordjiba O. et Benkherara S. (2012)** Activité antibactérienne des flavonoïdes d'une plante médicinale spontanée *Marrubium vulgare* L. de la région d'El Tarf (Nord-Est Algérien). *Revue des Sciences de la Technologie, Synthèse*, 24 : 29-37.

- **Bouzidi M. A., Dif M. M., Chihaoui G., Taïbi S. and Toumi-benali F. (2018)** First determination of polyphenols content, antioxidant activity and soil characterization of *Lavandula dentata* L. from Oran region. *PhytoChem and BioSub Journal*, 12(2): 117-124.

- **Bozorgi, M., Memariani Z., Mobli M., Surmaghi M. H. S., Shams-Ardekani M. R., and Rahimi R. (2013)** Five *Pistacia* species (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. khinjuk*, and *P. lentiscus*): A Review of Their Traditional Uses, Phytochemistry, and Pharmacology. *The Scientific World Journal*, 1-33.

- **Braak H. and Del Tredici K. (2012)** where, when, and in what form does sporadic Alzheimer disease begin? *Current Opinion in Neurology*, 25(6):708-14.

- **Briganti, S., Camera, E., and Picardo, M. (2003)** Chemical and instrumental approaches to treat hyperpigmentation. *Pigment Cell Research*, 16: 101-10.

- **Broadhurst, R. B., and Jones, W. T. (1978)** Analysis of Condensed Tannins Using Acidified Vanillin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 29: 788-794.

- **Brugere-Picoux J. et Rey M. (2010)** Les maladies infectieuses exotiques. Lavoisier, 247 p.

- **Bruneton J. (2009)** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e ed.). Edition Lavoisier, 1292 p.

- **Bucci D.J., Holland P.C. and Gallagher M. (1998)** Removal of cholinergic input to rat posterior parietal cortex disrupts incremental processing of conditioned stimuli. *Journal of Neuroscience*, 18: 8038-8046.

- **Buchanan B., Gruissem W. and Jones R. (2000)** biochemistry and molecular biology of plants. American Society of Plants Physiologists, 1250-1318.

- **Bursal E., Aras A. and Kılıç O. (2018)** Evaluation of antioxidant capacity of endemic plant *Marrubium astracanicum* subsp. *macrodon*: Identification of its phenolic contents by using HPLC-MS/MS. *Natural Product Research*, 29:1-5.

- **Bustany P. et Chaumet-Riffaud P. D. (1993)** Internat, nouveau programme Tome 17: Pharmacologie. Editions Beauchesne, 282 p.

- **Buzayan M. M. and El-Garbuli F.R. (2012)** Antibacterial activity of medicinal aqueous plant extracts against *Mycobacterium tuberculosis*. *Malaysian Journal of Microbiology*, 8(3): 203-206.

- **Castegna A., Aksenov M., Aksenova M., Thongboonkerd V., Klein J. B., Pierce W. M., Booze R. and Markesbery W. R., (2002)** Proteomic identification of oxidatively modified proteins in Alzheimer's disease brain. Part I: creatine kinase BB, glutamine synthase, and ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L-1. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(4): 562-571.

- **Causse C. (2005)** Les secrets de santé des antioxydants. Alpen Editions S.A.M, 95p.

- **Chahboun N. , Esmail A. , Abed H. , Barrahi M. , Amiyare R. , Berrabeh M. , Oudda H. , Ouhssine M. (2015)** Evaluation de l'activité bactériostatique d'huile essentielle de la *Lavandula Officinalis* vis-à-vis des souches d'origine clinique résistantes aux antibiotiques (Evaluation of the bacteriostatic activity of the essential oil of *Lavandula Officinalis* towards of the original strains resistant to antibiotics clinic). *Journal of Materials and Environmental Science* 6 (4): 1186-1191.

- **Chegrani Conan C. (2010)** La santé du cerveau est dans l'assiette .Editions Eyrolles, 191 p.

- **Chermat S. and Gharzouli R. (2013)** Ethnobotanical Study of Medicinal Flora in the North East of Algeria - An Empirical Knowledge in Djebel Zdimm (Setif). *Journal of Materials Science and Engineering* 5: 50-59.
- **Cheynier V. (2005)** Polyphenols in foods are more complex than often thought. *American Society of Clinical Nutrition*, 81(1); 2235-95.
- **Cheynier V., Sarni Manchado P. and Quideau S. (2012)** Recent advances in polyphenol research, vol. 3. Edition John Wiley and Sons, 364p.
- **Chouvy P. A. (2002)** Les territoires de l'opium: conflits et trafics du Triangle d'Or et du Croissant d'Or (Birmanie, Laos, Thaïlande et Afghanistan, Iran, Pakistan). Editions Olizane, 539 p.
- **Cirillo G. and Iemma F. (2012)** Antioxidant Polymers: Synthesis, Properties, and Applications. Edition John Wiley and Sons, 520 p.
- **Ciulei I. (1982)** Practical manuals on the industrial utilization of chemical and aromatic plants. Methodology for analysis of vegetable drugs. Bucharest: Edition Ministry of Chemical Industry: 67p.
- **Collet E. (2002)** Progrès en dermato-allergologie. Edition John Libbey Eurotext, 271 p.
- **Collin S. et Crouzet J. (2011)** polyphenols et procédés. Lavoisier, 333p.
- **Costa P. , Gonçalves S. , Valentao P. , Andrad P. B. and Romano A. (2013)** Accumulation of phenolic compounds in in vitro cultures and wild plants of *Lavandula viridis* L'Her and their antioxidant and anti-cholinesterase potential. *Food and Chemical Toxicology* 57: 69–74.
- **Costin G. E. and Hearing V. J. (2007)** Human skin pigmentation: melanocytes modulate skin color in response to stress. *The Faseb Journal*, 21: 976-994.
- **Cuvier G., Richard A., Drapiez P., A., J. (1835)** Cours complet d'histoire naturelle, médicale et pharmaceutique. Dumont Edition, 342p.

- **Danh L. T. , Han L. N. , Triet N. D. A. , Zhao J. , Mammucari R. and Foster N. (2013)** Comparison of chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of lavender (*Lavandula angustifolia* L.) essential oils extracted by supercritical CO₂, hexane and hydrodistillation. Food bioprocess Technology, 6:3481–3489.
- **Dapkevicius, A., Venskutonis, R., Van Beek, T. A., and Linszen, P. H. (1998)** Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. Journal of the Science of Food and Agriculture 77: 140-146.
- **Darby J. (1841)** A manual of botany. Published by Griffin B. F., 500 p.
- **Darshan S., Brinda V., Hamsa L. and Guruprasad R. (2017)** extraction of acetylcholine esterase inhibitors from *jasminum grandiflorum* for the treatment of alzheimer's disease. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 6(12): 587-596.
- **Decker E. A. and Welch B. (1990)** Role of ferritin as a lipid oxidationcatalyst in muscle food. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 38: 674-677.
- **Degryse A.C., Delepla I., Voinier M.A. (2008)** Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. Atelier santé et environnement, EHESP, 1-94.
- **Delgado T., Marinero P., Asensio-S.-Manzanera M. C., Asensio C., Herrero B., Pereira J. A. and Ramalhosa E. (2014)** Antioxidant activity of twenty wild Spanish *Thymus mastichina* L. populations and its relation with their chemical composition. LWT - Food Science and Technology, 57: 412-418.
- **De Meester F., Zibadi S. and Watson R. R. (2010)** Modern Dietary Fat Intakes in Disease Promotion. Springer, 500 p.
- **De-Paula V. J., Radanovic M., Diniz B. S. and Forlenza O. V. (2012)** Protein Aggregation and Fibrillogenesis in Cerebral and Systemic Amyloid Disease. Springer, 329-352.
- **DerMarderosian, A., and Beutler, J. A., (2010)** The Review of Natural Products. Wolters Kluwer Health, Missouri, Mo, USA, 6th edition.

- **Dewick P. M. (2002)** Medicinal Natural Products. A Biosynthetic Approach. Second Edition. Chichester – New York: John Wiley et Sons Ltd, 507p.

- **Dias T.R.; Bernardino R.L. , Meneses M.J. , Sousa, M. ,Sá R., Alves M.G., Silva B.M. and Oliveira P.F. (2016)** Emerging potential of natural products as an alternative strategy to pharmacological agents used against metabolic disorders. *Current Drug Metabolism*, 17(6): 582- 597.

- **Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P. and Vidal N. (2006)** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97: 654-660.

- **Dubey N. K., Ningrum D. N. A., Dubey R., Deng Y. H., Li Y. C., Wang P. D., Wang J. R., Syed-Abdul S. and Deng W.P. (2018)** Correlation between Diabetes Mellitus and Knee Osteoarthritis: A Dry-To-Wet Lab Approach. *International Journal of Molecular Science*, 3, 19(10): 1-13.

- **Dunnett S.B., Everitt B.J. and Robbins T.W. (1991)** The basal forebraincortical cholinergic system: interpreting the functional consequences of excitotoxic lesions. *Trends Neurosciences*, 14(11):494-501.

- **Dutra E. A, Oliveira D. A. G. C., Kedor-Hackmann E. R. M. and Santoro M. I. R. M. (2004)** Determination of sun protection factor (SPF) of sunscreens by ultraviolet spectrophotometry. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 40(3): 381-385.

- **Edeas M. (2005)** Les secrets de santé du thé. Alpen editions, 95 p.

- **Edreva A., Velikova V., Tsonev T., Dagnon S., Gürel A., Aktaş L. and Gesheva E. (2008)** Stress-protective role of secondary metabolites: diversity of functions and mechanisms. Stress protection by secondary metabolites. *General and Applied Plant Physiology*, 34:67-78.

- **Edziri H. , Ammar S. , Groh P. , Mahdjoub M. A. , Mastouri M. , Gutmann L. , Mighri Z. and Mahdjoub A. (2007)** Antimicrobial and cytotoxic activity of *Marrubium alysson* and *Retama raetam* grown in Tunisia. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10(10): 1759-1762.

- **Edziri H., Mastouri M., Mahjoub M. A., Ammar S., Mighri Z., Gutmann L. and Aouni M. (2011)** Antiviral activity of leaves extracts of *Marrubium alysson* L. Journal of Medicinal Plants Research, 5(3): 360-363.

- **Eghbali-Feriz S., Taleghani A., Al-Najjar H., Emami S. A., Rahimi H., Asili J., Hasanzadeh S., and Tayarani-Najaran Z. (2018)** Anti-melanogenesis and anti-tyrosinase properties of *Pistacia atlantica* subsp. *mutica* extracts on B16F10 murine melanoma cells. Research in Pharmaceutical Sciences, 13(6): 533-545.

- **El Hamdaoui A., Msanda F., Boubaker H., Leach D., Bombarda I., Vanloot P., El Aouad N., Abbad A., Boudyach E.H., Achemchem F., Elmoslih A., Ait Ben Aoumar A. and El Mousadik A. (2018)** Essential oil composition, antioxidant and antibacterial activities of wild and cultivated *Lavandula mairei* Humbert. Biochemical Systematics and Ecology, Elsevier, 76:1- 7.

- **El Ouariachi1 E. M. , Hamdani I. , Bouyanzer A. , Hammouti B. , Majidi L. , Costa J. , Paolini J. and Chetouani A. (2014)** Chemical composition and antioxidant activity of essential oils of *Thymus broussonetii* Boiss. and *Thymus algeriensis* Boiss. from Morocco. Asian Pacific Journal of Tropical Disease, 4(4): 281-286.

- **Ellman G. L., Courtney K. D., Andres V. and Featherston R. M. (1961)** A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochemical Pharmacology, 7: 88-95.

- **Erdogan Orhan I., Senol F.S., Aslan Erdem S., Tatli I. I., Kartal M. and Alp S. (2015)** Tyrosinase and Cholinesterase Inhibitory Potential and Flavonoid Characterization of *Viola odorata* L. (Sweet Violet). Phytotherapy Research, 29(9):1304-1310.

- **Evans J.L., Goldfine I.D., Maddux B.A. and Grodsky G.M. (2002)** Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes. Endocrine Reviews, 23(5): 599-622.

- **Falleh H. , Ksouri R. , Chaieb K. , Karray Bouraoui N. , Trabelsi N. , Boulaaba M. and Abdely C. (2008)** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes rendus Biologies* ,331(5):372-9.

- **Favier A. (2006)** Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 64(6): 390-396.

- **Ferreira I. C.F.R., Baptista P., Vilas-Boas M. and Barros L. (2007)** Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity. *Food Chemistry*, 100: 1511–1516.

- **Ferreira-Vieira T. H., Guimaraes I. M., Silva F. R. and Ribeiro F. M. (2016)** Alzheimer's Disease: Targeting the Cholinergic System. *Current Neuropharmacology*, 14: 1-15.

- **Ferreres F., Grosso C. Gil-Izquierdo A., Valentão P. and Andrade P. B. (2014)** Assessing *Jasminum grandiflorum* L. authenticity by HPLC-DAD-ESI/MSⁿ and effects on physiological enzymes and oxidative species. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 88: 157–161.

- **Festy D. et Pacchioni I. (2014)** Guide de poche d'aromathérapie. Leduc.s Éditions, 160 p.

- **Garcia Rowe J., Garcia Gimenez M. D. and Saenz Rodriguez M. D. (1999)** Some lichen products have antimicrobial activity. *Verlag der Zeitschrift für Naturforschung*, 54: 605-609.

- **Garrido N., Meseguer M., Simon C., Pellicer A. and Remohi J. (2004)** Pro-oxidative and anti-oxidative imbalance in human semen and its relation with male fertility. *Asian Journal of Andrology*, 6(1):59-65.

- **Gast M. (2003)** Jasmin. *Encyclopédie berbère*, 23 : 3852-3854.

- **Gazengel J. M. et Orecchion A. M. (2013)** Le préparateur en pharmacie - Guide théorique et pratique (2e édition). Lavoisier, 1761 p.

- **Ghalem B. R. and Mohamed B. (2009)** Essential oil from gum of *Pistacia atlantica* Desf. : Screening of antimicrobial activity. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 3(3): 087-091.

- **Ghazghazi H., Aouadhi C., Maaroufi A. et Hasnaoui B. (2013)** Comparaison des contenus en polyphénols et de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de quatre plantes collectées du nord de Tunisie. *Microbiologie et Hygiène Alimentaire*, 25, (73): 37-41.
- **Ghedadba N., Hambaba L., Ayachi A., Aberkane M.C., Bousselfela H. et Oued-Mokhtar S. M. (2015)** Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé. *Phytothérapie*: 0944-4.
- **Giacco F. and Brownlee M. (2010)** Oxidative stress and diabetic complications. *Circulation Research*, 107(9): 1058-1070.
- **Giweli A. A., Džamić A. M. , Soković M. D. , Ristić M. S. and Marin P. D. (2012)** Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of *Thymus algeriensis* wild-growing in Libya. *Central European Journal of Biology*, 8(5): 504-511.
- **Goatez P. et Guédira K. (2012)** *Phytothérapie anti-infectieuse*. Springer Science and Business Media, 394 p.
- **Greff M. (2012)** *Post'U FMC-HGE*. Springer Science and Business, 312 p.
- **Grieve M. (1971)** *A Modern Herbal: The Medicinal, Culinary, Cosmetic and Economic Properties, Cultivation and Folk-lore of Herbs, Grasses, Fungi, Shrubs, & Trees with All Their Modern Scientific Uses, Volume 2*. Courier Corporation, 888 p.
- **Grojean N. (2010)** *Les huiles essentielles*. Edition Eyrolles, 192p.
- **Gross A. L., Jones R. N., Habtemariam D. A., Fong T. G., Tommet D., Quach L., Schmitt E., Yap L. and Inouye S. K. (2012)** Delirium and Long-term Cognitive Trajectory Among Persons With Dementia. *Archive of Internal Medicine*, 172(17):1324-31.

- **Gulçin I., Gungor I. S., Beydemir S., Elmastas M. and Kufrevioglu O. I. (2004)** Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb) buds and lavender (*Lavandula stoechas* L.). *Food Chemistry* 87: 393–400.
- **Guesmi F., Ben Farhat M. , Mejri M. and Landoulsi A. (2014)** *In-vitro* assessment of antioxidant and antimicrobial activities of methanol extracts and essential oil of *Thymus hirtus* sp. algeriensis. *Lipids in Health and Disease*, 13:114.
- **Haque M. A., Abdullah C. S., Hassa M. M., Parvin, M.N., Rafique M. B. and Mostofa A.G.M. (2012)** Evaluation of the Antioxidant and Anti- Cholineesterase activities of the Stem, Barks and Leaves of the Plant *Vernonia Cinerea* (Family: Asteraceae). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2 (05): 174-176.
- **Hamdan I. and Afifi F. U. (2004)** Studies on the in vitro and in vivo hypoglycemic activities of some medicinal plants used in treatment of diabetes in Jordanian traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 93(1): 117–121.
- **Hanamanthagouda M. S., Kakkalameli S. B., Naik P. M., Nagella P., Seetharamareddy H. R. and Murthy H. N. (2010)** Essential oils of *Lavandula bipinnata* and their antimicrobial activities. *Food Chemistry*, 118: 836– 839.
- **Hanhineva K., Törrönen R., Bondia-Pon, I., Pekkinen J., Kolehmainen, M., Mykkänen H., and Poutanen K. (2010)** Impact of dietary polyphenols on carbohydrate metabolism. *International Journal of Molecular Sciences*, 11, 1365–1402.
- **Hardman R. (1987)** Recent Developments in our Knowledge of Steroids. *Planta Medica*, 53: 233.
- **Hartmann T. (2007)** From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism, Review. *Phytochemistry*, 68: 2831–2846.
- **Hatamnia A. A., Abbaspour N. and Darvishzadeh R. (2014)** Antioxidant activity and phenolic profile of different parts of Bene (*Pistacia atlantica* subsp. *kurdica*) fruits. *Food Chemistry*, 145: 306-311.

- **Hauthal W. H. (2001)** Advances with supercritical fluids. *Chemosphere*, 43: 123-135.
- **Hemma, R., Belhadj, S., Ouahchia, C. and Saidi, F. (2018)** Antioxydant activity of *Pistacia lentiscus* methanolic extracts. *Revue Agrobiologia*, 8(1): 845-852.
- **Hesse, M. (2002)** Alkaloids: Nature's Curse or Blessing? Wiley-VCH, Weinheim, 413p.
- **Hoefler F. J. Ch. (1860)** Dictionnaire de botanique pratique. Firmin Didot Freres, Fils et Cie, 726 p.
- **Hogan D. and Kolter R. (2002)** Why are bacteria referactory to antimicrobials. *Current Opinion in Microbiology*, 5: 272–4.
- **Honjo K., Black S. E. and Verhoeff N. P. (2012)** Alzheimer disease, cerebrovascular disease, and the β -amyloid cascade. *Canadian Journal of Neurological Sciences*, 39(6):712-28.
- **Hopkins W. G. (2003)** Physiologie végétale. Edition De Boeck Supérieur, 532 p.
- **Hosseini F., Adlgostar A. and Sharifnia F. (2013)** Antibacterial activity of *Pistacia atlantica* extracts on *Streptococcus mutans* biofilm. *International Research Journal of Biological Sciences*, 2(2), 1-7.
- **Hostettman K and Marston A. (1995)** Chemistry and Pharmacology of Natural Products: Saponins, p. 1. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 548p.
- **Hostettman K. and Marston A. (2005)** Saponins. Cambridge University Press, 564 p.

- **Huet O. et Duranteau J. (2008)** Dysfonction endothéliale: rôle des radicaux libres
Endothelial dysfunction: Involvement of reactive oxygen species. *Réanimation*, 17, 387-392.
- **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: 584–589.
- **Keller J. N., Schmitt F. A., Scheff S. W., Ding Q., Chen Q., Butterfield D. A. and
Markesbery W. R. (2005)** Evidence of increased oxidative damage in subjects with mild
cognitive impairment. *Neurology*, 64: 1152-1156.
- **Khled khoudja N., Boulekbache-Makhlouf L. and Madani K. (2014)** Antioxidant
capacity of crude extracts and their solvent fractions of selected Algerian Lamiaceae. *Industrial
Crops and Products* 52: 177– 182.
- **Kindl M., Biljana Blazekovic, Bucar F., and Vladimir-Knezevic S. (2015)**
Antioxidant and Anticholinesterase Potential of Six *Thymus* Species. *Evidence-Based
Complementary and Alternative Medicine*, 1-10.
- **Koczurkiewicz P, Czyż J, Podolak I, Wójcik K, Galanty A, Janeczko Z and
Michalik M. (2015)** *Acta Biochimica Polonica* 62(3): 383-93.
- **Koga S., Nakano M. and Tero-Kubota S. (1992)** Generation of superoxide during the
enzymatic action of tyrosinase. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 292: 570-575.
- **Kozan E., K'upeli E. and Yesilada E. (2006)** Evaluation of some plants used in
Turkish folk medicine against parasitic infections for their in vivo anthelmintic activity. *Journal
of Ethnopharmacology*, 108:211-216.
- **Kozyra M., Biernasiuk A., Antonik R., Malm A. and Zgorzka G. (2018)** The
phytochemical and antimicrobial examination of phenolic acids contained in extracts from four
Marrubium species. *Acta Poloniae Pharmaceutica ñ Drug Research*, 75(4): 937-950.

- **Labed-Zouad I. , Ferhat M. , Öztürk M. , Abaza I. , Nadeem S. , Kabouche A. and Kabouche Z. (2017)** Essential Oils Composition, Anticholinesterase and Antioxidant Activities of *Pistacia atlantica* Desf. Records of Natural Products 11(4): 411-415.

- **Laib I. (2011)** Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis* : application aux moisissures des légumes secs. Nature et Technologie, 7: 44-52.

- **Lane R. M., Potkin S. G. and Enz A. (2006)** Targeting acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in dementia. International Journal of Neuropsychopharmacology ,9(1):101-124.

- **Larbier M. et Leclercq B. (1992)** Nutrition et alimentation des volailles. INRA Editions, Versailles (France), 352 p.

- **Lee Y. L. and Ding P. (2016)** Production of essential oil in plants: Ontogeny, secretory structures and seasonal variations. Pertanika Journal of Scholarly Research Reviews, 2(1): 1-10.

- **Lenzen S., Drinkgern J. and Tiedge M. (1996)** Low antioxidant enzyme gene expression in pancreatic islets compared with various other mouse tissues. Free Radical Biology and Medicine, 20(3): 463-466.

- **Leray C. (2010)** Les lipides dans le monde vivant. Edition Lavoisier, 308 p.

- **Lei T. C., Virador V. M., Vieira W. D. and Hearing V. J. (2002)** A melanocyte keratinocyte coculture model to assess regulators of pigmentation *in vitro*. Analytical Biochemistry, 305:260-268.

- **Lim T. K. (2014)** Edible Medicinal and Non Medicinal Plants, Volume 8: Flowers. Springer Science and Business, 1038 p.

- **Lis-Balchin M. (2003)** Lavender: The Genus *Lavandula* Taylor and Francis e- library CRC Press, 296 p.

- **Littlewood A. B. (2013)** Gas Chromatography: Principles, Techniques, and Applications. Elsevier, second edition, 560 p.

- **Lovestone S. and Howard R. (1995)** Alzheimer's disease: a treatment in sight? Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry, 59: 566–7.
- **Macheix J., Leuriet A. et Jay Allemand C. (2005)** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires. Press polytechniques et universitaires romandes, 192p.
- **Ichai C., Quintar, H. et Orban J.-C. (2011)** Désordres métaboliques et réanimation : de la physiopathologie au traitement, Edition Springer, 427p.
- **Ichiishi E., Ohtake T., Satoh K., and Kohgo Y. (2016)** Oxidative Stress and Diseases: Current Topics and Perspective with Clinical Application in Japan. Journal of Aging Science, 4(3): 1-9.
- **Inoguchi T., Li P., Umeda F., Yu H.Y., Kakimoto M., Imamura M., Aoki T., Etoh T., Hashimoto T. and Naruse M. (2000)** High glucose level and free fatty acid stimulate reactive oxygen species production through protein kinase C dependent activation of NAD (P) H oxidase in cultured vascular cells. Diabetes, 49(11): 1939-1945.
- **Ito S. and Wakamatsu K. (2008)** Chemistry of mixed melanogenesis--pivotal roles of dopaquinone. Photochemistry and Photobiology, 84: 582-592.
- **Jadot G. (1994)** Antioxydants et vieillissement. Edition John Libbey Eurotext, 300p.
- **Jakubke H.D., Jeschkeit H. and Eagleson M. (1994)** Concise Encyklopedia Chemistry. Berlin – New York: Walter de Gruyter, 1201.
- **Jarrige R. (1995)** Nutrition des ruminants domestiques: Ingestion et digestion Editions Quae, 921 pages.
- **Jouki, M., and Khazaei, N. (2010)** Compare of extraction of phenolic compounds from *Pistacia atlantica* in different solvents. Advances in Biomedical Research, 361-365.
- **Karamanoli K., Bouligaraki P., Constantinidou H. I. A. and S.E. Lindow S. E. (2011)** Polyphenolic compounds on leaves limit iron availability and affect growth of epiphytic bacteria. Annals of Applied Biology, 159: 99-108.

- **Malekzadeh, P., Hatamnia, A.A., and Nourollahi K. (2015)** Total phenolic content and antioxidant activity of fruit and leaf of Bene (*Pistacia atlantica* subsp. *Kurdica*) in Ilam province. *Iranian Journal of Plant Physiology*, 6(1):1543-1549.
- **Manach C., Scalbert A., Morand C., remesy C. and Jimenez L. (2004)** polyphenol: food sources and bioavailability. *American Society of Clinical Nutrition*, 79:727-47.
- **Mann J. (1987)** Secondary metabolism. Second edition, Clarendon press, Oxford, 374 p.
- **Mansur J. S.; Breder M. N. R., Mansur M. C. A. and Azulay R. D. (1986)** Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 61: 121-124.
- **Marco J. G. (1968)** A rapid method for evaluation of antioxidants. *Journal of the American Oil's. Chemist's Society*, 45: 594-598.
- **Martin C., Riou B. et Vallet B. (2006)** *Physiologie humaine appliquée*. Wolters Kluwer Farance, 1098 p.
- **Massoud F. and Gauthier S. (2010)** Update on the pharmacological treatment of Alzheimer's disease. *Current Neuropharmacology*, 8(1): 69-80.
- **Mastore M., Kohler L. and Nappi A. J. (2005)** Production and utilization of hydrogen peroxide associated with melanogenesis and tyrosinase-mediated oxidations of DOPA and dopamine. *The Febs Journal*, 272: 2407-2415.
- **Mattson M. P. (2008)** Glutamate and neurotrophic factors in neuronal plasticity and disease. *Annals of the New York Academy Sciences*, 1144:97-112.
- **Mathew, M. and Subramanian, S. (2014)** *In vitro* evaluation of anti-Alzheimer effect of dry ginger (*Zingiber officinal Roscoe*) extract. *Indian Journal of experimental Biology*, 56: 606-6012.

- **McFarland J. (1907)** The nephelometer: an instrument for estimating the numbers of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. *Journal of the American Medical Association*, 49: 1176-1178.

- **Mecocci P., MacGarvey U., Beal M. F. (1994)** Oxidative damage to mitochondrial DNA is increased in Alzheimer's disease. *Annals of Neurology*, 36: 747-751.

- **Megdiche Ksouri W., Saada M. , Soumaya B. , Snoussi M. , Zaouali Y. and Ksouri R. (2015)** Potential use of wild *Thymus algeriensis* and *Thymus capitatus* as source of antioxidant and antimicrobial agents. *Journal of New Sciences*, 23 (4): 1046-1056.

- **Mehalaine S. , Belfadel O., Menasria T. and Messaili A. (2017)** Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of three medicinal plants from Algerian Semi-Arid climatic zone. *Phytothérapie*, 15: 1-9.

- **Mesplede J. (2004)** Chimie MP-PT. Edition Bréal, 223p.

- **Messiaen J., Ne rinckx F. and Van Cutsem P. (1995)** Callose synthesis in spirostanol treated carrot cells is not triggered by cytosolic calcium, cytosolic pH or membrane potential changes. *Plant Cell Physiology*, 36:1213-1220.

- **Michel-Briand Y. (2012)** Aspects de la résistance bactérienne aux antibiotiques. Editions L'Harmattan, 320 p.

- **Mila I., Scalbert A. and Expert D. (1996).** Iron withholding by plant polyphenols and resistance to pathogens and rots. *Phytochemistry*, 42: 1551-1555.

- **Milpied-Homsy B. (2009)** Progrès en dermato-allergologie. Edition John Libbey Eurotext, 391 p.

- **Miyazawa, M., Watanabe, H., and Kameoka, H. (1997)** Inhibition of acetylcholinesterase activity by monoterpenoids with a p-methane skeleton. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 45: 677-679.

- **Moghtader M. (2010)** Comparative survey on the essential oil composition from the leaves and fruits of *Pistacia mutica* Fischer Kerman Province. Meadle East Journal of Scientific Research, 5, (4) :291-297.
- **Mohammedi Z. et Atik F. (2012)** Pouvoir antifongique et antioxydant de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L. Nature et Technologie, 06: 34-39.
- **Monjause A. (1980)** Connaissance du bétoum *Pistacia atlantica* Desf. Biologie et foret. Revue forestière française, 4, 357-363.
- **Morales R. (1997)** Synopsis of the genus *Thymus* L. in the Mediterranean area. Lagascalia, 19: 249-262.
- **Moreira M.R., Ponce A.G., de Valle C.E. and Roura S.I. (2005)** Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie-LWT, 38: 565-570.
- **Moro Buronzo A. (2008)** Grand guide des huiles essentielles. Edit. Hachette Pratique, 244 p.
- **Moore T. (1887)** The Treasury of Botany. Printed by spotiswoode and co., 1258p.
- **Mukherjee P. K., Biswas R., Sharma A., Banerjee S., Biswas S. and Katiyar C. K. (2018)** Validation of medicinal herbs for anti-tyrosinase potential. Journal of Herbal Medicine, 14:1-16.
- **Nachmansohn D. and Machado A.L. (1943)** The formation of acetylcholine. A new enzyme choline acetylase. Journal of Neurophysiology, 6(5): 397-403.
- **Naghiloo S., Dadpour M. R., Gohari G., and Endress P. K. (2013)** Comparative study of inflorescence development in oleaceae. American. Journal of botany 100(4): 647-663.
- **Namjoyan F., Jahangiri A., Azemi M. E., Arkian B. and Mousavi H. (2015)** Inhibitory Effects of *Physalis alkekengi* L., *Alcea rosea* L., *Bunium persicum* B. Fedtsch. and *Marrubium vulgare* L. on Mushroom Tyrosinase. Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutiacl Products, 10(1): e23356.

- **Nappi A. J. and Vass E. (1996)** Hydrogen peroxide generation associated with the oxidations of the eumelanin precursors 5,6-dihydroxyindole and 5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid. *Melanoma Research*, 6: 341-349.

- **N'guessan K., Kadja B., Zirihi G. N., Traoré D. et Laurent Aké-assi L. (2009)** Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences et Nature*, 6 (1) : 1 - 15.

- **Nikolic M., clija J. G., Ferreira I. C.F.R., Calhelha R. C. , Fernandes A., Markovi T., Markovi D., Giweli A. and Sokovi M. (2014)** Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antitumoractivity of *Thymus serpyllum* L., *Thymus algeriensis* Boiss. and Reut and *Thymus vulgaris* L. essential oils. *Industrial Crops and Products*, 52: 183-190.

- **Nunomura A., Perry G., Pappolla M. A., Wade R., Hirai K., Chiba S. and Smith M. A. (1999)** RNA oxidation is a prominent feature of vulnerable neurons in Alzheimer's disease. *Journal of Neuroscience*, 19: 1959-1964.

- **Nurzyńska-Wierdak R. and Zawiślak G. (2016)** Chemical composition and antioxidant activity of lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) aboveground parts. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 15(5): 225-241.

- **Obeidat M., Shatnaw M., Al-Alawi M., Al-Zu'bi E., Al-Dmoor H., El-Qudah M., El-Qudah J. and Otri I. (2012)** Antimicrobial activity of crude extracts of some plants leaves. *Research Journal of Microbiology*, 7(1): 59-67.

- **Orhan E., Belhattab R., Senol F.S., Gülpinar A.R., Hosbas S. and Kartal M. (2010)** Profiling of cholinesterase inhibitory and antioxidant activities of *Artemisia absinthium*, *A. herba-alba*, *A. fragrans*, *Marrubium vulgare*, *M. astranicum*, *Origanum vulgare* subsp. *glandulosum* and essential oil analysis of two *Artemisia species*. *Industrial Crops and Products* 32: 566-571.

- **Oudin A., Courtois M., Rideau M. and Clastre M. (2007)** The iridoid pathway in *Catharanthus roseus* alkaloid biosynthesis. *Phytochemistry Reviews*, 6(2-3): 259–276.
- **Oyaizu M. (1986)** Studies on products of browning reaction: antioxidative activity of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, 44:307–315.
- **Ozenda P. (2004)** Flore du Sahara, 3rd Edition CNRS, Paris, 622 p.
- **Özyürek M., Güçlü K. and Apak R. (2011)** main and modified CUPRAC methods of antioxidant measurement. *AGRIS*, 30(4): 652-664.
- **Packer L. (2001)** Flavonoids and other polyphenols: methods in enzymology, vol. 335. Edition Academic Press, 448p.
- **Pham-Huy L.A, He H. and Pham-Huy C. (2008)** Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science*, 4:89-96.
- **Palanisamy, U.D., Ling, L.T., Manaharan, T., and Appleton, D. (2011)** Rapid isolation of geraniin from *Nephelium lappaceum* rind waste and its anti-hyperglycemic activity. *Food Chemistry*, 127: 21–27.
- **Pala-Paul J., Brophy J. J., Goldsack R. J. and Fontaniella B. (2003)** Analysis of the volatile components of *Lavandula canariensis* (L.) Mill., a Canary Islands endemic species, growing in Australia. *Biochemical Systematics and Ecology*, 32: 55–62.
- **Paola D., Domenicotti C., Nitti M., Vitali A., Borghi R., Cottalasso D., Zaccheo D., Odetti P., Strocchi P., Marinari U. M., Tabaton M. and Pronzato M. A. (2000)** Oxidative stress induces increase in intracellular amyloid beta-protein production and selective activation of betaI and betaII PKCs in NT2 cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 268: 642-646.
- **Papazian L. et Rosh A. (2008)** Le syndrome de détresse respiratoire aiguë. Springer, 262 p.

- **Patra A. K. (2012)** Dietary Phytochemicals and Microbes. Springer Science and Business Media, 400 p.
- **Pebret F. (2003)** Maladies infectieuses: toutes les pathologies des programmes officiels des études médicales ou paramédicales. Editions Heures De France, 592 p.
- **Pelletier E., Campbell P. G. C. et Denizeau F. (2004)** Écotoxicologie Moléculaire: Principes Fondamentaux et Perspectives de Développement. PUQ, 502 p.
- **Peres P. S., Terra V.A., Guarnier F. A., Cecchi R. and Cecchini A. L. (2011)** Photoaging and chronological aging profile: Understanding oxidation of the skin. Journal of Photochemistry and Photobiology B, 103(2):93-97.
- **Petit, L., and Pierard G.E. (2003)** Skin-lightening products revisited. International Journal of Cosmetic Science 25: 169-181.
- **Piquet M., A. et Hébuterne X. (2007)** Nutrition en pathologie digestive. Wolters Kluwer France, 253 p.
- **Pohanka M. (2013)** Role of oxidative stress in infectious diseases. Folia Microbiol, 58(6): 503-513.
- **Ponce A.G., Fritz R., del Valle C.E. and Roura S.I. (2003)** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie, 36: 679-684.
- **Popovici C., Saykova L. et Tylkowski B. (2009)** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Génie Industriel, 4: 25-39.
- **Potter L.T. (1970)** Synthesis, storage and release of [14C] acetylcholine in isolated rat diaphragm muscles. The Journal of Physiology, 206 (1): 145-166.
- **Pratt J. D., Keefover-Ring K., Liu L. Y. and Mooney K. A. (2014)** Genetically based latitudinal variation in *Artemisia californica* secondary chemistry. Oikos ,123: 953- 963.
- **Prota (2008)** Les plantes médicinales. Backhuys publishers, 869p.

- **Quezel P. et Santa S. (1963)** Nouvelle flore de l'Algérie. Edition du Centre National de la Recherche Scientifique, 1171 p.
- **Rama G. and Ampati S. (2013)** Evaluation of flowwers of *Jasminum officinale* for antibacterial activity. Journal of Advanced Pharmaceutical Sciences, 3(1): 428-431.
- **Rana A. Q. (2013)** Natural Therapies for Parkinson's disease. Friesen Press, 216 p.
- **Rao G. H. R. (2019)** Hyperglycaemia, Dyslipidaemia and Diabetes Mellitus. Diabetes and Obesity International Journal, 4(2): 1-6.
- **Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., and Rice-Evans I C. (1998)** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology and Medicine, 26 (9): 1231-1237.
- **Recommandation de la Commission Européenne (2006)** Relative aux produits de protection solaire et aux allégations des fabricants quant à leur efficacité. Journal officiel de l'Union Européenne, 26(9): 39-43.
- **Revelt T. J., Baker G. B., Jhamandas J. and Kar S. (2013)** Glutamate system, amyloid β peptides and tau protein: functional interrelationships and relevance to Alzheimer disease pathology. Journal of Psychiatry Neuroscience, 38(1):6-23.
- **Reyes-Munguía A., Carrillo-Inungaray M. L., Carranza-Álvarez C., Pimentel-González D. J. and Alvarado-Sánchez B. (2016)** Antioxidant activity, antimicrobial and effects in the immune system of plants and fruits extracts. Frontiers in Life Science, 9 (2): 90-98.
- **Rezaie M., Farhoosh R., Sharif A., Asili J. and Iranshahi M. (2015)** Chemical composition, antioxidant and antibacterial properties of Bene (*Pistacia atlantica* subsp. *mutica*) hull essential oil. Journal of Food Science and Technology, 52(10):6784-6790.
- **Rhouma A., Ben Daoud H., Ghanmi S., ben Salah H., Romdhane M. and Demak M. (2009)** Antimicrobial activities of leaf extracts of *Pistacia* and *schinus* species against some plant pathogenic fungi and bacteria. Journal of Plant Pathology, 91 (2): 339-345.

- **Rice-Evans C.A., Miller N.J., Bolwell P.G., Bramley P.M. and Pridham J.B., (1995)** The relative antioxidant activities of plant derived polyphenolic flavoids. *Free Radical Research*, 22, 375-383.

- **Rigano D., Arnold N. A., Bruno M., Formisano C., Grassia A., Piacente S., Piozzi F. and Senatore F. (2006)** Phenolic compounds of *Marrubium globosum* ssp. *libanoticum* from Lebanon. *Biochemical Systematics and Ecology* 34: 256-258.

- **Rimjhim S., Kumari N. and Jainendra K. (2014)** Preliminary Phytochemical Screening of Methanolic Extract of *Clerodendron infortunatum*. *Journal of Applied Chemistry*, 7(1): 10-13.

- **Rocchi A., Pellegrinio S., Siliano G. and Murri L. (2003)** Causative and suscepibility genes for Alzheimer's disease. *Brain Research Bulletin*, 61: 1-24.

- **Rodrigues F. F. G. , Oliveira L. G. S. , Saraiva M. E. , Almeida S. C. X. , Chabral M. E. S. , Campos A. R. and Costa J. G. M (2012)** Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of essential oil from *Cordia verbenacea* DC leaves. *Pharmacognosy*, 4(3): 161-165.

- **Rombi M. (2005)** Le syndrome XXL. Alpen Editions S.A.M., 110 p.

- **Roux D. et Catier O. (2007)** Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. Groupe Liaisons, 141 p.

- **Sabharwal S., Sudan S. and Ranjan V. (2013)** *Jasminum sambac* linn (motia). *International Journal of Pharmaceutical Research and Bio-Science*. 2(5):108-130.

- **Sahu N. P. and Achari B. (2001)** Advances in Structural Determination of Saponins and Terpenoid Glycosides. *Current Organic Chemistry*, 5: 315.

- **Saini P. and Verma P.K. (2017)** Evaluation of the Wound Healing Properties of *Jasminum Mesnyi* H in Diabetic Rats. *Annals of Pharmacology and Pharmaceutics*, 2(18): 1096-1098.

- **Salhi A., Bouyanzer A., El Mounsi I., Bendaha H., Hamdani I., El Ouariachi E., Chetouani A., Chahboun N., Hammouti B., Desjobert J. M. and Costa J. (2016)** Chemical composition, antioxidant and anticorrosive activities of *Thymus Algeriensis*. J. Materials and Environmental Science, 7 (11) 3949-3960.
- **Salleh, W. M. N. H. W., Ahmad, F., and Yen, K. H. (2014)** Antioxidant and Anti-tyrosinase Activities from *Piper officinarum* C.DC (Piperaceae). Journal of Applied Pharmaceutical Science, 4 (05): 087-091.
- **Sánchez-Moreno C., Larrauri J. A. and Saura-Calixto F. (1998)** A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. Journal of the Science of Food and Agriculture, 76: 270–276.
- **Sander C. S., Chang H., Hamm F., Elsner P. and Thiele J. J. (2004)** Role of oxidative stress and the antioxidant network in cutaneous carcinogenesis. International Journal of Dermatology, 43: 326-335.
- **Sarter M. and Bruno J.P. (1997)** Cognitive functions of cortical acetylcholine: toward a unifying hypothesis. Brain Res. Brain Research Reviews, 23(1-2):28-46.
- **Sasidharan S., Chen Y., Saravanan D., Sundram K.M. and Yoga Latha L. (2011)** Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. Afr. J. Tradit. Complementary Alternative Medecine, 8: 1-10.
- **Savithramma N., Linga Rao M., and Suhrulatha D. (2011)** Screening of Medicinal Plants for Secondary Metabolites. Middle-East Journal of Scientific Research, 8: 579-84.
- **Scalbert A., Johnson I. T. and Saltmarsh M. (2005)** Antioxidants and beyond. American society of clinical nutrition, 81(1):2155-2175.
 - **Schwartz M. et Rodhain F. (2008)** Des microbes ou des hommes ?. Collection sciences, Edition Odile Jacob, 350p.
- **Seigler D. S., (1998)** Plant secondary metabolism. Springer, 759p.

- **Sekar D., Kolanjinathan K., Saranraj P. and Gajendiran K. (2012)** Screening of *Phyllanthus amarus*, *Acalypha indica* and *Datura metel* for its antimicrobial activity against selected pathogens, International Journal Pharmaceutiacal and Biological Archive, 3:1231-1235.
- **Shabaz M. G., Subish P., Pathiyil R. S., Kishore G. S. and Mukesh K. (2019)** Uncommon Side Effects Of Commonly Used Anti-Diabetics: Time To Monitor Them. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 10(9): 4145-4148.
- **Shaffer J. L., Petrella J. R., Sheldon F. C., Choudhury K. R., Calhoun V.D., Coleman R. E. and Doraiswamy P. M. (2013)** Al zheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Predicting Cognitive Decline in Subjects at Risk for Alzheimer Disease by Using Combined Cerebrospinal Fluid, MR Imaging, and PET Biomarkers. Radiology, 266(2):583-91.
- **Sharifi M. S., and Hazell S. L. (2011)** GC-MS Analysis and antimicrobial activity of the essential oil of the trunk exudates from *Pistacia atlantica kurdica*. Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 3(8):1364-1367.
- **Sharmin T., Rahman M. S. and Tahia F. (2016)** Investigation of biological activities of *Jasminum matthewii*. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 11(3): 38-44.
- **Shene C., Reyes A. K., Villarroel M., Sineiro J., Pinelo M., and Rubilar M. (2009)** Plant location and extraction procedure strongly alter the antimicrobial activity of *murta* extracts. European Food Research and Technology, 228:467-475.
- **Shi J., Arunasalam K., Yeung D., Kakuda Y., Mittal G. and Jiang Y. (2004)** Saponins from Edible Legumes: Chemistry, Processing, and Health Benefits, Journal of Medicinal Food, 7(1): 67-78.
- **Sifi I., Dzoyem J.P., Ouinten M., Yousfi M., McGaw L.J. and Eloff J.N (2015)** Antimycobacterial, antioxydant and cytotoxic activities of essential oil of gall of *Pistacia atlantica* Desf. from Algeria. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medecine, 12(3):150-155.
- **Singh, B. K., Park, S. H., Lee, H. B., Goo, Y., Kim, H. S., Cho, S. H., Lee, J. H., Ahn, G. W., Kim, J. P., Kang, S.M., and Kim, E. K. (2005)** Kojic acid peptide: a new compound with anti tyrosinase potential. Annals of Dermatology, 28 (5): 555-561.

- **Skoumalova A. and Hort J. (2012)** Blood markers of oxidative stress in Alzheimer's disease. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 16: 2291-2300.
- **Skurnik D. et Andremon A. (2006)** Antibiothérapie sélectionnante. De la théorie à la pratique. *Réanimation*, 15: 198-204.
- **Soderberg M., Edlund C., Kristensson K. and Dallner G. (1991)** Fatty acid composition of brain phospholipids in aging and in Alzheimer's disease. *Lipids*, 26: 421-425.
- **Sofowora A. (2010)** Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Nouvelle édition. KARTHALA Editions, 384 p.
- **Sokolov R. (1993)** Why we eat what we eat. Simon and Schuster, 254 p.
- **Stankovic S.M. (2011)** Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of *Marrubium peregrinum* L. extracts. *Kragujevac Journal of Science*, 33: 63-72.
- **Stahl-Biskup E. et Saez F. (2003)** Thyme: The Genus *Thymus*. CRC Press Taylor and Francis group, 346 p.
- **Sturm RA., Teasdale R. D. and Box N. F. (2001)** Human pigmentation genes: identification, structure and consequences of polymorphic variation. *Gene*, 17,277(1-2):49-62.
- **Swamy M. K., Akhtar M. S. and Sinniah U. R. (2016)** Antimicrobial Properties of Plant Essential Oils against Human Pathogens and Their Mode of Action: An Updated Review. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-21.
- **Szydłowska-Czerniaka A., Dianoczki C., Recseg K., Karlovits G., and Szlyk E. (2008)** Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta*, 76: 899-905.

- **Thrane U. (2001)** Development in the Taxonomy of *Fusarium* Species Based on Secondary Metabolites. In *Fusarium: Paul E. Nelson memorial symposium*, edited by B. A. Summerell. St.Paul, Minnesota: APS Press, 29-49.

- **Takhi D., Ouinten M. and Yousfi M. (2011)** Study of antimicrobial activity of secondary metabolites extracted from spontaneous plants from the area of Laghouat, Algeria. *Advances in Environmental Biology*, 5(2): 469-476.

- **Tan B. L., Norhaizan M. E., Liew W.P. P. and Rahman H. S. (2018)** Antioxidant and Oxidative Stress: A Mutual Interplay in Age-Related Diseases. *Frontiers in Pharmacology*, 9: 1-28.

- **Tomaino A., Martorana M., Arcoraci T., Monteleone D., Giovinazzo C., and Saija, A. (2010)** Antioxidant activity and phenolic profile of pistachio (*Pistacia vera L.*, variety Bronte) seeds and skins. *Biochimie*, 92 (9): 1115-1122.

- **Turgut A. C., Emen F. M., Canbay H. S., E. R. Demirdöğen, Çam N., Kılıç D. and Yeşilkaynak T. (2017)** Chemical Characterization of *Lavandula angustifolia* Mill. as a Phytocosmetic Species and Investigation of its Antimicrobial Effect in Cosmetic Products. *Journal of The Turkish Chemical Society SectionA*, 4(1): 283-298.

- **Turkmen N., Sari F. and Velioglu Y.S. (2006)** Effect of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods. *Food Chemistry* 99: 838-841.

- **Tzakou O., Bazos I., and Yannitsaros A. (2007)** Volatile metabolites of *Pistacia atlantica* Desf. from Greece, *Flavour and Fragrance Journal*, 22(5), 358–362.

- **Van Acker S.A.B.E., Van den Berg D.J., Tromp M.N., Griffioen D.H., van Bennekom W.P., van der Vijgh W.J. and Bast A. (1996)** Structural aspect of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(3): 331-342.

- **Varvarovska J., Racek J., Stozicky F., Soucek J., Trefil L. and Pomahacova R. (2003)** Parameters of oxidative stress in children with Type 1 diabetes mellitus and their relatives. *Journal of Diabetes and its Complications*, 17(1): 7-10.

- **Vermunt P.W., Milder I.E., Wielaard F., Baan C.A., Schelfhout J.D., Westert G.P. and van Oers H.A. (2013)** Behavior change in a lifestyle intervention for type 2 diabetes prevention in Dutch primary care: opportunities for intervention content. *BMC Family Practice*, 14(78): 1-8.
- **Verpoorte R. (1998)** Exploration of Nature's Chemodiversity: The Role of Secondary Metabolites as Leads in Drug Development. *Drug Discovery Today*, 3 (5): 232-8.
- **Vialard N. (2013)** Remèdes et recettes à la lavande. Fleurus edition, 64 p.
- **Villaflores O. B., Chen Y. J., Chen C. P., Yeh J. M., and Wu T. Y. (2012)** Curcuminoids and resveratrol as anti-Alzheimer agents. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*, 51: 515-525.
- **Vincken J.P., Heng L., de Groot A. and Gruppen H. (2007)** Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry*, 68(3): 275-297.
- **Voytko M.L., Olton, D.S., Richardson R.T., Gorman L.K., Tobin J.R. and Price D.L. (1994)** Basal forebrain lesions in monkeys disrupt attention but not learning and memory. *Journal of Neuroscience*, 14: 167- 186.
- **Wahid N., Chkichekh A. and Bakry M. (2016)** Morphological traits and essential oil yield variation of three myrtus communis l. populations: implication for domestication. *Direct Research Journal of Agriculture and Food Science*, 4 (8): 199-207.
- **Washington J. A., Warren E. and Karlson A. G. (1972)** Stability of barium sulfate turbidity standards. *American Society for Microbiology*, 24(6): 1013.
- **Wémeau, J. L., Schlienger, J. L., and Vialettes, B. (2014)** Endocrinologie, diabète, métabolisme et nutrition pour le praticien. Elsevier Health Sciences France, 552p.
- **Whitehouse P. J., Price D. L., Clark A. W., Coyle J. T. and DeLong M. R. (1981)** Alzheimer disease: evidence for selective loss of cholinergic neurons in the nucleus basalis. *Annals of Neurology*, 10(2):122-126.

- **Whitehouse P. J., Price D. L., Struble R. G., Clark A. W., Coyle J. T. and Delon M. R. (1982)** Alzheimer's disease and senile dementia: loss of neurons in the basal forebrain. *Science*, 5, 215(4537):1237-1239.

- **Yan M. H., Wang X. and Zhu X. (2013)** Mitochondrial defects and oxidative stress in Alzheimer disease and Parkinson disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 62: 90-101.

- **Zambou K., Spyropoulos C. G., Chinou I. and Kontos F. (1993)** Saponin-like substances inhibit alpha-galactosidase production in the endosperm of fenugreek seeds, a possible regulatory role in endosperm galactomannan degradation. *Planta*, 189:207–212.

- **Zeghad N. and Merghem R. (2013)** Antioxidant and antibacterial activities of *Thymus vulgaris* L. . *Medicinal and Aromatic Plant Research Journal*, 1(1): 5-11.

- **Zhao H., Dong J., Lu J., Chen J., Li Y., Shan Y., Fan W. and Gu G. (2006)** Effect of extraction solvent mixtures on antioxidant activity evaluation and their extraction capacity and selectivity for free phenolic compounds in Barley (*Hordeum vulgare* L.). *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 54: 277-286.

- **Zhao Y. and Zhao B. (2013)** Oxidative stress and the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013: 316523.

- **Zhishen J., Mengcheng T. and Jianming W. (1999)** The determination of flavonoid contents in mulberry and then scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry* 64: 555-559.

- **Zouari N., Fakhfakh N., Zouari S., Bougatef A., Karray A., Neffati M. and Ayadi M. A. (2011)** Chemical composition, angiotensin I-converting enzyme inhibitory, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of Tunisian *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. (Lamiaceae). *Food and Bioproducts Processing*, 89: 257–265.

- **Zuidhoff H.W. and Van Rijsbergen J.M. (2001)** Whitening Efficacy of Frequently Used Whitening Ingredients. *Cosmetics and Toiletries*, 116(1): 53-59.

- **Zuzarte M. , Gonc alves M. J. , Cavaleiro C. , Canhoto J. , Vale-Silva L. , Silva M. J. , Pinto E. and Salgueiro L. (2011)** Chemical composition and antifungal activity of the essential oils of *Lavandula viridis*. *Journal of Medical Microbiology*, 60: 612–618.

- <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia>.

Annexes

Annexes I

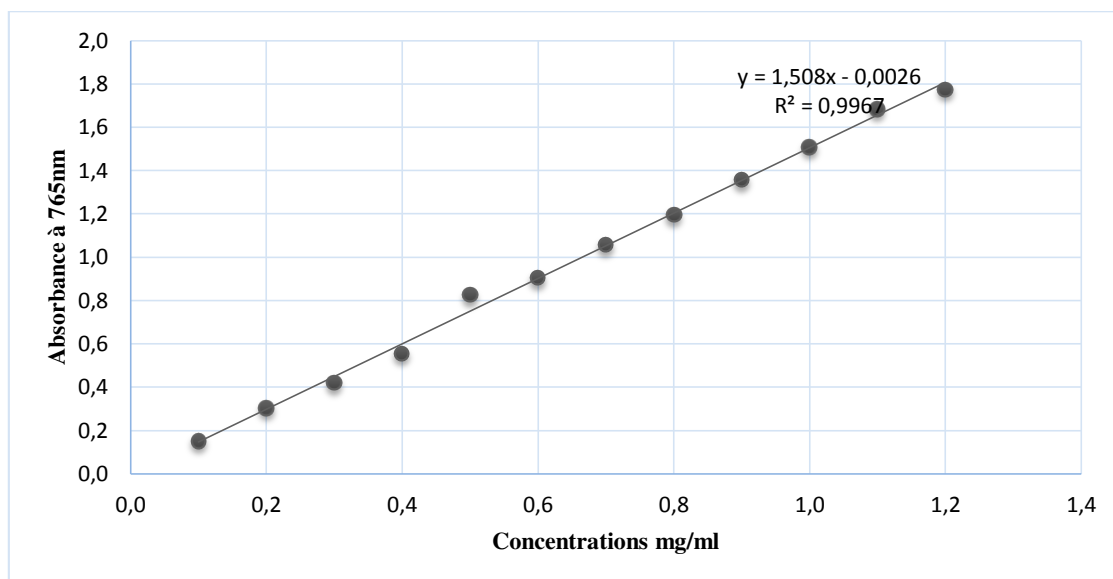


Figure: Droite d'étalonnage de l'acide gallique

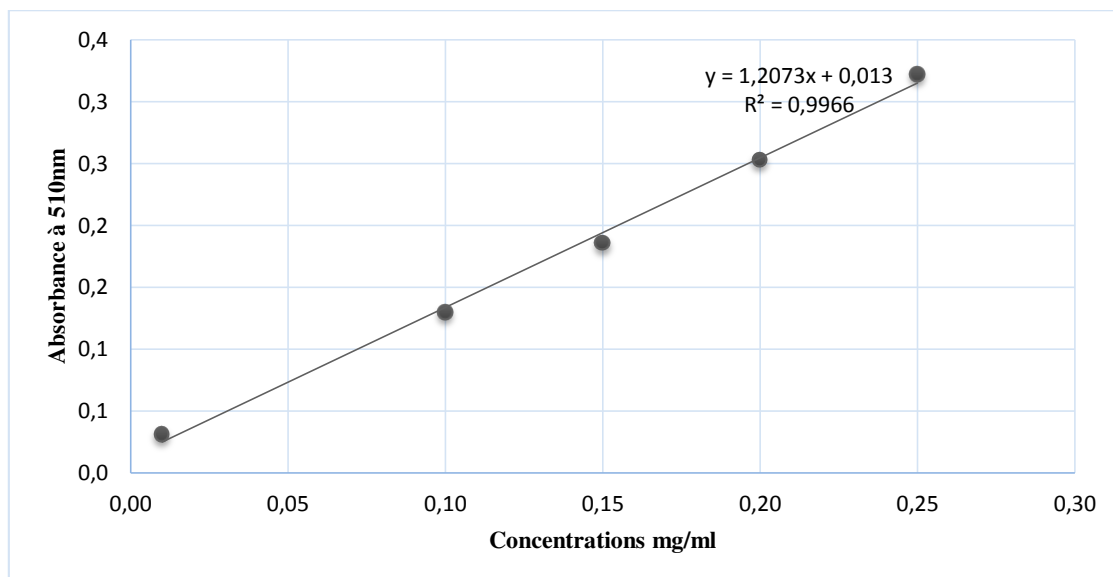


Figure: Droite d'étalonnage de la quercétine

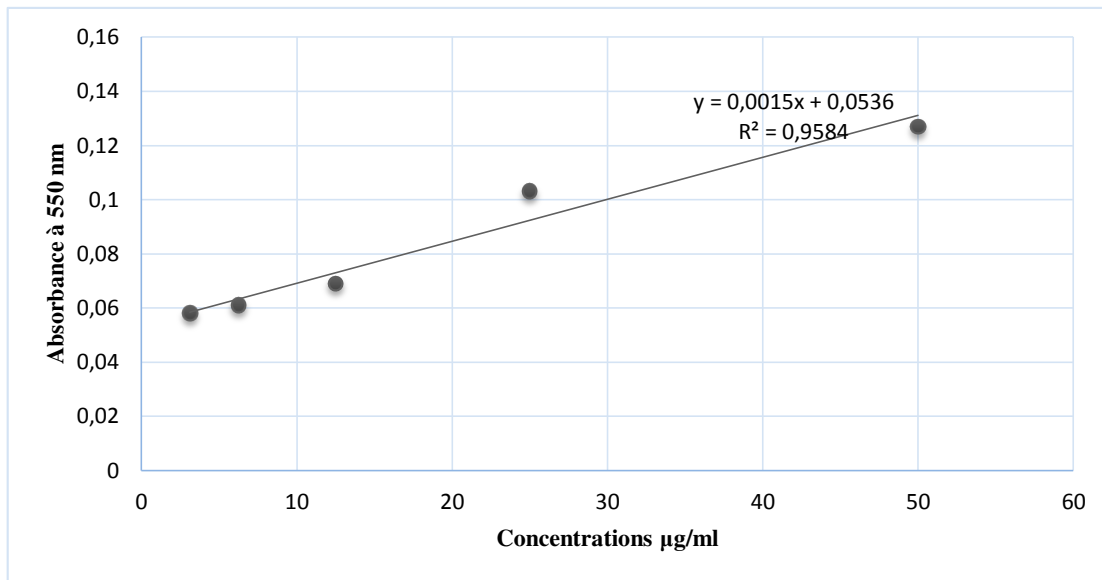


Figure: Droite d'étalonnage de la catéchine

Annexes II

Tableau: Corrélation de Pearson

		DPPH	ABTS	FRAP	CUPRAC	PHEN	METCH	BCAROTENE	ANTIACE	ANTIBUT	ANTIGLU	ANITTYR	TAUXPOLYPH	TAUXFLAV	TAUXXTAN
DPPH	Corrélation de Pearson	1	,701**	,658**	,627*	,548*	,356	,094	,567*	,348	,691**	,317	,539*	,576*	,373
	Sig. (bilatérale)		,004	,008	,012	,035	,193	,739	,027	,204	,004	,250	,038	,025	,170
	N	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
ABTS	Corrélation de Pearson	,701**	1	,728**	,632*	,538*	,350	,650**	,869**	,190	,274	,348	,514	,745**	-,048
	Sig. (bilatérale)	,004		,002	,011	,039	,201	,009	,000	,497	,324	,203	,050	,001	,864
	N	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
FRAP	Corrélation de Pearson	,658**	,728**	1	,938**	,902**	,162	,539*	,841**	,193	,508	,526*	,701**	,676**	,357
	Sig. (bilatérale)	,008	,002		,000	,000	,563	,038	,000	,491	,053	,044	,004	,006	,192
	N	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
CUPRAC	Corrélation de Pearson	,627*	,632*	,938**	1	,973**	-,097	,474	,765**	,162	,702**	,502	,838**	,805**	,530*
	Sig. (bilatérale)	,012	,011	,000		,000	,731	,074	,001	,565	,004	,057	,000	,000	,042
	N	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
PHEN	Corrélation de Pearson	,548*	,538*	,902**	,973**	1	-,188	,469	,748**	,093	,710**	,475	,892**	,750**	,648**
	Sig. (bilatérale)	,035	,039	,000	,000		,501	,078	,001	,742	,003	,074	,000	,001	,009
	N	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15

METCH	Corrélation de	,356	,350	,162	-,097	-,188	1	,132	,132	,307	-,287	,091	-,319	-,234	-,375
	Pearson														
	Sig. (bilatérale)	,193	,201	,563	,731	,501		,639	,639	,266	,300	,747	,247	,400	,169
BCAROTEN E	N	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
	Corrélation de	,094	,650**	,539*	,474	,469	,132	,747**	1	-,052	-,050	,294	,448	,476	-,072
	Pearson														
ANTIACE	Sig. (bilatérale)	,739	,009	,038	,074	,078	,639	,001	,001	,855	,859	,288	,094	,073	,798
	N	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
	Corrélation de	,567*	,869**	,841**	,765**	,748**	,132	,747**	1	-,054	,352	,478	,739**	,756**	,230
ANTIBUT	Pearson														
	Sig. (bilatérale)	,027	,000	,000	,001	,001	,639	,001	,001	,848	,198	,071	,002	,001	,410
	N	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
ANTIGLU	Corrélation de	,348	,190	,193	,162	,093	,307	-,052	-,054	1	,183	-,192	-,136	,048	-,165
	Pearson														
	Sig. (bilatérale)	,204	,497	,491	,565	,742	,266	,855	,848	,513	,494	,629	,629	,864	,557
ANTITYR	N	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
	Corrélation de	,691**	,274	,508	,702**	,710**	-,287	-,050	,352	,183	1	,171	,791**	,641*	,816**
	Pearson														
TAUXPOLY PH	Sig. (bilatérale)	,004	,324	,053	,004	,003	,300	,859	,198	,513	,542	,000	,000	,010	,000
	N	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
	Corrélation de	,317	,348	,526*	,502	,475	,091	,294	,478	-,192	,171	1	,398	,369	,201
TAUXPOLY PH	Pearson														
	Sig. (bilatérale)	,250	,203	,044	,057	,074	,747	,288	,071	,494	,542	,142	,142	,176	,474
	N	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
TAUXPOLY PH	Corrélation de	,539*	,514	,701**	,838**	,892**	-,319	,448	,739**	-,136	,791**	,398	1	,810**	,770**
	Pearson														
	Sig. (bilatérale)	,038	,050	,004	,000	,000	,247	,094	,002	,629	,000	,142	,000	,000	,001

N	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
TAUXFLAV																			
Corrélation de Pearson	,576*	,745**	,676**	,805**	,750**	-,234	,476	,756**	,048	,641*	,369	,810**	1	,331					
Sig. (bilatérale)	,025	,001	,006	,000	,001	,400	,073	,001	,864	,010	,176	,000		,228					
N	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
TAUXTAN																			
Corrélation de Pearson	,373	-,048	,357	,530*	,648**	-,375	-,072	,230	-,165	,816**	,201	,770**	,331	1					
Sig. (bilatérale)	,170	,864	,192	,042	,009	,169	,798	,410	,557	,000	,474	,001	,228						
N	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15

** . La corrélation est significative au niveau 0.01 (bilatéral).

* . La corrélation est significative au niveau 0.05 (bilatéral).

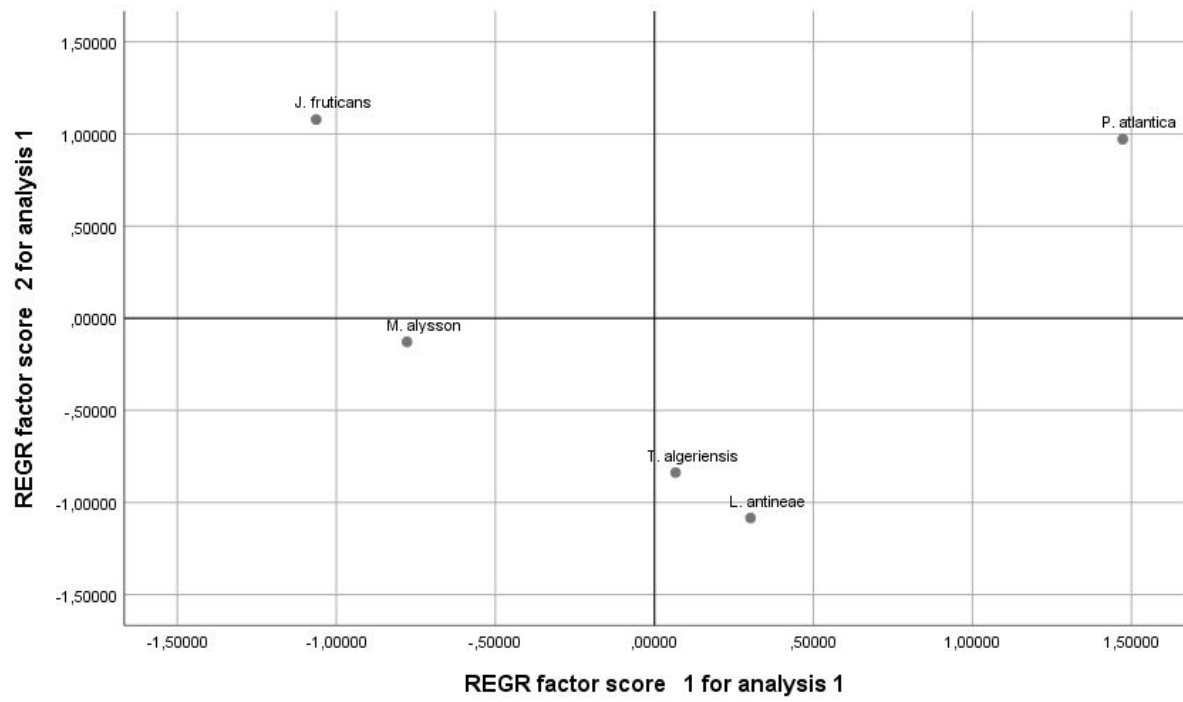


Figure : Résultats de l'ACP

تم اختيار خمسة نباتات من منطقتين مختلفتين (قاحلة وشبه قاحلة) في هذا العمل *Pistacia atlantica* و *Lavandula antineae* من ولاية بسكرة و *Thymus algeriensis* و *Marrubium alysson* و *Jasminum fruticans* من ولاية باتنة. أولاً، تم إجراء استخراج من النوعين النباتيين *L. antineae* و *T. algeriensis* الزيوت الأساسية وإعداد مستخلصات الميثانول المائي و خلاص الإيثيل و n-البيوتانول من جميع النباتات المدروسة. تم تحليل كل من الزيوت الأساسية بواسطة GC / MS ، وأظهرت نتائج الفحص الكروماتوغرافي وفرة في السيسكيتارباتان الهيدروكربونية مثل الجينبا بيسابولان في الزيت العطري لـ *L. antineae* بينما الزيت العطري لـ *T. algeriensis* كان غني بالسيسكيتارباتان الاكسجينية مثل الاليمول. بعد ذلك، تم إجراء فحص كيميائي نباتي متبوعاً بتحليل HPLC / UV على المستخلص الميثانول المائي للجزء الهوائي من النباتات المختلفة، يليه تحديد مركبات الفينول الكلية، الفلافونويدات والعفص المكثفة. أشارت نتائج الفحص الكيميائي النباتي إلى وجود العديد من العائلات الكيميائية مثل البوليفينول والفلافونويد والعفص والقلويات. كشف تحليل HPLC / UV وجود مشترك للكيرسيتين والكاتيشين في جميع مستخلصات الميثانول المائي. لوحظ احتواء *P. atlantica* على أعلى المستويات من المركبات الفينولية الكلية، الفلافونويد والعفص المكثف. بعد ذلك، تم اختبار تأثير مضادات الأكسدة في مستخلص الميثانول المائي بطرق مختلفة: مسح الجذور الحرة (DPPH) و (ABTS)، اختبارات الحد من الحديد (اختبار FRAP، طريقة الفينانثرولين، طريقة Ferrozine)، اختبار تقليل النحاس (اختبار CUPRAC) وتبييض البيتا كاروتين. واستخدمت اختبارات مختلفة لتقييم القوة المثبطة للمستخلصات الميثانولية للنباتات على النشاط الأنزيمي من أستيل كولينستراز، بوتريل كولينستراز، ألفا جلوكوزيداز وتيروزيناز. وقد لوحظ وجود نشاط كبير مضاد للأكسدة بالنسبة لجميع المستخلصات وخاصة *P. atlantica*، وسجلت تأثيرات ملحوظة لمضادات السكر ومضادات الزهايمر ومضادات التيروزيناز في معظم الأنواع. أعطت *P. atlantica* تثبيطاً لآلفا جلوكوزيداز أعلى بكثير من الأكاربوز. تم تسجيل تأثير أعلى مضاد لبوتريل كولينستراز من الجالنتامين في المستخلص الميثانولي لـ *L. antineae*. تميز كلا النوعين *M. alysson* و *J. fruticans* بتثبيط التيروزيناز بشكل ملحوظ أكثر من حمض الكوجيك. تم إجراء اختبار تحديد SPF عن طريق قياس امتصاص المستخلصات الميثانولية في مجموعة من 290 إلى 320 كل 5 نانومتر. قدمت *J. fruticans* أعلى قيمة SPF أخيراً، تم تنفيذ تقنية نشر أجار لتقييم النشاط المضاد للميكروبات في مستخلصي خلاص الإيثيل (AcEth) و n-البيوتانول (But) من نباتاتنا الخمسة في الميكروبات العنقودية الذهبية ATCC 25923 و *Escherichia coli* ATCC 25922 و *Pseudomonas aeruginosa* و *Candida albicans* ATCC 2071. قدمت مستخلصات AcEth و But للأنواع النباتية المختلفة إمكانات متواضعة مضادة للميكروبات التي تم اختبارها.

الكلمات المفتاحية: النباتات، الزيوت الأساسية، المستخلصات، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للأنزيمات، النشاط المضاد للميكروبات، HPLC/UV، GC/MS

Résumé

Cinq plantes de deux régions variées (aride et semi-aride) ont été choisies dans ce travail, il s'agit de *Pistacia atlantica* et *Lavandula antineae* de la wilaya de Biskra et *Thymus algeriensis*, *Marrubium alysson* et *Jasminum fruticans* de la wilaya de Batna. Tout d'abord, une extraction des huiles essentielles des deux espèces *L. antineae* et *T. algeriensis* et une préparation des extraits hydro-méthanoliques, acétate d'éthyle et n-butanol ont été effectuées à partir de toutes les plantes étudiées. Les deux huiles essentielles ont été analysées par CPG/SM, le profil chromatographique a montré une richesse de l'huile essentielle de *L. antineae* en sesquiterpènes hydrocarbonés comme le β-bisabolène tandis que l'huile essentielle de *T. algeriensis* était riche en sesquiterpènes oxygénés comme l'elemol. Par la suite, un screening phytochimique puis une analyse par HPLC / UV ont été réalisés sur l'extrait hydro-méthanolique de la partie aérienne des différentes plantes, suivis par la détermination des taux en composés phénoliques totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés. Les résultats du screening phytochimique ont indiqué la présence de plusieurs familles chimiques telles que les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins et les alcaloïdes. L'analyse par HPLC/UV a révélé l'existence en commun de la quercétine et de la catéchine dans tous les extraits hydro-méthanoliques. *P. atlantica* a été noté par les taux en composés phénoliques totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés les plus élevés. Ensuite, l'effet antioxydant des extraits hydro-méthanoliques a été testé par différentes méthodes: piégeage des radicaux libres (DPPH et ABTS), tests de réduction de fer (test FRAP, méthode à phenanthroline, méthode à Ferrozine), test de réduction de cuivre (test CUPRAC) et test de blanchissement du β-carotène. Différents tests pour évaluer le pouvoir inhibiteur de l'extrait hydro-méthanolique des plantes étudiées sur l'activité enzymatique de l'acétylcholinestérase, la butyrylcholinestérase, l'α-glucosidase et la tyrosinase ont été utilisés. Une activité antioxydante importante a été observée pour tous les extraits notamment de *P. atlantica* et des effets antidiabétiques, anti-Alzheimer et anti-tyrosinase remarquables ont été enregistrés pour la plupart des espèces. *P. atlantica* a donné une inhibition de l'α-glucosidase considérablement élevé que l'acarbose. Un effet anti-butyrylcholinestérase supérieur que la galantamine a été enregistré pour l'extrait méthanolique de *L. antineae*. Les deux espèces *M. alysson* et *J. fruticans* sont caractérisées par une inhibition de la tyrosinase plus remarquable que l'acide kojique. Le test de la détermination de SPF a été opéré en mesurant les absorbances des extraits hydro-méthanoliques dans une gamme allant de 290 à 320 chaque 5 nm, *J. fruticans* a fourni la valeur SPF la plus grande. Finalement, La technique de diffusion sur l'agar a été procédée pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne des deux extraits acétate d'éthyle (AcEth) et n-butanol (But) de nos cinq plantes sur *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans* ATCC 2071. Les deux extraits AcEth et But des différentes espèces ont fourni un potentiel antimicrobien modeste envers les microbes testés.

Mots clés: Plantes, Huiles essentielles, Extraits, CPG/SM, HPLC/UV, Activité antioxydante, Activité anti-enzymatique, Activité anti-microbienne.

Abstract

Five plants from two different regions (arid and semi-arid) were selected in this work: *Pistacia atlantica* and *Lavandula antineae* from Biskra town and *Thymus algeriensis*, *Marrubium alysson* and *Jasminum fruticans* of Batna town. First, an extraction of two species *L. antineae* and *T. algeriensis* essential oils and a preparation of hydro-methanolic, ethyl acetate and n-butanol extracts were carried out from all the studied plants. Both essential oils were analyzed by GC / MS, the chromatographic profile showed a richness of *L. antineae* essential oil in hydrocarbon sesquiterpenes such as β-bisabolene while the essential oil of *T. algeriensis* was rich in oxygenated sesquiterpenes such as elemol. Subsequently, a phytochemical screening followed by an HPLC / UV analysis were performed on hydro-methanolic extract of the aerial part of the various plants, followed by the determination of the total phenol compounds, flavonoids and condensed tannins. Results from the phytochemical screening indicated the presence of several chemical families such as polyphenols, flavonoids, tannins and alkaloids. HPLC / UV analysis revealed the common existence of quercetin and catechin in all hydro-methanolic extracts. *P. atlantica* was noted by the highest levels of total phenolic compounds, flavonoids and condensed tannins. Then, the antioxidant effect of the hydro-methanolic extract was tested by various methods: free radical scavenging (DPPH and ABTS), iron reduction tests (FRAP test, phenanthroline method, Ferrozine method), copper reduction test (CUPRAC test) and β-carotene bleaching test. Various tests to evaluate the inhibitory power of the plants methanolic extract on enzymatic activity of acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, α-glucosidase and tyrosinase were used. Significant antioxidant activity was observed for all extracts especially *P. atlantica* and remarkable antidiabetic, anti-Alzheimer and anti-tyrosinase effects were recorded for most species. *P. atlantica* gave a significantly higher α-glucosidase inhibition than acarbose. A higher anti-butyrylcholinesterase effect than galantamine was recorded for hydro-methanolic extract of *L. antineae*. Both species *M. alysson* and *J. fruticans* are characterized by a tyrosinase inhibition more remarkable than kojic acid. The SPF determination test was performed by measuring the absorbances of hydro-methanolic extracts in a range of 290 to 320 every 5 nm, *J. fruticans* provided the highest SPF value. Finally, the agar diffusion technique was carried out to evaluate the antimicrobial activity of two extracts ethyl acetate (AcEth) and n-butanol (But) of our five plants on *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans*. ATCC 2071. Both AcEth and But extracts of different species provided modest antimicrobial potential for the microbes tested.

Key words: Plants, Essential oils, Extracts, GC/MS, HPLC/UV, Antioxidant activity, Anti-enzymatic activity, Anti-microbial activity.

Chemical Analysis, Antioxidant, Anti-Alzheimer and Anti-Diabetic Effect of Two Endemic Plants from Algeria: *Lavandula antineae* and *Thymus algeriensis*

Benabdallah Fatima Zohra^{1,2,*}, Zellagui Amar², Bensouici Chawki³

¹Sciences of nature and life Faculty, University of Ferhat Abbas Setif 1, El Bez 1900, Algeria, ²Laboratory of Biomolecules and Plant Breeding, Life Science and Nature Department, exact science, Life science and nature Faculty, Larbi Ben Mhidi University, Constantine road 04000 Oum El Bouaghi, Algeria, ³Biotechnology Research Center, Ali Mendjli New Town UV 03 BP E73 Constantine, 25000, Algeria.

Received: September 3, 2020; Revised: November 21, 2020; Accepted: December 5, 2020

Abstract

The purpose of the present work is searching for new sources of bioactive molecules from plants to use them in treating or controlling some health problems. The methanolic extracts of two endemic species in Algeria *Lavandula antineae* (very few studies on its biological effects) and *Thymus algeriensis* were analyzed by HPLC/UV then tested for their antioxidant effect by the DPPH and ABTS scavenging radical tests, FRAP test and CUPRAC test. The inhibitory power of these same extracts on acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase and α -glucosidase was also evaluated. Phenolic acids and flavonoids were found in common in both extracts as 3-hydroxy-4-méthoxycinnamic acid, and quercetin. The results showed considerable antioxidant effects for both plants with minimal IC₅₀ values equal to 10.77±1.14 µg/ml for *L. antineae* and 11.73±0.20 µg/ml for *T. algeriensis*. The minimal value of PR_{0.5} was recorded with *L. antineae* (10.57± 0.38 µg/ml) after the BHA. The two species are shown to be effective on acetylcholinesterase especially *T. algeriensis*. *L. antineae* exhibited a high inhibitory power against butyrylcholinesterase with 20.84±9.74 µg/ml IC₅₀ value. The same plant showed more effective than Galantamine in inhibiting α -glucosidase with 168.61±7.60 µg/ml IC₅₀ value. Interesting results were given by methanolic extract of both plants, which can be exploited in medicine and pharmaceutical domains as natural treatments for diseases like Alzheimer and diabetes type 2.

Keywords: *Lavandula antineae*, *Thymus algeriensis*, methanolic extract, HPLC/UV, antioxidant activity, enzymes inhibitory.

1. Introduction

Oxidative stress can be defined as an imbalance between reactive oxygen species (free radicals) and antioxidant systems (Ichai *et al.*, 2011). The uncontrolled formation of reactive oxygen species will often have serious consequences for the body (Pelletier *et al.*, 2004). In several serious diseases, notably those linked to aging, oxidative stress is the original triggering factor; this is the case of cancers, ocular pathologies, diabetes and neurodegenerative diseases like Alzheimer's disease (Favier, 2006). That is why many studies are focusing on searching molecules with antioxidant potential. Indeed, the use of plant extracts and their derived phytochemicals, particularly phenolic compounds, has a probable future for controlling various pathologies. Their capacity to scavenge free radicals can entitle them to promote health effects (Payan, 2004; Subhashini *et al.*, 2011; Mukherjee *et al.*, 2018; Simonovic *et al.*, 2019).

In Algeria, a diverse plant flora can be found, including endemic plants with medicinal properties such as *L. antineae* and *T. algeriensis* (Lamiaceae family) (Ozenda, 2004). The genus *Lavandula* is known for its medicinal and ornamental effects; it has a high antioxidant activity (Zuzarte *et al.*, 2011; Nikolic *et al.*, 2014; Ceylan *et al.*,

2015). Thyme has been utilized since ancient times for its pharmacological properties (Goatez and Guédira, 2012), especially *Thymus algeriensis* which has antioxidant potential and can act as inhibitors of free radical or scavengers (Delgado *et al.*, 2014; Guesmi *et al.*, 2014).

Our work aims is to analyze the chemical composition of the methanolic extracts of *Lavandula antineae* and *Thymus algeriensis* searching for some phenolic compounds, and in order to seek new natural bioactive molecules sources, we have tested the tow extracts *in vitro* for their antioxidant activity and their inhibitory capacity against certain enzymes involved in several diseases like acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase known by their relation with Alzheimer's disease and the digestive enzyme α -glucosidase linked with diabetes type 2.

2. Material And Methods

2.1. Material

2.1.1. Plant material

Lavandula antineae identification was done in the arid regions scientific and technical research center (CRSTRA)-Biskra, while *Thymus algeriensis* was identified in Bellezma National Park of Batna. Desert lavender was harvested from Biskra during the flowering

* Corresponding author e-mail: univ07@outlook.fr

cycle starting at the end of February to early of April. The sampling of *Thymus algeriensis* from Batna was carried out in April. For further preparation of methanolic extracts, aerial sections, precisely leaves and stems, have been dried outdoors and in shade.

2.2. Methods

2.2.1. Methanolic extract preparation

A test sample of 2.5 g of leaf powder was macerated in 25 ml of 80% methanol. Then the macerate was filtered and the solvent was evaporated under reduced pressure at a rotary evaporator at 40-50 °C to dryness. The extract was kept at 4 °C (Falleh *et al.*, 2008).

2.2.2. Analysis of the methanolic extract by High Performance Liquid Chromatography (HPLC/UV)

The samples were diluted in methanol and then filtered by 0.45 µm syringe filters. Twenty available standards (phenolic compounds), in fine quantities, have been diluted in methanol. Twenty microliters aliquot of each sample was introduced in the HPLC system combined with a UV-Vis detector at room temperature and with a steady flow rate of 1.0 ml per ml. Compound identification in each sample was established on differences between the retention times of the components determined and the retention times of the standards.

2.2.3. Antioxidant activity in vitro

2.2.3.1. DPPH free radical scavenging test

The antioxidant test by scavenging DPPH radical was conducted in accordance with Bougandoura and Bendimerad (2013) protocol. Fifty microliters of each extract was added to 2 ml DPPH methanolic solution (0.025 g/l). At the same time by combining fifty microliters of the solvent (methanol) with 2 ml of the DPPH methanolic solution, a negative control was prepared. For each concentration, a blank was made and the absorbance was read at 515 nm after 30 min incubation time in the darkness and ambient temperature. BHA and BHT presented the positive control.

2.2.3.2. ABTS free radical scavenging test

ABTS was dissolved in twice-distilled water to obtain a concentration of 7 mM. The cation (ABTS^{•+}) was made by reacting solutions of ABTS stock and K₂S₂O₈ (2.45 mM) in the presence of K₃PO₄ buffer solution. The mixture was incubated in the darkness for 12-16 hours before use at ambient temperature. Absorbance reading was taken at 734 nm. BHT and BHA solutions were prepared at different concentrations and tested as positive controls (Re *et al.*, 1998). The results for DPPH scavenging and ABTS scavenging tests are indicated as an inhibition percentage (I %).

$$I\% = [(Abs\ control - Abs\ test) / Abs\ control] \times 100.$$

2.2.3.3. Iron reduction test: FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Methanolic extract was dissolved in 2.5 ml of Na₃PO₄ buffer at pH 6.6 and 2.5 ml of 1% C₆N₆FeK₃ at different concentrations. The mixture was incubated at 50 °C for twenty minutes. After 2.5 ml of trichloroacetic solution (10%) was put, the mixture underwent centrifugation for 10 min at 3000 g. The supernatant (2.5 ml) was added and agitated with 0.5 ml (0.1 percent) of FeCl₃ and 2.5 ml of distilled water. Absorption was measured at 700 nm. For

BHA and BHT, the same test was performed (Ferreira *et al.*, 2007).

2.2.3.4. Cupric ion reduction CUPRAC (Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity)

The method followed was reported by Apak *et al.* (2004), fifty microliters of Cu (II) (10 mM), fifty microliters of the neocuproin (7.5 mM), sixty microliters of the NH₄Ac buffer (1 M, pH = 7), and forty microliters of each plant's methanol at a variety of concentrations. After one hour, absorption was registered at 450 nm.

The reducing power at absorbance value 0.5 (PR0.5) was calculated for both tests FRAP and CUPRAC.

2.2.4. Anti-enzymatic activity in vitro

2.2.4.1. Anti-Alzheimer activity (inhibition of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase)

The spectrophotometric approach was followed by testing extracts' ability to inhibit acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BChE) enzymes (Ellman *et al.*, 1961). The buffer was made up of 150 µl of Na₃PO₄ at pH 8.0 (100 mM), 10 µl of the solution to test were dissolved into ethanol at various concentration and the amount of 20 µl AChE (5.32 per 10⁻³ U) or BChE (6.85 per 10⁻³ U) was added and incubated at 25 °C for 15 minutes, and then 10 µl DTNB (0.5 mM) had been applied. Then the reaction was initiated by the inclusion of 20 µl of acetylthiocholine iodide at 0.71 mM concentration or butyrylthiocholine chloride at 0.2 mM concentration. Absorbance was read at 412 nm. AChE or BChE inhibition was determined by comparing enzyme activity without extract and its activity in the presence of extract in the following formula:

$$I (\%) = (E - S) / E \times 100$$

E: Enzyme activity without extract S: the enzyme activity in the presence of the extract. The reference compound was galantamine.

2.2.4.2. Inhibition of α-glucosidase

The inhibitory action of α-glucosidase has been carried out respecting Palanisamy *et al.* (2011) method with few modifications. Fifty microliters of the solution to test was mixed with 50 µl of 4-Nitrophenyl α-D-glucopyranoside (5 mM) and 100 µl of the enzyme, the mixture was incubated for 15 minutes at 37 °C. A blank was made for each sample. Absorption was read at 405 nm (0 min and 15 min). Acarbose was used in this experiment as a standard. α-glucosidase's inhibitory function has been demonstrated as follows:

$$\% \text{ inhibition} = (Abs\ extract - Abs\ blank) / Abs\ control \times 100$$

Control: Enzyme + Substrate + Solvent of the extract.

2.3. Statistical analysis

Each test was done in triplicate; the comparison of means was carried out by ANOVA one way with the Tukey test where the difference was considered significant to a degree ≤ 0.05. For these purposes, the SPSS Statistics version 25 program was used.

3. Results

3.1. Analysis by HPLC

In a time interval between 3 min and 42 min, peaks were marked on the chromatographic profile of the extract

of *Lavandula antineae* (Figure 01); a dominant component of the plant extract with a percentage of 67.2% was detected at a retention time of 24.4 min, followed by two other components with the following percentages: 8.8% and 4.4%. Their retention times were 32.7 min and 27.4 min, respectively. Many peaks were observed, in a time interval of 3 min to 60 min, on the chromatographic profile of *Thymus algeriensis* extract. Three phenolic components were revealed constituting more than 50% of the total extract, with percentages of 26.4%, 17.3% and 8.2%; their corresponding retention times were, respectively, 32.8 min, 36.4 min and 40.0 min (Figure 2).

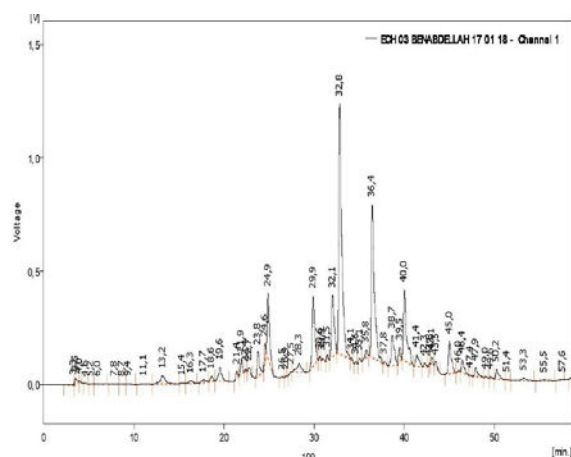


Figure 1. Chromatogram of methanolic extract of *L. antineae*

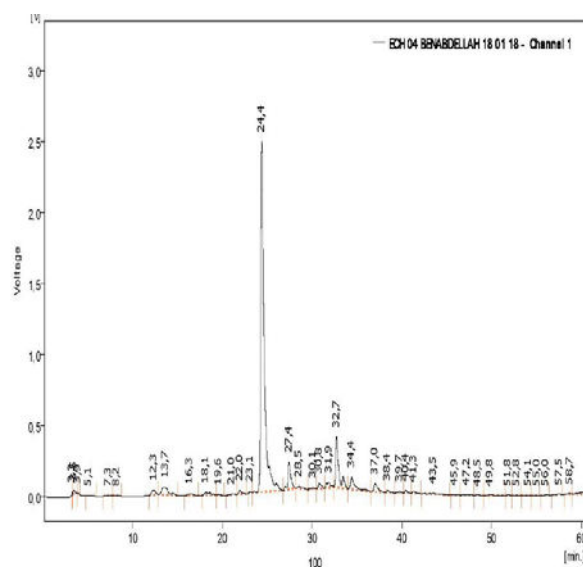


Figure 2. Chromatogram of methanolic extract of *T. algeriensis*

Table 1. Identified components by HPLC/UV in methanolic extract of *L. antineae* and *T. algeriensis*

Plant Composant	Retention time (min)	<i>L. antineae</i> (%)	<i>T. algeriensis</i> (%)
3-hydroxy-4-méthoxycinnamic acid	28.287	0.5	1.5
Ferulic acid	26.56	-	0.1
Gallic acid	6.543	0.1	-
Anisic acid	33.037	-	26.4
Salicylic acid	30.747	0.9	0.2
Syringic acid	21.967	0.7	1
Trans-2,3-diméthoxycinnamic acid	39.28	-	0.9
Trans-cinnamic acid	25.173	-	5.4
Vanillic acid	22.623	0.3	0.2
Catechin	21.553	0.7	0.5
Epicatechin	22.503	-	0.1
Euleropein	32.367	-	6.1
Kaempferol	41.103	0.4	1.5
Myricetin	34.27	3	0.2
Quercetin	36.85	1.7	17.3
Rutin	30.687	-	0.2

3.2. Results of the antioxidant activity

3.2.1. Result of DPPH radical scavenging test

An almost similar and more powerful antioxidant power than BHT was noted for *L. antineae* and *T. algeriensis*, their IC_{50} values were 18.59 ± 0.07 and 18.40 ± 0.42 $\mu\text{g/ml}$ respectively (Table 02). The inhibition percentages took their maximum values at the 400 $\mu\text{g/ml}$ concentrations: 90.26 ± 0.99 $\mu\text{g/ml}$ for *T. algeriensis* and 88.54 ± 0.23 $\mu\text{g/ml}$ for *L. antineae*.

3.2.2. Result of ABTS radical scavenging test

L. antineae presented inhibition percentage greater than 90% from the concentration of 50 $\mu\text{g/ml}$. Considerable values was recorded for the methanolic extract of *T. algeriensis* from the concentration of 50 $\mu\text{g/ml}$. *T. algeriensis* and *L. antineae* showed close IC_{50} values, 11.73 ± 0.20 and 10.77 ± 1.14 $\mu\text{g/ml}$, respectively (Table 03). Their antioxidant capacity was lower than that of BHT and BHA.

Table 2. Percentages of DPPH inhibition by *L. antineae* and *T. algeriensis* methanolic extracts, BHA, BHT and the corresponding IC_{50}

Plant/Standard	Inhibition %							
	6.25 $\mu\text{g/ml}$	12.5 $\mu\text{g/ml}$	25 $\mu\text{g/ml}$	50 $\mu\text{g/ml}$	100 $\mu\text{g/ml}$	200 $\mu\text{g/ml}$	400 $\mu\text{g/ml}$	IC_{50} $\mu\text{g/ml}$
<i>L. antineae</i> ^a	19.03 \pm 1.86	35.87 \pm 1.18	68.39 \pm 1.32	87.07 \pm 0.13	87.86 \pm 0.07	88.27 \pm 0.20	88.54 \pm 0.23	18.59 \pm 0.07
<i>T. algeriensis</i> ^a	22.23 \pm 2.58	35.50 \pm 1.70	66.92 \pm 3.39	87.71 \pm 0.11	88.42 \pm 0.47	89.66 \pm 0.17	90.26 \pm 0.99	18.40 \pm 0.42
BHA ^a	36.46 \pm 2.45	59.63 \pm 1.50	78.91 \pm 0.77	83.11 \pm 0.46	84.21 \pm 0.50	85.31 \pm 0.35	85.91 \pm 0.50	10.03 \pm 0.84
BHT ^a	18.55 \pm 2.46	32.60 \pm 3.72	53.80 \pm 2.58	74.97 \pm 2.14	83.41 \pm 0.86	84.59 \pm 0.46	85.76 \pm 0.91	23.54 \pm 1.83

Values indicated are means \pm SD of three measurements $p \leq 0.05$. a: subset determined by the tukey test

Table 3. Percentages of ABTS inhibition by *L. antineae* and *T. algeriensis* methanolic extracts BHA, BHT and the corresponding IC₅₀.

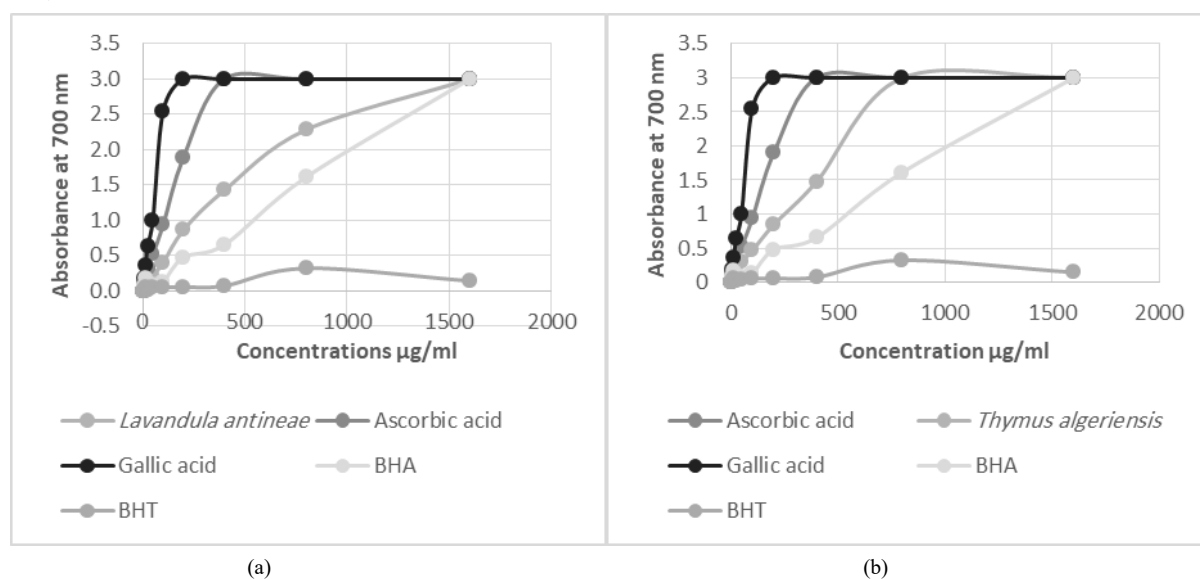
Plant/Standard	Inhibition %							
	6.25 µg/ml	12.5 µg/ml	25 µg/ml	50 µg/ml	100 µg/ml	200 µg/ml	400 µg/ml	IC ₅₀ µg/ml
<i>L. antineae</i> ^b	29.73±3.63	60.38±3.78	88.44±0.69	92.01±0.20	92.70±0.10	92.81±0.10	92.87±0.20	10.77±1.14
<i>T. algeriensis</i> ^{ab}	29.96±0.75	55.20±0.85	84.93±1.25	92.01±0.26	92.58±0.35	92.93±0.17	92.98±0.10	11.73±0.20
BHA ^b	93.50±0.09	93.55±0.09	93.60±0.16	93.60±0.95	94.17±0.90	95.37±2.63	95.42±2.69	1.81±0.10
BHT ^{ab}	61.38±0.57	62.02±3.82	76.50±1.40	82.55±1.04	88.60±2.66	90.38±0.67	95.83±0.15	1.29±0.30

Values indicated are means ± SD of three measurements $p \leq 0.05$. a, b: subsets determined by the tukey test

3.2.3. Result of the FRAP test

In regard to *L. antineae* extract, from the 50 µg/ml concentration, the absorbance values were marked by a significant increase, up to the value of 1600 µg/ml where the absorbance approached the value of 3. This increase was greater than that produced by BHA and BHT (Figure 03 a).

From the concentration of 25 µg/ml, *T. algeriensis* had absorbance values considerably higher than the values obtained with BHA and BHT (Figure 03 b). A more interesting increase was detected from 400 µg/ml. The PR_{0.5} of the two plants was determined at lower values than the values obtained with BHA and BHT (Table 04).

**Figure 3.** Antioxidant activity of *L. antineae* methanolic extract (a) and *T. algeriensis* methanolic extract (b) obtained by FRAP test**Table 4.** PR_{0.5} obtained by FRAP test for *L. antineae*, *T. algeriensis*, BHA and BHT (µg/ml)

Plant/Standard	PR _{0.5}
<i>L. antineae</i> ^{ab}	155.733±0.196
<i>T. algeriensis</i> ^{ab}	147.44±0.191
BHA ^{a,b}	464±0.007
BHT ^a	7566.66±0.0007

Values indicated are means ± SD of three measurements $p \leq 0.05$. a: subset determined by the tukey test

3.2.4. Result of copper reduction test (CUPRAC)

The methanolic extract of *L. antineae* had a considerable reducing power (Figure 04 a), the absorbance

values were marked by a strong increase with all the concentrations tested. By comparing it with BHA and BHT, the extract of *L. antineae* was less efficient than BHA, with an absorbance of 2.53 ± 0.19 at 100 µg/ml concentration and more effective than BHT. The PR_{0.5} of the extract was determined to be 10.57 ± 0.3 µg/ml (Table 5).

The methanolic extract of *T. algeriensis* exhibited remarkable reducing power; its effect was more powerful than BHT at concentrations above 200 µg/ml. At concentrations over 400 µg/ml, the plant extract exhibited a performance close to that of BHA (Figure 04 b). The PR_{0.5} of the studied extract was determined to be 25.04 ± 0.86 µg/ml (Table 05).

(a)

(b)

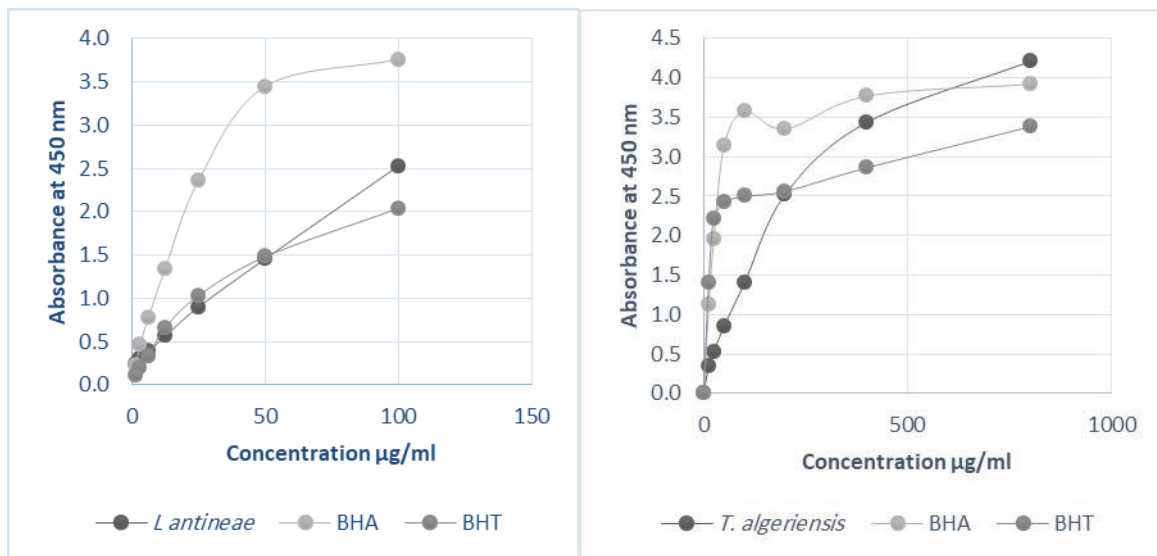


Figure 04 Antioxidant activity of *L. antineae* methanolic extract (a) and *T. algeriensis* methanolic extract (b) obtained by CUPRAC test

Table 5. PR_{0.5} obtained by CURAC test for *L. antineae* and *T. algeriensis* methanolic extracts, BHA and BHT (µg/ml)

Plant/Standard	PR _{0.5}
<i>L. antineae</i> ^{ab}	10.57± 0.38
<i>T. algeriensis</i> ^a	25.04± 0.86
BHA ^b	3.64±0.19
BHT ^{ab}	9.62±0.87

Values indicated are means ± SD of three measurements $p \leq 0.05$. a, b: subsets determined by the tukey test

3.3. Result of the anti-enzymatic activity

3.3.1. Result of the anti-Alzheimer's activity

Anticholinesterase: An interesting anti-cholinesterase activity was provided by the methanolic extract of *T. algeriensis*. The increase in inhibition percentages was remarkably noted with the increase in concentrations (Figure 05 b). The percentage of inhibition exceeded 50% and the IC₅₀ of the extract was deduced to a value of 154.47 ± 3.55 µg/ml at the concentration 200 µg/ml (Table 06). *L. antineae* showed an inhibitory effect on acetylcholinesterase which increased slowly by increasing concentrations (Figure 05 a). The inhibition percentages did not exceed the value of 20% until the concentration exceeded the value of 200 µg/ml. The IC₅₀ have been estimated at values greater than 200 µg/ml (Table 6).

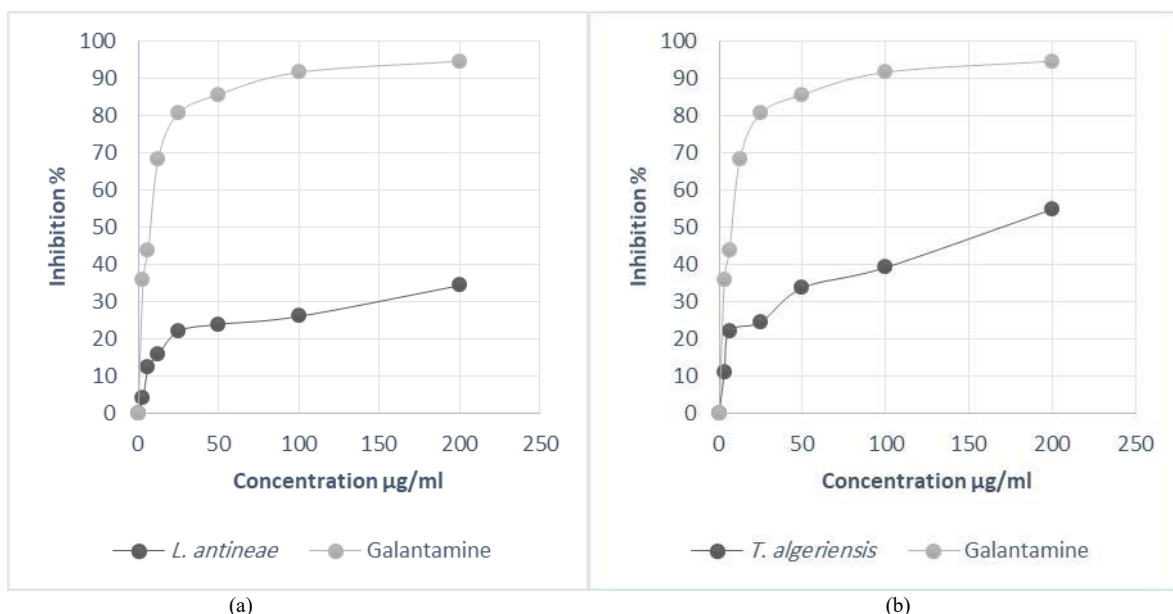


Figure 05. Anticholinesterase activity of *L. antineae* methanolic extract of (a) and *T. algeriensis* methanolic extract (b)

Antibutyrylcholinesterase: A marked increase was recorded in the percentages of inhibition obtained with

methanolic extract of *L. antineae*. Even at low concentrations (3.125, 6.25 and 12.25 µg/ml), this increase

was more considerable than the increase achieved by galantamine. In concentration value equal to 100 $\mu\text{g/ml}$, A small variation was observed between the plant extract and the galantamine performances (Figure 06 a). The IC_{50} was determined to be $20.84 \pm 9.74 \mu\text{g/ml}$, while galantamine was denoted by an IC_{50} equal to $34.75 \pm 1.99 \mu\text{g/ml}$ (Table 07), which may be translated by a promising effectiveness of the plant for the fight against Alzheimer's disease.

The methanolic extract of *T. algeriensis* was characterized by an interesting IC_{50} which equals the value of $161.53 \pm 22.65 \mu\text{g/ml}$ (Table 07). The inhibition percentages increased proportionally with the concentrations. From 25 $\mu\text{g/ml}$ concentration value, the difference in performance of the extract compared to the standard became significantly high (Figure 06 b).

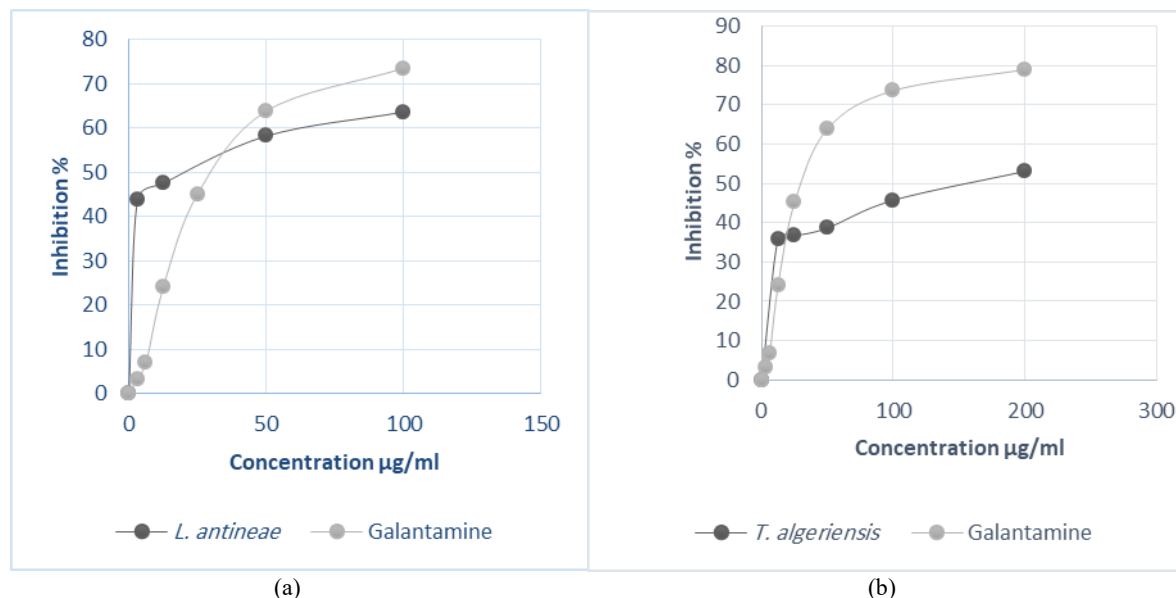


Figure 6. Antibutrylcholinesterase activity of *L. antineae* methanolic extract (a) and *T. algeriensis* methanolic extract (b)

Table 6. IC_{50} of anticholinesterase activity of *L. antineae*, *T. algeriensis*, and galantamine.

Plant/Standard	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
<i>L. antineae</i> ^{ab}	>200
<i>T. algeriensis</i> ^b	154.47 ± 3.55
Galantamine ^c	6.27 ± 1.15

Values indicated are means \pm SD of three measurements $p \leq 0.05$.
a, b, c: subsets determined by the tukey test

Table 7. IC_{50} of ntbutyrylcholinesterase activity of *L. antineae*, *T. algeriensis* and galantamine

Plant/Standard	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
<i>L. antineae</i> ^a	20.84 ± 9.74
<i>T. algeriensis</i> ^a	161.53 ± 22.65
Galantamine ^a	34.75 ± 1.99

Values indicated are means \pm SD of three measurements $p \leq 0.05$.
a: subset determined by the tukey test

3.3.2. Result of the α -glucosidase inhibition test

The methanolic extract of *L. antineae* showed significant inhibitory activity against α -glucosidase enzyme; the IC_{50} was estimated at a value equal to $168.61 \pm 7.60 \mu\text{g/ml}$ (Table 08). Galantamine gave an IC_{50} value equal to $275.43 \pm 1.59 \mu\text{g/ml}$; therefore, *L. antineae* gave promising effect for the inhibition of one of enzymes involved in diabetes types 2 disease. The methanolic extract of *T. algeriensis* did not show any inhibitory effect on α -glucosidase for all the tested concentrations.

Table 8. Inhibition activity of α -glucosidase by methanolic extracts of *L. antineae*, *T. algeriensis* and acarbose

Plant/Standard	Inhibition %								
	3.125 $\mu\text{g/ml}$	6.25 $\mu\text{g/ml}$	12.5 $\mu\text{g/ml}$	25 $\mu\text{g/ml}$	50 $\mu\text{g/ml}$	100 $\mu\text{g/ml}$	200 $\mu\text{g/ml}$	800 $\mu\text{g/ml}$	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
<i>L. antineae</i> ^a	NT	NT	0.00 ± 0.0	0.00 ± 0.0	12.815 ± 3.41	48.079 ± 1.62	53.899 ± 2.21	63.702 ± 0.0	168.61 ± 7.60
<i>T. algeriensis</i>	No activity								
Acarbose ^a	78.125 $\mu\text{g/ml}$	156.5 $\mu\text{g/ml}$	312.5 $\mu\text{g/ml}$	625 $\mu\text{g/ml}$	1250 $\mu\text{g/ml}$	2500 $\mu\text{g/ml}$	5000 $\mu\text{g/ml}$	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	
	27.43 ± 2.18	38.91 ± 3.20	54.86 ± 1.79	67.29 ± 2.63	80.19 ± 1.66	85.54 ± 0.45	91.05 ± 0.72	275.43 ± 1.59	

NT: Not tested. Values expressed are means \pm SD of three measurements $p \leq 0.05$. a: subset determined by the tukey test.

4. Discussion

The chemical composition of *L. antineae* extracts has not been studied before. The majority of research was carried out on other species of the same genus, notably *L. angustifolia*. Extracts from the latter were shown to be rich in caffeic acid, rosmarinic acid, and 4-hydroxybenzoic acid (Turgut *et al.*, 2017); we did not mark their presence in our extract (Table 1). A study by Boutaoui *et al.* (2018) has demonstrated the presence of ferulic acid and catechin in the ethanolic extract of *T. algeriensis*. We have also found the same components but in few percentages (Table 01).

L. antineae extract has provided an antioxidant effect greater than *L. dentatae* (Bouzidi *et al.*, 2018); the latest one was marked by IC₅₀ values ranging from 0.33 to 1.84 mg/ml which were obtained by methanolic extracts from various plant parts. Most studies of antioxidant activity by the DPPH scavenging test, which are carried out on species of the genus *Lavandula*, are carried out on essential oils. Their results show a strong antioxidant activity (Mohammedi and Atik, 2012; Bettaieb Rebey *et al.*, 2012; El Hamdaoui *et al.*, 2018). By comparing the results of these studies and the result in our work, we can attribute to the methanolic extract of *L. antineae* a remarkable antioxidant capacity. Khled Khoudja *et al.* (2014) found an IC₅₀ of the methanolic extract of *T. algeriensis* equal to 179 ± 0.012 µg/ml, a value significantly higher than that obtained in our results. In another study carried out on methanolic extract of the same plant, IC₅₀ was estimated at a value of 7 ± 0.02 µg/ml (Megdiche-Ksouri *et al.*, 2015). Our results do not agree with the results obtained by Guesmi *et al.* (2014) who found that BHT exerted a more powerful antioxidant activity than methanolic extract of *T. algeriensis*. This difference in anti-free radical power within the same species can be attributed to several factors. Several studies have shown that water addition at low rates to the solvent ameliorates the extraction of powerful antioxidants (Turkmen *et al.*, 2006; Zhao and Zhao, 2013). Different origins of the same species can also influence antioxidant potential (Bettaieb Rebey *et al.*, 2012).

In our study, the methanolic extract of *T. algeriensis* exhibited a greater AChE inhibitory effect than the effect which was given by the ethanolic extracts of six other species of *Thymus*, namely *T. longicaulis*, *T. serpyllum* subsp. *Serpyllum*, *T. pulegioides*, *T. striatus*, *T. praecox* subsp. *polytrichus* and *T. vulgaris* where the IC₅₀ values took between 656.06 and 837.96 µg/ml (Kindl *et al.*, 2015). Our extract seems to be more effective than the leaves essential oils of the same plant which provided an IC₅₀ value equal to 98.84 ± 1.81 µg/ml (Bendjabeur *et al.*, 2018). A study by Bendjabeur *et al.* (2018), which was done to evaluate the inhibitory effect of *T. algeriensis* against butyrylcholinesterase, has found that essential oils extracted from the leaves provided a slightly lower IC₅₀ value than our extract and which equal to 124.09 ± 2.84 µg/ml. Even at a concentration equivalent to 1 mg/ml, ethanolic extracts of *L. angustifolia* and *L. pedunculata* established an inhibition of AChE less than the inhibition provided by *L. antineae*, with inhibition percentages equal to 28.4 ± 3.8 and 42.0 ± 16.8% (Ferreira *et al.*, 2007). Plants can be regarded as good bioactive compound

sources with an ability of inhibiting enzymes such as AChE and BChE (Murray *et al.*, 2013). Many secondary metabolites as terpenes, quinones, alkaloids and phenols were shown very effective to inhibit α-glucosidase enzyme and can be clinically developed for treating diabetes type 2 (Yin *et al.*, 2014).

5. Conclusion

HPLC/UV analysis revealed the common existence of quercetin, 3-hydroxy-4-methoxycinnamic acid, salicylic acid, syringic acid, Kaempferol and myricetin in the methanolic extract of the two plants. *L. antineae* presented an interesting antioxidant activity and a very promising inhibitory power of butyrylcholinesterase and α-glucosidase which is more effective than the standards used, hence the possibility of its use for the treatment of Alzheimer's disease and type 2 diabetes. *T. algeriensis* was also marked by an appreciable antioxidant activity and an ability to inhibit cholinesterase and butyrylcholinesterase. The potential involvement of natural antioxidants in the replacement of conventional treatments for several diseases, such as age-related diseases, could be significant and should be elucidated in long-term clinical trials.

Acknowledgements

The authors thank the MESRS (Ministry of Higher Education and Scientific Research of Algeria) for its partial funding.

Conflict Of Interest

The authors proclaim no conflict of interest.

References

- Apak R, Guclu K, Ozyurek M and Karademir SE. 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. *J Agric Food Chem.*, **52**: 7970-7981.
- Bendjabeur S, Benchabane O, Bensouici C, Hazzit M, Baaliouamer A and Bitam A. 2018. Antioxidant and anticholinesterase activity of essential oils and ethanol extracts of *Thymus algeriensis* and *Teucrium polium* from Algeria. *J Food Meas Charact.*, **12**: 2278-2288.
- Bettaieb Rebey I, Bourgou S, Ben Slimen Debez I, Jabri Karoui I, Hamrouni Sellami I, Msaada K, Limam F and Marzouk B. 2012. Effects of Extraction Solvents and Provenances on Phenolic Contents and Antioxidant Activities of Cumin (*Cuminum cyminum* L.) Seeds. *Food Bioprocess Technol.*, **5**: 2827-2836.
- Bougandoura N and Bendimerad N. 2013. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. Nepeta* (L.) Briq. *NATEC.*, **09**: 14-19.
- Boutaoui N, Zaiter L, Benayache F, Benayache S, Carradori S, Cesa S, Giusti AM, Campestre C, Menghini L, Innosa D and Locatelli M. 2018. Qualitative and quantitative phytochemical analysis of different extracts from *Thymus algeriensis* aerial parts. *Molecules*, **23**: 1-11.
- Bouzidi MA, Dif MM, Chihaoui G, Taïbi S and Toumi-benali F. 2018. First determination of polyphenols content, antioxidant activity and soil characterization of *Lavandula dentata* L. from Oran region. *PCBSJ*, **12** (2): 117-124.

- Ceylan Y, Usta K, Usta A, Maltas E and Yildiz S. 2015. Evaluation of Antioxidant Activity, Phytochemicals and ESR Analysis of *Lavandula Stoechas*. *Acta Phys Pol A.*, **128**: 483-487.
- Delgado T, Marinero P, Asensio S, Manzanera MC, Asensio C, Herrero B, Pereira JA and Ramalhosa E. 2014. Antioxidant activity of twenty wild Spanish *Thymus mastichina* L. populations and its relation with their chemical composition. *LWT - Food Sci Technol.*, **57**: 412-418.
- El Hamdaoui A, Msanda F, Boubaker H, Leach D, Bombarda I, Vanlout P, El Aouad N, Abbad A, Boudyach EH, Achemchem F, Elmoslih A, Ait Ben Aoumar A and El Mousadik A. 2018. Essential oil composition, antioxidant and antibacterial activities of wild and cultivated *Lavandula mairei* Humbert. *Biochem Syst Ecol.*, **76**: 1-7.
- Ellman GL, Courtney KD, Andres V, Featherstone RM. 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol.*, **7**: 88-95.
- Falleh H, Ksouri R, Chaieb K, Karray Bouraoui N, Trabelsi N, Boulaaba M and Abdely C. 2008. Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *CR Biol.*, **331(5)** : 372-9.
- Favier A. 2006. Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann pharm fr.*, **64(6)**: 390-396.
- Ferreira ICFR, Baptista P, Vilas-Boas M and Barros L. 2007. Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity. *Food Chem.*, **100**: 1511-1516.
- Goatez P and Guédira K. 2012. **Phytothérapie anti-infectieuse**, Springer Science and Business Media, Paris.
- Guesmi F, Ben Farhat M, Mejri M and Landoulsi A. 2014. *In-vitro* assessment of antioxidant and antimicrobial activities of methanol extracts and essential oil of *Thymus hirtus* sp. *algeriensis*. *Lipids Health Dis.*, **13**: 114.
- Ichai C, Quintar H and Orban JC. 2011. **Désordres métaboliques et réanimation : de la physiopathologie au traitement**, Springer, France.
- Khled khoudja N, Boulekbache-Makhlouf L and Madani K. 2014. Antioxidant capacity of crude extracts and their solvent fractions of selected Algerian Lamiaceae. *Ind Crop Prod.*, **52**:177-182.
- Kindl M, Blazekovic B, Bucar F and Vladimir-Knezevic S. 2015. Antioxidant and Anticholinesterase Potential of Six *Thymus* Species. *Evid-Based Complementary Altern Med.*, 1-10.
- Megdiche Ksouri W, Saada M, Soumaya B, Snoussi M, Zaouali Y and Ksouri R. 2015. Potential use of wild *Thymus algeriensis* and *Thymus capitatus* as source of antioxidant and antimicrobial agents. *J new sci.*, **23 (4)** : 1046-1056.
- Mohammedi Z and Atik F. 2012. Pouvoir antifongique et antioxydant de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L. *NATEC.*, **06** : 34-39.
- Mukherjee PK, Biswas R, Sharma A, Banerjee S, Biswas S and Katiyar CK. 2018. Validation of medicinal herbs for anti-tyrosinase potential. *J Herb Med.*, **14**: 1-16.
- Murraya AP, Faraonia MB, Castroa MJ, Alza NP and Cavallaro V. 2013. Natural AChE Inhibitors from Plants and their Contribution to Alzheimer's disease Therapy. *Curr Neuropharmacol.*, **11**: 388-413.
- Nikolic M, clija J G, Ferreira ICFR, Calhelha RC, Fernandes A, Markovi T, Giweli A and Soković M. 2014. Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antitumoractivity of *Thymus serpyllum* L., *Thymus algeriensis* Boiss. and Reut. and *Thymus vulgaris* L. essential oils. *Ind Crop Prod.*, **52**: 183-190.
- Ozenda P. 2004. **Flore du Sahara**, CNRS, Paris.
- Palanisamy UD, Ling LT, Manaharan T and Appleton D. 2011. Rapid isolation of geraniin from *Nephelium lappaceum* rind waste and its anti-hyperglycemic activity. *Food Chem.*, **127**: 21-27.
- Payan F. 2004. Structural basis for the inhibition of mammalian and insect α -amylases by plant protein inhibitors. *BBA-Proteins and Proteomics.*, **1696 (2)**: 171-180.
- Pelletier E, Campbell PGC and Denizau F. 2004. **Écotoxicologie Moléculaire: Principes Fondamentaux et Perspectives de Développement**, PUQ.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M and Rice-Evans C. 1998. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio Med.*, **26 (9)**: 1231-1237.
- Simonovic M, Simonovic BR, Ostojic S, Pezo L, Micic D, Nemanj Stanisavljevi and Pejic B. 2019. A contribution to the estimation of berry fruits quality. *Sci Hort.*, **258**: 1-6.
- Subhashini N, Nagarajan G and Kavimani S. 2011. In vitro antioxidant and anticholinesterase activities of *Garcinia combolia*. *Int J Pharm.*, **3(3)**: 129-132.
- Turgut AC, Emen FM, Canbay HSER, Demirdöğen ÇN, Kılıç D and Yeşilkaynak T. 2017. Chemical Characterization of *Lavandula angustifolia* Mill. as a Phytocosmetic Species and Investigation of its Antimicrobial Effect in Cosmetic Products. *JOTCSA.*, **4(1)**: 283-298.
- Turkmen N, Sari F and Velioglu Y S. 2006. Effect of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods. *Food Chem.*, **99**: 838-841.
- Yin Z, Zhang W, Feng F, Zhang Y and Kang W. 2014. α -Glucosidase inhibitors isolated from medicinal plants. *FSHW.*, **3**: 136-174
- Zhao Y and Zhao B. 2013. Oxidative stress and the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Oxid Med Cell Longev.*, 1-10.
- Zuzarte M, Gonc alves MJ, Cavaleiro C, Canhoto J, Vale-Silva L, Silva MJ, Pinto E and Salgueiro L. 2011. Chemical composition and antifungal activity of the essential oils of *Lavandula viridis*. *J Med Microbiol.*, **60**: 612-618.