

# الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Ibn Khaldoun –Tiaret-  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences de la Nature et de la Vie



## THÈSE

En vue de l'obtention du diplôme de doctorat LMD

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biotechnologie alimentaire

Présentée et soutenue publiquement par :

BOUTELDJA Rachida

## Thème

*Effets biologiques des extraits des plantes *Salvia officinalis* L.,  
*Aristolochia longa* L., et *Lupinus albus* L.*

Devant le jury composé de :

Mr Kamel ACEM	MCA	Université de Tiaret	Président
Mr Bouziane ABOUNI	Professeur	Université de Sidi Bel Abbès	Examineur
Mr Mabrouk KIHAL	Professeur	Université d'Oran	Examineur
Mme Meriem MOULAY	MCA	Université de Tiaret	Examineur
Mr Hebib AGGAD	Professeur	Institut SV, Tiaret	Rapporteur

Année Universitaire: 2019-2020

## *Remerciements*

*Tout d'abord Louange à **ALLAH**, qui m'a donnée la force d'esprit, la santé et la volonté pour élaborer ce travail.*

*Je tiens à exprimer mes profonds remerciements et mes vives reconnaissances à mon directeur de thèse Monsieur **AGGAD Hebib**. Professeur aux Institut des sciences vétérinaires d'université Ibn Khaldoun-Tiaret pour l'accueil qu'il m'a accordé dans son laboratoire, je le remercie infiniment pour son aide et ses conseils judicieux et son attention qu'il m'a apporté et pour le support, le soutien et l'encouragement qu'il m'a donné pour la réalisation de ce travail.*

*Mes vifs remerciements vont également à Monsieur **ACEM Kamel**, maître de conférence à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Ibn Khaldoun -Tiaret pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de présider ce Jury.*

*A Monsieur **ABBOUNI Bouziane**, Professeur à l'Université Djilali Liabes de Sidi Bel Abbès. Qui m'a honorée en acceptant d'évaluer ce travail.*

*A Monsieur **KIHAL Mabrouk**, Professeur à l'Université d'Oran Es Senia. Qui me fait l'honneur d'examiner ce travail.*

*Je suis également reconnaissante à Madame **MOULAY Meriem**, maître de conférence à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Ibn Khaldoun -Tiaret. Qui me fait l'honneur d'être membres de ce jury.*

Aussi à madame **DOUKANI Koula**, Professeur à l'Université Ibn Khaldoun tiaret, Responsable de la formation doctorale "Biotechnologie Alimentaire" pour son aide et ses conseils.

Je remercie particulièrement Monsieur **DOUCENE Radhouane** ingénieur de laboratoire de Reproduction des Animaux de la Ferme « Université Ibn Khaldoun Tiaret » pour son soutien, son aide et sa disponibilité, pendant toute la durée de ce travail.

Je tiens à exprimer mes profondes gratitude et mes respects à Monsieur **ABDALI Mustapha** ingénieur de laboratoire d'hygiène et pathologie animal d'Université Ibn Khaldoun, pour sa gentillesse, sa disponibilité et ses conseils.

Mes remerciements les plus chaleureux sont adressés à l'ensemble du personnel de laboratoire de Reproduction des Animaux de la Ferme et de laboratoire d'hygiène et pathologie animal de l'institut des Sciences Vétérinaires pour l'aide et l'assistance.

Et enfin j'exprime ma gratitude et ma reconnaissance à toute personne qui m'a encouragé et m'a aidé de près ou de loin à réaliser ce projet de fin d'étude qui va surement enrichir ma future carrière professionnelle.

## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail à :*

*A mes défunts parents et ma Grand mère :*

*Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes  
profonds sentiments envers eux.*

*Je prie le bon Dieu de leur pardonner et d'avoir pitié d'eux, de veiller sur eux, en  
espérant qu'ils seront toujours fiers de moi.*

*A ceux que j'aime beaucoup et qui m'ont soutenu tout au long de ce projet,  
mes adorables sœurs et chers frères Malika, Hanane, Djelloul, Mohamed.  
Ils vont trouver ici l'expression de mes sentiments de respect et de reconnaissance  
pour le soutien qu'ils n'ont cessé de me porter.*

*A ma chère amie intime et ma sœurlette Belal Aicha*

*Elle va trouver ici le témoignage d'une fidélité et d'une amitié infinie. Pour Ton  
soutien moral et ton aide*

*A tous mes amis et mes collègues :*

*Surtout ma chère karam avec la prinsece DOUCENE Najet lina. Imen,  
Amina, chaima, khalida, lila , Noura, siham. Et à tous ceux qui ont contribué de  
près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.*

*Bouteldja Rachida*

# *Résumé*

## Résumé

Ce travail visait l'étude phytochimique et l'activité biologique des extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux de *Salvia officinalis* L., *Aristolochia longa* L. et *Lupinus albus* L.

Les analyses physicochimiques des trois plantes révèlent la forte acidité d'*A. longa* avec un pH de  $2,99 \pm 0,15$ , un taux de sucres réducteurs et de protéines ( $12,19 \pm 1,58$  et  $1,91 \pm 0,02\%$ ) et *S. officinalis* en eau, cendres et en lipides de ( $76 \pm 2\%$  ;  $3,16 \pm 0,15$  et  $8\%$ ) respectivement.

Le rendement (%) de l'extrait éthanolique était important :  $38 \pm 4$  ;  $50,66 \pm 3,7$  et  $43,66 \pm 3,78\%$  pour *S. officinalis*, *A. longa* et *L. albus* respectivement.

Le criblage phytochimique révèle la richesse des extraits éthanoliques des trois plantes en différents composés bioactifs ; tanins, flavonoides, glycosides cardiaques et alcaloïdes.

Les polyphénols d'extrait éthanolique de *S. officinalis*, *A. longa* et *L. albus* était de ( $74,54 \pm 0,65$ ;  $38,25 \pm 0,33$  et  $59,66 \pm 0,56$  mg EAG/g) et pour les flavonoides ( $37,53 \pm 1,06$  ;  $27,86 \pm 0,19$  et  $10,74 \pm 0,22$  mg EQ/g) respectivement. Concernant l'activité antioxydante appréciée par la méthode de DPPH, montre la capacité d'extrait éthanolique de *S. officinalis* et *L. albus* à piéger les radicaux libres, donnent des IC 50 de  $0,106 \pm 0,001$ ;  $0,86 \pm 0,01$  mg/ml respectivement et de  $0,44 \pm 0,005$  mg/ml pour l'extrait méthanolique d'*A. longa*.

En outre, l'activité antibactérienne montre la forte capacité d'extrait méthanolique de *S. officinalis* d'inhiber *B. subtilis*, *M. luteus*, *E. coli* et *S. aureus* ( $27,06 \pm 1,49$  ;  $15,43 \pm 2,23$  ;  $11,6 \pm 0,52$  et  $11,5 \pm 2,17$  mm) diamètre d'inhibition respectivement. L'activité de leur extrait éthanolique était de  $26,62 \pm 2,97$  mm sur *B. subtilis*,  $16,51 \pm 2,36$  mm contre *M. luteus*,  $13,62 \pm 0,55$  mm sur *S. aureus*, *P. aeruginosa* ( $12,30 \pm 1,59$  mm).

Les résultats d'étude in vivo sur l'extrait éthanolique de *S. officinalis* montrent qu'il ne provoque aucun effet toxique à une dose de 2000 mg /kg de poids corporel. Au-delà, la dose de 300 mg/kg de poids corporel joue un rôle très important dans la réduction de la glycémie chez les rats diabétiques.

**Mots clé :** *Salvia officinalis* L., *Aristolochia longa* L. et *Lupinus albus* L., polyphénols, flavonoides, antioxydante, antibactérienne, toxicité et antidiabétique.

## Abstract

This work aimed at the phytochemical study and the biological activity of methanolic, ethanolic and aqueous extracts of *Salvia officinalis* L., *Aristolochia longa* L. and *Lupinus albus* L.

Physicochemical analyses of the three plants reveal the high acidity of *A. longa* with a pH of  $2,99 \pm 0,15$ , reducing sugars and protein content ( $12,19 \pm 1,58$  and  $1,91 \pm 0,02\%$ ) and *S. officinalis* in water, ash and lipids of ( $76 \pm 2\%$ ;  $3,16 \pm 0,15$  and  $8\%$ ) respectively.

The yield (%) of ethanolic extract was significant:  $38 \pm 4$ ;  $50,66 \pm 3,7$  and  $43,66 \pm 3,78\%$  for *S. officinalis*, *A. longa* and *L. albus* respectively.

The polyphenols for ethanolic extract of *S. officinalis*, *A. longa* and *L. albus* were ( $74,54 \pm 0,65$ ;  $38,25 \pm 0,33$  and  $59,66 \pm 0,56$  mg EAG/g) and for flavonoids ( $37,53 \pm 1,06$ ;  $27,86 \pm 0,19$  and  $10,74 \pm 0,22$  mg EQ/g) respectively. Regarding the antioxidant activity appreciated by the DPPH method, shows the capacity of ethanolic extract of *S. officinalis* and *L. albus* to trap free radicals, give IC 50 of  $0,106 \pm 0,001$ ;  $0,86 \pm 0,01$  mg/ml respectively and  $0,44 \pm 0,005$  mg/ml for methanolic extract of *A. longa*.

In addition, the antibacterial activity shows the strong capacity of *S. officinalis* methanolic extract to inhibit *B. subtilis*, *M. luteus*, *E. coli* and *S. aureus* ( $27,06 \pm 1,49$ ;  $15,43 \pm 2,23$ ;  $11,6 \pm 0,52$  and  $11,5 \pm 2,17$  mm) diameter inhibition respectively. The activity of their ethanol extract was  $26,62 \pm 2,97$  mm on *B. subtilis*,  $16,51 \pm 2,36$  mm against *M. luteus*,  $13,62 \pm 0,55$  mm on *S. aureus*, *P. aeruginosa* ( $12,30 \pm 1,59$  mm).

The results of in vivo study on the ethanolic extract of *S. officinalis* show that it does not cause any toxic effects at a dose of 2000 mg / kg of body weight. Above this level, the dose of 300 mg/kg body weight plays a very important role in reducing blood sugar levels in diabetic rats.

**Key words:** *Salvia officinalis* L., *Aristolochia longa* L. and *Lupinus albus* L., polyphenols, flavonoids, antioxidant, antibacterial, toxicity and antidiabetics.

## الملخص

يتطرق هذا العمل الى الكشف عن المركبات الكيميائية النباتية و دراسة النشاط البيولوجي للمستخلصات الميثانولية,

الايثانولية و المائية للنباتات التالية : *Salvia officinalis L.*, *Aristolochia longa L.* و *Lupinus albus L.* تظهر نتائج التحاليل الفيزيوكيميائية للنباتات الثلاثة أن نبتة *A. longa* تملك أعلى نسبة حموضة مقارنة ب *Lupinus albus L* و *Salvia officinalis L* حيث قدرت ب  $0,15 \pm 2,99$  مع نسبة سكريات مرجعة و بروتينات تقدر ب  $1,58 \pm 12,19$  و  $0,02 \pm 1,91$  % . كما ان *S. officinalis* تحتوي على نسبة رطوبة, رماد و دهون عالية تبلغ (  $0,15 \pm 3,16$ ;  $2 \pm 76$  ; 8%) على التوالي.

اما في ما يخص مردود المستخلصات المتحصل عليه يثبت ان المستخلص الايثانولي (*S. officinalis* , *A. longa* و *L. albus*) قدر بأعلى نسبة تتمثل في (  $4 \pm 38$  % ;  $3,7 \pm 50,66$  % ;  $3,78 \pm 43,66$  % ). اما من جهة اخرى فإن الكشف الكيميائي النباتي يؤكد أن المستخلص الايثانولي للنباتات المدروسة غني بالمركبات النشطة تشمل التانات, الفلافونويدات , الجليكوسيدات القلبية و الالكلويدات.

من ناحية ثانية فإن تحديد نسبة البوليفينول و الفلافونويد المحتواة في المستخلص الايثانولي *S. Officinalis* ; *L. albus* قدرت ب : (  $0,64 \pm 74,54$  ;  $0,56 \pm 59,66$  مغ مكافئ حمض غاليك للغرام الواحد) ; (  $1,06 \pm 37,53$  مغ مكافئ حمض غاليك للغرام الواحد) للمستخلص الميثانولي ل *A. longa* . و بخصوص الفلافونويد تقدر ب  $1,06 \pm 37,53$  و  $0,19 \pm 27,86$  ;  $0,22 \pm 10,74$  مغ مكافئ كيرسيتين لوحد غرام) بالنسبة لمستخلص الايثانولي *S. officinalis* و *L. albus*, *A. longa* على التوالي.

فيما يتعلق بالنشاط المضاد للأكسدة الذي تم تقييمه من خلال طريقة DPPH ، يُظهر قدرة المستخلص الإيثانولي ل *S. officinalis* و *L. Albus* في محاصرة الشوارد الحرة, اعطي IC 50 : (  $0,001 \pm 0,106$  ;  $0,01 \pm 0,86$  مغ / مل) و  $0,005 \pm 0,44$  مغ / مل للمستخلص الميثانولي ل *A. longa*.

علاوة على ذلك , يظهر النشاط المضاد للبكتيريا القدرة العالية للمستخلص الميثانولي ل *S. officinalis* لتثبيط *S. aureus*, *E. coli*, *M. luteus*, *B. subtilis* (  $2,23 \pm 15,43$  ;  $1,49 \pm 27,06$  ;  $0,52 \pm 11,6$  ;  $2,17 \pm 11,5$  ) مم قطر تثبيط على التوالي). اما نشاط المستخلص الايثانولي *M. luteus* (  $2,36 \pm 16,51$  ) ; *P. aeruginosa* , *B. subtilis* (  $1,59 \pm 12,30$  ;  $2,97 \pm 26,62$  ) مم قطر تثبيط على التوالي) ; *S. aureus* (  $0,55 \pm 13,62$  ) مم قطر تثبيط .

تظهر نتائج الدراسات التي اجريت على الجسم الحي بالمستخلص الايثانولي ل *S. officinalis* انه لا يسبب اي تاثير سام بجرعة 2000 مغ/كلغ من وزن الجسم , اما جرعة 300 مغ/كلغ من وزن الجسم تلعب دورا مهم في خفض نسبة السكر في الدم لدى الفئران المصابة بداء السكري.

الكلمات المفتاحية: *Salvia officinalis L.*, *Aristolochia longa L.*, *Lupinus albus L.*, بوليفينول ,

فلافونويدات, مضاد الاكسدة, مضاد البكتيريا, السمية و مضاد السكري.

## Liste des Abréviations

- A. Indica** : *Aristolochia Indica*.  
**A. longa**: *Aristolochia longa*.  
**ADN** : Acide désoxyribonucléique.  
**AK** : Antibiotique Amikacine 30µg.  
**AlCl<sub>3</sub>** : Chlorure d'aluminium.  
**ARN**: Acide ribonucléique.  
**ATCC**: American Type Culture Collection  
**ATP**: Adénosine triphosphate.  
**BMH**: Bouillon Muller Hinton.  
**BSA** : Sérum Albumine Bovine.  
**CAT** : Catalase.  
**CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice  
**DHHDP** :Déhydro-Hexa-Hydroxy-Diphénique  
**DNSA** : Acide 3,5-Dinitrosalicyclique  
**DPPH** :2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>).  
**EAG** : Equivalent Acide Gallique.  
**EQ** : Equivalent Quercétine.  
**ERO** : Espèces Réactives de l'Oxygène.  
**ES** : Extrait éthanolique de *Salvia Officinalis*  
**Ex Aq** : Extrait Aqueux.  
**Ex Et** : Extrait Ethanolique.  
**Ex Mé** : Extrait Méthanolique.  
**FeCl<sub>3</sub>** : chlorure ferrique.  
**GDES** : Groupe des rats Diabétique reçoit l'extrait éthanolique.  
**GDGL** : Groupe des rats Diabétiques sous traitement Glibenclamide.  
**GDS** : Groupe des rats Diabétique sans traitement.  
**GL** : Médicament Glibenclamide.  
**GLUT4** : Transporteur de glucose-4.  
**GPox** : Glutathion peroxydase sélénium-dépendante.  
**GR** : Glutathion réductase.  
**GST** : Glutathion- S transférase.  
**GT<sup>-</sup>** : Groupe des rats témoins négatifs.  
**GTES** : Groupe des rats de toxicité reçoit l'extrait éthanolique de *Salvia officinalis*.  
**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : Acide sulfurique.  
**HHDP** :Acide hyxahydroxydiphénique.  
**IC50** : Concentration inhibitrice médiane  
**KATP** : Canal potassique sensible à l'ATP.  
**CoA** : Coenzyme A.  
**Na<sub>2</sub> CO<sub>3</sub>** : Carbonate de sodium.  
**NADPH**: Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.  
**NH<sub>4</sub>OH** : Ammoniaque.  
**NO** : Monoxyde d'azote  
**O<sub>2</sub><sup>-</sup>** : Anion superoxyde  
**OCDE** : Organisation de Coopération et de Développement Economiques.  
**OH<sup>•</sup>** : Radical hydroxyle  
**P-450** : Cytochromes Protéine 450  
**P53** : Protéine 53.  
**RH** : Substrat organique.  
**SOD** : Enzyme Superoxyde dismutase.  
**SR** : Sucres réducteurs.  
**SUR1** : Sulfonylurée 1  
**TG** : Triglycérides.  
**TGO** :Glutamate-oxaloacetate transaminase.  
**TGP** : Glutamate-pyruvate-transaminase.  
**UFC** : Unité Formant Colonies.

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau N°01:</b> Principales classes de composés phénoliques .....	08
<b>Tableau N°02:</b> Screening phytochimiques des trois extraits des plantes étudiées.....	50
<b>Tableau N°03 :</b> Activité antibactérienne des extraits méthanolique, éthanolique et aqueux de <i>Salvia</i> , <i>Aristolochia</i> et <i>Lupinus</i> .....	65
<b>Tableau N°04 :</b> Concentration minimale inhibitrice des extraits des plantes <i>Salvia</i> , <i>Aristolochia</i> et <i>Lupinus</i> .....	68

## *Liste des figures*

<b>Figure N°01 :</b> Déséquilibre pro-oxydant et les antioxydants.....	14
<b>Figure N°02:</b> Effets nuisibles du stress oxydatif sur la santé humaine.....	16
<b>Figure N°03 :</b> Mécanisme d'activité antibactérienne par les composés bioactifs.....	20
<b>Figure N°04:</b> (A) Feuilles et tiges d' <i>Aristolochia longa</i> ;(B): feuilles et tiges verte de <i>Salvia officinalis</i> et (C) : grains de <i>Lupinus albus</i> .....	26
<b>Figure N°05:</b> (A) Extracteur Soxhlet (B) Récupération du solvant par le rotavapor.....	28
<b>Figure N° 06:</b> les trois plantes en poudre ; (A) : <i>A. longa</i> , (B) : <i>S. officinalis</i> et (C) : <i>L. albus</i> .....	30
<b>Figure N° 07:</b> Préparation des extraits éthanolique, méthanolique et aqueux des trois plantes .....	31
<b>Figure N°08 :</b> Etapes d'activités antibactérienne.....	36
<b>Figure N°09 :</b> Organigramme d'activité antibactérienne vis-à-vis des souches pathogènes..... .....	37
<b>Figure N°10:</b> (A) Rat en cage, (B) Pesé des rats.....	39
<b>Figure N°11:</b> (A) Sacrifice des rats, (B) Prélèvement des organes.....	40
<b>Figure N°12:</b> Plan de recherche de la toxicité d'extrait éthanolique des plantes <i>S. officinalis</i> .....	41
<b>Figure N°13:</b> (A) Injection intrapéritonéale, (B) Administration d'extrait par gavage.....	42
<b>Figure N°14:</b> Organigramme d'activité antidiabétique d'extrait éthanolique de la sauge. .....	43
<b>Figure N°15:</b> (A) Capsules de porcelaine pour la détermination de taux des cendres, (B) Série de dilution pour le dosage des protéines de <i>S. officinalis</i> .....	44
<b>Figure N°16:</b> Bilan physicochimique des trois plantes.....	45
<b>Figure N°17:</b> Rendement des extraits méthanolique, éthanolique et aqueux pour les trois plantes <i>S. officinalis</i> , <i>A. longa</i> et <i>L. albus</i> .....	47
<b>Figure N°18:</b> Taux des polyphénols des extraits de <i>S. officinalis</i> .....	51
<b>Figure N°19 :</b> Teneur des extraits d' <i>A. longa</i> en polyphénols.....	52
<b>Figure N°20 :</b> Résultats des polyphénols des extraits de <i>L. albus</i> .....	53
<b>Figure N°21 :</b> Taux des flavonoïdes de <i>S. officinalis</i> .....	54
<b>Figure N°22 :</b> Dosage de flavonoides des différents extraits d' <i>A. longa</i> .....	55
<b>Figure N°23 :</b> Teneur de <i>L. albus</i> en flavonoides.....	56

<b>Figure N° 24:</b> IC50 exprimée en mg/ml des extraits méthanolique, éthanolique et aqueux de <i>Salvia</i> , <i>Aristolochia</i> et <i>Lupinus</i> .....	57
<b>Figure N°25 :</b> Activité antibactérienne de <i>S. officinalis</i> .....	60
<b>Figure N°26 :</b> Activité antibactérienne d ' <i>A. longa</i> .....	62
<b>Figure N°27 :</b> Zones d'inhibition d'extrait éthanolique et aqueux des plantes contre <i>B. subtilis</i> .....	63
<b>Figure N°28 :</b> Activité antibactérienne de <i>L. albus</i> .....	63
<b>Figure N°29 :</b> (A) : CMI par la méthode de macrodilution, (B) : Ensemencement des tubes qu'ont absence de trouble.....	66
<b>Figure N°30:</b> Evolution du poids corporelle durant 4 semaines d'études.....	69
<b>Figure N°31:</b> Prise alimentaire des rats durant les 4 semaines d'expérimentation.....	70
<b>Figure N°32 :</b> Représente les résultats de bilan des analyses après le sacrifice.....	71
<b>Figure N°33 :</b> Evolution du poids au cours de l'étude d'activité antidiabétique pendant 07 semaines.....	72
<b>Figure N°34 :</b> Quantité d'aliment ingéré pour les différents groupes au cours d'expérimentation.....	74
<b>Figure N° 35:</b> Evolution de la glycémie pendant les 07 semaines.....	75
<b>Figure N° 36:</b> Représente le bilan sanguin des rats d'expérimentation d'activité antidiabétique.....	76

## *Liste des annexes*

<b>Annexe I</b> : Quelques matériels et produit utilisés.....	108
<b>Annexe II</b> : Screening phytochimique.....	109
<b>Annexe III</b> : Courbes d'étalonnage.....	110
<b>Annexe IV</b> : Différents dosages.....	111
<b>Annexe V</b> : Composition des milieux.....	112
<b>Annexe VI</b> :Activité antibactérienne.....	113
<b>Annexe VII</b> : Répartition des groupes.....	117
<b>Annexe VIII</b> : Activité antidiabétique .....	118
<b>Annexe IX</b> : Sacrifice des rats.....	119
<b>Annexe X</b> : Kits des analyses du sang.....	120
<b>Annexe XI</b> : Participations Scientifiques.....	128
<b>Annexe XII</b> : Publications Scientifiques.....	129

*Liste des abréviations*

*Liste des tableaux*

*Liste des figures*

*Liste des annexes*

## ***Sommaire***

***Introduction.....1***

### ***Partie I : Synthèse Bibliographique***

***I. Phytothérapie ..... 3***

***I.1. Plantes médicinales ..... 3***

*I.1.1. Caractérisation des plantes médicinales ..... 3*

***I.2. Description des plantes étudiées ..... 3***

*I.2.1. *Salvia officinalis* (Sauge) ..... 3*

*I.2.2. *Aristolochia longa* L. .... 5*

*I.2.3. *Lupinus Albus* L ..... 6*

***II. Composés bioactifs..... 7***

***II.1. Classification des composés bioactifs ..... 7***

*II.1.1. Composés phénoliques ..... 8*

*II.1.2. Terpénoides..... 10*

*II.1.3. Alcaloïdes ..... 10*

*II.1.4. Autres métabolites secondaires..... 11*

***III. Activités biologiques des plantes médicinales..... 12***

***III.1. Activité antioxydante ..... 12***

*III.1.1. Stress oxydatif et radicaux libres ..... 12*

*III.1.2. Antioxydants ..... 16*

***III.2. Activité antibactérienne..... 17***

*III.2.1. Description de bactéries étudiées ..... 17*

III.2.2.	Mécanisme d'activité antibactérienne des plantes médicinales.....	19
<b>III.3.</b>	<b>Activité antidiabétique.....</b>	<b>20</b>
III.3.1.	Diabète .....	20
III.3.2.	Classification.....	21
III.3.3.	Mécanisme du diabète.....	21
III.3.4.	Induction chimique du diabète.....	22
III.3.5.	Activité antidiabétique des plantes médicinales.....	23

## ***Partie II: Etude expérimentale***

<b>I.</b>	<b>Matériels et Méthodes .....</b>	<b>25</b>
<b>I.1.</b>	<b>Objectif de travail .....</b>	<b>25</b>
<b>I.2.</b>	<b>Lieu du travail .....</b>	<b>25</b>
<b>I.3.</b>	<b>Matériel végétal .....</b>	<b>26</b>
<b>I.4.</b>	<b>Analyses physicochimiques .....</b>	<b>26</b>
I.4.1.	pH.....	26
I.4.2.	Détermination de la teneur en eau .....	26
I.4.3.	Détermination du taux de cendres.....	27
<b>I.5.</b>	<b>Analyses biochimiques .....</b>	<b>27</b>
I.5.1.	Détermination du taux des lipides .....	27
I.5.2.	Détermination du taux des sucres réducteurs.....	28
I.5.3.	Dosage des protéines .....	29
<b>I.6.</b>	<b>Analyses phytochimiques.....</b>	<b>29</b>
I.6.1.	Préparation du matériel végétal pour les extraits.....	29
I.6.2.	Préparation des extraits .....	30
I.6.3.	Rendement des extraits .....	32
I.6.4.	Screening phytochimique.....	32

I.6.5.	Dosage des polyphénols.....	33
I.6.6.	Dosage des flavonoïdes .....	34
I.6.7.	Activité antioxydante .....	34
<b>II.</b>	<b>Activité antibactérienne .....</b>	<b>35</b>
II.1.	Méthode de diffusion sur gélose.....	35
II.2.	Méthode de Macrodilution .....	36
<b>III.</b>	<b>Toxicité et l'activité antidiabétique d'extrait éthanolique de <i>S. officinalis</i>.....</b>	<b>39</b>
III.1.	Hébergement et suivi des animaux .....	39
III.2.	Etude de la toxicité d'extrait éthanolique de <i>S. officinalis</i> .....	39
III.1.	Activité antidiabétique d'extrait éthanolique de <i>S. officinalis</i> .....	42
<b>IV.</b>	<b>Etude statistiques.....</b>	<b>44</b>

## **II. Résultats et Discussion**

<b>I.</b>	<b>Analyses physicochimiques .....</b>	<b>44</b>
<b>II.</b>	<b>Analyses phytochimiques.....</b>	<b>45</b>
II.1.	Rendement des extraits.....	45
II.2.	Screening phytochimique .....	48
II.3.	Dosage des polyphénols.....	50
II.4.	Dosage des flavonoïdes.....	54
II.5.	Activité antioxydante « DPPH » .....	57
<b>III.</b>	<b>Activité antibactérienne .....</b>	<b>60</b>
III.1.	Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits des plantes étudiées.....	60
III.2.	Concentration minimal inhibitrice (CMI).....	66
<b>IV.</b>	<b>Activité Antidiabétique.....</b>	<b>69</b>
IV.1.	Test de toxicité .....	69
IV.2.	Activité antidiabétique.....	72

IV.2.1.	Hypoglycémie et l'évolution du poids .....	72
IV.2.2.	Nourriture ingérée des différents groupes expérimentaux .....	73
IV.2.3.	Impact d'extrait éthanolique de la sauge sur la glycémie et le bilan sanguin.....	74
	<b>Conclusion.....</b>	<b>80</b>
	<b>Références Bibliographiques.....</b>	<b>82</b>
	<b>Annexes.....</b>	<b>108</b>

# *Introduction*

Les plantes médicinales interviennent dans la médecine moderne par leurs richesses en composés bioactifs des différentes parties de la plante. Ces composés d'origine naturelle participent dans divers domaines tels que cosmétique, technologie alimentaire et pharmaceutique (**Wu et Chappell, 2008; Sharma et al., 2019**).

Les molécules bioactives sont des constituants extranutritionnels participant dans les activités physiologiques ou cellulaires chez les humains et les animaux en fournissant des activités biologiques ; antioxydantes, anti-inflammatoires, anti-cancérogènes protègent contre les troubles métaboliques (**Kris-Etherton et al., 2002 ; Walia et al., 2019**).

Le diabète sucré est une pathologie liée aux troubles métaboliques qui se traduit par l'augmentation du niveau de glucose dans le sang par la carence de la sécrétion ou de l'action d'insuline produite. Cette pathologie est liée à plusieurs facteurs parmi lesquels le stress oxydatif qui entraîne un déséquilibre entre la production des radicaux libres et leur élimination par les antioxydants. Le stress oxydatif participe dans le diabète par la glycation non enzymatique des protéines, l'oxydation du glucose et l'augmentation de la peroxydation lipidique se qui entraîne des altérations de systèmes enzymatiques et de la machinerie cellulaire ainsi qu'une résistance accrue à l'insuline (**Asmat et al., 2015**).

Le traitement des maladies complexes nécessite le développement des médicaments synthétiques. Ces dernières peuvent guérir diverses pathologies mais en parallèle provoquent des effets néfastes sur la santé humaine avec une intensité plus ou moins à sévère (**Nisar et al., 2017**). Pour palier à cette menace grandissante, les recherches s'intéressent aux plantes médicinales principales ressources en agents thérapeutiques. En plus de leur usage en soins de santé par environ 80% de la population mondiale (**Oliveira et al., 2013**).

En effet, ce sont des sources d'une variété de composés biologiquement actifs ; composés phénoliques doués de propriétés antioxydantes et les potentiels antimicrobiens (**Kaneria et al., 2012**).

Les plantes *Salvia officinalis*, *Aristolochia longa* et *Lupinus albus* sont les plus utilisées dans la pharmacopée traditionnelle de la région de Tiaret en Algérie pour le traitement de plusieurs maladies.

Les différentes parties des plantes *Salvia officinalis*, *Aristolochia longa* et *Lupinus albus*, de part leur richesses en composés bioactifs peuvent être des éléments essentiels pour l'inhibition des bactéries pathogènes et la réduction de différents pathologies (**Alimpić et al., 2014 ; Merouani et al., 2017 ; Karamać et al., 2018**).

Ce travail visait la valorisation biologique des plantes *Salvia officinalis L.*, *Aristolochia longa L.* et *Lupinus albus L.* et porte sur deux axes :

❖ Premier axe :

- ✓ Analyses physicochimiques pour la détermination de la qualité des plantes.
- ✓ Dépistage phytochimique pour confirmer la richesse en composés bioactifs.
- ✓ Dosages des polyphénols et des flavonoïdes.
- ✓ Etude in vitro de l'activité antioxydante par la méthode de piégeage des radicaux libres et antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* par la technique d'imprégnation des disques et Macrodilution.

❖ Deuxième Axe :

- ✓ In vivo : Dans laquelle on cherche l'effet toxique et l'activité antidiabétique du meilleur extrait par le développement de diabète chimio-induit chez les rats Wistar.

*Partie I : Synthèse*  
*Bibliographique*

## **I. Phytothérapie**

La phytothérapie est une médecine basée sur les plantes et leurs extraits, à l'aide d'une association entre l'aromathérapie par des essences végétales issue des plantes et gemmothérapies qui utilise les bourgeons ou les jeunes pousses des végétaux (**Morin, 2008 ; Boukhobza et Goetz, 2014**).

La phytothérapie développe la synthèse des médicaments à partir des sources naturelles, considère comme une médecine douce qui n'a pas des effets indésirables sur la santé humains (**Amandine, 2014**). Récemment, les chercheurs s'intéressent à minimiser les effets secondaires des médicaments synthétiques pour laquelle sont orientés vers la pharmacopée traditionnelle par utilisation des composés issues des plantes médicinales pour la guérison et le traitement des maladies le cas du cancer, diabète, Alzheimer et les maladies infantiles (**Akhondzadeh et al ., 2003 ; Solowey et al., 2014, Kouchade et al., 2017**).

### **I.1. Plantes médicinales**

Les plantes médicinales sont des herbes utilisées en médecine pour le traitement de plusieurs maladies grâce à leur richesse en composés bioactifs. Elles sont utilisées dans la prévention et le traitement des maladies pour réduire l'utilisation des composants chimiques.

#### **I.1.1. Caractérisation des plantes médicinales**

Les plantes médicinales ont de nombreuses caractéristiques lorsqu'elles sont utilisées comme traitement, comme suit (**Hassan, 2002**):

- **Synergie médicamenteuse** : Les ingrédients des plantes interagissent tous entre eux. Leur utilisation peut compléter les autres ou neutraliser leur éventuel effet négatif.
- **Soutien de la médecine officielle** : dans le cas des maladies complexes, les plantes sont les plus efficace.
- **Médecine préventive** : Il est démontré que les composants des plantes peuvent inhiber la prolifération de certaines maladies en réduisant l'utilisation des composants chimiques.

### **I.2. Description des plantes étudiées**

#### **I.2.1. *Salvia officinalis* (Sauge)**

La sauge est certainement la reine des herbes aromatique et l'une des plus anciennement cultivée, parée de toutes les qualités. Le genre *Salvia* « Lamiacées » regroupe plus 800 espèces. Ce groupe comprend des plantes herbacées (annuelles et vivaces) et semi arbustives (**Noémie, 2013**).

Le nom scientifique de la sauge indique clairement l'importance de son rôle en phytothérapie : *Salvia* vient de *salvare* qui, en latin, signifie « guérir ». La sauge agit contre les maux de gorge et les troubles de la digestion ; elle est légèrement stimulante. Sa saveur est chaude, amère et astringente (**Trousseau, 1858 ; Iserin, 2001**).

La sauge est une herbe vivace arbustive originaire des régions méditerranéennes et des Balkans. C'est une plante toujours verte de la famille Lamiaceae et appartient au genre *Salvia*, qui fait partie des membres très répandus de *Salvia officinalis* (**Ghorbani et Esmailizadeh, 2017**).

La sauge préfère les sols bien drainés, riches en azote, à texture équilibré mais plutôt argileux et peut tolérer un pH de 4,9 à 8,2. Le soleil est un facteur très important pour leur croissance alors que l'arrosage exagéré peut inhiber la croissance ou tuer la plante (**Ernest et Deutsch, 2001**).

#### **I.2.1.1. Description morphologique**

*Salvia officinalis* est la plus couramment cultivée : c'est un sous-arbrisseau vivace, ses tiges dressées sont ramifiées. Plante mellifère, elle possède des fleurs opposées, Bleu-mauve disposées par trois à six et formant un épi terminal. Elle atteint de 40 cm à 90 cm à grandes feuilles persistantes, vert-gris, aromatiques, épaisses, ovales (**Noémie, 2013**).

#### **I.2.1.2. Composition**

- Huile essentielle (1 à 2%)
- Diterpènes
- Composés phénoliques dont l'acide rosmarinique
- Tanins.

#### **I.2.1.3. Usage**

*Salvia officinalis* est une plante multidisciplinaire qui participe dans la cuisine en parfumant les grillades, les marinades, les sauces et les plats soit de viande, de poissons et des pâtes. Elle est aussi utilisée pour faire des confitures et peut être incorporée dans certains gâteaux et des glaces (**Rebiere et Rebiere, 2019**).

Elle participe dans le domaine médical ; grâce à son effet antioxydant ; antibactérien, anti-inflammatoire, anticancéreux et antidiabétique à cause de sa richesse en composés bioactifs (**Nascimento et al., 2000, Melo et al., 2012, Rasmay et al., 2012 et Alimpić et al., 2014**).

Aussi utilisée comme astringent et antiseptique grâce à la combinaison de ses propriétés antiseptiques, calmantes et astringentes. En outre, elle clarifie les bronches, facilite la digestion gastrique, régularise le cycle menstruel, régule la transpiration.

### **I.2.2. *Aristolochia longa* L.**

*Aristolochia* est un genre de la famille Aristolochiaceae qui se compose d'environ 400 espèces d'herbacées vivaces, sous-arbustes ou arbustes renfermant des huiles essentielles. Ce genre est largement répandu à travers le monde : Asie tropicale, Afrique et Amérique du Sud (Chawla et al., 2013).

Le nom d'aristolochie a été donné à cause des propriétés toniques et emménagogues qu'on attribue à leurs racines (Lamarck, 1805).

*Aristolochia longa* est le genre le plus utilisé dans la pharmacopée traditionnelle algérienne en raison de ses multiples effets ; se traduit par sa richesse en métabolites secondaires comprend essentiellement les alcaloïdes, terpénoides, glycosides cardiaques, polyphénols et les flavonoïdes (Derouiche et al., 2018). Ces composés ont un rôle majeur dans la réduction du stress oxydatif qui participe dans plusieurs maladies dont le cancer et le diabète et le rôle d'un antibiotique contre plusieurs bactéries pathogènes (Merouani et al., 2017).

#### **I.2.2.1. Description morphologique**

*Aristolochia longa* est une plante vivace à tige grêle, anguleuse, herbacée, mince, penchée, allongée et atteignant jusqu'à un mètre de longueur. Les feuilles sont longues pétiolées, alternées, très entières, en forme de cœur, cordées à la base. Les fleurs sont jaunâtres, longues, solitaires, axillaires, plus longues que les feuilles. Sa racine est un tubercule allongé presque cylindrique de couleur grise en dehors, blanche en dedans, grosse, longue, elle fleurit vers le mois de juin (Lamarck, 1805 ; Thielens, 1862).

#### **I.2.2.2. Composition**

La plante contient une substance volatile nauséabonde, un alcaloïde et une grande quantité de sels. L'alcaloïde est amorphe et ne donne aucune réaction de couleur avec les acides minéraux forts. La teinture amère est concentrée sur des cristaux cubiques de chlorure de potassium (Dymock et al., 1893).

### **I.2.2.3. Usage**

*Aristolochia longa* entre dans la composition de plusieurs médicaments ; comme elle est efficace contre la goutte et le catarrhe pulmonaire (**Gubler, 1868**).

Actuellement, plusieurs études prouvent l'effet antibactérien, antioxydant et par conséquence la prévention et le traitement des maladies liées au stress oxydatif telles que le cancer et le diabète (**Raju et al., 2016; El Omari et al., 2019**).

### **I.2.3. *Lupinus Albus L***

#### **I.2.3.1. Description morphologique**

*Lupinus albus*, nommé lupinus blanc est connu localement sous le nom de termis. C'est une plante herbacée annuelle cultivée dans les jardins, la tige est dressée cylindrique, arrondie, droite et simple qui s'élève à environ 30 cm. Elle est ainsi que les feuilles, recouverte de longs poils doux et blanchâtres. Ses feuilles sont irrégulières alternées avec de longs pétioles, aux sommets desquels naissent cinq ou sept folioles ovales, aiguës, molles douce au toucher.

Ses fleurs blanches sont alternées et forment sur les courts pédicelles des grappes droites et terminales à la tige et aux rameaux. Elles sont papilionacées et composées d'un calice velu à deux lèvres dont la supérieure est entière et l'inférieure tridentée. La gousse est allongée, épaisse, velue, contenant six à huit graines arrondies.

Toutes les parties de lupin sont inodores et un peu amères ; les graines connues sous le nom de lupins sont seules employées en médecine, leur substance intérieure est jaunâtre et leur saveur assez amère et désagréable (**Gautier, 1822; Richard, 1831**).

#### **I.2.3.2. Composition selon (Erbaş et al., 2005)**

- Protéines : 32,5% .
- Fibres : 16,2%.
- Huiles : 5,95% : 13,5% acide gras saturés, 55,4 % acides gras mono-insaturés et 31,1 % acide gras polyinsaturés.
- Sucres : 5,82 %.

### **I.2.3.3. Usage**

Richesses des graines de *lupinus albus* en glucides, protéines, fibres. Ces graines cultivées traditionnellement pour la consommation humaine et comme engrais vert mais aussi comme plante fourragère.

Avant d'être consommées, les graines sont tout d'abord mises à tremper 1-3 jours dans l'eau courantes afin d'en éliminer les alcaloïdes amers et toxiques, puis cuites et consommées comme légumes secs ou marinées en saumure et servies en amuse-gueule (**Brink et Belay, 2006**).

## **II. Composés bioactifs**

Les "Composés bioactifs" sont des constituants extra-nutritionnels qui apparaissent généralement en petites quantités dans les aliments (**kitts, 1994**). Ils représentent une gamme diversifiée de molécules non nécessaires pour la vie des cellules mais jouant un rôle majeur dans l'interaction entre les cellules et l'environnement (**Verpoorte et Alfermann, 2013**).

Ces composants évoquent des effets bénéfiques sur la santé humaine et animale ; physiologiques, comportementaux et immunologiques. Plusieurs études prouvent l'effet chimio-préventif de ces produits contre plusieurs maladies comme certaine forme de cancer, diabète, obésité et Alzheimer (**Hosseini et Ghorbani, 2015 ; Obiudu et al., 2015 ; Ben Younes, 2018 ; Elsayi et al., 2018; Hartman, 2018** ).

### **II.1. Classification des composés bioactifs**

On peut les classer selon plusieurs critères ; l'origine de la plante, biosynthèse et la structure chimique. C'est le cas des alcaloïdes qui possèdent une fonction nitrogène et pour les composés phénoliques qu'ont un système aromatique ayant un ou plusieurs groupe hydroxyles (**Verpoorte et Alfermann, 2013**).

On distingue trois classes majeurs sont (**Calatayud et al., 2013**) :

- Composés phénolique.
- Terpénoides.
- Alcaloïdes.

### II.1.1. Composés phénoliques

Plus de 8000 composés phénoliques ont été découverts ; ce sont des composés simples, de faible poids moléculaire, à cycle aromatique unique aux tanins et aux dérivés polyphénoliques.

Ils peuvent être classés en fonction du nombre et de la disposition de leurs atomes de carbone (Tableau N°01) et sont couramment conjugués aux sucres et aux acides organiques. Les composés phénoliques peuvent être classés en deux groupes : les flavonoïdes et les non flavonoïdes (Crozier *et al.*, 2007 ; Ejaz *et al.*, 2017).

**Tableau N°01 : Principales classes de composés phénoliques (Macheix, 1996).**

Nombre d'atomes de de carbone	Squelette de base	Classe	Exemple	Plante alimentaire (Exemple)
6	C <sub>6</sub>	Phénols simples	Catéchol	
7	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	A. Hydroxybenzoïques	p- Hydroxybenzoïque	Epices, fraise
9	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	A. Hydroxycinnamiques	Acide Caféique	Pomme, P. de terre. Citrus
		Coumarines	Scopoline	
10	C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	Naphthoquinones	Juglone	Noix
13	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub>	Xanthones	Mangiférine	Mangue
15	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flvonoides	Quercétol, cyanidol	Fruits, légumes. Soja, pois.
		Isoflavonoides	Daidzéine	
n	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>n</sub>	Lignines		Fruits à noyau
n	(C <sub>15</sub> ) <sub>n</sub>	Tanins		Raisin rouge, Kaki

### **II.1.1.1. Flavonoïdes**

Ce sont des substances naturelles à structure phénolique variable constituées de quinze atomes de carbones avec deux cycles aromatiques reliés par un pont à trois atomes de carbones, se trouvant dans les fruits, les légumes, les céréales, l'écorce, les racines, les tiges et les fleurs. Les flavonoïdes sont maintenant considérés comme des composants indispensables dans diverses applications pharmaceutiques, médicinales et cosmétiques (**Crozier et al., 2007**).

### **II.1.1.2. Non flavonoïdes**

#### **a. Acides phénoliques**

Les acides phénoliques sont présents en abondance dans les aliments, ils incluent les acides hydroxybenzoïques (acides vanilliques), les acides hydroxycinnamiques (acides caféïques) et les coumarines (**Pandey, 2009; Calatayud et al., 2013**).

Les deux classes fréquentes d'acides phénoliques sont :

1. Acides hydroxybenzoïques: les acides phénoliques en C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>, dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque sont très communs aussi bien sous forme libres que combinés à l'état d'esters ou d'hétérosides (Acide benzoïque, p-hydroxybenzoïque, salicylique, vanillique, gallique).

2. Acide hydroxycinnamique : ce sont des acides phénoliques en C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>, acide- 4-coumarique, caféïque, sinapique en une distribution très large ; les autres (acide -2 coumarique) sont peu fréquent (**Bruneton, 2009**).

#### **b. Tanins**

Les tanins constituent un groupe hétérogène de composés polyphénoliques, présents dans un nombre considérable d'aliments végétaux. Le terme tanin est dérivé des propriétés de ces composés d'interagir et de précipiter des macromolécules, telles que des protéines. Par la suite, une définition générale des tanins est apparue, les désignant comme des polyphénols de haut poids moléculaire qui précipitent les protéines de la solution (**Combs, 2016**).

Un tanin est une molécule phénolique hydrosoluble capable de précipiter la gélatine, certains alcaloïdes et les protéines (**Lekha et Lonsane, 1997**).

Les tanins sont utilisés depuis l'antiquité par l'Homme pour le traitement des peaux d'animaux, ils ont une importance économique et écologique considérable et sont responsables de l'astringence de nombreux fruits et légumes et des produits qui en sont dérivés (vin, thé, bière...). Leurs propriétés sont tannantes, c'est-à-dire capables de transformer la peau fraîche en un matériau imputrescible (**Macheix et al., 2005 ; Bruneton, 2009**).

➤ **Classification**

On distingue deux groupes différents par leur structure et leur origine biogénétique :

**1. Tanins hydrolysables :** ce sont des oligo ou des polyesters d'un sucre généralement le glucose et d'un nombre variable de molécules d'acide phénolique soit l'acide gallique dans le cas des tanins gallique, soit l'acide hexahydroxydiphénique (HHDP) et dérivé d'oxydation (déhydro-hexa-hydroxy-diphénique 'DHHDP', l'acide chébulique) dans le cas des tanins éllagiques.

**2. Tanins condensés :** ou proanthocyanidols sont des polymères flavanique. Ils sont constitués d'unités de flavan3-ols liées entre elles par des liaisons carbonées- carbonées le plus souvent 4-8 ou 4-6 (**Bruneton, 2009**).

**II.1.2. Terpénoïdes**

Les terpénoïdes constituent une grande famille de phytoconstituants ayant peu de points communs fonctionnels et structurels. Les stéroïdes, les caroténoïdes et l'acide gibbéréllique ne sont que quelques-uns de ses membres. Ils sont composés du groupe le plus important de composés actifs dans les plantes avec plus de 23 000 structures connues (**Kabera et al., 2014**).

**II.1.3. Alcaloïdes**

Les alcaloïdes sont un groupe diversifié de composés azotés dérivés principalement des acides aminés, basique, de faible poids moléculaire, d'origine naturelle. Leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique (**Zeigler et Facchin, 2008 ; Bruneton, 2009**).

On distingue trois classes d'alcaloïdes :

➤ **Alcaloïdes vrais** : sont dérivés d'acides aminés et partagent un noyau hétérocyclique avec l'azote. Caractérisés par une activité biologique très forte même si à faible dose et par un goût amer, forment des sels solubles dans l'eau (**Aniszewski, 2007**).

➤ **Proto-alcaloïdes** : sont des amines simples dont lesquels l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique, ils ont une réaction basique (**Bruneton, 2009**).

➤ **Pseudo-alcaloïdes** : c'est le cas des alcaloïdes monoterpéniques et diterpéniques qui ont les mêmes caractéristiques des alcaloïdes vrais mais ne dérivent pas d'acides aminés ; le plus connu est l'isoprénoïde (**Bruneton, 2009**).

## **II.1.4. Autres métabolites secondaires**

### **II.1.4.1. Glycosides**

Les glycosides sont des molécules très répandus dans la nature ; l'aglycone est la partie non sucrée de la molécule et peut être le méthanol, le glycérol, un phénol ou une base d'adénine (**Botham et al., 2017**).

On distingue :

#### **a) Glycosides cardiaques**

Les glycosides cardiaques sont des métabolites secondaires des plantes disséminés dans plusieurs familles d'angiospermes non apparentés. Le précurseur immédiat des glycosides cardiaques est la progestérone (D6.4.5). Les deux atomes de carbone supplémentaires du cycle cardénolide proviennent de l'acétate (acétyle ou malonyl CoA, D3.1). Les trois atomes de carbone correspondants du cycle bufadienolide sont dérivés de l'acide propionis (propionyl ou méthylmalonyl CoA, D4). La progestérone est réduite ou hydratée pour donner des dérivés avec une structure de 5  $\alpha$  ou 5  $\beta$  prégnane. L'hydroxylation en C-14 précède la formation du cycle lactone. Certains des glycosides cardiaques sont des produits pharmaceutiques importants dans le traitement de l'insuffisance cardiaque (**Wink, 1999 ; Luckner, 2013**).

#### **b) Saponines**

Les saponines sont des glycosides de poids moléculaire élevé, constitués de sucres liés à un triterpène ou à une aglycone stéroïde. Ils peuvent être des stéroïdes glycosylés ou des stéroïdes, alcaloïdes glycosylés soit des hétérosides triterpéniques.

La combinaison entre ce dernier hydrophobe et un glucide hydrophile confère aux saponosides des propriétés tensioactives ou de détergent qui lorsqu'ils sont agités avec l'eau produisent une mousse savonneuse (**Hopkins, 2003 ; Hostettmann et Marston, 2005**).

Leurs effets sont très variables. Ils ont un goût amer et âcre et provoquent une fois ingérés d'importantes irritations gastriques. S'ils sont injectés dans le circuit sanguin, ils provoquent l'hémolyse des globules rouges (**Hopkins, 2003**).

### **III. Activités biologiques des plantes médicinales**

C'est l'orientation vers des substances naturelles pour minimiser, inhiber ou bien traiter plusieurs maladies liées à diverses causes soit alimentaires, soit chimique ou bien héréditaire.

En outre, les nouvelles recherches s'intéressent à la réalisation des études qui confirment l'activité biologique des plantes médicinales et leurs extraits grâce à leur composition chimique et phytochimique dans l'amélioration des techniques de la sélection, le criblage et la séparation des molécules d'intérêt biologique.

#### **III.1. Activité antioxydante**

##### **III.1.1. Stress oxydatif et radicaux libres**

###### **III.1.1.1. Stress oxydatif**

C'est un état où les forces oxydatives dépassent le système antioxydant, soit par une production excessive des espèces réactives d'oxygène ou des radicaux libres, soit par une diminution des capacités antioxydantes, c'est le cas chez les personnes souffrant l'obésité et les fumeurs (**Yoshikawa et Naito, 2002 ; Migdal et al., 2011**).

Par conséquent, les espèces d'oxygènes actifs et les radicaux libres peuvent attaquer les molécules des membranes et les tissus biologiques, induisant plusieurs maladies. Néanmoins, ils agissent sur les cellules immunitaires responsables de la destruction des cellules bactérienne et sur la tonification des muscles lisses, qui régulent à leur tour le fonctionnement normal des vaisseaux sanguins et les organes internes (**Halliwell et Gutteridge, 1999 ; Yoshikawa et Naito, 2002**).

### **III.1.1.2. Radicaux libres**

Ce sont des molécules ou des fragments moléculaires contenant un ou plusieurs électrons non appariés en orbite atomique, ce qui augmente la réactivité chimique d'un atome ou une molécule (**Halliwell et Guteridge, 1999**).

Les radicaux libres primaires jouent un rôle dans la physiologie ; l'anion superoxyde  $O_2^-$ , le radical hydroxyl  $OH\cdot$  et monoxyde d'azote  $NO\cdot$ . Les radicaux libres secondaires résultent des réactions des radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (**Favier, 2006**).

### **III.1.1.3. Production des radicaux libres**

Les radicaux libres sont produits en quantité limitée dans le corps humain, si cette quantité augmente, elle provoque un déséquilibre pro-oxydant/ antioxydant. Ce phénomène résulte grâce aux facteurs multiples externes tels que l'exposition aux rayons X, à l'ozone, au tabagisme, aux polluants atmosphériques, carence nutritionnelle et aux produits chimiques industriels (**Figure N°01**).

L'excès de production résulte de plusieurs processus enzymatiques par la génération d'ATP dans les mitochondries grâce à l'intervention des enzymes de la chaîne respiratoire, la phagocytose, la synthèse des prostaglandines et la synthèse cytochrome P-450 (**Halliwell et Guteridge, 1999; Favier, 2006; Lobo, 2010**).

L'inflammation est une source très importante des radicaux oxygénés produits par les cellules phagocytaires activées siège d'un phénomène appelé explosion oxydatif par l'activation de complexe NADPH oxydase capable d'utiliser l'oxygène pour produire une grande quantité d'anions superoxydes au niveau de la membrane cellulaire. Ils existent d'autres réactions de production dont le cycle du redox qui représente une source très importante de radicaux libres (**Favier, 2006**).

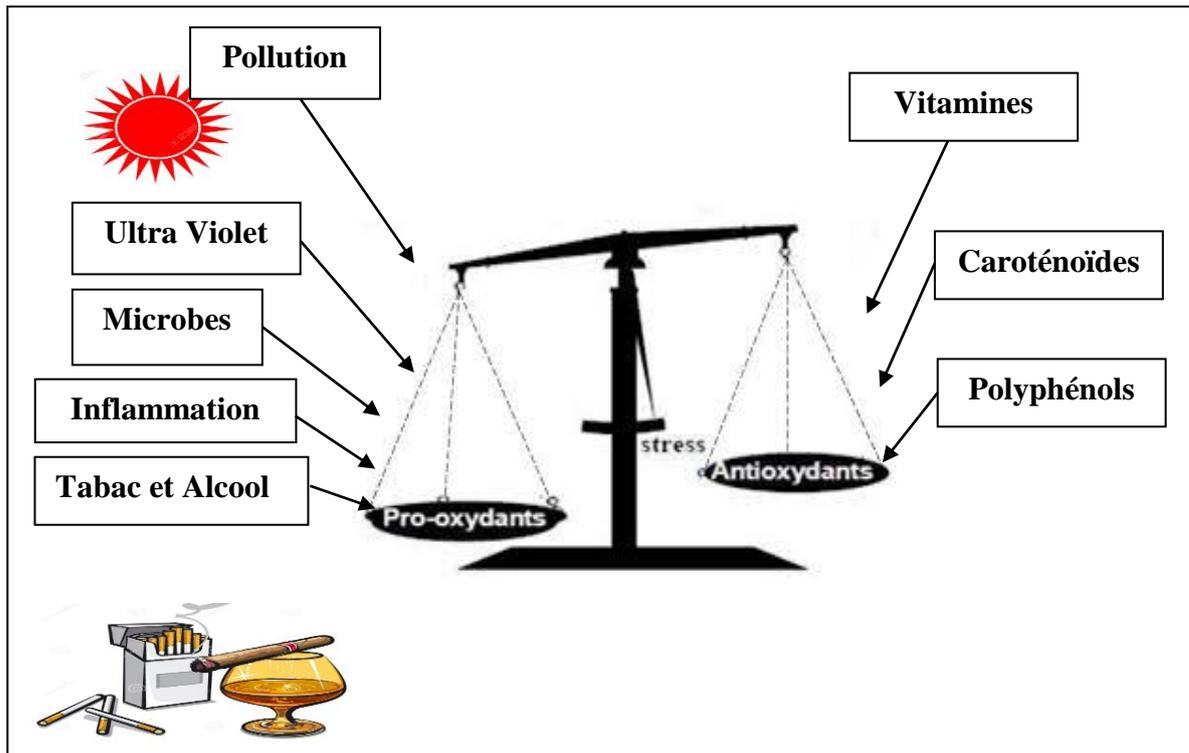


Figure N°01 : Déséquilibre pro-oxydant et les antioxydants (Favier, 2006 ; Islam et al., 2015).

#### III.1.1.4. Principales cibles des radicaux libres

Ils existent trois modes d'oxydation d'un substrat par les radicaux libres (Durand, 2013) :

1. Arrachement d'un électron.
2. Arrachement d'un hydrogène sur un substrat organique RH.
3. Addition sur double liaison.

#### III.1.1.5. Effets des radicaux libres

L'excès des radicaux libres dans l'organisme peut entraîner plusieurs dommages moléculaires, c'est le cas de la peroxydation des lipides, l'oxydation des protéines et les dommages de l'ADN.

## **1. Dommages des protéines pouvant être modifiés par l'oxydation en trois façons**

➤ Modification oxydative d'acides aminés spécifiques à l'aide de clivage peptidique et la formation de réticulation protéique due à une réaction avec des produits de peroxydation lipidique.

➤ Modification des protéines par l'augmentation de la sensibilité à la protéolyse enzymatique.

➤ Dommages oxydatifs causés aux produits protéiques pouvant affecter l'activité enzymatique des récepteurs et le transport membranaire (**Lobo, 2010**).

## **2. Dommages des lipides**

Les cibles majeures sont les acides gras polyinsaturés des membranes et initiées par la peroxydation lipidique. En effet, la diminution de la fluidité membranaire qui altère leurs propriétés et peut perturber les protéines liée à la membrane (**Vidyarthi et Mazumdar, 2014**).

La peroxydation des lipidiques se traduit en deux formes :

➤ Enzymatique grâce à la participation de cyclooxygénase et lipooxygénase dans l'oxydation des acides gras.

➤ Non enzymatique impliquant les métaux de transition, l'oxygène, l'azote et d'autres espèces réactives (**Morita et al., 2016**).

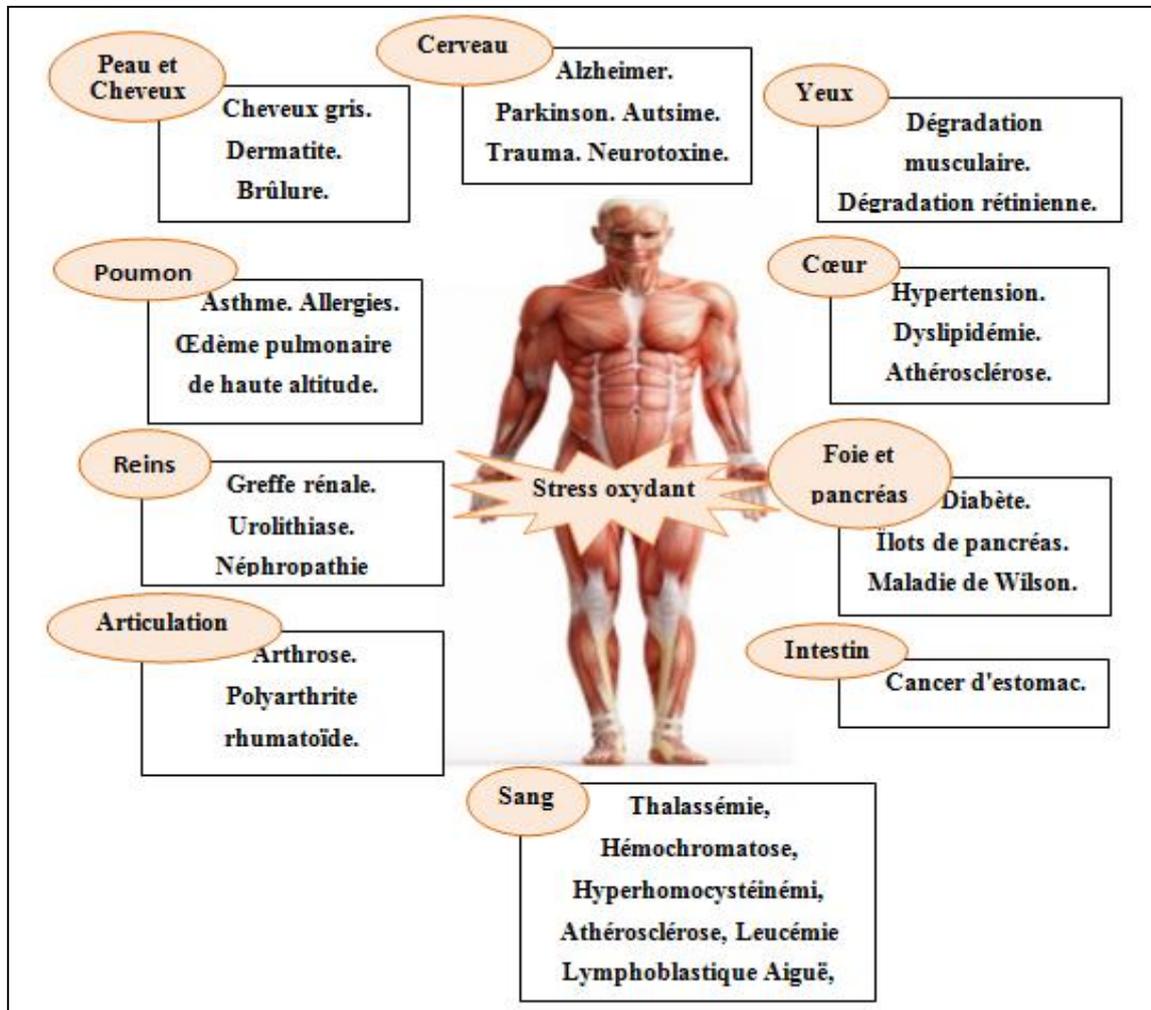
## **3. Dommage des acides nucléiques**

Les acides nucléiques sont des molécules biologiques très sensibles, instables chimiquement à l'hydrolyse, à la méthylation non enzymatique et l'oxydation. Les radicaux libres peuvent affecter l'ADN ou l'ARN en touchant la croissance fonctionnelle et la formation des lésions oxydatives qui peuvent conduire à la mutagenèse (**Halliwell et Gutteridge, 1999 ; Rosângela et al., 2016**).

### **III.1.1.6. Stress oxydatif et maladies humaines**

Les dommages moléculaires résultant du stress oxydatif à partir de l'oxydation des lipides, des protéines et des acides nucléiques peuvent provoquer ou participer dans plusieurs maladies neurodégénératives comme le Parkinson et l'Alzheimer. Ce dernier est caractérisé par une dysrégulation de l'homéostasie du fer et du cuivre. L'accumulation du fer dans le cerveau lors du vieillissement, résulte d'une augmentation de la protéine Ferritine qui est responsable du stockage du fer (**Figure N°02**).

Dans le cancer, le stress oxydatif participant par l'activation des pro-carcinogènes en carcinogènes, cause des lésions de l'ADN, amplifiant les signaux de prolifération et inhibant les antioncogènes comme la protéine p53 (Favier, 2006).



**Figure N°02:** Effets nuisibles du stress oxydatif sur la santé humaine (Rahman *et al.*, 2012; Islam *et al.*, 2015 ).

### III.1.2. Antioxydants

Les antioxydants sont des agents chimiques ou biologiques capables de neutraliser l'action potentiellement dommageable de radicaux libres. Pour répondre aux attaques des radicaux libres, certaines défenses antioxydantes sont apparues. Leur fonction est de maintenir l'état d'équilibre dans les cellules. Les enzymes superoxydes dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathion réductase (GR), glutathion peroxydase sélénium-dépendante (GPox) et la glutathion- S transférase (GST) sont reconnues comme une ligne de défense principales (Vidyarthi et Mazumdar, 2014).

### III.1.2.1. Mécanismes des antioxydants

Le mécanisme comprend l'intervention de plusieurs lignes de défenses :

➤ **Première ligne** : c'est une ligne de défense assurée par les antioxydants dite « Préventive » ; contrôler la formation des espèces réactives d'oxygène par la réduction, c'est le cas des peroxydes d'hydrogène et lipoperoxydes ou en séquestrant les ions métalliques comme le Fer et le Cuivre.

➤ **Deuxième ligne** : « capteurs » des espèces réactives d'oxygène avant qu'elles n'attaquent les molécules biologiques, assurés par les enzymes Glutathion peroxydase (GPx), la catalase (CAT) ou le Superoxyde Dismutase (SoD) ou par des composés phénoliques ou aromatiques.

➤ **Troisième ligne** : consiste à réparer des dommages causés sur les molécules cibles ou éliminer les produits toxiques générés par l'attaque radicalaire (**Durand, 2013**).

## III.2. Activité antibactérienne

### III.2.1. Description de bactéries étudiées

#### ➤ Bactéries à Gram positif

##### 1. *Staphylococcus aureus*

C'est une bactérie à Gram positif qui appartient au genre *Staphylococcus*, de la famille *Staphylococcaceae*. La différence entre le genre *Staphylococcus* et *Micrococcus* se traduit par leur métabolisme anaérobie facultatif. Les *S. aureus* sont capables de perdre leur capsule après culture et ont une bonne croissance à 37°C pendant 18-24h. Leurs aspects macroscopiques sont des colonies de diamètre 1-3 mm, lisses, arrondies, bombées, opaques.

*S. aureus* provoque une gamme de maladies infectieuses ; les infections cutanées, la bactériémie, l'endocardite, la pneumonie et l'intoxication alimentaire (**Le loir et Gantier, 2009**; **Gnanamani et al., 2017**).

##### 2. *Micrococcus luteus*

C'est un groupe majeur de la flore bactérienne buccale humaine normale, sous forme de colonies jaunâtres et apparaît comme des cocci en tétrades à Gram positif, aérobies de la famille des *Micrococcaceae*. Il présente un pouvoir de virulence faible mais peut devenir pathogène chez les patients présentant une résistance altérée où ils colonisent la surface des valves cardiaques. Il peut participer dans l'arthrite septique, la méningite et l'endocardite valvulaire prothétique (**Seifert et al., 1995** ; **Young et al., 2010** ; **Miltiadous et Elisaf, 2011**).

### **3. *Enterococcus faecalis***

Ce sont des cocci à Gram-positif de la famille des *Enterococcaceae* à métabolisme anaérobie facultatif qui se trouvent sous forme commensale dans les voies gastro-intestinales des humains et des animaux et dans des sources environnementales comme l'eau et le sol. Il supporte des conditions extrêmes de température (5–65 °C) et de pH (4,5 à 10,0). Ce germe est capable de provoquer des infections mortelles et une variété d'infections nosocomiales sur les tissus des valves cardiaques et les voies urinaires. Ces infections sont difficiles à traiter par les médicaments (**kau et al., 2005; Fisher et Phillips, 2009; Willett et al., 2019**).

### **4. *Bacillus subtilis* et *Bacillus cereus***

Le genre *Bacillus* comprend des bacilles à Gram-positif, aérobies ou anaérobies facultatives, mobiles, sporulés appartenant à la famille *Bacillaceae*. Leur développement est possible dans plusieurs niches telles que le sol, l'eau et les intestins (**Earl et al., 2008; Tanada et Kaya., 2012**).

*Bacillus subtilis* est une bactérie commensale de l'intestin humain et se trouve aussi dans la flore normale des animaux. Elle est capable de générer des infections nosocomiales dont la septicémie et la méningite (**Saleh et al., 2014**).

*Bacillus cereus* est très fréquent dans les intoxications alimentaires. Les symptômes apparaissent dans un délai de 8-16h après la contamination et comprennent des crampes abdominales et des diarrhées aqueuses comme pour *B. subtilis* (**Kotiranta et al., 2000; Dierick et al., 2005**).

#### **➤ Bactéries à Gram négatif**

##### **1. *Escherichia coli***

*Escherichia coli* est une bactérie unicellulaire capable de vivre dans des environnements différents ; dans le sol, l'eau et les organismes vivants, principalement les plantes, les humains et les animaux. Ce germe appartient de la famille des *Enterococcaceae*, caractérisé par leur forme bacilles à Gram négatif court et droit non sporulé, aérobie-anaérobie facultatif, mobile avec des flagelles péritriches.

Ces bactéries sont pathogènes pour l'homme, généralement commensal mais dans des situations spécifiques, il peut provoquer diverses maladies humaines (**Sussman, 1997; Denis, 2002; Manning, 2010**).

## **2. *Pseudomonas aeruginosa***

*Pseudomonas aeruginosa* ou bien bacille pyocyanique est un pathogène nosocomial, qui appartient à la famille *Pseudomonadaceae*.

Il est à Gram négatif, ubiquitaire, aérobic strict, comprend des flagelles et des pilis qui aident la mobilité et l'adhésion à l'épithélium respiratoire.

Il se trouve dans le sol, l'eau, les plantes, les animaux et les humains grâce à leur grande diversité métabolique permettant de prospérer dans une grande variété d'environnements et de sources de nutriments (**Gales et al., 2001 ; Delarras, 2010; François et Wolff, 2010; Bianchi et al., 2013**).

*P. aeruginosa* se développe bien à une température de 37 ° C et peut également supporter une large gamme de températures de 4 °C à 42 °C. Certaines voies de virulence sont inactives à des températures inférieures à 30°C (**Labauve et Wargo, 2012**).

### **III.2.2. Mécanisme d'activité antibactérienne des plantes médicinales**

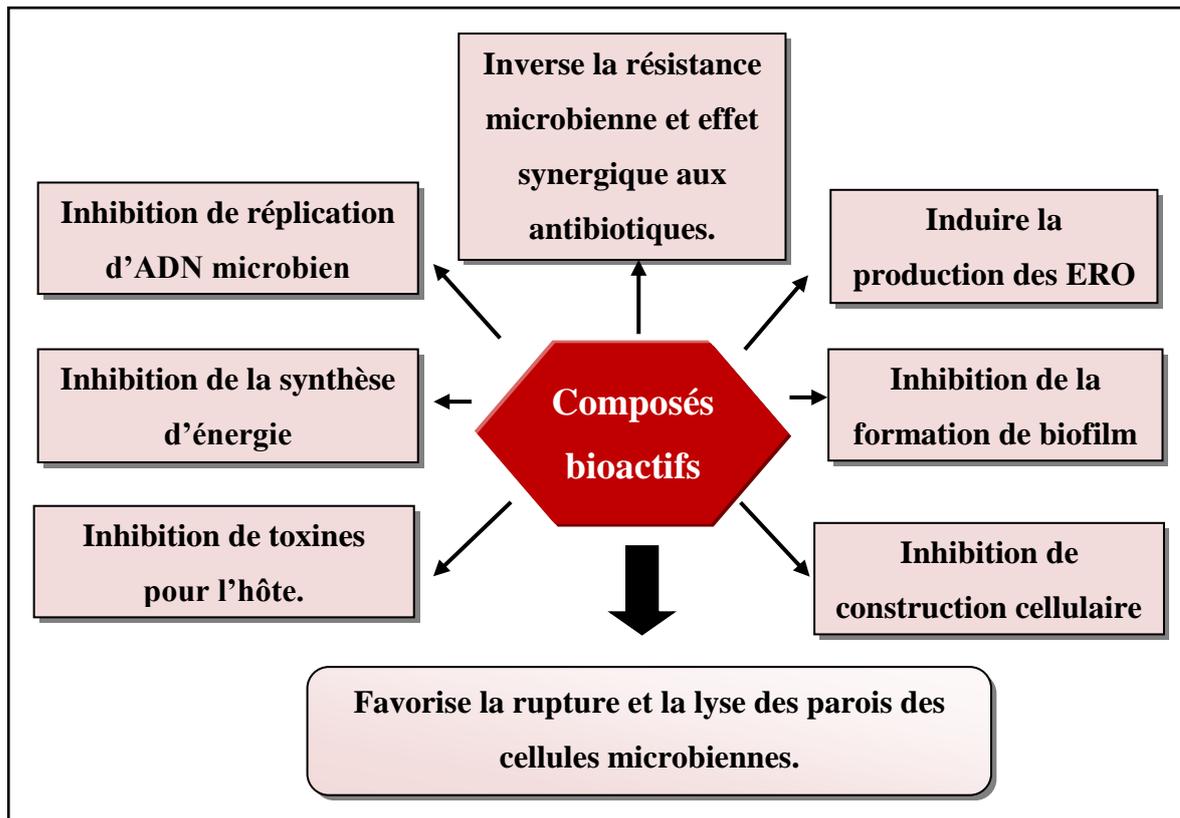
Récemment plusieurs chercheurs s'orientent vers l'utilisation des plantes médicinales dans l'inhibition des bactéries pathogènes (**Figure N°03**). Ces plantes interviennent par leurs métabolites secondaires qui sont des antibiotiques naturels de faibles poids moléculaire classés en deux types :

**1. Phytoanticipines** : sont des antibiotiques participent dans l'action inhibitrice microbienne.

**2. Phytoalexines** : sont généralement des antioxydantes synthétisés de novo par les plantes en réponse à une infection microbienne (**Mickymaray, 2019**).

Les composés phénoliques provoquent des perturbations de la paroi cellulaire entraînent des modifications de la perméabilité se conduit à une fuite de continue cellulaire ou une interférant avec les protéines membranaires par une modification de structure à cause de la forte corrélation entre la toxicité et l'hydrophobicité de différents composés phénoliques.

En outre, les composés bioactifs provoquent des inhibitions de la construction de la paroi cellulaire, la réplication de matériel génétique microbienne, la formation de biofilm, la motilité d'attachement et la communication cellulaire (**Öncül et Karabıyıklı, 2016 ; Stefanović, 2018 et Mickymaray, 2019**).



**Figure N°03 : Mécanisme d'activité antibactérienne par les composés bioactifs (Mickymaray, 2019).**

### III.3. Activité antidiabétique

#### III.3.1. Diabète

Les aliments consommés sont transformés dans le corps en sucre appelé glucose dont le taux sanguin indique à son tour la sécrétion d'une hormone appelée insuline par les cellules des îlots du pancréas. Cette hormone régule le niveau de glucose dans le sang et aide à utiliser et à stocker le glucose (Kahn, 2005).

Le diabète sucré est un problème de santé réel qui touche toutes les catégories humaines et à n'importe quel âge, caractérisé par une hyperglycémie chronique accompagnée de perturbations du métabolisme des glucides, des lipides et des protéines résultant de troubles de la sécrétion d'insuline, de l'action de l'insuline, ou les deux.

Lorsqu'il est pleinement exprimé, le diabète se caractérise par une hyperglycémie à jeun, mais la maladie peut également être reconnue au cours de stades moins manifestes, le plus souvent par la présence d'une intolérance au glucose.

Les effets du diabète sucré incluent des dommages à long terme, un dysfonctionnement et une défaillance de divers organes, en particulier des yeux, des reins, du cœur et des vaisseaux sanguins (**Peter et al., 2005**).

### **III.3.2. Classification**

**1.Type 1:** « insulino dépendant » caractérisé par le déficit en insuline résultant de la destruction progressive des cellules  $\beta$  du pancréas par le biais d'une réponse auto-immune. Il peut être à médiation immunitaire ou idiopathique (**Engelgau et Geiss, 2000 ; Tan et al., 2018**).

**2. Type 2:** « insulino résistance » caractérisé par des états métaboliques allant de la résistance à l'insuline dominante avec un déficit relatif en insuline à un défaut principalement sécrétoire avec une résistance à l'insuline. Cela contribue à la diminution de l'efficacité de l'insuline et au développement du diabète chez les patients obèses. La quantité supplémentaire d'insuline nécessaire pour transporter suffisamment de glucose dans la cellule doit être produite dans les îlots de Langerhans. La pression supplémentaire continue sur les îlots pourrait entraîner une altération de la synthèse d'insuline dans les îlots et par conséquent le développement de diabète sucré de type II (**Engelgau et Geiss, 2000; Radder et al., 2012**).

**3. Autres types spécifiques:** incluent les anomalies génétiques de la fonction bêta-cellulaire, de l'action de l'insuline, les infections induites par des produits chimiques ou les médicaments, les maladies du pancréas exocrine, les endocrinopathies, les formes peu communes de diabète à médiation immunitaire et d'autres syndromes génétiques associés au diabète.

**4. Diabète gestationnel :** se développe pendant la grossesse, après sa résolution normale (**Engelgau et Geiss, 2000**).

### **III.3.3. Mécanisme du diabète**

Les aliments consommés sont convertis en glucose par le foie qui les libère par la suite dans le sang. A l'état normal, la glycémie est régulée par l'intervention de l'hormone insuline. Cette dernière est produite par le pancréas. Le glucose sort du sang vers les cellules du corps où il pénètre et est utilisé comme un carburant.

En cas de diabète, la glycémie dans le sang ne peut pas se déplacer efficacement dans les cellules et par conséquent l'augmentation du taux de la glycémie. Cela non seulement prive toutes les cellules qu'ont besoin du glucose pour se nourrir, mais nuit également à certains organes et tissus exposés à des taux de glucose élevés ce qui cause des complications (Siddiqui *et al.*, 2013).

#### **III.3.4. Induction chimique du diabète**

Le modèle expérimental le plus utilisé est un modèle chimio-induit chez le rat, auquel est injecté un diabétoène chimique.

##### **III.3.4.1. Alloxane**

L'alloxane (2,4,5,6-tetraoxypyrimidine; 2,4,5,6- pyrimidinetetrone) est une substance chimique induisant le diabète de type I, il est produit par oxydation de l'acide urique en acide nitrique.

##### **III.3.4.2. Mécanisme du diabète par alloxane**

Une première phase après quelque minute d'injection d'alloxane provoque une hypoglycémie transitoire pendant 30min, peut être attribué à l'inhibition de phosphorylation du glucose par l'inhibition de la glucokinase, laquelle traduit par une augmentation temporaire de la disponibilité d'ATP.

La deuxième phase a lieu 1h après l'injection, caractérisée par une augmentation du glucose et diminution de l'insuline dans le sang qui dure de 2h à 4h. Une fois l'absorption d'alloxane par les cellules bêta du pancréas atteint son maximum, sa toxicité via l'augmentation des ERO, entraînant une inondation de circulation d'insuline survient à la suite de la rupture du granule de sécrétion et de la membrane cellulaire induite par l'alloxane, provoque une hypoglycémie sévère suit 4h à 8h, ce quand appelle phase hypoglycémique qui peut aussi associée à un déséquilibre de concentration  $Ca^{2+}$  libre dans le cytosol des cellules bêta des îlots pancréatiques. En effet, le niveau intracellulaire élevé de  $Ca^{2+}$  a été noté pour contribuer de manière significative au niveau très élevé de libération d'insuline.

La dernière phase de diabète chimio-induit est caractérisée par une phase hyperglycémique diabétique permanente qui a lieu entre 24 et 48 h après l'administration d'alloxan.

En fin une dégranulation complète et une perte d'intégrité structurelle des cellules bêta. Ces mutation irréversibles caractérisent la mort cellulaire. (Ankur et Shahjad, 2012; Osasenaga *et al.*, 2017).

### **III.3.5. Activité antidiabétique des plantes médicinales**

L'activité antidiabétique des plantes médicinales dépend de plusieurs voies soit par une augmentation de la sécrétion pancréatique d'insuline et augmentation de la sensibilité à l'insuline, une inhibition de la production de glucose dans le foie et l'augmentation de l'absorption de glucose dans les muscles et les tissus adipeux, une inhibition de l'absorption du glucose ou par une inhibition des complications liées au diabète.

#### **➤ Augmentation de la sécrétion pancréatique d'insuline et augmentation de la sensibilité à l'insuline**

Les médicaments qui ciblent le pancréas visent à augmenter la taille des bêta-îlots pancréatiques et le nombre de cellules capable d'encourager la production. En outre, la libération d'insuline à partir de granules stockés d'insuline implique la fermeture des canaux potassiques liés à l'ATP et l'activation des canaux calciques alimentés par le voltage dont quelques plantes agissent sur le site de liaison à la sulfonylurée 1 (SUR1) et ferment le canal potassique sensible à l'ATP (KATP), en raison desquelles la membrane cellulaire se dépolarise, ce qui entraîne un afflux de  $\text{Ca}^{2+}$ . En effet, ses plantes affectent la sécrétion d'insuline et celles qui augmentent l'activité de l'insuline et diminuent leur dégradation en inhibant l'insuline (Prabhakar et Doble, 2008; Saad *et al.*, 2017).

#### **➤ Inhibition de la production de glucose dans le foie et l'augmentation de l'absorption de glucose dans les muscles et les tissus adipeux**

Le foie est l'organe le plus crucial pour la régulation de la glycémie grâce aux enzymes hépatique utilisent qui sont responsable à la glycolyse, la gluconéogenèse et métabolisme du glycogène.

En plus du tissu hépatique, les muscles et les tissus adipeux répondent à l'insuline par l'amélioration de la sensibilité périphérique à l'insuline par des méthodes directes ou indirecte et augmentent le transporteur de glucose-4 (GLUT4) qu'est la cible principale de la plupart des agents anti-hyperglycémiques qui visent à augmenter l'absorption de glucose dans ces tissus (Singh, 2011; Saad *et al.*, 2017 ).

➤ **Inhibition de l'absorption du glucose**

L'inhibition des enzymes digestives qui hydrolysent les polysaccharides et les disaccharides complexes en fragments plus petits de monosaccharides constitue une voie directe pour l'inhibition de leur écoulement dans le sang.

Ces composants monomères peuvent être absorbés par la paroi intestinale dans le sang et absorbés par le foie, les muscles et les tissus adipeux (**Singh, 2011**).

➤ **Inhibition des complications liées au diabète**

Les complications inflammatoires du diabète résultent des dommages oxydatifs (**Shanak et al., 2019**). Pour atténuer les complications potentiellement dangereuses pour la santé du diabète, particulièrement la rétinopathie, la néphropathie et la neuropathie, qui sont consécutives aux dommages oxydatifs, un traitement antioxydant efficace est nécessaire. Dans l'industrie pharmaceutique, il a été prouvé que les plantes auraient un effet hypoglycémiant à cause de sa richesse en composés bioactifs qui peuvent être des alcaloïdes, des glucides, des glycosides, des flavonoïdes, des stéroïdes, des terpénoïdes, des peptides et des acides aminés, des lipides, des phénoliques (**Singh, 2011; Saad et al., 2017**).

***Partie II :***  
***Etude expérimentale***

***Chapitre I :***  
***Matériels et Méthodes***

## **I. Matériels et Méthodes**

### **I.1. Objectif de travail**

Objectif principal de cette étude est :

- Valorisation des plantes *Salvia officinalis*, *Aristolochia longa* et *Lupinus albus*.
- Evaluer la richesse des extraits éthanoliques (80%), méthanoliques (80%) et aqueux des plantes en métabolites secondaires par la réalisation de screening phytochimiques.
- Détermination de taux des polyphénols et des flavonoïdes contenant dans les extraits d'*Aristolochia longa*, *Salvia officinalis* et *Lupinus albus*.
- Estimer les propriétés biologiques des extraits éthanolique, méthanolique et aqueux ; antioxydantes et antimicrobiennes.
- Evaluer l'effet toxique et le pouvoir antidiabétique du meilleur extrait par le développement de diabète chimio-induit chez les rats Wistar.

### **I.2. Lieu du travail**

Ce travail a été effectuée au niveau des laboratoires suivants :

✚ Laboratoire d'Hygiène et pathologie animal de l'Institut des Sciences Vétérinaires « Université Ibn Khaldoun-Tiaret ».

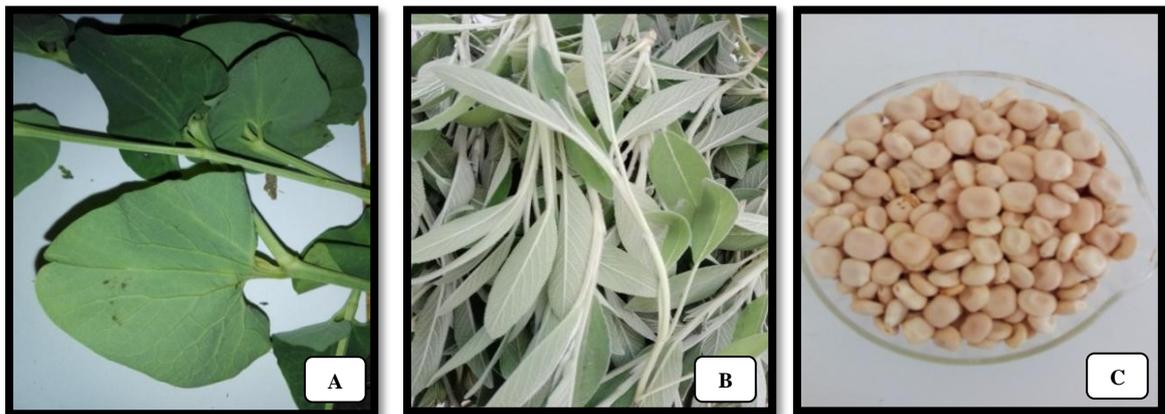
✚ Laboratoire de Reproduction des Animaux de la Ferme de l'Institut des Sciences Vétérinaires « Université Ibn Khaldoun-Tiaret ».

✚ Laboratoire de Microbiologie et de Technologie Alimentaire de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie « Université Ibn Khaldoun-Tiaret ».

✚ Laboratoires de recherche de l'Université Kilis 7 Aralik « Kilis, Turquie ».

### **I.3. Matériel végétal**

Les parties aériennes (feuilles et tiges) d'*Aristolochia longa*, *Salvia officinalis* ont été collectées au mois d'avril 2017 dans la région de Tiaret (Algérie) et les grains de *Lupinus albus* sont achetés au niveau d'un herboriste de la même région (**Figure N°04**). L'identification des espèces a été réalisée par le laboratoire de botanique de l'Ecole National Supérieur d'Agronomie (Alger).



**Figure N°04** : (A) Feuilles et tiges d'*Aristolochia longa* ;(B) : feuilles et tiges de *Salvia officinalis* et (C) : grains de *Lupinus albus*.

### **I.4. Analyses physicochimiques**

Certaines analyses physicochimiques telles que pH, cendres, humidité ont été réalisés sur les parties aériennes fraîches des plantes ; *Salvia officinalis* (*S. officinalis*), *Aristolochia longa* (*A. longa*) et sur les grains de *lupinus albus* (*L. albus*).

#### **I.4.1. pH**

Le **pH** a été mesuré par un pH mètre. On prépare la solution à analyser ; 10 g d'échantillon en morceaux additionné à 100 ml d'eau distillé. Ce mélange subit une agitation pendant 5 minutes (AFNOR, 1986).

#### **I.4.2. Détermination de la teneur en eau**

Pour déterminer la quantité d'eau présente dans l'échantillon frais, on dépose 5g de plante fraîche en petits morceaux dans des creusets pesés préalablement puis l'on met le tout dans l'étuve à 105 °C. Après 3h, ces creusets sont disposés dans un dessiccateur pour le refroidissement et ensuite, on pèse une seconde fois. Cette méthode est répétée plusieurs fois jusqu'à l'obtention d'un poids constant (Audigie *et al.*, 1978).

$$TE = [(P_1 - P_2) / P_0] \times 100$$

Dont :

**TE**: Teneur en eau (%).

**P<sub>0</sub>** : Poids de la prise d'essai (g).

**P<sub>1</sub>** : Poids du creuset plus échantillon avant étuvage (g).

**P<sub>2</sub>** : Poids du creuset plus échantillon après étuvage (g).

#### **I.4.3. Détermination du taux de cendres**

Le dosage des cendres permet de mesurer la partie inorganique obtenue après l'incinération à une température élevée de 550 à 600°C (**JORADP N°35, 2013**).

Pour la détermination des cendres, on utilise des capsules de porcelaine, où l'en dépose 10 g de chaque plante en petite morceaux. L'incinération se fait dans un four à moufle à 600°C durant 5h afin d'obtenir une couleur grise, claire ou blanchâtre. Les capsules ont ensuite retiré du four, placées dans un dessiccateur pour le refroidissement puis pesées (**AFNOR, 1972**).

$$T_c = 100 - [(P_2 - P_1) / P_0] \times 100$$

Dont :

**T<sub>c</sub>** : Taux de cendre (%).

**P<sub>0</sub>** : Poids de la prise d'essai (g).

**P<sub>1</sub>**: Poids des creusets vide (g).

**P<sub>2</sub>** : Poids des échantillons après l'incinération (g).

#### **I.5. Analyses biochimiques**

##### **I.5.1. Détermination du taux des lipides**

Pour la mesure de la teneur en lipides on utilise l'hexane car les lipides présentent une meilleure solubilité dans les solvants organiques que dans l'eau (**Dopico, 2007**).

La cartouche du soxhlet est remplie avec 5g de poudre de la plante et le ballon est ensuite rempli avec 150 ml d'hexane à 96%. La cartouche et le ballon sont placés dans l'extracteur Soxhlet (**Figure N°05**). Après 6 heures d'extraction, la totalité du solvant est récupérée par un rotavapor (**Perera et Brown, 1996**).

Le taux de lipides est calculé par la formule suivante :

$$TL = [(P_2 - P_1) / P_0] \times 100$$

Dont :

**TL** : Taux de lipides (%).

**P<sub>0</sub>** : Poids de la prise d'essai (g).

**P<sub>1</sub>** : Poids du ballon vide (g).

**P<sub>2</sub>** : Poids du ballon + matière grasse (g).



**Figure N°05:** (A) Extracteur Soxhlet (B) Récupération du solvant par le rotavapor.

### **1.5.2. Détermination du taux des sucres réducteurs**

Le dosage des sucres réducteurs est effectué par la méthode DNSA; c'est une technique colorimétrique basée sur une réaction redox entre l'acide 3,5-Dinitrosalicyclique (DNSA) et les sucres réducteurs présents dans échantillon.

Enfin, les sucres deviennent oxydés du groupe carbonyle en carboxyle et le DNSA transformé dans sa forme réduite de couleur brun rouge qui peut être mesurée par spectrophotomètre à  $\lambda = 540$  nm (**Garriga et al., 2017**).

- **La courbe d'étalonnage**

On utilise 0,1 g de glucose dissous dans 100 ml d'eau distillée : c'est la solution mère. Puis on prépare les dilutions filles : on prélève 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml, 5ml, 6ml, 7ml, 8ml, 9ml, 10 ml de la solution mère complétée par l'eau distillée jusqu'à un volume de 10ml.

1 ml de chaque dilution de glucose est ensuite additionné à 1ml de réactif de DNSA puis chauffé 5 min dans un bain marie à 100 °C. La lecture se fait après refroidissement par spectrophotomètre  $\lambda = 540$  nm (**Annexe III**).

• **Préparation de la solution à analyser**

L'extraction des sucres réducteurs a été faite à deux reprises : 5 ml à chaque fois à partir d'une quantité de 0,1g de la plante avec l'éthanol à 80% chaud. Par la suite, le surnageant a été recueilli et évaporé dans un bain marie à 80°C, puis 10 ml d'eau distillée est ajouté pour dissoudre les sucres. A partir de cette solution, on prélève 1 ml qu'on additionne à 1ml de réactif d'acide 3,5-dinitrosicylique (DNSA).

Après incubation au bain marie pendant 5 min à 100 °C et refroidissement, la lecture est réalisée par un spectrophotomètre à  $\lambda = 540$  nm.

La teneur en sucres réducteurs est calculée par la formule suivante :

$$SR = [(X \cdot V \cdot D) / P] \cdot 100$$

Dont :

**SR** : Taux de sucres réducteurs (%).

**X** : Quantité de sucres calculée à partir de la courbe d'étalonnage (mg/ml).

**D** : Facteur de dilution.

**V** : Volume de la solution analysée (ml).

**P** : Poids de la prise d'essai (g).

**I.5.3. Dosage des protéines**

Le dosage de protéine a été effectué par la méthode de Bradford; méthode rapide et précise pour la détermination de taux des protéines, basé sur la liaison du colorant bleu de Coomassie aux protéines (**Kruger, 1994**).

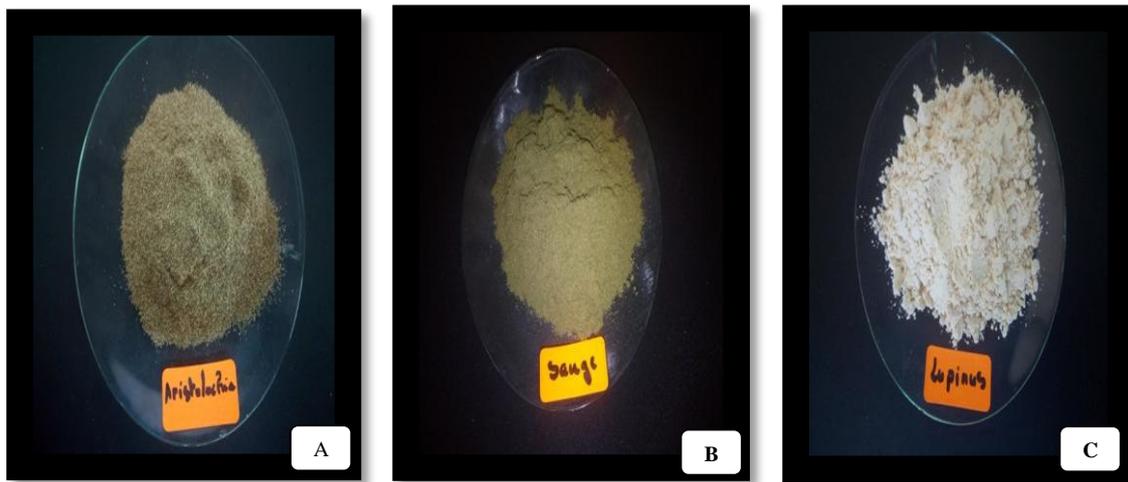
Le sérum albumine bovine (BSA) a été utilisé comme protéine de référence pour le traçage du courbe étalonnage.

Le réactif de Bradford est dilué selon le rapport (1:5 v/v) dans l'eau distillée. 1 ml d'extrait est mélangé à 5 ml de cette dilution. Après 15 min dans l'obscurité, la lecture est faite par un spectrophotomètre à une longueur d'onde 515 nm.

**I.6. Analyses phytochimiques**

**I.6.1. Préparation du matériel végétal pour les extraits**

Les plantes *A. longa*, *S. officinalis* ainsi que les grains de *L. albus* ont été lavées puis séchées à l'air libre puis broyées et tamisées à fin d'obtenir une poudre homogène (**Figure N°06, Annexe I**). Le stockage s'est fait à température ambiante, à l'abri de l'humidité et de la lumière.



**Figure N° 06:** les plantes en poudre ; (A) : *A. longa*, (B) : *S. officinalis* et (C) : *L. albus*.

### **I.6.2. Préparation des extraits**

Les extraits ont été préparés par macération (**Ghezelbash *et al.*, 2015**), avec un rapport de 5 g de poudre mélangé avec 50 ml du solvant (méthanol à 80%, éthanol à 80% et aqueux) sous agitation continue à l'aide d'un secoueur pendant 24h à température ambiante. Ensuite, le mélange a été filtré sur papier filtre et le filtrat a été évaporé et séché à 40 °C. Le résidu obtenu est conservé à une température -20°C (**Figure N°07**).

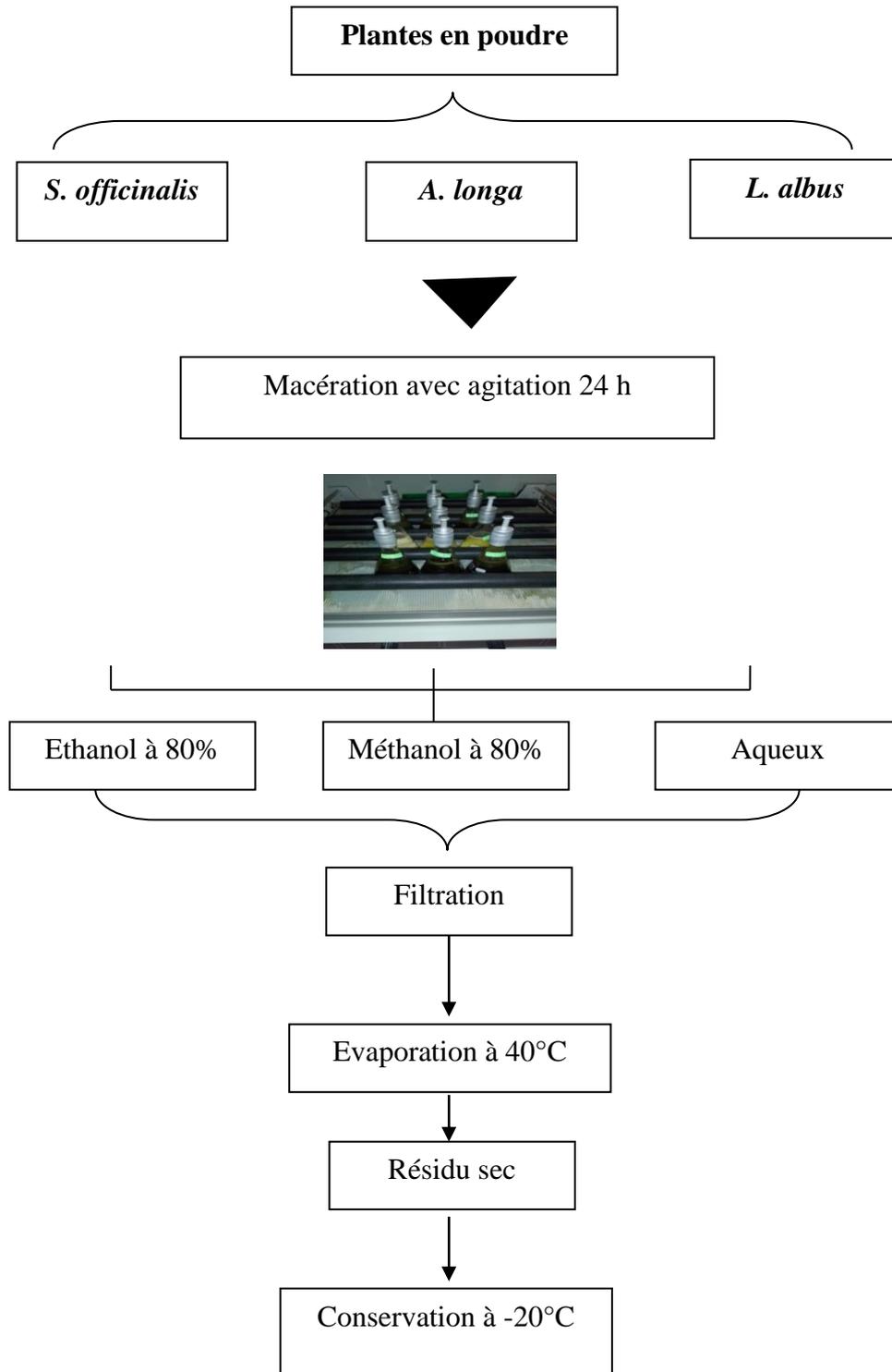


Figure N° 07: Préparation des extraits éthanoliques, méthanoliques et aqueux pour les trois plantes.

### **I.6.3. Rendement des extraits**

Le rendement des différents extraits de chaque plante se calcule par le rapport entre le poids d'extrait après l'évaporation de solvant et le poids initial de la plante en poudre.

$$R\% = P_E / P_p \times 100$$

Dont :

**R** : Rendement.

**P<sub>E</sub>** : Poids d'extrait obtenu après évaporation de solvant.

**P<sub>p</sub>** : Poids de la poudre.

### **I.6.4. Screening phytochimique**

#### **I.6.4.1. Alcaloïdes**

La détection de la présence des alcaloïdes est faite par différents tests avec le changement de réactif, parmi ces tests : Test Bouchardat et Test de Wagner (**Annexe V**).

2 ml des différents extraits (méthanolique, éthanolique et aqueux) de chaque plante sont additionnés à 2 gouttes du réactif de Bouchardat ou Wagner. Le résultat positif est révélé par une précipitation de couleur brun rougeâtre (**Bagre et al., 2007; Soni et Sosa, 2013**).

#### **I.6.4.2. Tanins**

La recherche des tanins, en ajoutant à 2 ml de chaque extrait 1 à 2 gouttes de solution de chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>) dilué à 0,1 %.

Le virement de couleur vers le vert foncé indique la présence de tanins catéchiques alors que le bleu-vert, signifi la présence des tanins galliques (**Harborne, 1998**).

#### **I.6.4.3. Stéroïdes**

La présence des stéroïdes est mise en évidence, en ajoutant 5 ml de l'extrait à 5 ml d'anhydride acétique et ensuite 0,5 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré.

L'apparition d'une coloration violette qui vire au bleu puis au vert indique une réaction positive (**Harborne, 1998**).

#### **I.6.4.4. Saponines**

Introduire 10 ml de chacun des extraits dans un tube à essai. Le tube est agité pendant 15s puis laissé au repos 15 min.

Une hauteur de mousse persistante, supérieur à 1cm indique la présence de saponosides (réaction positive) (**Bidie et al., 2011**).

#### **I.6.4.5. Terpénoïde (test de Salkowski)**

Une quantité de 0,2 g d'extrait sec est mélangée avec 2 ml de chloroforme ensuite 3 ml d'acide sulfurique concentré sont soigneusement ajoutés pour former une couche.

La présence de terpénoïdes donne une coloration rouillée de l'interface (**Mujeeb et al., 2014**).

#### **I.6.4.6. Glycosides cardiaques**

2 ml de chaque extrait sont dissous avec 2 ml de chloroforme, ensuite 3 ml d'acide sulfurique concentré sont ajoutés avec précaution. La formation d'une couche rouge foncée à brunâtre, à l'interface de l'anneau indique la présence de glycosides cardiaques (**Soni et Sosa, 2013**).

#### **I.6.4.7. Anthocyanes**

1 ml de chaque extrait est additionné à 3 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 10 % et 1 ml de NH<sub>4</sub>OH à 10%. Si la coloration s'accroît par acidification puis vire au bleu en milieu basique ; le résultat est jugé positif.

#### **I.6.4.8. Flavonoïdes**

A 3 ml d'extrait on a ajouté quelques gouttes de solution d'acétate de plomb. La formation de précipité jaune indique la présence de flavonoïdes (**Tiwari et al., 2011**).

#### **I.6.4.9. Mucilages**

1ml d'extrait est ajouté à 5 ml d'éthanol absolu. L'apparition d'un précipité floconneux indique la présence des mucilages (**Noudogbessi et al., 2013**).

#### **I.6.5. Dosage des polyphénols**

Le dosage des polyphénols est effectué par la méthode du folin Ciocalteu basée sur le transfert d'électron (**Lamuela-Raventós, 2017**). Au cours de cette méthode, les polyphénols présents réagissent avec le folin Ciocalteu pour donner un complexe bleu composé de tungstène et de molybdène pouvant être quantifié par spectrophotométrie (**Blainski et al., 2013**).

0,2 ml de différentes dilutions (**1,1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128 mg/ml**) des différents extraits des plantes *S. officinalis*, *A. longa* et *L. albus* sont mélangés avec 1 ml du réactif folin Ciocalteu fraîchement préparé (10 %) et 0,8 ml de carbonate de sodium (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) à 7,5%.

Le mélange est incubé pendant 30 minutes à température ambiante puis la lecture est effectuée contre un blanc à une longueur d'onde de 765 nm (**Singleton et al., 1965**).

Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique/g de matière végétale sèche en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (**Annexe III**).

#### **I.6.6. Dosage des flavonoïdes**

Le dosage des flavonoïdes s'effectue par la méthode de chlorure d'aluminium. C'est une méthode colorimétrique basée sur la formation soit des complexes stables à l'aide de chlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) ou des complexes fragiles aux acides (**Bhaigyabat et al., 2014; Bag et al., 2015**).

Un volume de 0,5 ml de chaque dilution est mélangé aux différents extraits et additionné à 1,5 ml de méthanol (95 %), 100  $\mu$ l de  $AlCl_3$  préparé à 10 % (m/v) plus 100  $\mu$ l d'acétate de sodium (1M) et 2,8 ml d'eau distillée. Le mélange est agité puis incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 min. Le blanc est réalisé en remplaçant l'extrait par le méthanol à 95 % et l'absorbance est effectuée à 415 nm (**Dehpour et al., 2009**).

Les résultats sont exprimés en mg équivalent de quercétine/g de matière végétale sèche en se référant à la courbe d'étalonnage de la quercétine (**Annexe III**).

#### **I.6.7. Activité antioxydante**

L'activité antioxydante des extraits a été réalisée par la méthode de DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl,  $C_{18}H_{12}N_5O_6$ ) (**Annexe I**); c'est une méthode basée sur la mesure de la capacité de balayage des antioxydants dont l'électron impair d'atome d'azote dans le DPPH est réduit en recevant un atome d'hydrogène provenant d'antioxydants et par conséquence il perdra sa couleur pourpre profond (**Tirzitis et Bartosz, 2010 ; Kedare et Singh, 2011**).

Le protocole suivi est celui décrit par **Braca et al., 2002** avec quelques modifications :

Un volume égal des différentes dilutions (de 0,009 à 5 mg/ml) des extraits méthanolique, éthanolique et aqueux de *S. officinalis*, *A. longa* et *L. albus* est mélangé avec un volume de solution méthanolique du DPPH à 0,004 % (m/v). L'incubation est réalisée pendant 30 min à température ambiante puis lecture à 517 nm. On utilise l'Acide Ascorbique comme un standard d'activité antioxydant (**Annexe III**).

Le pourcentage d'inhibition est calculé par l'équation suivant :

$$\% \text{ Inhibition} = [(Ac - Ae) / Ac] \times 100.$$

Avec : **Ac** : Absorbance de la solution de contrôle qui contient un volume égal de solution méthanolique du DPPH et le méthanol.

**Ae** : Absorbance d'extrait.

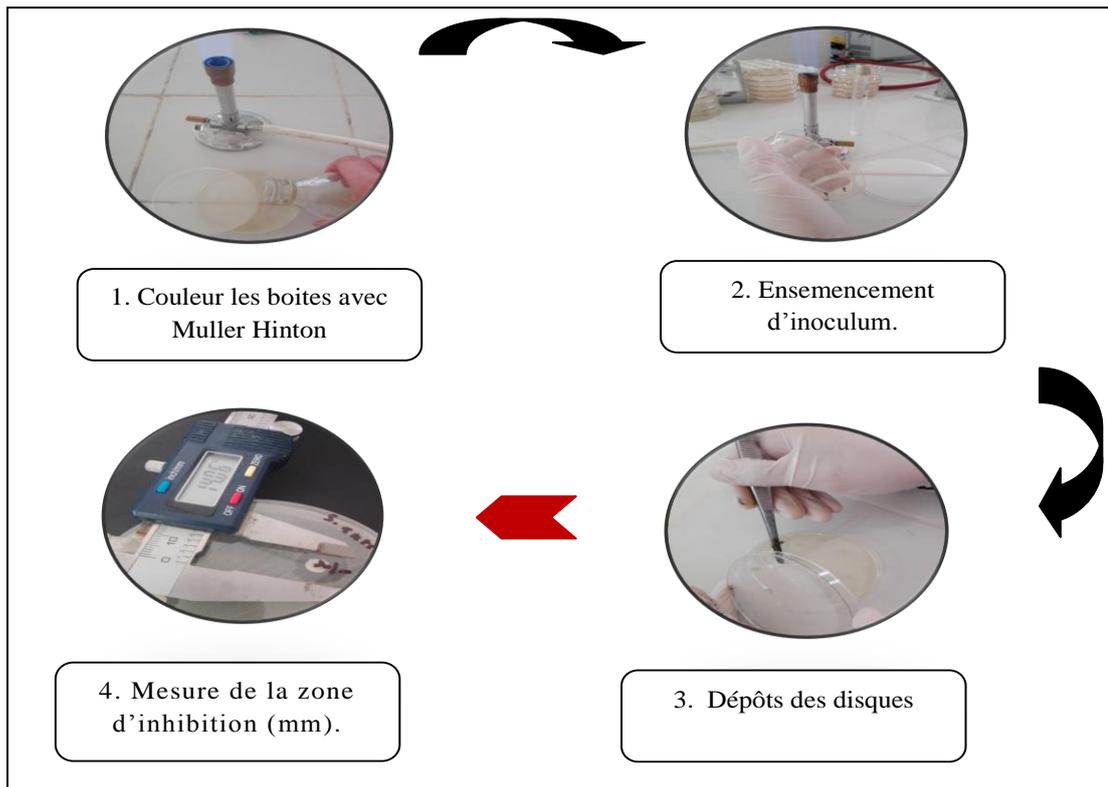
## **II. Activité antibactérienne**

### **II.1.Méthode de diffusion sur gélose**

Le pouvoir antibactérien des extraits des plantes a été évalué contre sept souches bactériennes référencées : à Gram positif : *Micrococcus luteus* ATCC 14452, *Bacillus subtilus* ATCC 6633, *Bacillus cereus* ATCC 10876 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et à Gram négatif : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 et *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, provenance de laboratoire d'Hygiène et pathologie animal d'institut vétérinaire université Ibn khaldoun « Tiaret ». Par la méthode de diffusion sur Gélose (**Balouiri et al., 2016**) à une concentration de 20mg/ml. Avec l'utilisation d'un antibiotique de référence « Amikacine de 30µg » comme un témoin positif et les différents solvants d'extraction (éthanol à 80%, Méthanol à 80% et l'eau distillé) comme des témoins négatifs.

Le protocole suivi est celui décrit par (**Mazari et al., 2010**) :

1. Les boîtes de pétri sont coulées avec le milieu Mueller-Hinton à l'état liquide et laissées solidifier, ensuite la suspension bactérienne est ajustée à l'échelle de 0,5 Mac Farland puisensemencées à l'aide d'un écouvillon stérile.
2. A l'aide d'une pince stérile, imbiber un disque de papier Whatman (6 mm de diamètre) dans 10 µl de chaque extrait éthanolique à concentration de 20 mg/ml de la plante, et un autre pour le solvant utilisé comme témoin négatif et autre un antibiotique représente le témoin positif. Le disque est déposé avec une légère pression sur la géloseensemencée. Après diffusion de l'extrait durant 2 heures à 4°C, les boîtes sont étuvées à 37C° durant 24 heures.
3. L'activité antimicrobienne est déterminée à l'aide d'un pied à coulisse en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition (**Figure N°08**).



**Figure N°08** : Etapes d'activités antibactérienne.

## II.2.Méthode de Macrodilution

### II.2.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La concentration minimale inhibitrice pour laquelle il n'y a pas de croissance bactérienne observée a été réalisée par la méthode de macrodilution (**Figure N°09**). Dans ce sens une série de 9 dilution a été préparée dans le bouillon Mueller-Hinton (20 ; 10 ; 5 ; 2,5 ; 1,25 ; 0,625 ; 0,312 ; 0,156 et 0,078 mg/ml) des trois extraits (méthanolique, éthanolique et aqueux) des trois que plante.

Les suspensions de bactéries utilisées ont été standardisées à 0,5 MacFarland ( $10^8$  UFC) puis diluées au 1:100 ( $10^6$  UFC). Enfin, 1ml de la suspension bactérienne est additionné dans un tube contenant 1ml des différentes dilutions préparées précédemment, un tube contenant un antibiotique (Amikacine 30 $\mu$ g) considéré comme témoin positif et un tube avec 1ml de bouillon Mueller-Hinton considéré comme un témoin négatif.

Les tubes sont incubés à 37 °C pendant 24h, par la suite 100  $\mu$ l des tubes sans croissance bactérienne sont étalés par un râteau dans des boites contenant la gélose Mueller-Hinton solidifiée puis incubées à 37°C pendant 24h. Après l'incubation ; la CMI correspond à la concentration des boites avec l'absence de croissance (**Schwalbe et al., 2007 ; Shovon et al., 2016**).

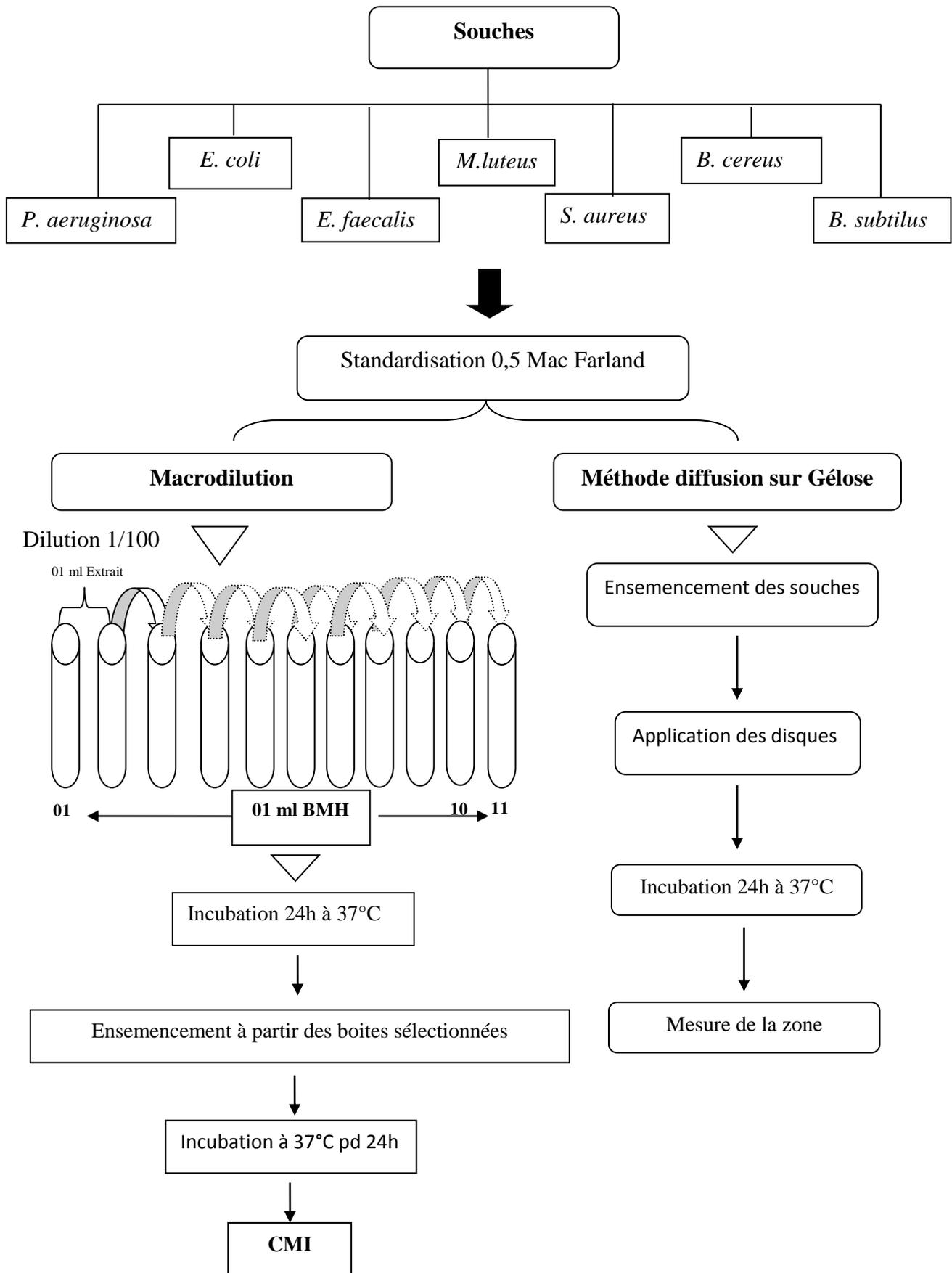


Figure N°09 : Organigramme d'activité antibactérienne vis-à-vis des souches pathogènes.

*In vivo*

### III. Toxicité et l'activité antidiabétique d'extrait éthanolique de *S. officinalis*

#### III.1. Hébergement et suivi des animaux

24 rats *Wistar* mâles adulte d'un poids  $246,87 \pm 22,88$  g provenance de l'institut Pasteur d'Alger. Les rats ont été habitués dans une animalerie durant 15 jours au niveau du laboratoire d'Hygiène et pathologie animale, dans des conditions contrôlées : température de  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  et un cycle de lumière/obscurité 12h/12h avec une alimentation d'un régime standards commercialisé fourni par l'ONAB (*Office Nationale d'Aliment de Bétail, Rahouia, Tiaret*) (Figure N°10).

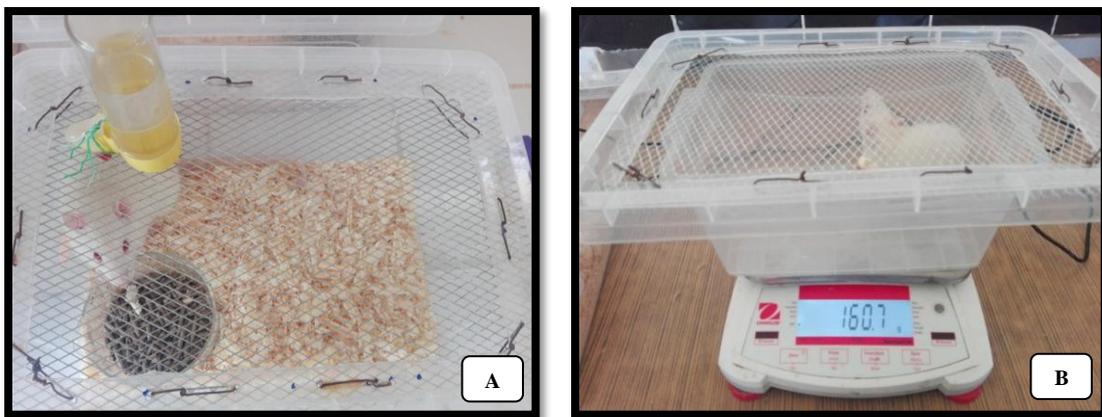


Figure N°10 : (A) Rat en cage, (B) Pesé des rats.

#### III.2. Etude de la toxicité d'extrait éthanolique de *S. officinalis*

C'est pour confirmer que l'extrait éthanolique de *S. officinalis* ne présente aucun effet nocif pour l'organisme (Figure N°12).

Pour réaliser le test de toxicité orale aiguë, le rat est considéré comme l'espèce préférable par la directive 423 d'Organisation de Coopération et de Développement Economiques (OCDE). Une dose de 2000 mg/kg du poids corporel d'extrait éthanolique de *S. officinalis*, a été administrée par gavage par une sonde intra-gastrique.

08 rats sont devisés en 2 groupes de 04 rats :

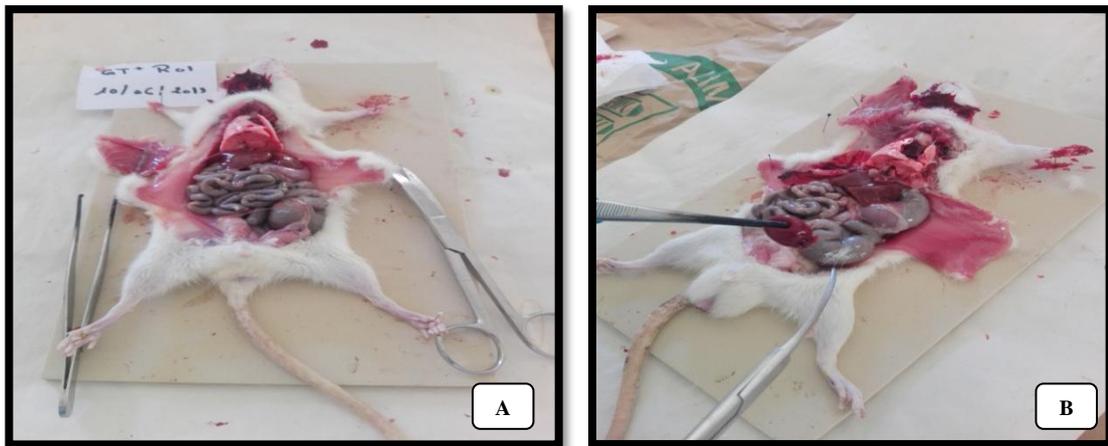
**Groupe 1** : Témoin négatif ; reçoit de l'eau distillée (GT<sup>-</sup>).

**Groupe 2** : Reçoit l'extrait éthanolique de *S. officinalis* (GTES).

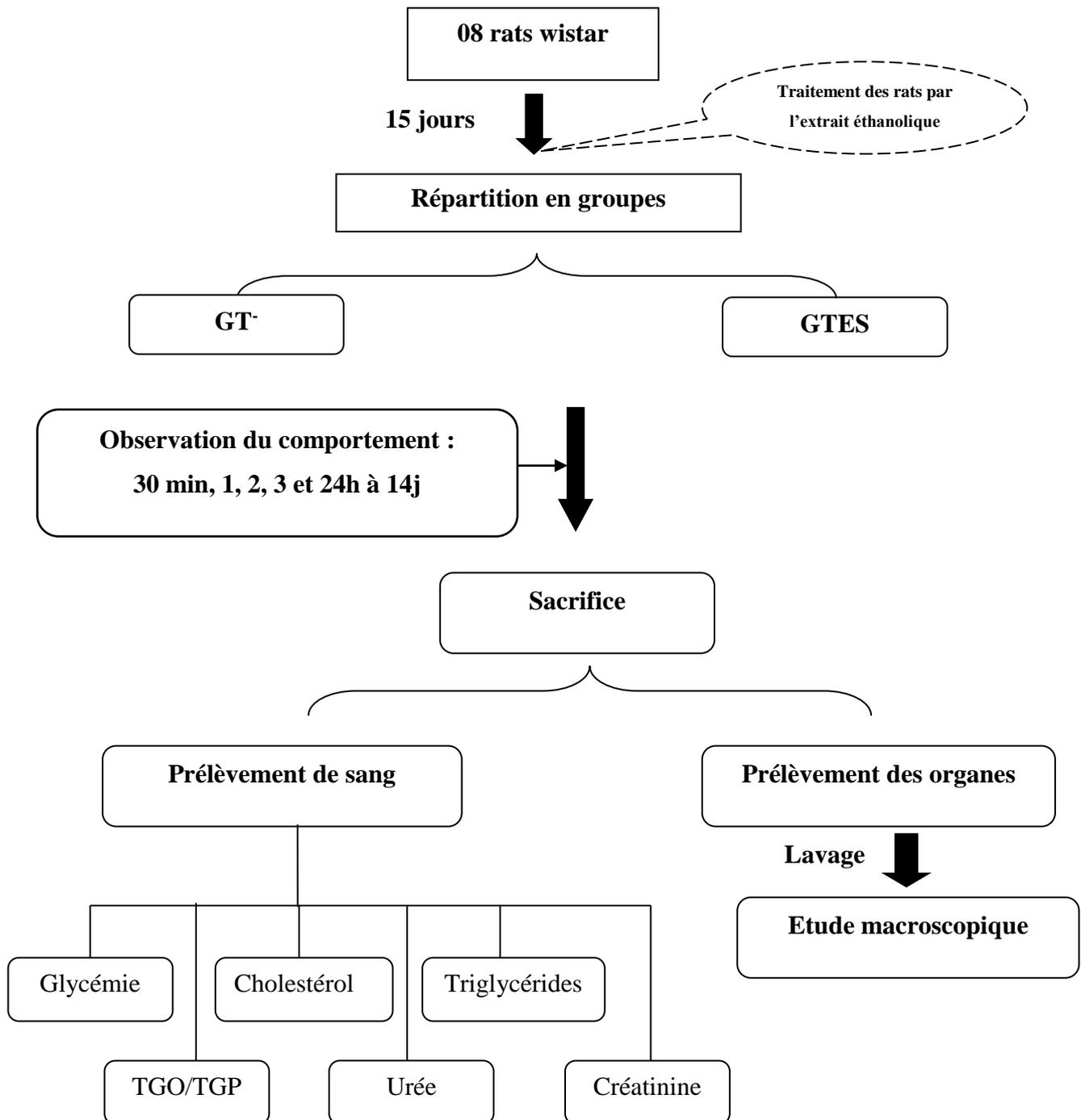
Après l'administration d'extrait, on réalise des observations pour avoir s'il y a des changements de comportement, du couleur de la fourrure, de la muqueuses et les yeux après 30 min, 1, 2, 3 et 24h puis observation quotidienne jusqu'à 14 jours (Raju et Reddy, 2017).

On a recherché surtout l'agitation, les pertes d'appétit, pertes de poids, les convulsions, la confusion, la salivation, les troubles digestifs (constipation et diarrhée) et les cas de coma et de mortalités (**Muia et al., 2019**).

Au jour J 14 les rats sont sacrifiés et des prélèvements de sang sont effectués pour les analyses de la glycémie, le cholestérol, les triglycérides, TGO, TGP, l'urée et la créatinine. Des organes sont prélevés (**Figure N°11**) : reins, cœur, poumon, intestin grêle et colon puis lavés par l'eau distillée pour l'examen macroscopique afin de rechercher des lésions de toxicité de cette plante (hémorragie, nécrose, entérite, lésion du foie).



**Figure N°11** : (A) Sacrifice des rats, (B) Prélèvement des organes.



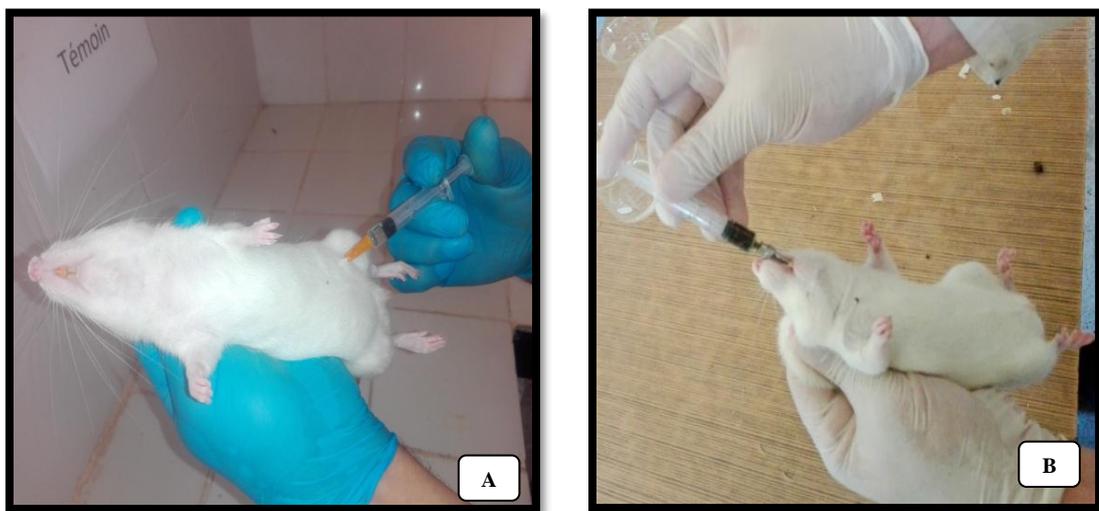
**Figure N°12 :** Plan de recherche de la toxicité d'extrait éthanolique de *S. officinalis*.

Avec : **Groupe GT** : Groupe des rats témoins négatifs ayant reçu l'eau distillée ; **GTES** : Groupe des rats reçoivent l'extrait éthanolique de *S. officinalis*.

### **III.1. Activité antidiabétique d'extrait éthanolique de *S. officinalis***

Le diabète a été provoqué par l'administration d'une dose unique d'une solution diabétogène (Alloxane) à la dose de 150 mg/kg de poids corporel par voie intrapéritonéale (**Figure N°13**). Les dosages de la glycémie et les pesés d'animal sont effectués chaque semaine (**Figure N°14**).

72h après administration, une analyse de la glycémie à jeun est réalisée à l'aide d'un appareil de glycémie « BIONIME Rightest GM 550 ». Les rats ayant une glycémie supérieure à 200 mg/dl sont retenus pour l'expérimentation (**Annexe VIII**).

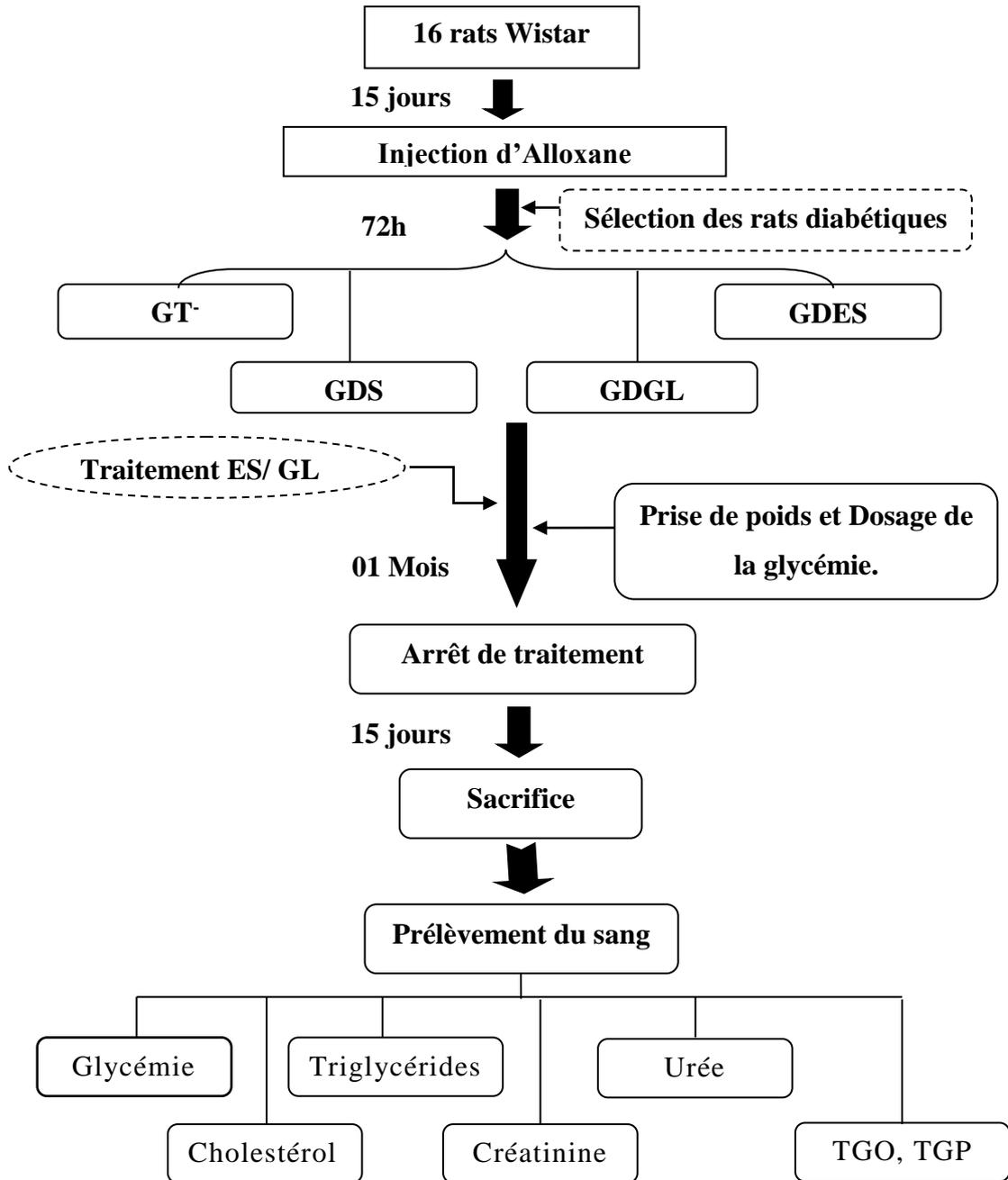


**Figure N°13 :** (A) Injection intrapéritonéale, (B) Administration d'extrait par gavage.

Les rats sont répartis en 04 groupes de 04 rats (**Annexe VII**):

- **Groupe 01 :** Des rats Non diabétiques, témoins négatifs recevant l'eau distillée (**GT**).
- **Groupe 02 :** Des rats Diabétiques sans traitement (**GDS**).
- **Groupe 03 :** Des rats Diabétiques avec un traitement antidiabétique « Glibenclamide » à une dose de 10 mg/kg de poids corporel (**GDGL**).
- **Groupe 04 :** Des rats Diabétiques avec l'administration d'extrait éthanolique à une dose de 300 mg/kg de poids corporel (**GDES**).

Ce traitement est arrêté après un mois, date à laquelle est effectuée une glycémie. 15 jours après, les rats sont sacrifiés et les analyses suivantes : la glycémie, le cholestérol, les triglycérides, Glutamate-oxaloacétate-transaminase (**TGO**), Glutamate-pyruvate-transaminase (**TGP**), l'urée et la créatinine effectuées (**Annexe IX ; Annexe X**).



**Figure N°14:** Organigramme d'activité antidiabétique d'extrait éthanolique de la sauge.

Avec : *GT-* : groupe des rats témoins négatifs, *GDS* : groupe des rats diabétiques sans traitement, *GDGL* : groupe des rats diabétiques reçoivent Glibenclamide, *GDES* : groupe des diabétiques reçoivent l'extrait éthanolique de *S. officinalis*.

#### **IV. Etude statistiques**

L'ensemble des résultats sont présentés sous forme de moyenne  $\pm$  écarte type. L'évaluation statistique des données a été réalisée en utilisant le logiciel STATISTICA (version 8.0.725.0) via *ANOVA* à un facteur suivi par le test LSD.

Une valeur de  $P \leq 0,05$  a été retenue comme seuil de signification ;  $P \leq 0,01$  comme très significatif et  $P \leq 0,001$  indique une différence hautement significative.

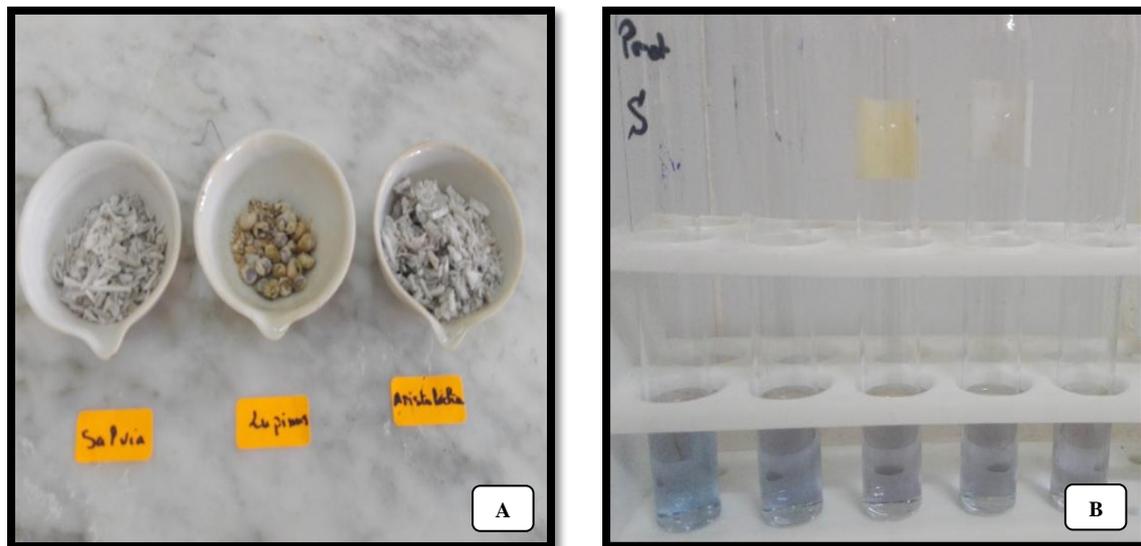
*Chapitre II :*  
*Résultats et Discussion*

### I. Analyses physicochimiques

Les résultats physicochimiques sont présentés dans la figure N°15 ; N°16. Le dosage du pH, d'humidité et des cendres a été effectués sur la plante fraîche pour *S. officinalis* et *A. longa* et sur les grains de *L. albus*. Les autres tests : dosage des lipides, des protéines et des sucres réducteurs ont été réalisés sur la poudre de ces plantes.

Il en ressort que *A. longa* est la plus acide avec une richesse en eau, en sucres réducteurs et en protéines ( $2,99 \pm 0,15\%$  ;  $68,66 \pm 13,31\%$  ;  $12,19 \pm 1,58\%$  ;  $1,91 \pm 0,02$  mg/ml) suivie par *S. officinalis* ( $7,38 \pm 0,05\%$  ;  $76 \pm 2\%$  ;  $1,89 \pm 0,84$  et  $0,53 \pm 0,01$  mg/ml) et finalement *L. albus* ( $7,87 \pm 0,02\%$  ;  $2,66 \pm 3,05\%$  ;  $2,67 \pm 0,06$  et  $0,74 \pm 0,2$  mg/ml).

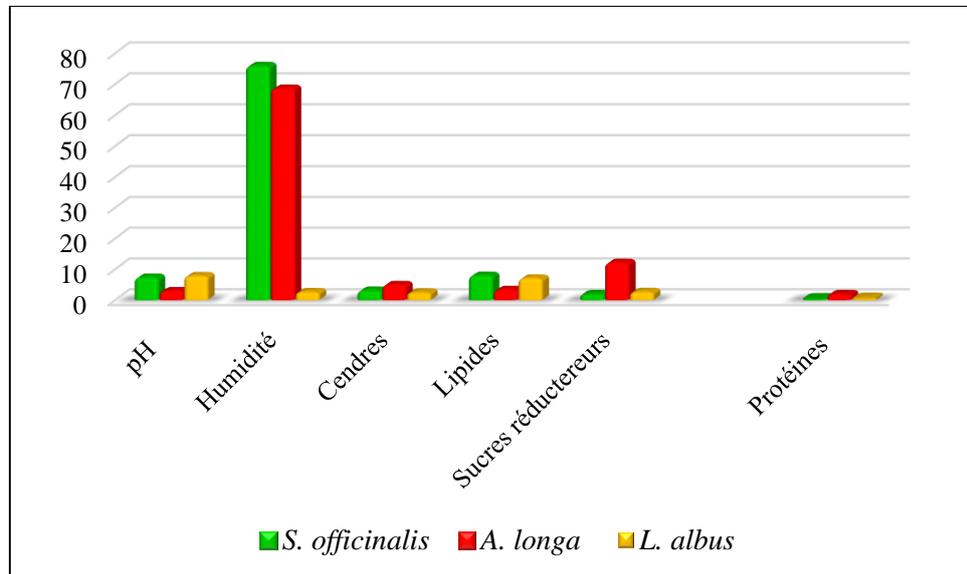
Pour les cendres et les lipides, *S. officinalis* expose un taux plus élevé qu'*A. longa* et *L. albus* de ( $3,16 \pm 0,15\%$  et  $8\%$ ) ; ( $5 \pm 0,1\%$  et  $4\%$ ) et ( $2 \pm 0,65\%$  et  $7,1\%$ ) respectivement.



**Figure N°15 :** (A) Capsules de porcelaine pour la détermination de taux des cendres, (B) Série de dilution pour le dosage des protéines de *S. officinalis*.

En 2017, **Benabdesslem et al.**, ont réalisé une étude dans laquelle ils expliquent que la valeur de pH est liée à la richesse des plantes vertes en chlorophylle. En parallèle, ils montrent qu'une faible teneur en eau assure une bonne conservation et une réduction de risque de contamination.

Des études antérieures montrent que la différence entre les propriétés physicochimiques pH, l'humidité, les cendres, les lipides et les protéines peut être influencées par divers facteurs dont l'espèce, l'âge de la plante, le stade de maturation, le temps d'exposition au soleil, la période de récolte et les conditions environnementaux (Ayaz *et al.*, 1999; Athamena, 2009 ).



**Figure N°16:** Bilan physicochimique des trois plantes.

(Les résultats sont présentés sous forme de moyennes  $\pm$  SEM avec  $n=3$ ).

Pour : Humidité, Cendres et Lipides sont exprimés en pourcentage (%) ; Sucres réducteurs et protéines en mg/ml.

## II. Analyses phytochimiques

### II.1. Rendement des extraits

Les rendements en différents extraits de *S. officinalis*, *A. longa* et *L. albus* sont représentés dans **la figure N°17**.

Cependant, les extraits de *S. officinalis* présentent un rendement hautement significatif ( $P \leq 0,001$ ) en extrait éthanolique et méthanolique par rapport au l'extrait aqueux ( $38 \pm 4$  et  $34,66 \pm 2,08$  vs  $21 \pm 5,29$  %) respectivement.

Ces résultats concordent avec ceux obtenus par **VelićKović *et al.*, 2011**; qu'ont montré que l'extrait éthanolique à 70% présente un taux élevé en résidu sec au contraire l'extrait méthanolique de la même concentration.

L'extrait aqueux est rapporté d'avoir un faible rendement que l'extrait acide de deux espèces de *Salvia* ; *S. officinalis* et *S. sclarea* (**Dellavalle *et al.*, 2011**).

Par contre ces valeurs sont faibles par rapport à celles obtenues par **Alimpic Ana et al., (2014)** où l'extrait éthanolique (96%) de *S. amplexicaulis* a un rendement plus élevé que le méthanolique (96%) mais avec des taux faibles de (13,18 et 8,78%) ; (10,18 et 8,16%) ; (7,52 et 9,92%) et (14,14 et 12%) pour la plante complète, les feuilles, les tiges et les fleurs. Parallèlement, diverses études dévoilent que l'extrait éthanolique (80%) de la partie aérienne de *S. officinalis* a un rendement de 12,3 % (**El Ouali et al., 2016**).

Plusieurs travaux révèlent que la diversification de rendement entre les extraits de *S. officinalis* peut être influencée par plusieurs paramètres parmi lesquelles ; l'origine végétale, la saison de récolte, les conditions et les méthodes d'extraction ainsi que le solvant appliqué dans l'extraction et leur proportion (**Perry et al., 1999 ; Dellavalle et al., 2011 ; Pratima et Plicepatil, 2017 ; Duletic et al., 2019**).

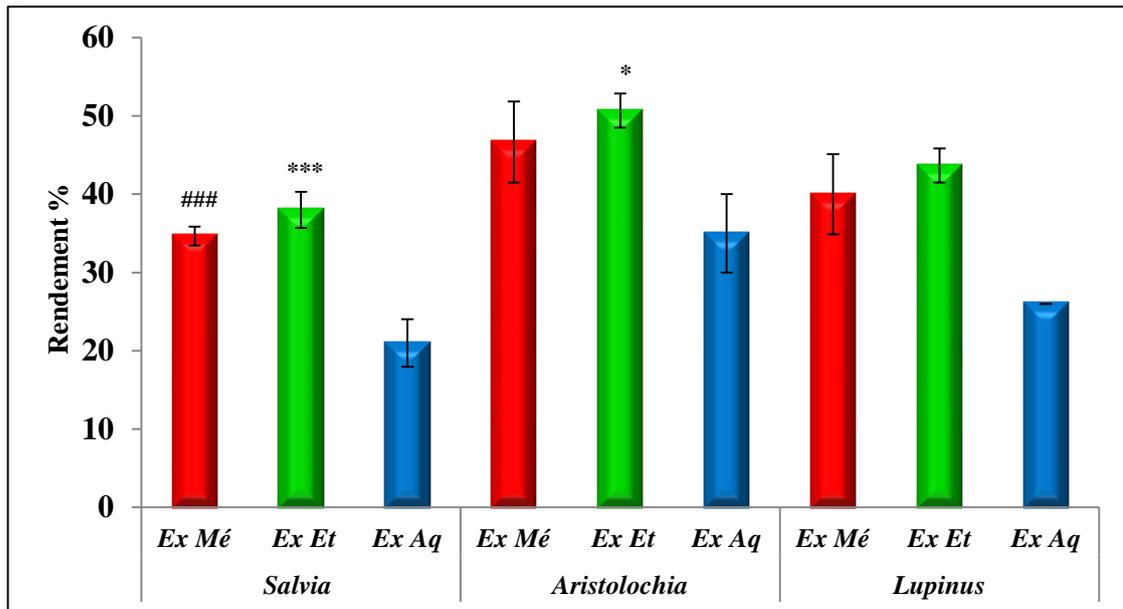
Les extraits d'*A. longa* révèlent une augmentation significative avec un  $p \leq 0,05$  d'extrait éthanolique avec l'extrait aqueux a une valeur de ( $50,66 \pm 3,7$  vs  $35 \pm 8,71\%$ ) et non significative avec l'extrait méthanolique de  $46,66 \pm 8,96\%$ .

Ces résultats montrent la richesse d'extrait éthanolique en comparaison avec l'extrait méthanolique et aqueux en concordance avec les travaux de **Roopalatha et Nair (2013)**. Montrent que l'extrait éthanolique est considéré comme un excellent solvant d'extraction par rapport à l'aqueux, l'éther de pétrole et le chloroforme. En revanche, nos résultats sont différents de ceux trouvés par d'autres recherches où l'extrait aqueux d'*A. longa* est meilleur par rapport l'extrait méthanolique et l'acétone dont 8,65%; 3,35% et 6,4% respectivement (**Merouani et al., 2017**).

A cet effet, on peut expliquer les résultats acquis par la composition chimique de la plante ainsi que le temps d'extraction, la température, le volume et la polarité du solvant utilisé (**Metrouh–Amir et al., 2015 ; Merouani et al., 2017**).

Par ailleurs, aucune différence significative n'est observée entre les extraits éthanolique, méthanolique et aqueux de *L. albus* ( $43,66 \pm 3,78$ ;  $40 \pm 8,88$  et 26 %) respectivement.

Ces résultats sont supérieurs à ceux de **Buszewski et al., (2019)**, où le rendement en extrait éthanolique à 96% de *L. luteus* était de 3,25%.



**Figure N°17:** Rendement des extraits méthanoliques, éthanologiques et aqueux pour *S. officinalis*, *A. Longa* et *L. Albus*.

(Les résultats sont présentés sous la forme de moyennes  $\pm$  SEM avec  $n=3$ ).

\*\*\* Différence hautement significative d'extrait éthanologique vs aqueux.

\* Différence significative d'extrait éthanologique vs aqueux.

### Différence hautement significative d'extrait méthanolique vs aqueux.

**Ex Mé** : Extrait Méthanolique, **Ex Et** : Extrait Ethanologique et **Ex Aq** : Extrait Aqueux.

Une augmentation du rendement est notée chez l'extrait éthanologique (80%) pour toutes les plantes par rapport à l'extrait méthanolique (80%) et aqueux. Cette augmentation peut être attribuée à la méthode d'extraction et la concentration du solvant, en concordance avec les travaux de **Safdar et al., (2016)**. Ces auteurs ont révélé dans une étude comparative entre les techniques et les solvants d'extraction de plusieurs concentrations que la technique de macération fournit un rendement élevé contre celle à ultrasons et que l'extrait éthanologique à 80% s'avère être le meilleur par rapport à l'extrait méthanolique grâce à la polarité du solvant.

Le rendement fort de l'extrait hydro-éthanologique et hydro- méthanolique est dû à la polarité du solvant ainsi que la combinaison de solvant organique et l'eau permet une extraction des composés solubles (**Do et al., 2013 ; Safdar et al., 2016**).

L'évolution d'extraction peut être liée à d'autres facteurs dont l'origine géographique, la qualité, l'âge de la plante, le climat et la composition du sol (**Derbal et Niar, 2019**).

## II.2. Screening phytochimique

Le screening phytochimique cible la présence des molécules actives dans les plantes et montre la capacité de chaque solvant d'extraire un grand nombre de constituants actifs pour chaque plante (**Tableau N°02**). La présence et l'absence des molécules bioactives se traduit par le virage de couleur (**Annexe II**).

Le dépistage phytochimique de *S. officinalis* révèle une richesse en tanins, flavonoïdes, alcaloïdes et glycosides cardiaques des deux extraits méthanolique (80%) et éthanolique (80%), d'autre part leur extrait aqueux est riche en mucilages et terpénoïdes.

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par **El Ouali et al., (2016)**. Ces derniers confirment la richesse d'extrait éthanolique de *S. officinalis* en flavonoïdes, tanins, glycosides, mucilages. En **2019, Khare et al.**, indiquent la présence de glycosides, d'alcaloïdes et de flavonoïdes dans l'extrait méthanolique de *S. officinalis*. D'autres recherches révèlent la richesse des extraits méthanolique et aqueux de *S. aegyptiaca* en alcaloïdes, flavonoïdes, stéroïdes, glycosides, tanins, terpénoïdes, saponines et de *S. chudaei* en saponines, flavonoïdes, tanins (**Krimat et al., 2015 ; Pratrma et al., 2017**).

Les travaux de **kadhim et al., (2016)** ; révèlent que l'extrait aqueux de *S. officinalis* est riche en composés bioactifs ; tanins, alcaloïdes, flavonoïdes, glycosides cardiaques, stéroïdes et saponines.

Les analyses phytochimiques d'*A. Longa* obtenues indiquent la présence des flavonoïdes et les glycosides cardiaques dans les trois extraits (éthanolique, méthanolique et aqueux) par contre les tanins et les alcaloïdes que dans l'extraits éthanolique et méthanolique. L'extrait aqueux caractérise par l'existence des terpénoïdes, mucilages et les saponosides.

Ces résultats sont similaires avec plusieurs études. Ces derniers ne déclarent que le dépistage phytochimique d'extrait aqueux d'*A. longa* a révélé la présence de polyphénols, flavonoïdes et de saponines et l'absence des alcaloïdes (**Benarba et al., 2016**). Au contraire autres études ont montré la présence l'existence d'alcaloïdes, de glycosides, de composés phénoliques, flavonoïdes, Terpénoïdes et saponines dans l'extrait aqueux d'*A. longa* (**Derouiche et al., 2018**).

D'autre part, des chercheurs ont publié que le criblage phytochimique d'extrait méthanolique *A. bracteata* révèle la présence des alcaloïdes, les flavonoïdes, glycosides cardiaques ainsi les tanins et autre composés tel que hydrates de carbone, protéines et de stéroïdes et de stérols (**Thirumal et al., 2012 ; Chawla et al., 2013 ; Bhaaskaran et al., 2014 et Raja et Pandiyan, 2016**). Extrait méthanolique d'*A. indica* dont Alcaloïdes, glycosides cardiaques, saponines, tanins et flavonoïdes (**Moazzem et al., 2014**).

Dépistage phytochimique de *L. Albus* montre que leur extrait éthanolique et méthanolique caractérise la présence des flavonoides, les alcaloïdes et les glycosides cardiaques et des terpénoïdes, mucilages et saponosides pour l'extrait aqueux.

Ces résultats sont affirmés par ceux obtenus par **Ibrahim et al., en 2019**. Ces derniers publient que l'extrait aqueux et éthanolique de *L. albus* riche en alcaloïdes, glycosides, saponines et les terpènes avec une absence des tanins dans tous les extraits et des flavonoides que pour l'extrait éthanolique. D'autre part, des chercheurs découvrent que les grains de lupinus sont une source très importante de composés bioactifs à savoir les alcaloïdes, les polyphénols, les phytostérols dont un pouvoir antioxydant, antimicrobien, anti-inflammatoire et antidiabétique (**Khan et al., 2009**). En **2015, Sibul et al.**, réaffirment la richesse d'extrait méthanolique à 80% d'herbe de *L. albus* en métabolites secondaires et par conséquent une forte activité biologique. En outre, l'extrait méthanolique (80%) des grains de *L. albus* indique la présence des alcaloïdes, quinones, coumarines et une absence des flavonoides, tanins, des polyphénols, saponines et les terpénoïdes. Cette différenciation peut être expliquée par les variations de variétés de lupinus, l'impact des conditions climatiques ainsi le types et de solvants d'extraction utilisés (**Abdallah et al., 2017**).

**Tableau N°02:** Screening phytochimiques des trois extraits des plantes étudiées.

Plantes	<i>S. Officinalis</i>			<i>A. Longa</i>			<i>L. albus</i>		
	Ex Mé	Ex Et	Ex Aq	Ex Mé	Ex Et	Ex Aq	Ex Mé	Ex Et	Ex Aq
<b>Tanins</b>	+	+	-	+	+	-	-	-	-
<b>flavonoïdes</b>	+	+	-	+	+	+	+	+	-
<b>Terpénoides</b>	-	-	+	-	+	+	-	-	+
<b>Mucilages</b>	-	-	+	-	+	+	+	-	+
<b>Anthocyanes</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Stéroïdes</b>	-	+	-	-	+	-	-	+	-
<b>Alcaloïdes</b>	+	+	+	+	+	-	+	+	+
<b>Glycosides cardiaques</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Saponosides</b>	-	-	-	-	-	+	-	-	+

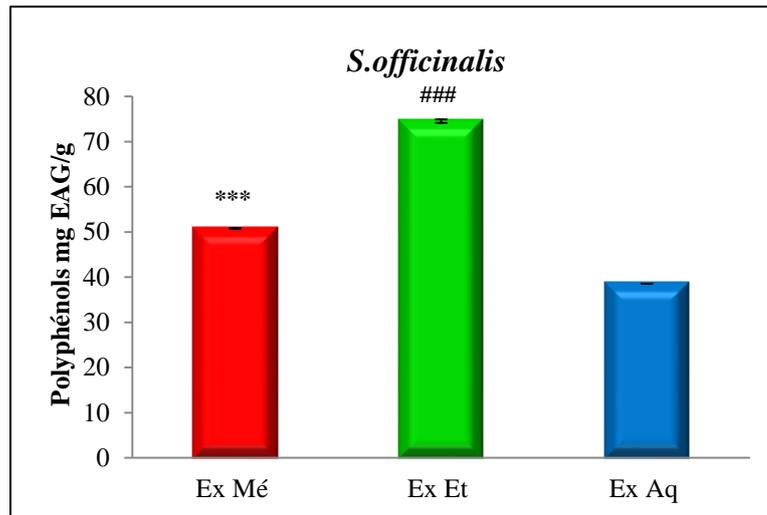
+ : Présence, - : Absence.

### II.3. Dosage des polyphénols

Polyphénols sont des produits de métabolites secondaires qui sont trouvés dans plusieurs aliments et ont un effet bénéfique sur la santé humaine en protégeant contre différentes maladies tel que le diabète, les infections et le cancer suite à leurs effet antioxydant, anti-inflammatoire, anticancéreux (**Pandey et al., 2009, Panche et al., 2016**).

La diversité des extraits des plantes *S. officinalis*, *A. longa* et *L. albus* en métabolites secondaires se traduit par leur taux des polyphénols (**Annexe IV**).

La teneur des extraits de *S. officinalis* en polyphénols révèle un taux hautement significatif avec un  $p \leq 0,001$  d'extrait méthanolique contre aqueux  $50,78 \pm 0,19$  vs  $38,54 \pm 0,04$  mg EAG /g respectivement. En outre, nous remarquons une augmentation hautement significative ( $p \leq 0,001$ ) d'extrait éthanolique de  $74,54 \pm 0,65$  mg EAG/g avec l'extrait méthanolique (**Figure N°18**).



**Figure N°18:** Taux des polyphénols des extraits de *S. officinalis*.

(Les résultats sont présentés sous la forme de moyennes  $\pm$  SEM avec  $n=3$ )

\*\*\* Différence hautement significative d'extrait méthanolique vs aqueux.

### Différence hautement significative d'extrait éthanolique vs méthanolique.

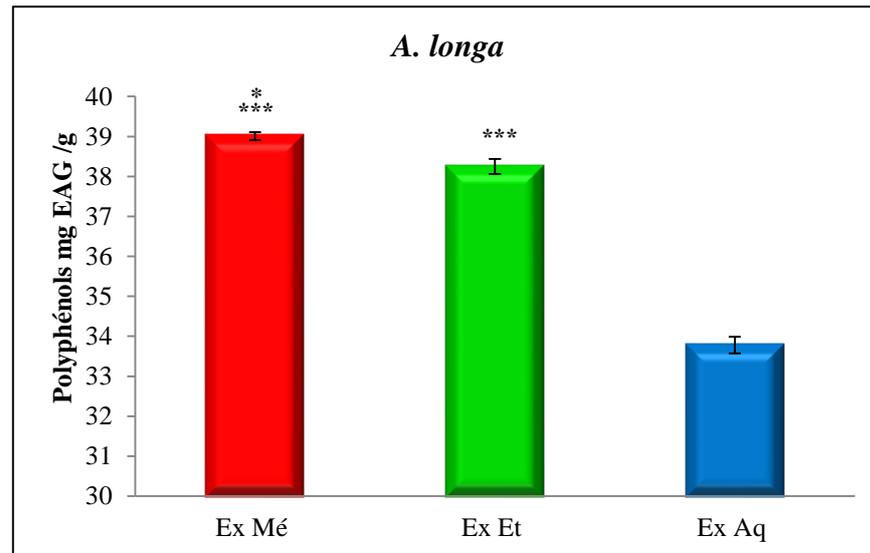
Ces résultats sont confirmés par **Pop et al.**, en **2013**, montrent que l'extrait éthanolique de *S. officinalis* à un taux élevé de polyphénols par rapport aux méthanolique.

Autres études comparative entre l'extrait aqueux et l'extrait éthanolique à 50% et 96% montrent que la concentration 50% plus riche suivie par 96% et en fin l'aqueux de 97,07 ; 77,44 et 102,12 mg EAG/g (**Duletić-Laušević et al.**, **2019**).

Ces valeurs sont faibles à celles obtenues par **El Gabbas et al.**, **2019**. Présentent que l'extrait éthanolique 80% de *S. officinalis* est de 120,3 mg EAG/g. Ainsi celles obtenues par **Krimat et al.**, **2015**, présente un taux de 39,03 mg EAG/g d'extrait hydro-méthanolique de *S. chudae*.

Autres ne publient que l'extrait éthanolique à 96% *S. amplexicaulis* plus riche que méthanolique dont 222,4 et 180,89 mg EAG / g respectivement. Extrait éthanolique et aqueux de *S. tchihatcheffii* ont une teneur de 197,22 et 251,39 mg EAG/g (**Uygun et al.**, **2012**).

Concernant, *A. longa* révèle une teneur significative  $p \leq 0,05$  d'extrait méthanolique contre l'extrait éthanolique ( $39,01 \pm 0,19$  vs  $38,25 \pm 0,33$  mg EAG /g) respectivement. Autrement une augmentation hautement significative avec  $p \leq 0,001$  de l'extrait aqueux de  $33,78 \pm 0,33$  mg EAG /g vis à vis ces deux extraits (**Figure N°19**).



**Figure N°19 :** Teneur des extraits d'*A. longa* en polyphénols.

(Les résultats sont présentés sous la forme de moyennes  $\pm$  SEM avec  $n=3$ )

\* Différence significative d'extrait méthanolique vs éthanologique.

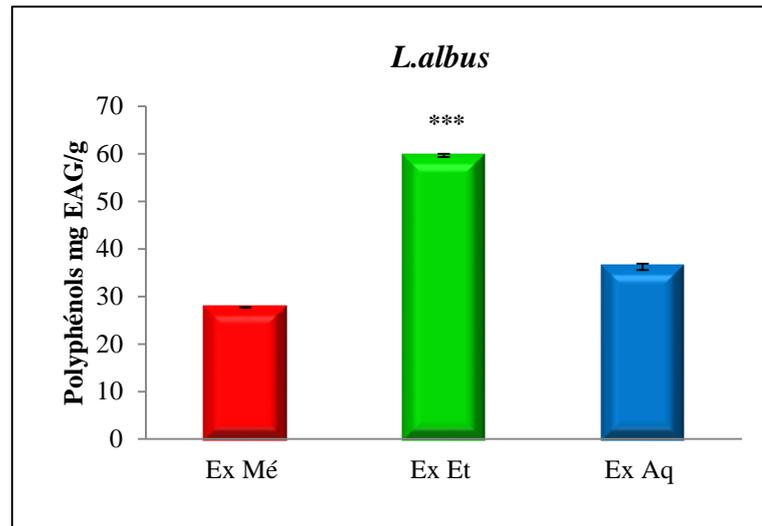
\*\*\* Différence hautement significative d'extrait méthanolique et éthanologique vs aqueux.

Ces résultats sont corroborés par plusieurs travaux qu'ont démontré la richesse des extraits d'*A. longa* en composés phénoliques, c'est le cas des travaux publiés par **Benarba et al., en 2016**, dévoilent que l'extrait aqueux des racines d'*A. longa* contient des polyphénols.

En au-delà, autre travaux présentent que la partie aérienne d'extrait aqueux riche en polyphénols en comparaison avec l'extrait méthanolique (**Merouani et al., 2017**).

Autres études comparatives entre l'extraits aqueux, méthanolique, d'acétate éthyle des racines d'*A. longa* où prouvent la richesse d'extrait d'éthyle d'acétate des racines d'*A. longa* puis l'extrait méthanolique par rapport à l'aqueux (**El Omari et al., 2019**). En effet, des recherches démontrent que l'extrait éthanologique *A. alida* riche que l'aqueux (**Guinnin et al., 2016**).

Or, les extraits de *L. albus* prouvent un taux hautement significatif  $p \leq 0,001$  d'extrait éthanologique contre méthanolique et aqueux ( $59,66 \pm 0,56$  vs  $27,68 \pm 0,09$  et  $36,23 \pm 1,16$  mg EAG/g) (**Figure N°20**).



**Figure N°20 :** Résultats des polyphénols des extraits de *L. albus*.

(Les résultats sont présentés sous la forme de moyennes  $\pm$  SEM avec  $n=3$ )

\*\*\* Différence hautement significative d'extrait éthanolique vs méthanolique et aqueux.

Tout d'abord, ces résultats sont conformés par ceux obtenus après les études de **Karamać et al., 2018**. Montrent que l'extrait méthanolique (40%) fourni un taux important que les grains de *L. albus* prévenant différent variété Vladimir, Ilmen, Bozkir et Desdegin dont (40 ; 37,1 ; 29,7 et 36,4 mg EAG/g) et (7,05; 4,36 ; 5,74 et 7,24 mg EAG/g) respectivement.

Par contre, nos résultats sont en discordance par rapport à d'autre travaux publient que *L. angustifolius* de 6,96 mg EAG/g ; *L. albus* (6,14 mg EAG/g) ; *L. luteus* (4,67 mg EAG/g) et *L. Mutabilis* de 3,67 mg EAG/g (**Dalaram, 2017**).

En outre, d'autres ne publient que la teneur en polyphénols et en tanins variés selon l'espèce de lupinus. Selon leurs résultats approuvent que l'extrait éthanolique à 80% de *L. albus* plus riches que *L. luteus* et *L. angustifolius*. Ils ont évoqué que ces résultats liés à l'efficacité d'extrait hydro-éthanolique d'extraire des composés par rapport à l'hydro-méthanolique et l'hydro-acétone (**Lampart-Szczapa et al., 2003**).

De leurs parts, **Khan et al., 2015**, réaffirment que lupinus est une plante riche en composés phénolique par une étude réalisée sur toutes les parties soit la tige, les feuilles, les racines et les grains de lupinus, ont montré que la variation de concentration selon la partie étudiée.

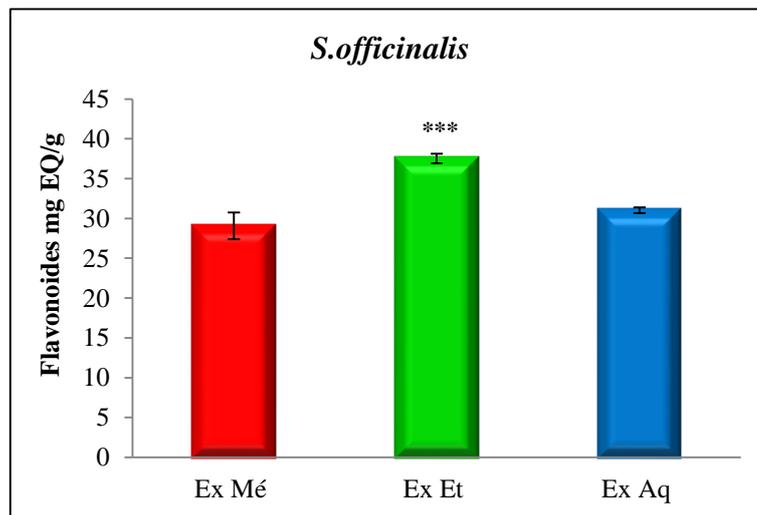
Selon les résultats de dosage des polyphénols pour tous les extraits des trois plantes on remarque que chaque plante présente un taux spécifique pour chaque extrait.

Par conséquent, on peut s'expliquer la diversification des taux de polyphénols par plusieurs conditions liées soit à la plante parmi eux, les changements climatiques de la plante qu'ont joué un facteur très important dans leur richesse en composés phénolique et de même dans leurs activité biologique (**Kumar et al., 2017**). Soit aux conditions expérimentales ; température, le temps et la méthode d'extraction, la nature du solvant et leur pourcentage (**Lee et al., 2003; Hammoudi et al., 2017**).

Autres travaux expliquent que les composés phénoliques puissent guider à la formation des complexes insolubles par l'association avec des composants végétaux le cas des protéines et des glucides. Leur solubilité base sur leur nature chimique dans la plante de simple à très fortement polymérisée qui peut affecter par la polarité des solvants utilisés (**Naczk et Shahidi, 2006**).

#### II.4.Dosage des flavonoïdes

Le taux des flavonoïdes est toujours lié aux polyphénols et à la richesse en composés bioactifs. Les dosages de taux des flavonoïdes de *S. officinalis* présentent dans la **Figure N°21**, montrent un taux hautement significatif  $p \leq 0,001$  d'extrait éthanolique contre l'extrait méthanolique et aqueux ( $37,53 \pm 1,06$  vs  $29,07 \pm 2,93$  et  $31,03 \pm 0,65$  mg EQ/g respectivement).



**Figure N°21** : Taux des flavonoïdes de *S. officinalis*.

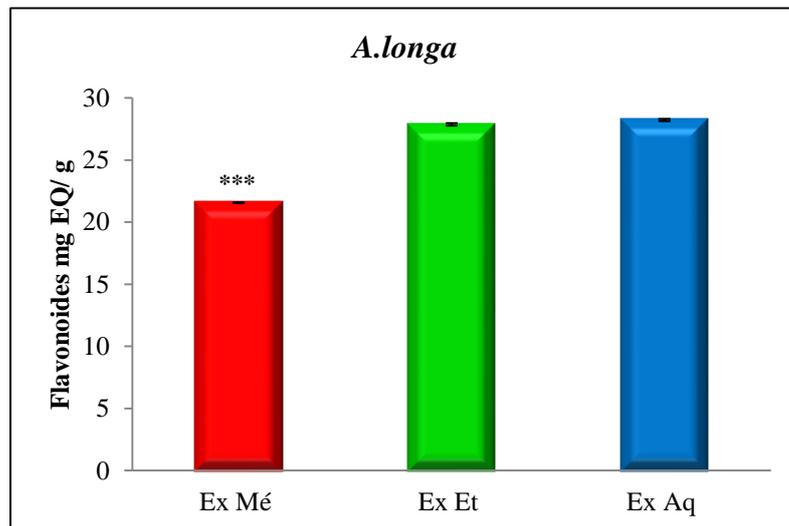
(Les résultats sont présentés sous la forme de moyennes  $\pm$  SEM avec  $n=3$ )

\*\*\* Différence hautement significative d'extrait éthanolique vs méthanolique et aqueux.

Ces résultats sont en corrobore avec ceux obtenus par **Alimpić Ana et al., 2014** ; l'extrait éthanolique et méthanolique *S. amplexicaulis* (49,81 et 38,15 mg EQ/g). Par contre, autres études réalisées prouvent que l'extrait méthanolique riche que l'éthanolique de *S. officinalis* dont 31,05 et 26,13 mg EQ/g respectivement (**Et- Touys et al., 2014**).

Selon **Duletić-Laušević et al., 2019**, trouvent que l'extrait éthanolique de *S. officinalis* de différentes variétés à 50% présent un taux haut des flavonoides par contre à sel de 96% et aqueux.

*A. longa* dont une diminution hautement significative  $p \leq 0,001$  d'extrait méthanolique vs l'extrait éthanolique et aqueux ( $21,56 \pm 0,07$  vs  $27,86 \pm 0,19$  et  $28,22 \pm 0,15$  mg EQ/g respectivement (**Figure N°22**).



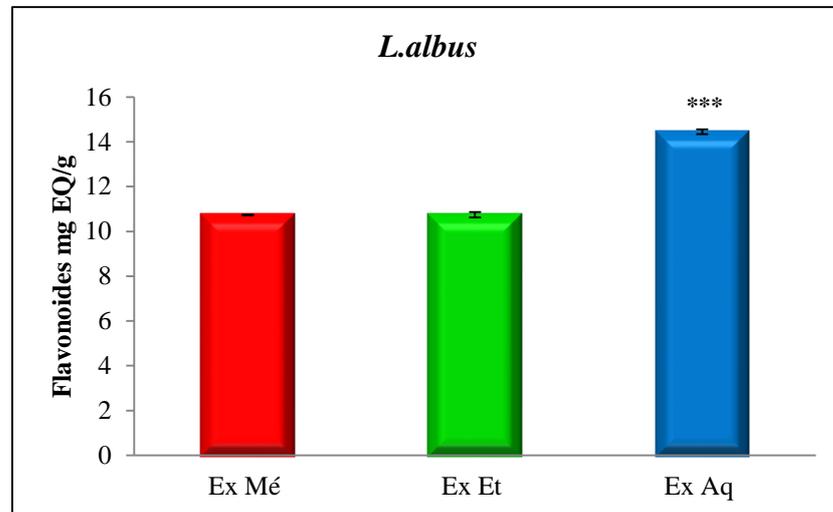
**Figure N°22** : Dosage de flavonoides des différents extraits d'*A. longa*.

((Les résultats sont présentés sous la forme de moyennes  $\pm$  SEM avec  $n=3$ )

\*\*\* Différence hautement significative d'extrait méthanolique vs éthanolique et aqueux.

Ces résultats sont confirmés par plusieurs travaux qu'ont affirmé la richesse des extraits d'*A. longa* en composés phénoliques, c'est le cas des travaux publiés par **Benarba et al., en 2016**, dévoilent que l'extrait aqueux des racines d'*A. longa* contient des polyphénols et de flavonoides. Au-delà, nos résultats sont forte en comparaison avec ceux obtenus par **Merouani et al., 2017**, montrent que l'extrait méthanolique (80 %) de la partie aérienne riche en flavonoides par rapport leurs extrait aqueux de 0,052 et 0,009 mg EQ/ g.

En fin pour *L. albus* l'extrait aqueux montre un taux hautement significatif  $p \leq 0,001$  avec l'extrait méthanolique et éthanolique de  $14,44 \pm 0,20$  vs  $10,73 \pm 0,04$  et  $10,74 \pm 0,22$  mg EQ/g respectivement (**Figure N°23**).



**Figure N°23** : Teneur de *L. albus* en flavonoides.

(Les résultats sont présentés sous la forme de moyennes  $\pm$  SEM avec  $n=3$ )

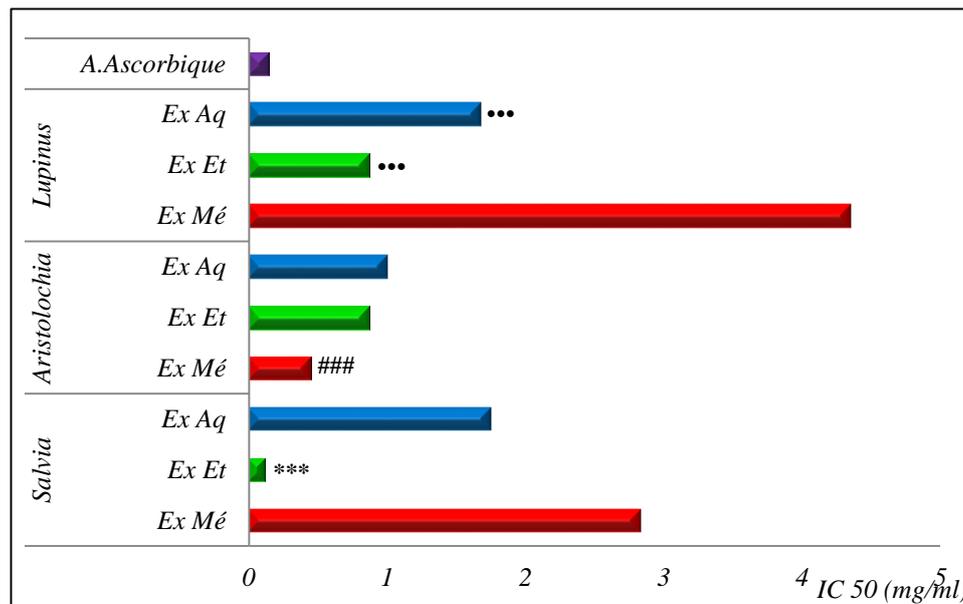
\*\*\* Différence hautement significative d'extrait aqueux vs méthanolique et éthanolique.

Ces résultats sont faibles à ceux obtenus par **Hanania et al., 2018 ; 2019**. Ces derniers exposent la richesse d'extrait éthanolique à 80 % de *L. albus* en comparaison avec 50 ; 60 ; 70 et 95% des grains imbibés et non imbibés dans l'eau avant l'extraction dont (32,37 ; 23,19 ; 19,55 ; 23,14 et 24,77 mg ER/g) et ( 23,55 ; 19,21 ; 8,77 ; 23,57 et 19,09 mg ER/ g) par contre l'extrait éthanolique de la poudre des grains pour les mêmes concentrations présentent un taux de 11,17 ; 39,83 ; 22,56 ; 35,19 et 115,02 mg ER/g . En outre, autres travaux confirment la richesse des grains de *L. albus* en flavonoides d'une teneur de 13 mg EC/g (**Al Juhaimi et al., 2019**).

L'évolution de taux des flavonoïdes est influencée par plusieurs paramètres génétiques et environnementaux dont le climat, la zone, la température, la fertilité, les parasites et les maladies ; de même, l'efficacité d'extraction dépend de la vitesse de diffusion et de la solubilité du solvant (**Duletić-Laušević et al., 2016, Abarca-Vargas et al., 2019**). Ceci est démontré par la recherche de **Do et al., (2014)** où l'extrait éthanolique présente un rapport 4 fois supérieur à l'extrait aqueux selon la polarité.

## II.5. Activité antioxydante « DPPH »

Activité antioxydante explique l'activité biologique des plantes médicinales et leur moyen d'intervention dans le traitement de diverses maladies liées au stress oxydatif. On peut classer le pouvoir antioxydant selon la concentration minimale causant l'inhibition à 50% du DPPH (IC<sub>50</sub>), la concentration la plus faible signifie une grande capacité antioxydante (Khoudali *et al.*, 2014).



**Figure N° 24:** IC<sub>50</sub> exprimée en mg/ml des extraits méthanolique, éthanolique et aqueux de *Salvia*, *Aristolochia*, *Lupinus* et l'Acide Ascorbique.

(Les résultats sont exprimés en moyennes  $\pm$  SEM avec  $n=3$ ).

\*\*\* Différence hautement significative d'extrait éthanolique vs méthanolique et aqueux.

### Différence hautement significative d'extrait méthanolique vs éthanolique et aqueux.

••• Différence hautement significative d'extrait éthanolique et aqueux vs méthanolique.

Les résultats obtenus d'après l'évolution d'activité antioxydante (**Figure N°24**), démontrent que l'extrait éthanolique de *Salvia* présente une capacité antioxydante hautement significative  $p \leq 0,001$  versus l'extrait méthanolique et aqueux avec une IC<sub>50</sub> de (0,106  $\pm$  0,001; 2,82  $\pm$  0,05 et 1,74  $\pm$  0,005 mg/ml) respectivement.

Ces résultats sont corrélés par les travaux de **Rasmy *et al.*, (2012)**. Ces derniers révèlent que l'extrait éthanolique à 80%, l'aqueux et l'huile essentiel de *S. officinalis* présente un pouvoir de piégeage des radicaux libre de DPPH avec IC<sub>50</sub> de 0,001mg/ml ; 0,014 et 8,51 mg/ml respectivement.

De leur côté, **Doletić- Laušević et al., (2016)** réalisent une étude comparative entre les extraits éthanolique, acétate, chloroforme, dichlorométhane de *S. officinalis* où prouvent la forte capacité d'inhibition des radicaux par l'extrait éthanolique suivie par le dichlorométhane, l'acétate et le chloroforme de 0,169; 0,37 ; 0,42 et 0,57 mg/ml respectivement.

Par contre, les travaux effectués par **Mekhaldi et al., (2014)** sur l'extrait méthanolique de *S. officinalis* prouvent aussi leur capacité inhibitrice avec une IC50 de 0,275 et 0,62 mg/ml pour l'huile essentielle. Les extraits méthanolique (70%), chloroforme, éther diéthylique, l'acétate éthylique de *S. chudaei* donnent 0,19; 0,74 ; 0,06 et 0,08 mg/ml respectivement (**Krimat et al., 2015**). L'extrait méthanolique de *S. tomentosa* a une capacité inhibitrice de DPPH à une concentration de 0,15mg/ml (**Bayan et Geniç, 2017**).

D'autre part, chez *Aristolochia* ( $p \leq 0,001$ ), l'extrait méthanolique est de  $0,44 \pm 0,005$  mg/ml contre  $0,86 \pm 0,005$  et  $0,99 \pm 0,05$  mg/ml pour l'extrait éthanolique et aqueux respectivement.

**Merouani et al., (2017)**, ont réalisé des dosages d'activité antioxydante sur les extraits de la partie aérienne d'*A. longa* et ont montré le fort pouvoir d'inhibition d'extrait méthanolique (80%) suivi par l'aqueux puis l'acétone (0,55 ; 0,157 et 0,182 mg/ml respectivement) comme ceux obtenus dans notre étude. D'autre part, la fraction méthanolique donne une IC50 de 0,199 mg/ml, la fraction et l'extrait aqueux (0,125 et 0,354 mg/ml) respectivement (**El Omari et al., 2019**).

Même l'extrait éthanolique à 80% d'*A. pierreii* est capable de piéger les radicaux libres à une concentration de 0,453 mg/ml (**Tuekaew et al., 2014**).

En revanche, lupinus présente un pouvoir d'inhibition hautement significatif entre l'extrait éthanolique et aqueux vis-à-vis de l'extrait méthanolique ( $0,86 \pm 0,01$  et  $1,67 \pm 0,04$  vs  $4,34 \pm 0,19$  mg/ml) respectivement. Cependant, aucune différence significative n'a été signalée entre l'extrait éthanolique et aqueux.

Ces valeurs sont confirmées récemment par les travaux de **Buszewski et al., (2019)**. Les résultats de ces derniers révèlent le pouvoir antioxydant d'extrait éthanolique (70%) de *L. luteus* avec un taux d'inhibition de DPPH de 83,6%.

D'autres travaux réalisés sur des variétés différentes de *L. albus* ont montré une diversification de la capacité d'inhibition des radicaux libres de chaque variété avec 3,98 ; 4,77 ; 7,22 et 9,70 mg/ml pour Vladimir, Bozkir, Desdegin et Ilmen respectivement (**Karamać et al., 2018**).

Les résultats d'activité antioxydant acquis d'après les extraits éthanoliques, méthanoliques et aqueux de *S. officinalis*, *A. longa* et *L. albus* révèlent que l'extrait éthanolique de *S. officinalis* (0,106 mg/ml) présente une activité un peu mieux que celui donnée par l'acide ascorbique 'Vitamine C' (0,13 mg/ml).

Selon les valeurs obtenues, une différence entre la capacité d'inhibition selon le solvant utilisé a été observée. Par conséquent, l'extrait éthanolique fournit une grande capacité de piégeage des radicaux libres. Cette dernière peut être traduite par le meilleur pouvoir d'extraction des antioxydants et leur richesse en composés bioactifs. Dans ce contexte, **Zhou et Yu, (2004)** rapportent des effets significatifs entre les solvants appliqués dans l'extraction des antioxydants et le pouvoir d'inhibition des radicaux libres de DPPH. De même, d'autres recherches montrent une corrélation positive entre les composés phénoliques qu'ont une meilleure capacité d'inhibition des radicaux libres et l'activité antioxydante (**Tosun et al., 2009**).

En outre, la qualité d'extraction est liée à plusieurs paramètres dont la polarité des solvants appliqués dans l'extraction, la technique de séparation où les solvants organiques sont plus efficaces que l'eau à cause de leur capacité d'extraction des polyphénols. Ces derniers sont connus dans leur participation majeure dans l'activité antioxydante (**Lafka et al., 2007 ; Sepahpour et al., 2018**). Plusieurs travaux prouvent que l'extrait éthanolique à 80% est plus efficace par rapport au méthanolique (80%) et à l'aqueux à cause de sa polarité. Par conséquent, leur polarité fournit une forte aptitude d'extraction des composés phénolique et des flavonoïdes (**Koffi et al., 2010 ; Anwar et Przybylski, 2012 ; Grujic et al., 2012**).

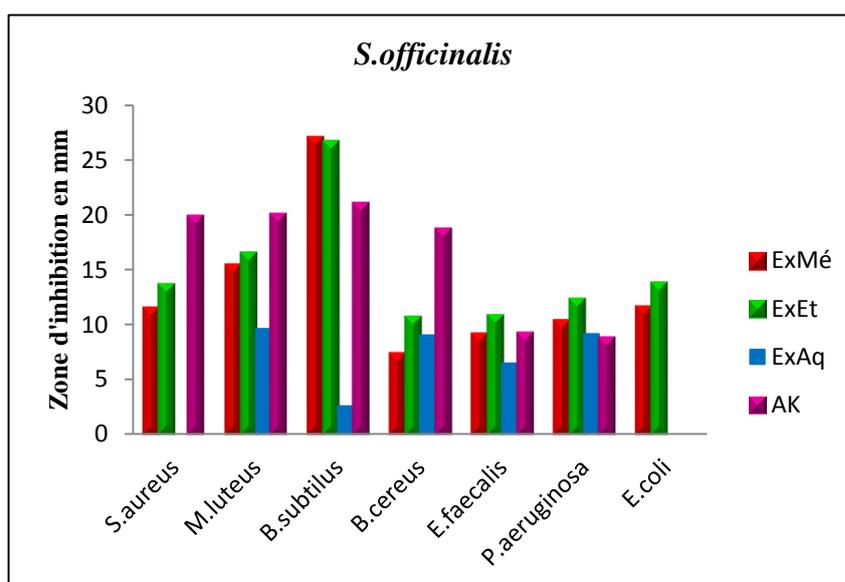
### III. Activité antibactérienne

#### III.1. Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits des plantes étudiées

L'activité antibactérienne contre des bactéries à Gram négatif et positif des trois extraits des plantes *Salvia*, *Aristolochia* et *lupinus* à l'aide de la méthode de diffusion des disques par la détermination de zone d'inhibition (**Tableau N°03; Annexe VI**).

L'activité antibactérienne de *Salvia* est maximale avec l'extrait éthanolique et méthanolique contre *S. aureus*, *E. coli*, *M. luteus*, *B. subtilus*, *B. cereus*, *E. faecalis* et *P. aeruginosa* avec ( $13,63 \pm 0,55$  ;  $13,80 \pm 1,53$  ;  $16,51 \pm 2,36$ ;  $26,62 \pm 2,97$  ;  $10,66 \pm 0,28$ ;  $10,83 \pm 0,28$  et  $12,3 \pm 1,59$ mm) et ( $11,5 \pm 2,17$  ;  $11,6 \pm 0,52$  ;  $15,43 \pm 2,23$  ;  $27,06 \pm 1,49$  ;  $7,34 \pm 6,41$ ;  $9,14 \pm 1,82$  et  $10,34 \pm 1,22$  mm) respectivement (**Figure N°25**).

Par contre l'extrait aqueux est de faible activité et ne réagit que contre *B. cereus* ( $9,02 \pm 0,95$  mm) et *P. aeruginosa* ( $9,11 \pm 0,83$  mm). En parallèle, l'activité du témoin positive « l'antibiotique Amikacine à  $30 \mu\text{g}$  » signale un grand pouvoir d'inhibition contre *E. coli*, *M. luteus*, *B. subtilus*, *S. aureus* et *B. cereus* de  $23 \pm 1$  ;  $20 \pm 1$ ;  $21$  ;  $19,83 \pm 0,28$  et  $18,66 \pm 0,57$  mm de zone d'inhibition respectivement, *E. faecalis* ( $9,21 \pm 0,4$ mm) et *P. aeruginosa* ( $8,78 \pm 0,91$  mm). En revanche, les témoins négatifs inclus les solvants éthanol à 80%, méthanol à 80% et l'eau distillée ne présentent aucun effet antibactérien sur les germes testés.



**Figure N°25** : Activité antibactérienne de *S. officinalis*.

AK : Antibiotique Amikacine ( $30 \mu\text{g}$ ).

Ces résultats sont supérieurs à ceux obtenus par **Ghezlbash** et ses collaborateurs (2015); ils montrent que l'extrait éthanolique des tiges de *S. officinalis* est capable d'inhiber *E. coli*, *S. aureus* et *B. cereus* avec une zone de 7mm et pour les fleurs de 9 ; 10 et 8 mm pour *E. coli*, *S. aureus* et *B. cereus* respectivement à une concentration de 50mg/ml.

**Abd-Elmageed** et **Hussein** en (2008) ainsi que **Mosafa et al.**, (2014), montrent que l'extrait éthanolique et aqueux de *S. officinalis* ont une possibilité d'inhibition de *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *B. cereus*, *M. luteus* et *B. subtilis*.

L'activité de l'extrait éthanolique et méthanolique était pour *P. aeruginosa* (14,8 vs 21,8 mm), *B. subtilis* (15,7 vs 20,3mm), *E. coli* (17,2 vs 1,8 mm) et *S. aureus* (14,2 vs 17,7 mm) (**Veličković et al.**, 2011).

De même, les huiles essentielles de *S. officinalis* réagissent contre *B. subtilis*, *B. cereus*, *S. aureus* ; *M. luteus* et *E. coli* avec des zones d'inhibitions de 14 ; 12 ; 14 ; 25 ; 12 mm respectivement (**Ben Khedher et al.**, 2017).

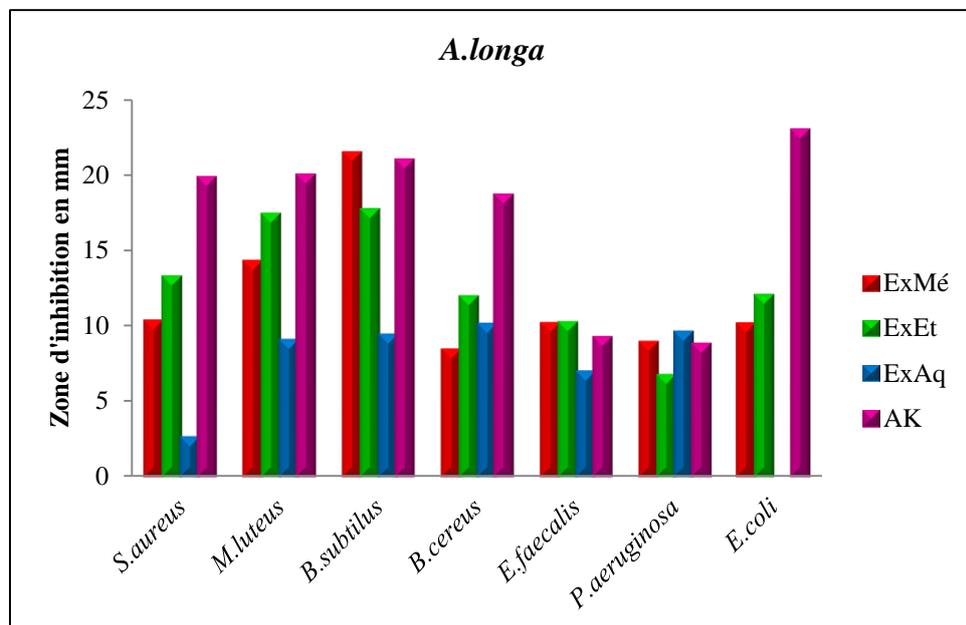
Cette inhibition peut être expliquée par la richesse des extraits de *S. officinalis* en principes bioactifs tels que les composés phénoliques, les alcaloïdes et les terpénoïdes (**Ghorbani et Esmailizadeh**, 2017).

Au-delà, autres études ont montré que les extraits de plantes appartenant aux lamiacées comme la sauge, ont une activité biologique contre les bactéries et les levures. L'extrait éthanolique de *S. officinalis* peut éliminer les bactéries multi-résistantes comme *S. aureus* et *E. coli* (**Mosafa et al.**, 2014).

Pour *A. longa*, les résultats démontrent un effet hautement significatif ( $p \leq 0,001$ ) de l'extrait éthanolique vs méthanolique vs aqueux sur *M. luteus* et *B. subtilis* ( $17,40 \pm 1,13$  ;  $14,27 \pm 0,50$  et  $8,96 \pm 0,05$ mm); ( $17,69 \pm 1,16$  ;  $21,45 \pm 1,05$  et  $9,33 \pm 1,30$ mm) respectivement (**Figure N°26**).

L'extrait éthanolique présente un effet significatif ( $p \leq 0,05$ ) contre l'extrait méthanolique ( $11,99 \pm 1,17$  et  $10,14 \pm 0,61$  mm) ; ( $11,91 \pm 2,26$  et  $8,4 \pm 0,22$  mm) pour *E. coli* et *B. cereus* respectivement.

En outre, aucun effet significatif n'est remarqué contre *S. aureus*, *E. faecalis* et *P. aeruginosa* entre l'extrait éthanolique et méthanolique ( $13,24 \pm 0,53$  et  $10,33 \pm 1,52$  mm) ; ( $10,2 \pm 1,07$  et  $10,16 \pm 0,84$  mm) et ( $6,68 \pm 5,82$  et  $8,9 \pm 0,56$  mm).

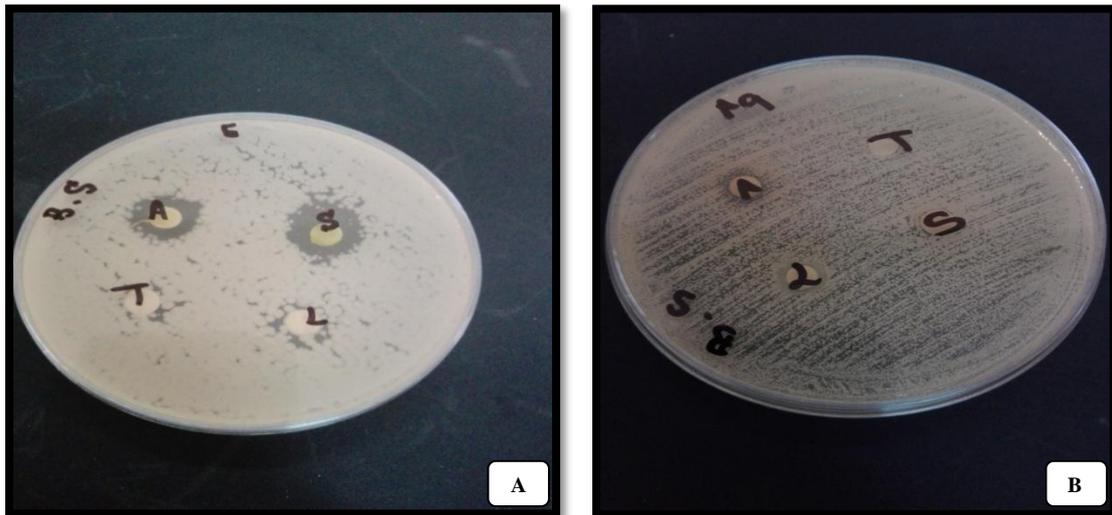


**Figure N°26** : Activité antibactérienne d'*A. longa*.

Extrait éthanolique d'*A. longa* montre un grand pouvoir d'inhibition contre la majorité des germes testés, corroboré par les résultats rapportés par **Kumar et al. (2011)** sur l'extrait éthanolique d'*A. Indica*. En outre, il a été démontré que les différents extraits de cette dernière ont une activité antibactérienne contre *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli* et *P. aeruginosa* (**Murugan et Mohan, 2012**).

Cette activité antibactérienne peut être expliquée par la richesse d'*A. longa* en composés bioactifs. En effet, les plantes contenant des tanins, des alcaloïdes, des flavonoïdes et des glycosides ont un large spectre d'activité antimicrobienne (**Benarba et Meddah, 2014**).

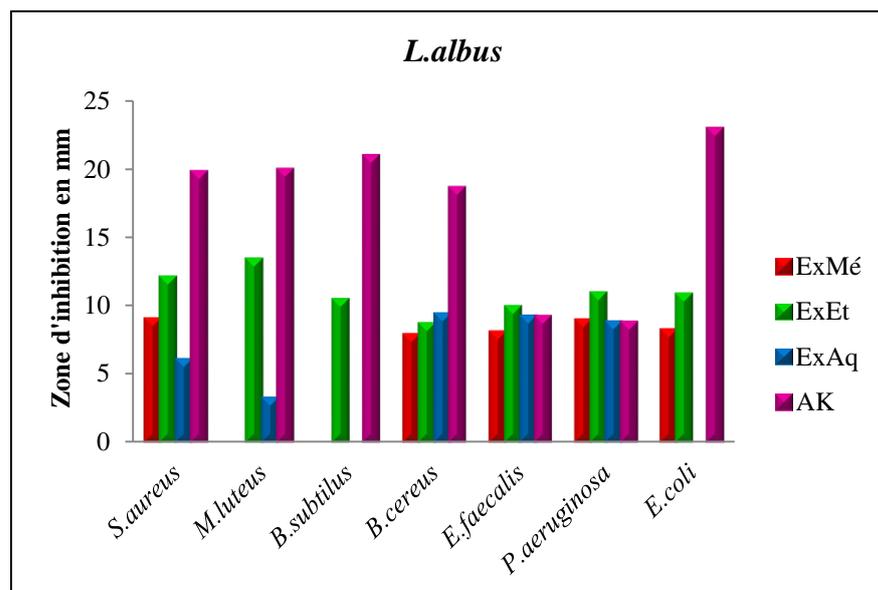
Dans ce contexte, des études prouvent l'activité biologique des extraits d'*A. longa* et sa richesse en composés bioactifs, possèdent une bonne activité antibactérienne contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif (**Merouani et al., 2017**).



**Figure N°27 :** Zones d’inhibition d’extrait éthanolique et aqueux des plantes contre *B. subtilis*.

Lupinus présente une activité antibactérienne très faible par rapport aux autres, le maximum est remarqué contre *S. aureus*, *E. coli* et *M. luteus* par une zone d’inhibition ( $12,07 \pm 0,2$  et  $9 \pm 1,2$  mm); ( $10,83 \pm 1,04$  et  $8,21 \pm 1,1$  mm) et ( $13,39 \pm 4,85$  mm) d’extrait éthanolique, méthanolique respectivement (**Figure N°28**).

Cette zone pour *B. cereus*, *E. faecalis* et *P. aeruginosa* est de  $8,66 \pm 1,15$  ;  $9,90 \pm 1,43$  et  $10,91 \pm 1,01$  mm pour l’extrait éthanolique,  $7,85 \pm 0,28$  ;  $8,03 \pm 0,74$  et  $8,92 \pm 0,81$  mm pour l’extrait méthanolique et  $9,38 \pm 0,53$  ;  $9,21 \pm 0,4$  et  $8,78 \pm 0,91$  mm pour l’extrait aqueux.



**Figure N°28:** Activité antibactérienne de *L. albus*.

Ces résultats rejoignent à ceux d'**Abdallah et al. (2017)** où l'extrait méthanolique de *L. albus* n'avait pas d'activité antibactérienne contre les bactéries à Gram positif et celles à Gram négatif testées.

En outre, d'autres publications exposent que les extraits de *Lupinus* ne présentent aucun effet inhibiteur sur *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae* et *S. epidermidis* (**Andor et al., 2016**).

**Lampart-Szczapa et al., (2003)** soulignent aussi que l'activité antibactérienne des extraits de *lupinus* est liée à leur teneur en composés phénoliques.

**Tableau N°03 :** Activité antibactérienne des extraits méthanolique, éthanolique et aqueux de *Salvia*, *Aristolochia* et *Lupinus*.

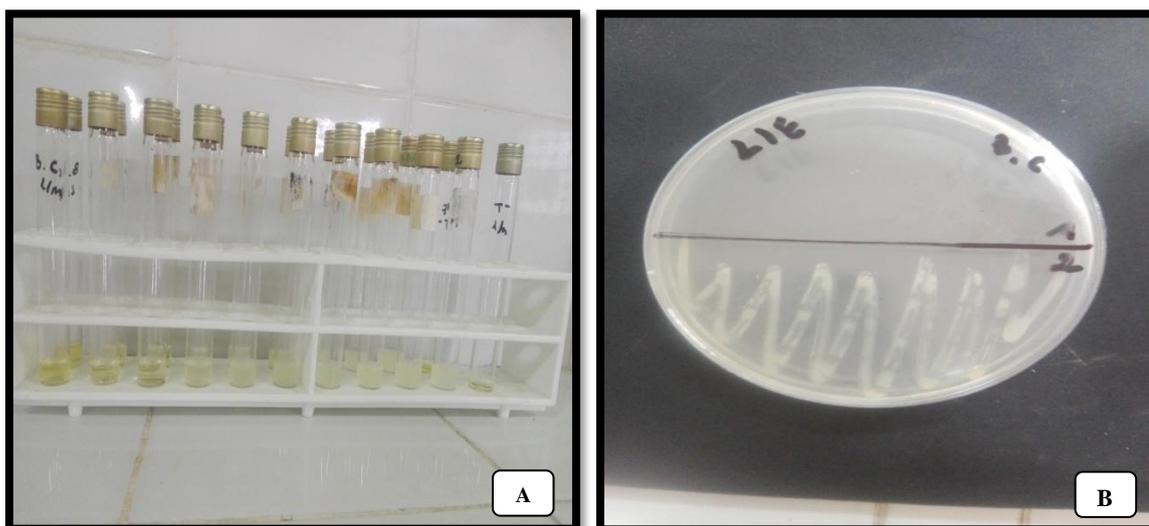
	<i>Salvia</i>			<i>Aristolochia</i>			<i>Lupinus</i>			AK
	Ex Mé	Ex Et	Ex Aq	Ex Mé	Ex Et	Ex Aq	Ex Mé	Ex Et	Ex Aq	
<i>S. aureus</i>	11,5 ± 2,17	13,63 ± 0,55	0	10,33 ± 1,52	13,24 ± 0,53	2,55 ± 4,42	9 ±1,2	12,07 ± 0,2	6,02 ± 1,2	19,83 ± 0,28
<i>E. coli</i>	11,6 ± 0,52	13,8 ± 1,53	0	10,14 ± 0,61	11,99 ±1,17	0	8,21 ±1,1	10,83 ±1,04	0	23 ± 1
<i>M. luteus</i>	15,43 ± 2,23	16,51 ± 2,36	9,6 ± 5,54	14,27 ± 0,5	17,40 ± 1,13	8,96 ± 0,05	0	13,39 ± 4,85	3,19 ±5,52	20 ± 1
<i>B. subtilis</i>	27,06 ± 1,49	26,62 ± 2,97	2,55 ± 4,40	21,45 ± 1,05	17,69 ±1,16	9,33 ±1,30	0	10,43 ± 0,73	0	21
<i>B. cereus</i>	7,34 ± 0,64	10,66 ± 0,28	9,02 ± 0,95	8,4 ± 0,22	11,91 ± 2,26	10,01 ±1,81	7,85 ± 0,28	8,66 ±1,15	9,38 ± 0,53	18,66 ± 0,57
<i>E. faecalis</i>	9,14 ±1,82	10,83 ± 0,28	6,45 ± 5,60	10,16 ± 0,84	10,2 ± 1,07	6,89 ± 6,19	8,03 ± 0,74	9,9 ±1,43	9,21 ± 0,4	9,21 ± 0,4
<i>P. aeruginosa</i>	10,34 ± 1,22	12,30 ±1,59	9,11 ± 0,83	8,9 ± 0,56	6,68 ± 5,82	9,51 ± 0,32	8,92 ± 0,81	10,91 ±1,01	8,78 ± 0,91	8,78 ± 0,91

Zones d'inhibition en mm

On peut expliquer le pouvoir d'inhibition des bactéries à l'aide des extraits des plantes par l'effet de leurs métabolites secondaires. Plusieurs travaux ont révélé que les alcaloïdes, flavonoïdes, saponines, tanins, glycosides cardiaques et terpénoïdes jouent un rôle principal dans l'activité antibactérienne par la capacité d'inhibition de la croissance de certaines bactéries telles *E. coli*, *P. aeruginosa* et *S. aureus* (Doughari, 2006 ; Iwalokun et al., 2007; Agbafor et al., 2011; Mariita et al., 2011; Abdulhamid et al., 2014).

### III.2. Concentration minimal inhibitrice (CMI)

Les concentrations minimales inhibitrices des extraits éthanoliques, méthanoliques et aqueux des plantes *S. officinalis*, *A. longa* et *L. albus* contre les bactéries *S. aureus*, *E. coli*, *B. subtilus*, *B. cereus*, *M. luteus*, *P. aeruginosa* et *E. faecalis* ont été déterminées par la méthode de macrodilution (**Figure N°29**). Les résultats sont présentés dans le tableau N°04 (**Annexe VI**).



**Figure N°29** : (A) : CMI par la méthode de macrodilution, (B) : Ensemencement des tubes qu'ont absence de trouble.

L'extrait méthanolique de *S. officinalis* présente une valeur de CMI de 5mg/ml vis-à-vis *S. aureus*, *E. coli*, *M. luteus*, *B. cereus* et *P. aeruginosa*, et de 20mg/ml pour *B. subtilus* alors que pour *E. faecalis*, elle est de 0,625 mg/ml.

Par contre, l'extrait éthanolique a une CMI=20 mg/ml pour *M. luteus*, *B. subtilus*, 5mg/ml contre *S. aureus*, *P. aeruginosa* et de 2,5 ; 10 et 0,625 mg/ml pour *E. coli*, *B. cereus* et *E. faecalis* respectivement. Celle de l'extrait aqueux est de 20mg/ml pour *E. coli*, *E. faecalis*, 10mg/ml pour *S. aureus*, 1,25 et 2,5 mg/ml sur *B. subtilus* et *M. luteus* respectivement et de 0,625 mg/ml vis-à-vis de *B. cereus* et *P. aeruginosa*.

Nos résultats sont en discordance par rapport à ceux obtenus par **Daoud et al., (2015)** qui montrent que l'extrait éthanolique de *S. officinalis* fournit une CMI de 25mg/ml contre *S. aureus* et *B. subtilus*.

En 2010, **Ali et Aboud**, réalisent une étude de l'activité antibactérienne des extraits de *S. officinalis* sur *E. coli*, *E. faecalis* et *S. aureus* et trouvent une CMI variable de 25-50 mg/ml pour l'extrait méthanolique et de 25-100 mg/ml pour l'extrait aqueux.

Pour les extraits d'*A. longa* les résultats de CMI d'extrait méthanolique sont variables : 20 ; 10 ; 5 ; 2,5 mg/ml sur (*M. luteus*), (*B. cereus* et *P. aeruginosa*) ; (*E. coli*, *S. aureus* et *B. subtilus*) et (*E. faecalis*). Extrait éthanolique est de 5 mg/ml (*S. aureus*, *E. coli*, *B. subtilus*, *B. cereus* et *E. faecalis*) et 10mg/ml (*P. aeruginosa* et *M. luteus*). En fin, on trouve une CMI = 2,5mg/ml contre *B. cereus*, 5mg/ml pour *S. aureus*, *B. subtilus* et 10 mg/ml (*E. faecalis*) avec 20mg/ml (*M. luteus* et *P. aeruginosa*) pour l'extrait aqueux.

Ce résultat différent de ceux obtenus par **Merouani et al., (2017)** où l'activité antibactérienne par CMI d'extrait aqueux de la partie aérienne et méthanolique du fruit d'*A. longa* était de 50 mg/ml et 12,5 mg/ml pour *P. aeruginosa* et *S. aureus* respectivement, *S. aureus*, *P. aeruginosa* (3,125mg/ml) et *B. cereus* (6,25 mg/ml) pour l'extrait méthanolique du fruit.

Activité antibactérienne d'extrait éthanolique des racines d'*A. bodamae* a fait l'objet d'étude réalisé par **Ozen et al., 2019**. Effectivement, leur extrait fournit une CMI vis-à-vis *E. coli*, *P. aeruginosa*, *E. faecalis* (0,256 mg/ml), *S. aureus* et *B. cereus* (0,512 mg/ml).

En fin, concernant les résultats obtenus par les extraits de *L. albus* une CMI de 20 mg/ml (*S. aureus*, *B. cereus*) ; 10mg/ml (*E. coli*, *M. luteus*, *B. subtilus* et *E. faecalis*) ; 5mg/ml (*P. aeruginosa*) pour l'extrait éthanolique.

Une CMI de 20 mg/ml (*E. coli*, *S. aureus*, *M. luteus*, *B. subtilus*, *B. cereus* et *E. faecalis*) ; 5mg/ml (*P. aeruginosa*) pour l'extrait méthanolique et pour l'extrait aqueux présente des valeurs de 10 mg/ml et 5mg/ml (*E. coli*, *M. luteus*, *B. subtilus* et *E. faecalis*) et (*B. cereus*) respectivement.

Cette propriété antibactérienne de *L. albus* peut être due à la présence des alcaloïdes dans leurs extraits. Cette proposition est confirmée par les travaux de **Remeo et al., 2018**. Réalisent une évaluation antibactérienne par les extraits d'alcaloïdes des grains de deux variétés de *L. albus* (Multitalia et Calobria) sur *P. aeruginosa* isolée à partir de la peau où trouve une CMI de 128µg/ml et 67 µg/ml.

Ceci s'éclaircit par les travaux de **Erdemoglu et al., 2009**, qu'ont annoncé l'effet antibactérien d'extrait d'alcaloïdes de la partie aérienne d'une plante appartient des fabaceae sur *E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* et *S. aureus* par une CMI d'ordre de 500 ; 125 ;62 et 62 µg/ml.

**Tableau N°04** : Concentration minimale inhibitrice des extraits des plantes *Salvia*, *Aristolochia* et *Lupinus*.

Plante	<i>Salvia</i>			<i>Aristolochia</i>			<i>Lupinus</i>		
	ExMé	ExEt	ExAq	ExMé	ExEt	ExAq	ExMé	ExEt	ExAq
<i>S. aureus</i>	5	5	10	5	5	5	20	20	ND
<i>E. coli</i>	5	2,5	20	5	5	ND	20	10	10
<i>M. luteus</i>	5	20	2,5	20	10	20	20	10	10
<i>B. subtilis</i>	20	20	1,25	5	5	5	20	10	10
<i>B. cereus</i>	5	10	0,625	10	5	2,5	20	20	5
<i>E. faecalis</i>	0,625	0,625	20	2,5	5	10	20	10	10
<i>P. aeruginosa</i>	5	5	0,625	10	10	20	5	5	ND

\*CMI en mg/ml. \*ND : Nom Déterminé.

*In vivo*

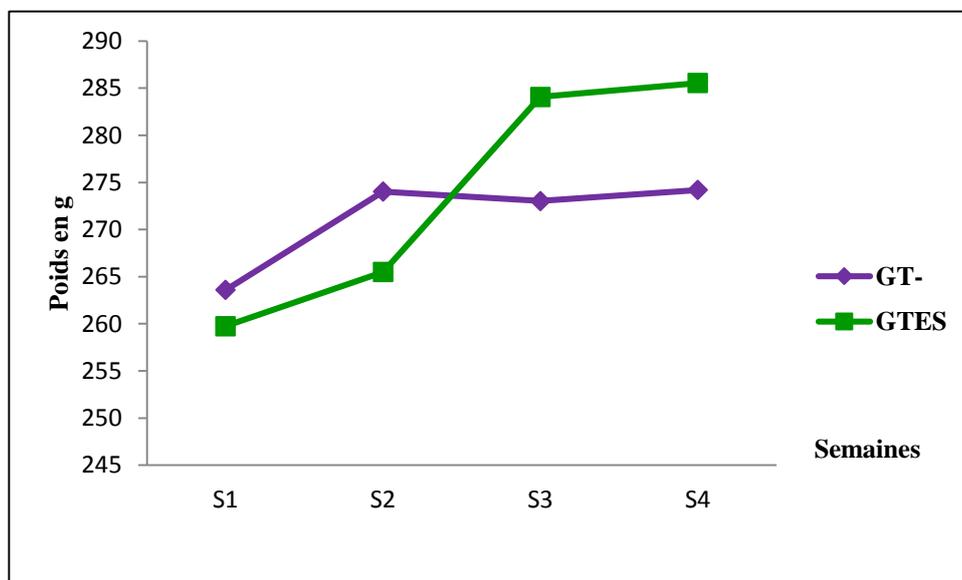
#### IV. Activité Antidiabétique

Dans cette partie l'extrait éthanolique de *S. officinalis* est sélectionné pour examiner leur toxicité et l'activité antidiabétique. On se basant dans le choix sur les résultats obtenus dans la partie in vitro dont le dépistage phytochimique, dosage des polyphénols et des flavonoides, l'activité antioxydante et antibactérienne. Où se révèle une forte richesse d'extrait éthanolique en composés bioactifs et meilleur pouvoir d'inhibition des radicaux libres et des germes testés par rapport aux autres extraits et plantes étudiées.

D'autre part, le solvant hydro-éthanolique assure la sécurité environnementale, la moins toxicité et le coût faible en comparaison avec méthanol ceci est confirmé par les travaux de **Jokić et al., (2010)**.

##### IV.1. Test de toxicité

Les rats utilisés pour évaluer l'effet toxique d'extrait éthanolique de *S. officinalis* ont un poids initial de **266,67 ± 14,3 g**, traités d'une période de 04 semaines par un régime standard. A la fin de l'expérimentation les groupes (**GT-**) et (**GTES**), atteignent un poids de **271,21 ± 5,1** et **273,71 ± 13,03 g** respectivement (**Figure N°30**).

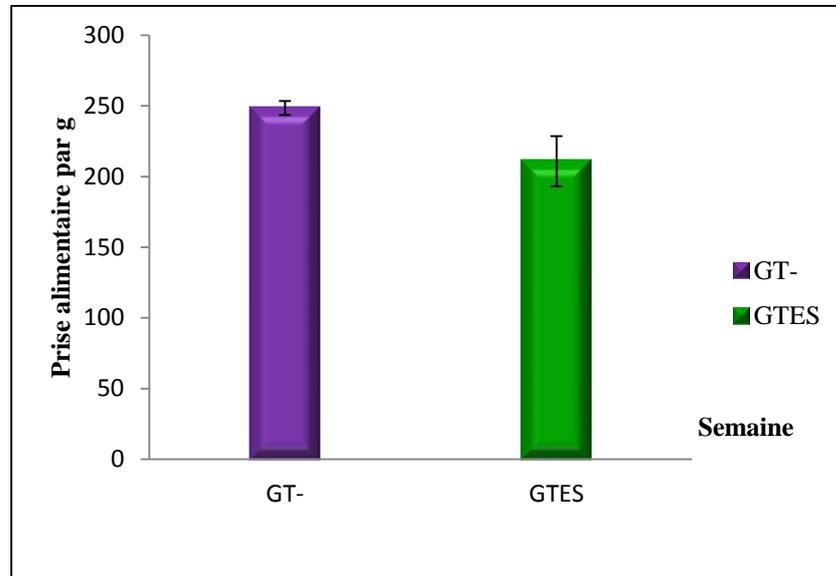


**Figure N°30:** Evolution du poids corporelle durant 4 semaines d'études.

(Les résultats sont présentés sous la forme de moyennes ± SEM avec n=4)

**GT-** : groupe des rats témoins négatifs, **GTES** : groupe des rats ayant reçus l'extrait éthanolique de *S. officinalis*.

En parallèle, le groupe des rats témoins négatifs **GT<sup>-</sup>** ingéré environ de  $248,51 \pm 10,09$  g par semaine et de  $210,88 \pm 35,26$  g/ semaine pour le groupe **GTES**. Dont laquelle aucune différence significative signalée (**Figure N°31**).



**Figure N°31:** Prise alimentaire des rats durant les 4 semaines d'expérimentation.

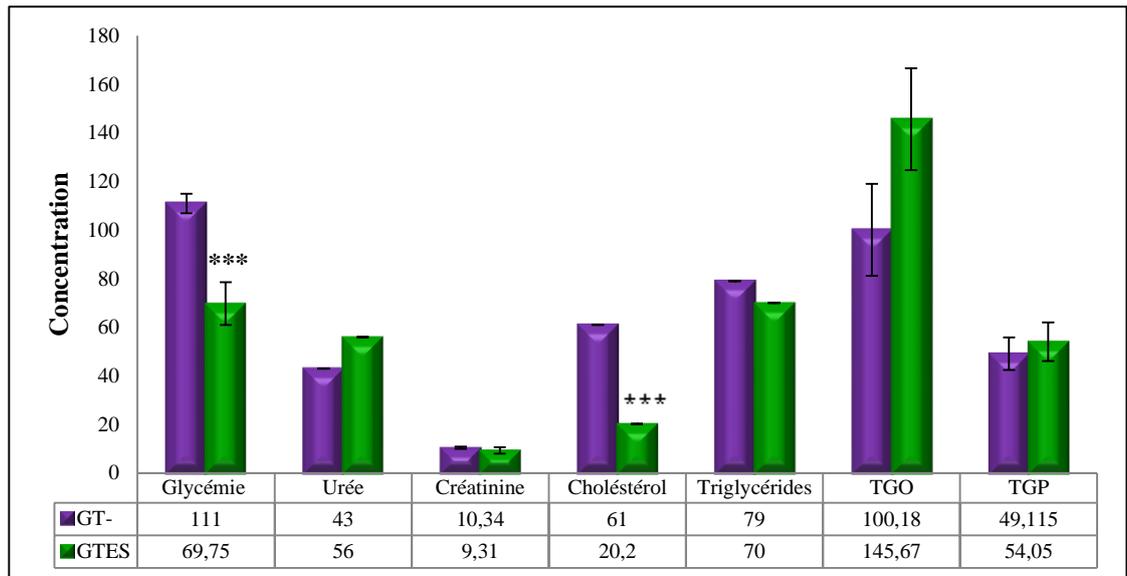
(Les résultats sont présentés sous la forme de moyennes  $\pm$  SEM avec  $n=4$ )

**GT<sup>-</sup>** : groupe des rats témoins négatifs, **GTES** : groupe des rats ayant reçus l'extrait éthanolique de *S. officinalis*.

En revanche, les analyses du sang (**Figure N°32**), montrent une diminution hautement significative avec  $p \leq 0,001$  de **GTES** vs **GT<sup>-</sup>** pour la glycémie et le cholestérol ( $69,75 \pm 17,63$  vs  $111 \pm 8,04$  mg/dl) et ( $20,25 \pm 13,91$  vs  $61 \pm 11$  mg/dl).

On peut expliquer cette réduction par l'effet hypoglycémique et hypocholestérolémiants d'extrait éthanolique de *S. officinalis* (**Alarcon- aguilar et al., 2002**).

Par contre aucune différence significative observée pour l'urée, la créatinine, les triglycérides, **TGO** et **TGP** d'ordre ( $56 \pm 26$  mg/dl;  $9,31 \pm 2,60$  mg/dl ;  $70 \pm 5$  mg/dl ;  $145,68 \pm 41,85$  UI/l et  $54,05 \pm 15,91$  UI/l) et ( $43 \pm 3$  mg/dl ;  $10,34 \pm 0,92$  mg/l;  $79 \pm 21$  mg/dl ;  $100,19 \pm 37,86$  UI/l et  $49,15 \pm 13,4$  UI/l) pour **GTES** et **GT<sup>-</sup>** respectivement.



**Figure N°32:** Représente les résultats de bilan des analyses après le sacrifice.

(Glycémie, Urée, Cholestérol et triglycérides en mg/dl. Créatinine en mg/l et TGO avec TGP en UI/l).

(Les résultats sont présentés sous la forme de moyennes  $\pm$  SEM avec  $n=4$ ).

\*\*\* Différence hautement significative de groupe GTES vs GT-

Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par l'étude de **Li et al., 2010**. Confirment la non toxicité d'extrait éthanolique de *S. przewalskii Maxim.* Tandis que l'administration d'extrait aqueux de *S. scutellarioides* à une dose de 2000 mg/kg ne provoque aucun effet indésirable chez les rats et les souris inclus les changements de comportement, variation de poids, perte appétit, déséquilibre des taux de la créatinine, les triglycérides et les anomalies macroscopique des organes (**Ramirez et al., 2007**).

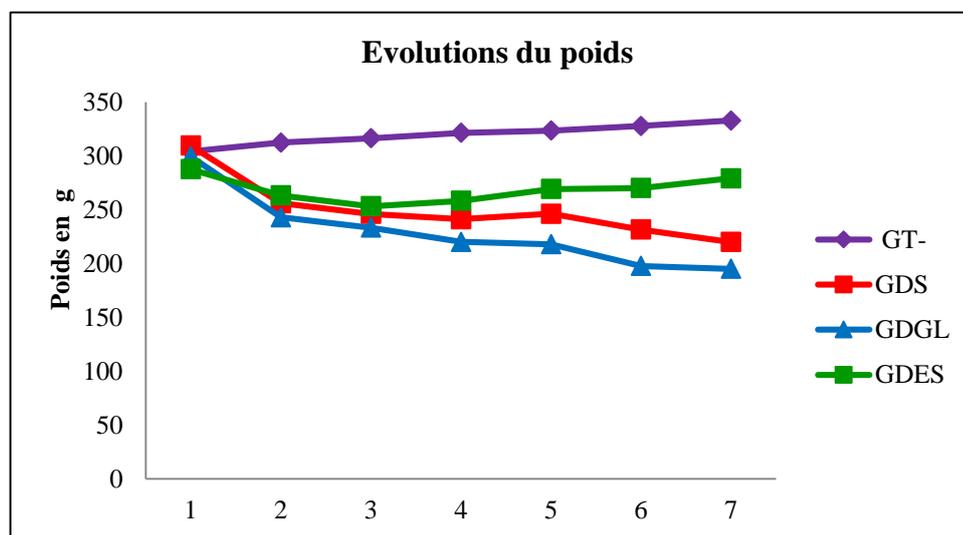
En 2014 ; **Gebru et al.**, montrent que l'observation des souris pendant les 24h jusqu'à 14 j après l'administration d'extrait méthanolique de la partie aérienne de *S. tiliifolia* à une dose 2000mg/kg ne fournit aucun signe de toxicité parmi laquelle la perte de poids, absence d'appétit et des cas de décès.

A la lumière de ces résultats on conclue que l'administration d'extrait éthanolique de *S. officinalis* à une dose de 2000mg/kg de poids corporelle ne déclare aucun avertisseurs de toxicité (changement de comportement, perte d'appétit, l'agitation, des troubles digestive et bilan sanguin) avec une absence totale de mortalités pendant les 15 jours d'expérimentation. En effet, la dose de 300mg/kg de poids corporelle a été choisie pour étudier l'activité antidiabétique.

## IV.2. Activité antidiabétique

### IV.2.1. Hypoglycémie et l'évolution du poids

Pour évaluer l'effet antidiabétique d'extrait éthanolique de *S. officinalis* on utilise des rats de **300,71±8,53 g**, sous un régime standard pendant une période de 07 semaines. En effet, les quatre groupes (**GT<sup>-</sup>**), (**GDS**), (**GDGL**) et (**GDES**). Au cour de l'étude marquent une diminution de poids hautement significative ( $p \leq 0,001$ ) chez les groupes des rats diabétiques sans traitement (**GDS**), sous traitement de Glibenclamide (**GDGL**) et le groupe des rats ayant reçus l'extrait éthanolique de *S. officinalis* (**GDES**) en comparaison avec le témoin (**GT<sup>-</sup>**) ( $250,15 \pm 28,66$  vs  $319,87 \pm 9,69$  g;  $229,58 \pm 34,98$  vs  $319,87 \pm 9,69$  g et  $268,76 \pm 11,89$  vs  $319,87 \pm 9,69$  g) (**Figure N°33**).



**Figure N°33 :** Evolution du poids au cours de l'étude d'activité antidiabétique pendant 07 semaines.

(Les résultats sont présentés sous la forme de moyennes  $\pm$  SEM avec  $n=4$ ).

**GT<sup>-</sup>** : groupe des rats témoins négatifs, **GDS** : groupe des rats diabétiques sans traitement, **GDGL** : groupe des rats diabétiques sous traitement de Glibenclamide, **GDES** : groupe des rats diabétiques ayant reçus l'extrait éthanolique de *S. officinalis*.

Nos résultats de suivi du poids révèlent une diminution de poids chez les rats traités par l'alloxane. Ces résultats sont corroborés à ceux obtenus par les travaux de **Ewenighi et al., 2018**. Ces dernières montrent que le traitement des rats par l'alloxane provoque une diminution significative de poids corporelle.

Autres études suggèrent que la réduction de poids chez les rats diabétiques peut être liée à l'ensemble de processus de dégradation des graisses du tissu adipeux, des protéines structurelles et des acides aminés dans les tissus musculaires (**Oyedemi et al., 2011 ; Eluehike et Onoagbe, 2018**).

En parallèle, nos résultats présentent une augmentation légère de poids chez les rats qu'ont reçu l'extrait éthanolique de *S. officinalis*. Ceci confirme par **Eidi et al., 2011**. Montrent l'effet protecteur d'extrait éthanolique de *S. verticillata* contre la perte du poids chez les rats diabétiques.

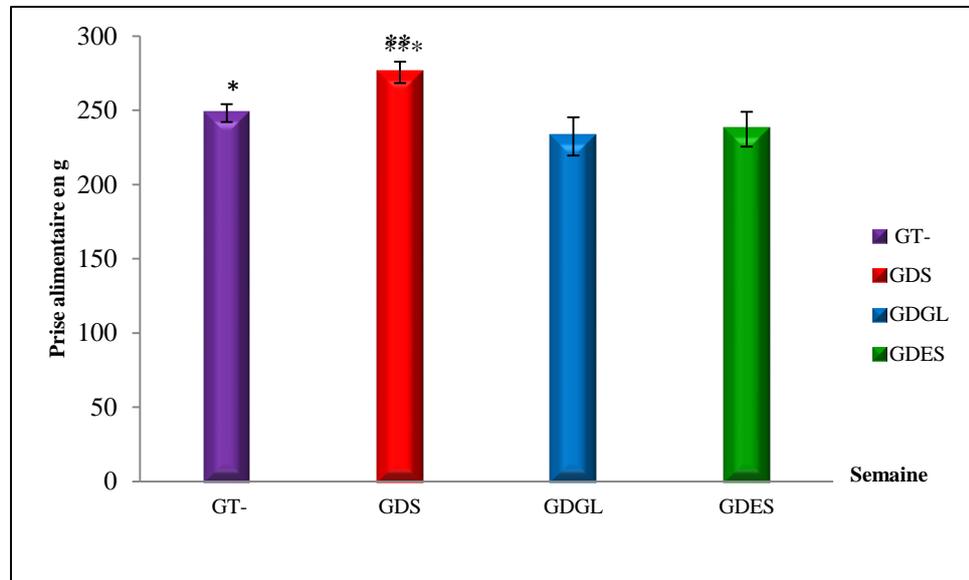
#### **IV.2.2. Nourriture ingérée des différents groupes expérimentaux**

Nos résultats révèlent une augmentation hautement significative ( $p \leq 0,001$ ) de groupe des rats diabétiques sans traitement (**GDS**) vis-à-vis le groupe des rats diabétiques sous traitement de Glibenclamide (**GDGL**) et le groupe des rats ayant reçu l'extrait éthanolique de *S. officinalis* (**GDES**) dont  $275,55 \pm 14,56$  vs  $232,41 \pm 25,75$  g/ semaine et  $275,55 \pm 14,56$  vs  $237,25 \pm 23,48$  g/ semaine et autre très significative ( $p \leq 0,01$ ) avec le groupe des rats témoins non diabétiques (**GT**) de  $248,06 \pm 12,05$  g/ semaine (**Figure N°34**).

Ces résultats indiquent que le diabète conduit à une appétit excessive cela confirme par plusieurs travaux. Montrent que le diabète chimio-induit provoque une augmentation de la nourriture ingérée (**Akbarzadeh et al., 2007 ; Fernandes et al., 2009 ; Gothandam et al., 2019**).

En **2013**, **Oliveira et al.**, expliquent l'augmentation de la nourriture ingérée chez les rats diabétiques par l'incapacité de cellules à utiliser le glucose comme source énergétique et à leur perte excessive dans les urines.

Par ailleurs, **Marcelo et al., 2017** révèlent que la consommation exagérée d'alimentation chez les diabétiques due au dysfonctionnement physiologique de diabète en raison de la perte d'une quantité de glucose dans les urines. Cela qui prive le corps d'une partie considérable des calories dérivent de la nourriture.



**Figure N°34** : Quantité d'aliment ingéré pour les différents groupes au cours d'expérimentation.

(Les résultats sont présentés sous la forme de moyennes  $\pm$  SEM avec  $n=4$ ).

**GT-** : groupe des rats témoins négatifs, **GDS** : groupe des rats diabétiques sans traitement,

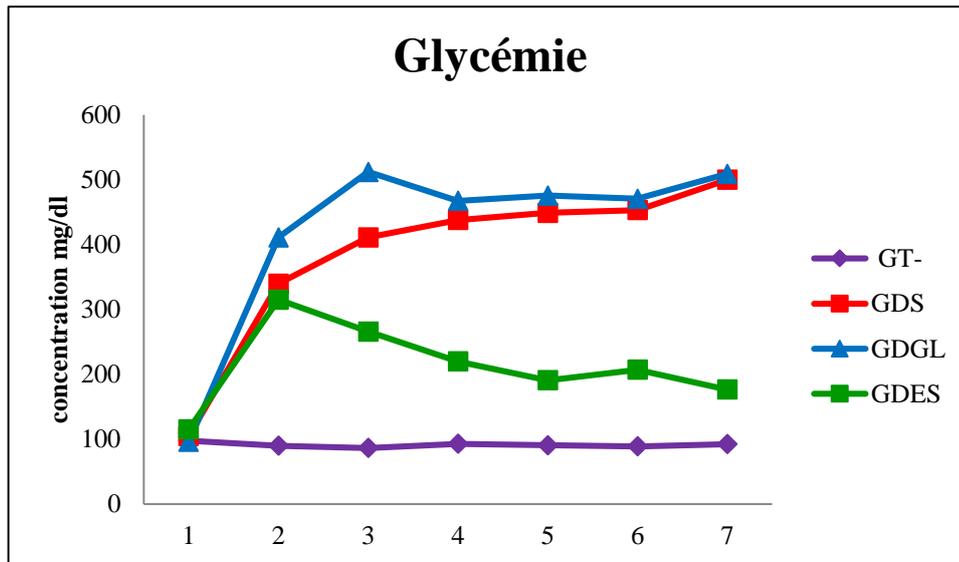
**GDGL** : groupe diabétiques sous traitement Glibenclamide, **GDES** : groupe des rats diabétiques ayant reçus l'extrait éthanolique de *S. officinalis*.

\*\*\* une différence hautement significative entre **GDS** vs **GDGL** et **GDES**.

\*\* une différence très significative entre **GDS** vs **GT-**.

#### **IV.2.3. Impact d'extrait éthanolique de la sauge sur la glycémie et le bilan sanguin**

Selon les résultats obtenus une hyperglycémie hautement significative  $p \leq 0,001$  a été remarquée entre le groupe des rats diabétiques sans traitement (**GDS**) et groupe des rats diabétique sous traitement de Glibenclamide (**GDGL**) contre le groupe des rats témoins non diabétique (**GT-**) de  $(393,85 \pm 127$  vis-à-vis  $93,93 \pm 7,6$  mg/dl) et  $(420,32 \pm 146$  vis-à-vis  $93,93 \pm 7,6$  mg/dl) respectivement. En parallèle, une réduction hautement significative entre le groupe des rats ayant reçus l'extrait éthanolique de *S. officinalis* (**GDES**)  $(213,03 \pm 64,16$  mg/dl) vs (**GDS**) et (**GDGL**) (**Figure N°35**).



**Figure N° 35:** Evolution de la glycémie pendant les 07 semaines.

(Les résultats sont présentés sous la forme de moyennes  $\pm$  SEM avec  $n=4$ ).

*GT<sup>-</sup>* : groupe des rats témoins négatifs, *GDS* : groupe des rats diabétiques sans traitement,

*GDGL* : groupe des rats diabétiques sous traitement Glibenclamide, *GDES* : groupe des rats diabétiques ayant reçus l'extrait éthanolique de *S. officinalis*.

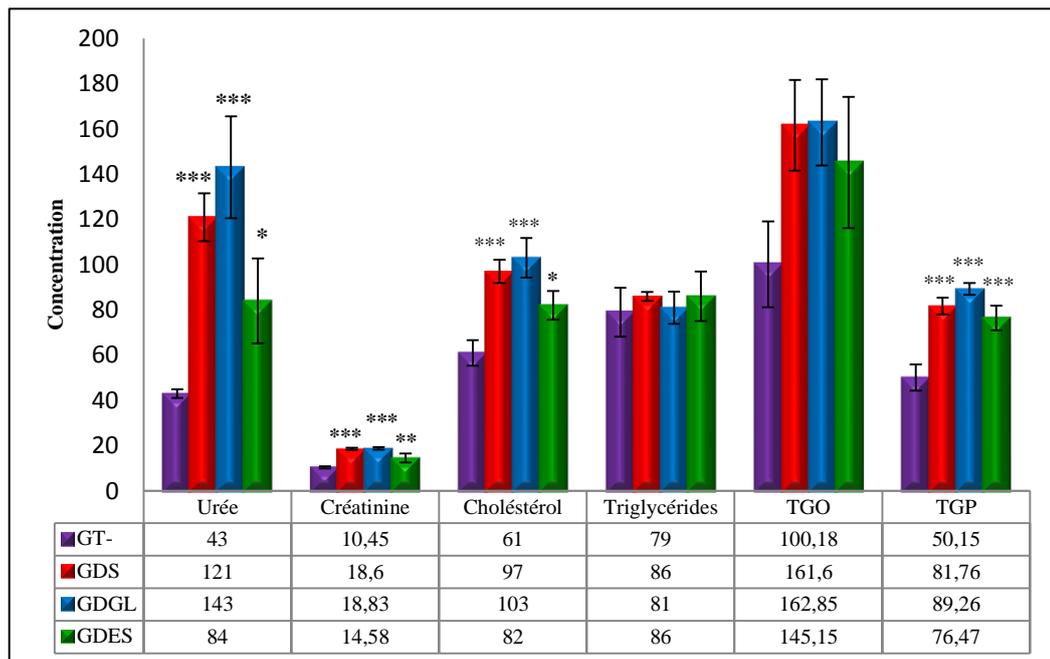
Autre part, une augmentation hautement significative ( $p \leq 0,001$ ) des teneurs d'urée observée chez les rats de groupe **GDS** ( $121 \pm 21$  mg/dl), **GDGL** ( $143 \pm 45$  mg/dl) en comparaison avec le groupe témoin **GT<sup>-</sup>** ( $43 \pm 3$  mg/dl) et une diminution significative ( $p \leq 0,05$ ) chez les rats de groupe **GDES** ( $84 \pm 37$  mg/dl) vis-à-vis le groupe **GDGL** (**Figure N°36**).

Autrement, la créatinine signale une augmentation hautement significative a été observée chez les rats de groupes **GDS** ( $18,60 \pm 0,91$  mg/l), **GDGL** ( $18,83 \pm 1,26$ mg/l) avec le groupe témoin **GT<sup>-</sup>** ( $10,45 \pm 0,90$  mg/l) et décroissement très significative ( $p \leq 0,01$ ) de groupe **GDES** ( $14,58 \pm 4,05$ mg/l) avec le groupe **GDS** et **GDGL**.

De même, les résultats de bilan lipidique révèlent une croissance hautement significative de la teneur en cholestérol chez les rats de groupes **GDS**, **GDGL** vs **GT<sup>-</sup>** et le groupe **GDES** avec une diminution significative contre le groupe **GDGL**. Dont ( $97 \pm 10$  et  $103 \pm 17$  vs  $61 \pm 11$  mg/dl) et ( $82 \pm 12$  vs  $103 \pm 17$  mg/dl). Triglycérides notés d'ordre  $79 \pm 21$  ;  $86 \pm 7$  ;  $81 \pm 14$  et  $86 \pm 21$  mg/dl pour les rats des groupes **GT<sup>-</sup>**, **GDS**, **GDGL** et **GDES**.

En revanche, les résultats de taux Transaminases Glutamate Oxaloacétate (**TGO**) exposent des variations non significatives entre les groupes **GT** ; **GDS** ; **GDGL** et **GDES** d'ordre  $100,19 \pm 37,86$  ;  $161,6 \pm 40,04$  ;  $162,85 \pm 38,17$  et  $145,16 \pm 57,94$  UI/l.

Par contre, la Transaminase Glutamate Pyruvate (**TGP**) signale une augmentation hautement significative de **GDS** ; **GDGL** et **GDES** en comparaison avec le témoin **GT** ( $50,15 \pm 11,51$  vs  $81,76 \pm 7,40$  ;  $89,26 \pm 5,26$  et  $76,47 \pm 10,96$  UI/l) respectivement.



**Figure N° 36:** Représente le bilan sanguin des rats d'expérimentation d'activité antidiabétique.

(Urée, Cholestérol et triglycérides en mg/dl ; Créatinine en mg/l et TGO avec TGP en UI/l).

(Les résultats sont présentés sous la forme de moyennes  $\pm$  SEM avec  $n=4$ ).

**GT** : groupe des rats témoins négatifs, **GDS** : groupe des rats diabétiques sans traitement, **GDGL** : groupe des rats diabétiques sous traitement de Glibenclamide, **GDES** : groupe des rats diabétiques ayant reçus l'extrait éthanolique de *S. officinalis*.

\*\*\* une différence hautement significative entre **GDS** et **GDGL** vs **GT**.

\*\* Une différence très significative entre **GDES** vs **GDGL** et **GDS**.

\* Une différence significative entre **GDES** vs **GDGL**.

Au cours de notre étude une augmentation de la glycémie, l'urée, la créatinine, le cholestérol, les triglycérides, TGO et TGP chez les rats diabétiques a été détectée. On suggère que cette aggravation suite à l'administration du diabétogène alloxane (**Zarei et al., 2014**).

Alloxane considère comme un produit chimique sous forme d'un analogue toxique de glucose cible la destruction des cellules productrices de l'insuline par l'application d'un stress oxydatif, se qui induit aussi des dommages des lipides, glucides et les protéines (**Jayant et Srivastava, 2015**).

En parallèle, des études antérieures montrent qu'une forte concentration d'urée et de la créatinine chez les rats diabétiques indique un dysfonctionnement rénal due à une forte dégradation des protéines (**Marella et al., 2015 ; Mirmohammadlu et al., 2015 ; Sirivole et Eturi, 2017 ; Zhang et al., 2017** ).

Cependant, l'hypercholestérolémie chez les diabétiques due à un renforcement de la mobilisation des acides gras libèrent des dépôts périphériques sous un mécanisme non inhibiteur des hormones lipolytiques dans la carence ou absence d'insuline. Ce dernier joue un rôle principal dans le mécanisme par plusieurs interventions parmi lesquelles inhibition de la lipase hormono-sensible qui favorise le stockage des graisses dans les tissus adipeux (**Vergès, 2001 ; Mariee et al., 2009 ; Hossein et al., 2013** ).

Au même temps, l'augmentation de la concentration des enzymes sériques (TGO et TGP) dans le sérum des diabétiques peut être s'expliquer par une dégradation exagérée des protéines se qui conduit à une accumulation des acides aminées dans le sérum. Ceci indique une altération de foie par une perte de perméabilité de leur membrane (**Hossein et al., 2013 ; Marella et al., 2015 ; Mirmohammadlu et al., 2015**). On suppose que hyperglycémie provoque un stress oxydatif qui conduit à des lésions hépatiques.

En 2006, **Sharma et al.**, expliquent le pouvoir producteur des radicaux libres par hyperglycémie. Autre étude montre que le stress oxydatif fournit par hyperglycémie peut entraîne des perturbations du métabolisme des protéines, lipides et des glucides (**Jamaludin et al., 2016**).

**Mansouri et al., 2014**, expliquent l'hyperglycémie et l'élévation de taux hépatique chez les rats diabétiques par l'insuffisance ou l'absence d'insuline excrétée dans le sang et la libération des enzymes hépatique.

Nos résultats sont parfaitement en accord avec les travaux d'**Eidi et al., 2005; 2009 ; 2011**. Ces derniers montrent que l'administration d'extrait éthanolique (80%), méthanolique de *S. officinalis* et l'extrait éthanolique de *S. Verticillata* causent une diminution de taux de la glycémie, le cholestérol, l'urée et la créatinine. Ce sont les marqueurs d'un dysfonctionnement rénal.

Au contraire le Glibenclamide n'a pas un effet hypoglycémique au cours de notre étude en suggère que ce médicament n'est pas fiable dans le cas d'une hyperglycémie sévère.

En 2015, **Khashan et Al- khafaji** ont exposé que l'extrait aqueux et éthanolique de la sauge à une dose de 100mg/kg administré d'une période de 14 jours capable d'entrer une réduction significative des taux de la glycémie, le cholestérol et le triglycéride par rapport à le médicament « Glibenclamide ».

Par contre, nos résultats sont en discordance par rapport les études de **Hajzadeh et al., 2011**, présentent que le traitement des rats diabétiques par l'extrait éthanolique et l'aqueux de *S. officinalis* à une dose de 430mg/kg ne présente aucun pouvoir hypoglycémique. On suggère que cette différence reflète à la méthode d'extraction, la concentration du solvant et par conséquent la capacité d'extraction des composés bioactifs.

Par ailleurs, plusieurs travaux confirment que la consommation de thé de la sauge entraîne une réduction de la glycémie, le cholestérol (**Bassil et al., 2015; Ghowsi et al., 2019**). Il est connu que *S. officinalis* possède des propriétés pharmacologiques dont antioxydant, anti-inflammatoire, antimicrobienne, antidiabétique et hypolipidémique (**Ghorbani et Esmailizadeh, 2017 ; Ben khadher et al., 2018**).

Cependant, on peut expliquer le pouvoir hypoglycémique d'extrait éthanolique de *S. officinalis* par leur richesse en composés bioactifs qui s'intervient par plusieurs mécanismes parmi lesquels l'accélération des cellules  $\beta$ - pancréatique qui conduit à l'amélioration de la sécrétion d'insuline, l'inhibition de l'enzyme insulinase, inhibition de la gluconéogenèse et/ou de la glycogénolyse dans le foie, la réduction de l'absorption du glucose par l'intestin et protège les cellules  $\beta$  pancréatique du stress oxydatif (**Jarald et al., 2008 ; Al chalabi et al., 2016 ; Al-Mashhady et al., 2016 ; Lima et al., 2017 ; Mahdizadeh et al., 2018**).

Le dépistage phytochimique de notre étude confirme la richesse d'extrait éthanolique de *S. officinalis* en composés bioactifs. Ceux-ci connus par leur effet antidiabétique le cas des polyphénols, des flavonoides, des tanins et des alcaloïdes. En outre, les flavonoides et les tanins provoquent la réduction de la glycémie, le cholestérol et les triglycérides chez des rats diabétiques (**Puchchakayala et al., 2012 ; Velayutham et al., 2012; Obafemi et al, 2017** ).

Les flavonoides affectent la glycémie, où ils agissent directement sur les cellules  $\beta$ -pancréatique par leur régénération et prévention de la destruction entraine une augmentation de la sécrétion d'insuline ou indirectement par l'inhibition de  $\alpha$ - glucosidase dans l'intestin et l'amélioration du stockage de glycogène dans le foie (**Belmouhoub et al., 2017; Marella, 2017**). D'autre part, les alcaloïdes aussi interviennent dans ce processus par la réduction de transport du glucose à travers l'épithélium intestinal et l'amélioration de la teneur en glycogène hépatique (**Sani, 2015; Aba et Asuzu, 2018** ).

# *Conclusion*

Les composés bioactifs font l'intérêt dans le domaine thérapeutique pour le traitement de diverses maladies incurables. Actuellement plusieurs chercheurs sont orientés vers l'exploitation des composés d'origine végétale issue de plantes médicinales pour guérir les maladies avec un coût faible et réduire les effets néfastes causent par les médicaments synthétiques.

Cette présente étude c'est pour la caractérisation de profil physicochimique, détermination de la richesse des extraits éthanolique, méthanolique et aqueux de plante *S. officinalis*, *A. longa* et *L. albus* en composés bioactifs par un dépistage phytochimique. Afin d'évaluer leurs effets biologiques in vitro inclus l'activité antioxydante et antibactérienne des trois extraits des plantes et le pouvoir antidiabétique in vivo par un diabète chimio-induit chez les rats wistar.

Dans ce contexte, les résultats d'analyses physicochimiques montrent la forte richesse de la partie aérienne de *S. officinalis* en eau, cendres et lipides d'ordre de  $76 \pm 2\%$  ;  $96,9 \pm 0,14\%$  et  $8\%$ . Au même temps révèlent la forte acidité d'*A. longa* avec une richesse en sucres réducteurs et en protéines de ( $2,99 \pm 0,15$  ;  $12,19 \pm 1,58$  mg/ml et  $1,91 \pm 0,02\%$ ) respectivement.

Le taux de résidu sec expose que l'extrait éthanolique fournit un rendement important versus l'extrait méthanolique et aqueux pour les trois plantes.

Concernant le criblage phytochimique révèle que l'extrait éthanolique et méthanolique de *S. officinalis*, *A. longa* et *L. albus* capable d'extraire un nombre important de composés bioactifs inclus les flavonoides, glycosides cardiaques et les alcaloïdes ainsi les tanins sauf dans les extraits de *L. albus*.

En outre, l'évaluation quantitative des polyphénols et des flavonoides pour les extraits des plantes *S. officinalis*, *A. longa* et *L. albus* par un spectrophotomètre fondé sur des techniques colorimétriques, expose que l'extrait éthanolique est le plus riche en polyphénols et en flavonoides en comparaison avec l'extrait méthanolique et l'aqueux de *S. officinalis* par rapport aux les trois extrait d' *A. longa* et *L. albus*.

En parallèle, les résultats d'activité antioxydante par le test de DPPH apparaissent que l'extrait éthanolique de *S. officinalis* fournit un meilleur pouvoir de piégeage des radicaux libres par rapport les autres extraits et les autres plantes. Ce pouvoir traduit par la richesse d'extrait éthanolique de *S. officinalis* en composés bioactifs.

L'estimation d'activité antibactérienne par la méthode d'imprégnation des disques contre quelques bactéries référencées ; *S. aureus*, *E. coli*, *M. luteus*, *B. subtilus*, *B. cereus*, *E. faecalis* et *P. aeruginosa* révèle que l'extrait éthanolique a une grande capacité d'inhiber les germes testés vis-à-vis l'extrait méthanolique et aqueux pour les plantes testées. La zone d'inhibition variée d'un germe à un autre basé sur leurs résistances, l'extrait et la plante testée.

Au même temps, la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour les différents extraits des plantes vis-à-vis les germes testés par les macrodilutions donnent un intervalle entre 20 à 0,625 mg/ml.

Evaluation de la toxicité et l'effet antidiabétique d'extrait éthanolique de *S. officinalis* chez les rats wistar a été effectuée par le dosage de la glycémie dans chaque semaine au cours de 6 semaines d'étude par un glucomètre. Les résultats de cette étude exposent que l'extrait éthanolique de *S. officinalis* à une dose unique de 2000 mg/kg ne présente aucun effet indésirable. En revanche, la dose de 300 mg/kg capable de réduire la glycémie chez le groupe des rats diabétiques reçoivent l'extrait éthanolique de *S. officinalis* (GDES) de 45% en comparaison avec le groupe des rats diabétiques sans traitement (GDS). Parallèlement, une réduction d'urée, la créatinine, cholestérol, TGO et TGP de 30,57 % ; 21,62% ; 15,47 % ; 10,2% et 6,5% respectivement.

Finalement, l'ensemble des résultats obtenus de cette étude indiquent la possibilité d'utilisation d'extrait éthanolique de *S. officinalis* dans le domaine thérapeutique comme un antioxydant, antibactérien et anti- diabétique grâce à leur richesse en composés bioactifs.

Pour renforcer ces résultats et dans le cadre de la suivie notre étude nous envisageons d'isoler les molécules bioactives d'extrait éthanolique de *S. officinalis* qui sont responsables pour les effets biologiques ; antioxydant, antibactérien et antidiabétique. Afin de les préparer sous forme pharmaceutique.

*Références*

*Bibliographiques*

A

- ✚ **Aba P. E., Asuzu I. U. (2018).** Mechanisms of actions of some bioactive anti-diabetic principles from phytochemicals of medicinal plants: A review. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 9(2): 85-96.
- ✚ **Abarca-Vargas R., Zamilpa A., Petricevich V.L. (2019).** Development and validation of conditions for extracting flavonoids content and evaluation of antioxidant and cytoprotective activities from. *bougainvillea x buttiana* bracteas (var. rose). *Antioxidants*, 8(264): 1-16. doi:10.3390/antiox8080264.
- ✚ **Abdallah E. M., Qureshi K. A., Musa K. H. (2017).** Antimicrobial, antioxidant and phytochemical screening of lupin seeds (*lupinus termis forrsk.*) from sudan. *CIBTech Journal of Microbiology*, 6 (1):1-8.
- ✚ **Abd-Elmageed M. A. M., Hussein B. A. (2008).** Cytotoxicity and antimicrobial activity of *Salvia officinalis L.* flowers. *Sudan Journal of Medical Sciences*, 3(2): 127-130.
- ✚ **Abdulhamid A., Fakai I.M., Sani I., Argungu A.U., Bello F. (2014).** Preliminary Phytochemical and Antibacterial Activity of Ethanolic and Aqueous Stem Bark Extracts of *Psidium guajava*. *American Journal of Drug Discovery and Development*, 4: 85-89. doi: 10.3923/ajdd.2014.85.89.
- ✚ **AFNOR. (1972).** Recueil de normes françaises des produits dérivés des fruits et légumes jus de fruits. AFNOR, 325p.
- ✚ **AFNOR. (1986).** Recueil de normes françaises, produits dérivés des fruits et légumes, jus de fruits, 2ème édition. Afnor, 343 p.
- ✚ **Agbafor K.N., Akubugwo E.I., Ogbashi M.E., Ajah P.M., Ukawandu C.C. (2011).** Chemical and Antimicrobial Properties of Leaf Extracts of *Zapoteca portoricensis*. *Research Journal of Medicinal Plant*, 5(5):605-612. doi: 10.3923/rjmp.2011.605.612.
- ✚ **Akbarzadeh A., Norouzian D., Mehrabi M.R., Jamshidi Sh., Farhangi A., Allah Verdi A., Mofidian S.M.A. , Rad B. Lame. (2007).** Induction of diabetes by streptozotocin in rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 22 (2): 60-64.
- ✚ **Akhondzadeh S., Noroozian M., Mohammadi M., Ohadinia S., Jamshidi Pharm A. H., Khani M. (2003).** *Salvia officinalis* extract in the treatment of patients with mild to moderate Alzheimer's disease: a double blind, randomized and placebo-controlled trial. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 28(1): 53-59. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2710.2003.00463.x>.

- ✚ Al Juhaimi F., Şimşek Ş., Ghafoor K., Babiker E., Özcan M. M., Ahmed I.A. M., Alsawmahi O. (2019). Effect of Varieties on Bioactive Properties and Mineral Contents of Some Sorghum, Millet and Lupin Seeds. *Journal of Oleo Science*, 68(11): 1063-1071. doi : 10.5650/jos.ess19113.
- ✚ Alarcon-Aguilar F. J., Roman-Ramos R., L. Flores-Saenz J., Aguirre-Garcia F. (2002). Investigation on the Hypoglycaemic Effects of Extracts of Four Mexican Medicinal Plants in Normal and Alloxan-diabetic Mice. *Phytotherapy research*, 16: 383–386. doi: 10.1002/ptr.914.
- ✚ AL-Chalabi S., Shukri M. H., Rana I. M., Mahmood I., Khalid B. L. (2016). Effect of *Salvia officinalis* L. (Sage) Aqueous extract on Liver and Testicular Function of Diabetic Albino Male Rats. *Journal of Babylon University/Pure and Applied Sciences*, 24(2): 290-299.
- ✚ Ali M.R., Aboud A.S. (2010). Antimicrobial Activities of Aqueous and Methanolic Extracts from *Salvia officinalis* and *Salix acmophylla* Used in the treatment of wound infection isolates. *Ibn Al-Haitham Journal For Pure And Applied Science*, 23 (3):1-14.
- ✚ Alimpić A., Oaldje M., Matevski V., Marin P. D. Duletić-Laušević S. (2014). Antioxidant activity and total phenolic and flavonoid contents of *salvia amplexicaulis* lam. Extracts. *Archives of Biological Sciences Belgrade*, 66 (1): 307-316. Doi : 10. 2298 / A B S 1 401307A.
- ✚ Al-Mashhady A. M., Lamia Ahad K. R. (2017). Hypoglycemic Effect of *Salvia officinalis* L. Extracts on Induced Diabetic Rabbits. *International Journal of PharmTech Research*, 9(9): 252-260.
- ✚ Amandine C. (2014). Limites et risques de la phytothérapie. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de limoges, Faculté de Pharmacie. France.
- ✚ Andor B., Danciu C., Alexa E., Zupko I., Hogeia E., Cioca A., Coricovac D., Pinzaru I., Jenel M. P., Marius M., Romeo T. C., Codruta S., Cristina D. (2016). Germinated and Ungerminated Seeds Extract from Two Lupinus Species: Biological Compounds Characterization and In Vitro and In Vivo Evaluations. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2016: 1-8. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/7638542>.
- ✚ Aniszewski T. (2007). Alkaloids - Secrets of Life: Alkaloid Chemistry, Biological Significance, Applications and Ecological Role. Elsevier, 61-64 pages.
- ✚ Ankur R., Shahjad A. (2012). Alloxan Induced Diabetes: Mechanism and Effects. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 3(2): 819-823.

- ✚ **Anwar F., Przybylski R. (2012).** Effect of solvents extraction on total phenolics and antioxidant activity of extracts from flaxseed (*Linum usitatissimum* L.). *Acta Sci Pol Technol Aliment*, 11(3):293-301.
- ✚ **Asmat U., Abad K., Ismail K. (2015).** Diabetes mellitus and oxidative stress—A concise review. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 24: 547–553. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsps.2015.03.013>.
- ✚ **Athamena S. (2009).** Etude quantitative des flavonoïdes des graines de *Cuminum Cyminum* et les feuilles de *Rosmarinus officinalis* et l'évaluation de l'activité biologique. Thèse magistère, Université El-Hadj Lakhdar-Batna.
- ✚ **Audigié C.I., Figarella J., Zonszain F. (1978).** Manipulations d'analyse biochimique, Doin Editeurs, Paris, France, 240 p.
- ✚ **Ayaz F. A., Kadioğlu A., Dođru A. (1999).** Soluble Sugar Composition of *Elaeagnus angustifolia* L. var. *orientalis* (L.) Kuntze (Russian olive) Fruits. *Turkish journal of botany*, 23:349-354.

### B

- ✚ **B- Morin C. (2008).** La phytothérapie pour les animaux. Le manuscrit. 5Page.
- ✚ **Bachir B., Boumedienne M. (2014).** Ethnobotanical study, antifungal activity, phytochemical screening and total phenolic content of Algerian *Aristolochia longa*. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 3(4): 150-154. DOI: 10.5455/jice.2014082603022.
- ✚ **Bag G.C., Grihanjali Devi P., Bhaigyabati Th. (2015).** Assessment of total flavonoid content and antioxidant activity of methanolic rhizome extract of three *Hedychium* species of manipur valley. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 30(1), 154-159.
- ✚ **Bagre I., Bahi C., Gnahoue G., Djaman A.J., Guede G.F. (2007).** Phytochemical composition and in vitro evaluation of the antifungal activity of extracts of *Morinda morindoides* (baker) milne-redhead (rubiaceae) leaves on *Aspergillus fumigatus* and *Candida albicans*. *Science pharmaceutical Biology*, 8(1): 15-23.
- ✚ **Balouiri M., Sadiki M., Ibsouda S. K. (2016).** Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Pharmaceutical. Analysis*, 6:71-79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>.
- ✚ **Bassil M., Daher Costantine F., Mroueh M., Zeeni N. (2015).** *Salvia libanotica* improves glycemia and serum lipid profile in rats fed a high fat diet. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15(384): 1-7. doi: 10.1186/s12906-015-0917-8.

- ✚ **Bayan Y., Genç N. (2017).** Determination of Antifungal and Antioxidant Activity of *Salvia tomentosa* *Salvia tomentosa*'nin Antifungal ve Antioksidant Aktivitesinin Belirlenmesi. *Journal of Institute of Science and Technology*, 7(4): 17-21. doi: 10.21597/jist.2017.192.
- ✚ **Belmouhoub M., Chebout I. (2017).** Antidiabetic and anti-hypercholesterolemic effects of flavonoid-rich fractions of *Rosmarinus officinalis* in streptozotocin-induced diabetes in mice. *Phytothérapie*, 2017: 1-7. Doi :10.1007/s10298-017-1103-6.
- ✚ **Ben Khedher M. R., Ben Khedher S., Chaieb I., Tounsi S., Hammami M. (2017).** Chemical Composition And Biological Activities Of *Salvia officinalis* Essential Oil From Tunisia. *Experimental and Clinical Sciences*, 16:160-173. http :// dx. doi. org /10. 171 79 / excli2016-832.
- ✚ **Ben Khedher M. R., Hammami M., Arch Jonathan R.S., Hislop D. C., Eze D., Edward T. W., Malgorzata A. K., Zaibi M. S. (2018).** Preventive effects of *Salvia officinalis* leaf extract on insulin resistance and inflammation in a model of high fat diet-induced obesity in mice that responds to rosiglitazone. *PeerJ*, 6: 1-22. Doi: 10. 77 1 7 /peerj.4166.
- ✚ **Ben Younes A., Ben Salem M., El Abed H., Jarraya R. (2018).** Phytochemical Screening and Antidiabetic, Antihyperlipidemic, and Antioxidant Properties of *Anthyllis henoniana* (Coss.) Flowers Extracts in an Alloxan-Induced Rats Model of Diabetes. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-14. https: //doi .org /10. 11 55 /2018 /85 16302.
- ✚ **Benabdesslem Y., Hachem K., Kahloula K., Slimani M. (2017).** Ethnobotanical Survey, Preliminary Physico-Chemical and Phytochemical Screening of *Salvia argentea* (L.) Used by Herbalists of the Saïda Province in Algeria. *Plants*, 6(59): 1-12. doi:10.3390/plants6040059.
- ✚ **Benarba B., Pandiella A., Elmallah A. (2016).** Anticancer activity, phytochemical screening and acute toxicity evaluation of an aqueous extract of *Aristolochia longa* L. *International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research*, 6(1): 20-26.
- ✚ **Bhaaskaran C.T., Tamilselvi S., Bharathajothi P. (2014).** Antibacterial Activity of *Aristolochia Bracteolata* Lam. *Innovative Research & Development*, 3 (13): 319- 321.
- ✚ **Bhaigyabati Th., Grihanjali Devi P., Bag GC. (2014).** Total Flavonoid Content and Antioxidant Activity of Aqueous Rhizome Extract of Three *Hedychium* Species of Manipur Valley. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 5(5):970-976.

- ✚ **Bianchi V., Duployez N., El Anbassi S. (2013).** Bactériologie – virologie. De Boeck Supérieur, Belgique, 141-142 pages.
- ✚ **Bidie A., N'guessan, Banga B., Yapo A. F., N'guessan J. D., Djaman A. J. (2011).** Antioxidant activities of ten medicinal plants from the Ivorian pharmacopoeia. *Sciences & Nature*, 8 (1): 1 - 11.
- ✚ **Blainski A., Lopes G. C., Palazzo de Mello J. C. (2013).** Application and Analysis of the Folin Ciocalteu Method for the Determination of the Total Phenolic Content from *Limonium Brasiliense* L. *Molecules* 2013, 18: 6852-6865. Doi:10 . 33 90 / molecules 18 06 6852.
- ✚ **Botham K. M., Weil A., Rodwell V. W., Kennelly P. J, Bender D. A. (2017).** Biochimie de Harper. 6<sup>ième</sup> édition, De Boeck Supérieur, 155-156 pages.
- ✚ **Boukhobza F., Goetz P. (2014).** Phytothérapie en odontologie. Initiatives Santé, Paris, 4 page.
- ✚ **Braca A., Sortino C., Politi M., Morelli I., Mendez J. (2002).** Antioxidant activity of flavonoids from *Licanialicania* flora. *Ethnopharmacology*, 79(3): 379–381.
- ✚ **Brink M., Belay G. (2006).** Ressources végétales de l’Afrique tropicale1. Céréales et légumes secs. Fondation PROTA, Wageningen, Pays- Bas/ Backhuys Publishers, Leiden, Pays – Bas/ CTA, Wageningen, Pays- Bas. 108-109 pages.
- ✚ **Bruneton J. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4<sup>ième</sup> édition, Lavoisier, Paris, 1292 pages.
- ✚ **Buszewski B., Rafńska K., Cvetanović A., Walczak J., Krakowska A., Rudnicka J., Zeković Z. (2019).** Phytochemical analysis and biological activity of *Lupinus luteus* seeds extracts obtained by supercritical fluid extraction. *Phytochemistry Letters*, 30:338–348. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2019.02.014>.

### C

- ✚ **Calatayud P. A., Marion-Poll F., Sauvion N., Thiéry D. (2013).** Interactions Insectes-Plantes, Éditions Quae, Marseille. 218-222 p.
- ✚ **Chawla P., Chawla A., Gagan S., Baghel U.S, Dhawan R.K. (2013).** A Review On Pharmacognosy And Biological Activities Of *Aristolochia*. *Asian Journal of Research in Biological and Pharmaceutical Sciences*, 1(2) : 97 - 106.
- ✚ **Combs Ch. A. (2016).** Tannins: Biochemistry, Food Sources and Nutritional Properties. Nova Science Publishers, Incorporated, 190 pages.

✚ **Crozier A., Clifford Mike N., Ashihara H. (2007).** Chapter 1 :Phenols, Polyphenols and Tannins: An Overview. In *Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet*. John Wiley & Sons, 384 pages.

*D*

✚ **Dalaram I. S. (2016).** Evaluation of total polyphenol content and antioxidant capacity of different variety lupin seeds. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 11(1): 26-34. doi: <https://dx.doi.org/10.5219/678>.

✚ **Daoud S., Alqahtani Mona A. M., Alkhalifa Dalal H. M. (2015).** “Biosynthesis of silver nanoparticles using *salvia officinalis*”, *International Journal of Current Research*,7 (10): 21548-21552.

✚ **Dehpour A., Ibrahimzadeh M. A., Seyedfazelet N., Seyed M. (2009).** Antioxydant activity of the methanol extract of *Ferula Assafoetida* and its essential oil composition. *Grasas Y Aceites*, 60(04): 405-412. <https://doi.org/10.3989/gya.010109>.

✚ **Delarras C. ( 2010).** Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux. 2<sup>ème</sup> édition, Lavoisier, 588 pages.

✚ **Dellavalle P. D., Cabrera A., Alem D., Larrañaga P., Ferreira F., and Rizza M. D. (2011).** Antifungal Activity Of Medicinal Plant Extracts Against Phytopathogenic *Fungus Alternaria* Spp. *Chilean journal of agricultural research*, 71(2): 231-239.

✚ **Denis F. (2002).** Les bactéries, champignons et parasites transmissibles de la mère à l'enfant. John Libbey Eurotext, 484 pages.

✚ **Derbal S., Niar A. (2019).** Antibacterial activity of honey and *Nigella sativa* L. seed extracts against animal wound bacteria. *International Journal of Veterinary Science and Research*, 5(1): 030-034. doi: <http://dx.doi.org/10.17352/ijvsr.000038>.

✚ **Derouiche S., Zeghib K., Gharbi S., Khelef Y. (2018).** Beneficial Effects of *Aristolochia Longa* and *Aquilaria Malaccensis* on Lead-Induced Hematological Alterations and Heart Oxidative Stress in Rats. *Chemical and Pharmaceutical Research*, 10(9): 8-15.

✚ **Dierick K., Coillie Els V., Swiecicka I., Meyfroidt G., Devlieger H., Meulemans A., Hoedemaekers G., Fourie L., Heyndrickx M., Mahillon J. (2005).** Fatal Family Outbreak of *Bacillus cereus* Associated Food Poisoning. *Journal Of Clinical Microbiology*, 43(8):4277–4279. doi:10.1128/JCM.43.8.4277–4279.2005.

- ✚ **Do Q. D., Angkawijaya A. E., Tran-Nguyen Ph. L., Huynh L. H., Soetaredjo F.E., Ismadji S., Yi-Hsu J. (2014).** Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatic*. *Journal of food and drug analysis*, 22: 296 -302.
- ✚ **Dopico A. (2007).** Methods in Membrane Lipids.; 621 pages. Volume 400 de Methods in Molecular Biology. Humana Press, 2010.
- ✚ **Doughari JH. (2006).** Antimicrobial Activity of *Tamarindus indica* Linn. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 5 (2): 597-603.
- ✚ **Duletić-Laušević S., Alimpić A. A., Živković J., Gligorijević N., Šavikin K., Radulović S., Čočić D. and Petar D. M. (2019).** Evaluation of bioactivities and phenolic composition of extracts of *Salvia officinalis* L. (Lamiaceae) collected in Montenegro. *Botanica Serbica*, 43 (1): 47-58. doi: <https://doi.org/10.2298/BOTSERB1901047D>.
- ✚ **Duletić-Laušević S., Alimpić A., Pavlović D., Marin P. D., Lakušić D. (2016).** *Salvia officinalis* of different origins Antioxidant activity, phenolic and flavonoid content of extracts. *Agro FOOD Industry Hi Tech*, 27(1): 52-55.
- ✚ **Durand D., Damon M., Gobert M. (2013).** Le stress oxydant chez les animaux de rente : principes généraux. *Cahiers de nutrition et de diététique*, 48 : 218-224. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cnd.2013.04.005>.
- ✚ **Dymock W., Warden Ch. J. H., Hooper D. (1893).** Pharmacographia Indica, Volume 3. History of the principal drugs of vegetable origin. K. Paul, Trench, Trübner & Company, British india, 158-166 page.

### *E*

- ✚ **Earl A. M., Losick R., Kolter R. (2008).** Ecology and genomics of *Bacillus subtilis*. *Trends Microbiol*, 16(6): 269- 278. doi:10.1016/j.tim.2008.03.004.
- ✚ **Eidi A., Eidi M. (2009).** Antidiabetic effects of sage (*Salvia officinalis* L.) leaves in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 3: 40–44. doi:10.1016/j.dsx.2008.10.007.
- ✚ **Eidi A., Eidi M., Shahmohammadi P., Mozaffarian V., Rustaiyan A., Mazooji A. (2011).** Antidiabetic Effect of *Salvia verticillata* L. Aerial Parts in Normal and Streptozotocin-induced Diabetic Rats. *International Journal of Pharmacology*, 7 (1): 66-73. Doi:10.3923/ijp.2011.66.73.

- ✚ **Eidi M, Eidi A, Zamanizadeh H. (2005).** Effect of *Salvia officinalis* L. leaves on serum glucose and insulin in healthy and streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal Ethnopharmacol*, 100 (3):310-3. doi: 10.1016/j.jep.2005.03.008.
- ✚ **Ejaz A., Muhammad A., Muhammad Z. K., Muhammad S. A., Huma Mehreen S., Iqra R., Sidra S., Nabila A., Sabaoon. (2017).** Secondary metabolites and their multidimensional prospective in plant life. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6 (2): 205-214.
- ✚ **El Gabbas Z., Bezza K., Laadraoui J., Ait Laaradia M., Kebbou A., Oufquir S., Boukhira A., Aboufatima R., and Chait A. (2019).** *Salvia officinalis*, Rosmarinic and Caffeic Acids Attenuate Neuropathic Pain and Improve Function Recovery after Sciatic Nerve Chronic Constriction in Mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019:1-17. <https://doi.org/10.1155/2019/1702378>.
- ✚ **El Omari N., Sayah K., Fettach S., El Blidi O., Bouyahya A., Faouzi My E., Kamal R., Barkiyou M. (2019).** Evaluation of In Vitro Antioxidant and Antidiabetic Activities of *Aristolochia longa* Extracts. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019:1-11.
- ✚ **El Ouali L. A. , El-Akhal F., Ez Zoubi Y., Taghzouti Kh. (2016).** Study of Phytochemical Screening and Larvicidal Efficacy of Ehtanolic Extract of *Salvia officinalis* (Lamiaceae) from North Center of Morocco Against *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) Vector of Serious Human Diseases. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 8(10); 1663-1668.
- ✚ **Elsawi S. A., Aly H. F., Elbatanony M. M., Maamoun A. A., Mowawad D. M. (2018).** Phytochemical Evaluation of *Lagestroemia Indica* (L.) Pers. Leaves as Anti-Alzheimer's. *Journal of Meterials and Environmental Sciences*, 9(9): 2575-2586.
- ✚ **Eluehike N., Onoagbe I. (2018).** Changes in organ and body weight, serum amylase and antidiabetic effects of tannins from *Spondias mombin* on streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Insulin Resistance*, 3(1): 1-5. <https://doi.org/10.4102/jir.v3i1.40>.
- ✚ **Engelgau M. M., Geiss L. S. (2000).** The Burden of Diabetes Mellitus. In *Medical Management of Diabetes Mellitus*. CRC Press, 1-4 pages.
- ✚ **Erbaş M., Certel M., Uslu M.K. (2005).** Some chemical properties of white lupin seeds (*Lupinus albus* L.). *Food Chemistry*, 89(3) :341, 345. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.040>.

- ✚ **Erdemoglu N., Ozkan S., Duran A., Tosun F. (2009).** GC-MS analysis and antimicrobial activity of alkaloid extract from *Genista vuralii*. *Pharmaceutical Biology*, 47(1): 81–85. doi: 10.1080/13880200802448674.
- ✚ **Ernest S., Grace D. (2001).** Herbes culinaires pour nos jardins de pays froid. NRC Research Press, 170 pages.
- ✚ **Et-Touys A., Hijiba F., Mniouil M., Bouyahya A., Dakka N., Abdennebi El Hassan, Sadak A., Bekri Y. (2016).** Screening of Antioxydant, Antibacterial and Antileishmanial Activities of *Salvia officinalis* L. Extracts From Morocco. *British Microbiology Reasearch Journal*, 16(5): 1-10. Doi: 10.9734/ BMRJ/2016/28307.
- ✚ **Ewenighi Ch., Dimkpa U., Onyeausi J., Onoh L., Onoh G., Ezeugwu U. (2015).** Estimation of Glucose Level and Body Weight in Alloxan Induced Diabetic Rat Treated with Aqueous Extract of *Garcinia Kola* Seed. *Ulutas Medical Journals*, 1(2):26-30. doi: 10. 54 55 /umj.20150507042420.

### F

- ✚ **Favier A. (2006).** Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutiques Françaises* ; 64 : 390-396.
- ✚ **Fernandes A. A. H., Novelli Ethel L. B., Fernandes A.J., Galhardi C. M. (2009).** Effect of Naringerin on Biochemical Parameters in the Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Brazilian archives of biology and technology* , 52 (1): 51-59.
- ✚ **Fisher K., Phillips C. (2009).** The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Microbiology*, 155:1749–1757. Doi: 10.1099/mic.0.026385-0.
- ✚ **François B., Michel W. (2010).** Multirésistance chez *Pseudomonas aeruginosa* Vers l'impasse thérapeutique ? *Medecine/Sciences*, 26 (11): 960-968. <http://dx.doi.org/10.1051/medsci/20102611960>.

### G

- ✚ **Gales A. C., Jones R. N., Turnidge J., Rennie R., Ramphal R. (2001).** Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* Isolates: Occurrence Rates, Antimicrobial Susceptibility Patterns, and Molecular Typing in the Global SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997–1999. *Clinical Infectious Diseases*, 32(2):S146–55.
- ✚ **Garriga M., Almaraz M., Marchiaro A. (2017).** Determination of reducing sugars in extracts of *Undaria pinnatifida* (harvey) algae by UV-visible spectrophotometry (DNS method). *Actas de Ingeniería*, 3: 173-179.

- ✚ **Gautier A. (1822).** Manuel des plantes médicinales ou description, usage et culture des végétaux indigènes employés en médecine. Éditeur : Audot, Paris, 1106 pages.
- ✚ **Gebru A. K., Sibhat G.G., Hiben M.G. (2014).** Preliminary Phytochemical Screening and Blood Glucose Lowering Activity of Methanol Extract of *Salvia tilifolia Vahl* aerial part. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*, 5(5): 122 – 125.
- ✚ **Ghezelbash Gh. R., Parishani M. R., Fouani M. H. (2015).** Antimicrobial activity of *Salvia officinalis* acetone extract against pathogenic isolates. *Herbal Drugs*, 5(4): 215-218.
- ✚ **Ghorbani A., Esmaeilizadeh M. (2017).** Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 2017: 1-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtcme.2016.12.014>.
- ✚ **Ghowsi M., Yousofvand N., Moradi S. (2019).** Effects of *Salvia officinalis* L. (common sage) leaves tea on insulin resistance, lipid profile, and oxidative stress in rats with polycystic ovary: An experimental study. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 1-10.
- ✚ **Gnanamani A., Hariharan P., Paul S. M. (2017).** *Staphylococcus aureus*: Overview of Bacteriology, Clinical Diseases, Epidemiology, Antibiotic Resistance and Therapeutic Approach. <http://dx.doi.org/10.5772/67338>.
- ✚ **Gothandam K., Ganesan V. S., Ayyasamy T., Ramalingam S . (2019).** Antioxidant potential of theaflavin ameliorates the activities of key enzymes of glucose metabolism in high fat diet and streptozotocin – induced diabetic rats. *Redox report*, 24 (1): 41–50. <https://doi.org/10.1080/13510002.2019.1624085>.
- ✚ **Grujic N., Lepojevic Z., Srdjenovic B., Vladic J., Sudji J. (2012).** Effects of Different Extraction Methods and Conditions on the Phenolic Composition of Mate Tea Extracts. *Molecules*, 17: 2518-2528. doi:10.3390/molecules17032518.
- ✚ **Gubler A. (1868).** Commentaires thérapeutiques du codex medicamentarius; ou, Histoire de l'action physiologique et des effets thérapeutiques des médicaments inscrits dans la Pharmacopée française. J.B. Baillière, Paris, 23-23 pages.
- ✚ **Guinnin F. D. F., Sacramento T. I., Ategbo J. M., Agbangnan Cocou D. P. (2016).** Physico-chemical composition and radical scavenging activity evaluation of the extracts of *Aristolochia albida* Duch. (Aristolochiaceae) of Benin. *Journal of Applied Biosciences*, 07: 10460-10470. <http://dx.doi.org/10.4314/jab.v107i1.11>.

*H*

- ✚ **Hajzadeh M.A.R., Rajaei Z., Ghamami G., Tamiz A. (2011).** The effect of salvia officinalis leaf extract on blood glucose in streptozotocin-diabetic rats. *Pharmacology online*, 1: 213-220.
- ✚ **Halliwell B., Gutteridge, J.M.C. (1999).** Free Radicals in Biology and Medicine. In: Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C., Eds., Free Radicals in Biology and Medicine, 3rd Edition, Oxford University Press, Oxford, 1-25.
- ✚ **Hammoudi R., Khenfer S., Medjouel M., Tlili M. L., Mahammed M. H. (2017).** Optimization of extraction conditions for phenolic compounds from *salvia chudaei*. *Lebanese Science Journal*, 18(2): 234-243. <http://dx.doi.org/10.22453/LSJ-018.2.234-243>.
- ✚ **Hanania M., Radwan S., Abu Odeh S., Qumber A. (2019).** Determination of Minerals, Total Phenolic Content, Flavonoids, Antioxidants and Antimicrobial Activities of Ethanolic Extract of Sweet *Lupinus angustifolius* of Palestine. *European Journal of Medicinal Plants*, 28(1): 1-6. doi: 10.9734/EJMP/2019/v28i130126 .
- ✚ **Hanania M., Radwan S., Karmi E. (2018).** Extraction Method and Evaluation of Phenolics, Flavonoids, Antioxidant Activity, Antimicrobial Activity and Minerals of Bitter *Lupinus albus* in Palestine. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 8(2): 137-143. doi: 10.1080/22311866.2018.1465355.
- ✚ **Harborne J.B. (1998).** Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plants analysis. 3<sup>ème</sup> edition, Chapman et Hall, Britanie, 294p.
- ✚ **Hartman R. E., Ross D. M. (2018).** Effects and mechanisms of actions of phytochemicals on Alzheimer's disease neuropathology. *Frontiers In Bioscience, Elite*, 10:300-333.
- ✚ **Hopkins W. G. (2003).** Physiologie végétale. 2<sup>ème</sup> Edition, De Boeck Supérieur, Espagne, 273-274 pages.
- ✚ **Hossein A., Reza H., Vahid N., Minoo I. 2013.** Effects of Aqueous Extract of *Berberis integerrima* Root on Some Physiological Parameters in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 12 (2): 425-434.
- ✚ **Hosseini A., Ghorbani A. (2015).** Cancer therapy with phytochemicals: evidence from clinical studies. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 5 (2): 84-97.
- ✚ **Hostettmann K., Marston A. (2005).** Saponins. Cambridge University Press. 1-2 pages.

J

- ✚ **Ibrahim R. A., Elawad A. A., Hamad A. M. (2019).** Checklist of Plants Used as Blood Glucose Level Regulators and Phytochemical Screening of Five Selected Leguminous Species. *Agricultural Extension Journal*, 3(1):38-57.
- ✚ **Iserin P. (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales: identification - préparation - soins. Édition : Paris Larousse, Larousse. Paris, 131 pages.
- ✚ **Islam T. M. M., Shekhar H. U. (2015).** Impact of Oxidative Stress on Human Health. In : Rani V., Yadav U. (eds) Free Radicals in Human Health and Disease. Springer, New Delhi , 59-73.
- ✚ **Iwalokun B. A., Usen U. A, Otunba A. A., Olukoya D. K. (2007).** Comparative phytochemical evaluation, antimicrobial and antioxidant properties of *Pleurotus ostreatus*. *African Journal of Biotechnology*, 6 (15): 1732- 1739.

J

- ✚ **Jamaludin M., Nazratun N. A. H., Zariyantey A. H., Budin S. B. (2016).** Mechanisms of Diabetes-Induced Liver Damage The role of oxidative stress and inflammation. *Sultan Qaboos University Medical Journal*, 16 (2): 132–141. doi: 10.18295/squmj.2016.16.02.002.
- ✚ **Jarald E., Joshi S. B., Jain D. Ch. (2008).** Diabetes and Herbal Medicines. *Iranian Journal Of Pharmacology and Therapeutics*, 7 (1): 97-106.
- ✚ **Jayant Sh. K., Srivastava N. (2015).** Evaluate insulin secretagogue activity in diabetic rats by aqueous suspension of Garlic. *Integrative Obesity and Diabetes*, 2(1): 183-186. doi: 10.15761/IOD.1000141.
- ✚ **Jean-Jacques M. (1996).** Les composés phénoliques des végétaux: quelles perspectives à la fin du XXème siècle?. *Acta Botanica Gallica*, 143(6) :473-479. Doi:10. 1080 /125 380 78. 1996.10515344.
- ✚ **Jean-Jacques M., Annie F., Christian J. A. (2005).** Chapitre 01 : Nature et diversité des composés phénoliques des végétaux. In Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique, 1<sup>ière</sup> édition. PPUR presses polytechniques. Italie, 1-6 p.
- ✚ **Jokić S., Velić D., Bilić M., Bucić-Kojić A., Planinić M., Tom S. (2010).** Modelling of the Process of Solid-Liquid Extraction of Total Polyphenols from Soybeans. *Czech Journal of Food Sciences*, 28 (3): 206–212.

✚ **JORADP. (2013).** Journal Officiel De La République Algérienne N°35. Arrêtes, Décisions Et Avis. Arrêté du 16 Rajab 1433 correspondant au 6 juin 2012 rendant obligatoire la méthode de détermination de l'acidité grasse dans les farines et les semoules de blé. 1-3p.

*K*

✚ **Kabera J. N., Semana E., Mussa Ally R., He X. (2014)** . Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function and Pharmacological Properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* , 2: 377-392.

✚ **Kadhim S. M., Mohammed M. T., Ahmed O. M., Jassimand A. M. N. (2016).** Study of some *salvia officinalis l.* (sage) components and effect of their aqueous extract on antioxidant. *International journal of chemical science*, 14(2): 711-719.

✚ **Kahn A. P. (2005).** Diabetes: Causes, Prevention And Treatment. Orient Paperbacks, India, 24 pages.

✚ **Kaneria M, Kanari B, Chanda S. (2012).** Assessment of effect of hydroalcoholic and decoction methods on extraction of antioxidants from selected Indian medicinal plants. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(3): 195-202.

✚ **Karamać M., Orak H. H., Amarowicz R., Orak A., Piekoszewski W. (2018).** Phenolic contents and antioxidant capacities of wild and cultivated white lupin (*Lupinus albus L.*) seeds. *Food Chemistry*, 258:1–7. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.03.041>.

✚ **Kedare S. B., Singh R. P. (2011).** Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology*, 48(4):412–422. Doi: 10. 1007 /s1 3197-011-0251-1.

✚ **Khan M. K., Karnpanit W, Nasar-Abbas S. M., Huma Zill-e, Jayasena V. (2015).** Phytochemical composition and bioactivities of lupin: a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 50: 2004–2012. Doi :10. 1111 /ijfs. 12796.

✚ **Khare R, Upmanyu N., Jha M. (2019).** Exploring the Potential Effect of Methanolic Extract of *Salvia officinalis* Against UV Exposed Skin Aging: *In vivo* and *In vitro* Model. *Current Aging Science*, 12 : 1-10. doi: 10.2174/1874609812666190808140549.

✚ **Khashan K. T., Al-khefaji K. A. (2015).** Effects of *Salvia officinalis L.* (sag) leaves Extracts in Normal and Alloxan-Induced Diabetes in White Rats. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 6:(1): 20-27.

- ✚ **Khoudali S., left D. B., Essaqui A., Zertoubi M., Azzi M., Benaissa M. (2014).** Étude de l'activité antioxydante et de l'action anti corrosion de l'extrait méthanolique des feuilles du palmier nain (*Chamaerops humilis* L.) du Maroc Study of antioxidant activity and anticorrosion action of the methanol extract of dwarf palm leaves (*Chamaerops humilis* L.) from Morocco. *Journal of Materials and Environmental Science*, 5 (3): 887-898.
- ✚ **Kitts D. D. (1994).** Bioactive substances in food: identification and potential uses. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 72 (4): 423-434. <https://doi.org/10.1139/y94-062>.
- ✚ **Koffi E., Sea T., Dodehe Y., Soro S. (2010).** Effet du type de solvant sur l'extraction des polyphénols de vingt-trois usines ivoiriennes. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 5:550-558.
- ✚ **Kotiranta A., Lounatmaa K., Haapasalo M. (2000).** Epidemiology and pathogenesis of *Bacillus cereus* infections. *Microbes and Infection*, 2:189-198.
- ✚ **Kouchade S. A., Adomou C. A., Dassou G. H., Akoegninou A. (2017).** Facteurs socioculturels et environnementaux déterminant la connaissance des plantes utilisées pour les soins infantiles au Sud du Bénin. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 11(3): 1272-1287. doi: <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v11i3.27>.
- ✚ **Krimat S., Dob T., Toumi M., Kesouri A., Noasri A. (2015).** Assessment of phytochemicals, antioxidant, antimicrobial and cytotoxic properties of *Salvia chudaei* Batt. et Trab. endemic medicinal plant from Algeria. *Journal of Materials and Environmental Science*, 6 (1) : 70-78.
- ✚ **Kris-Etherton P. M., Kari D. H., Bonanome A., Stacie M. C., Binkoski A. E., Kirsten F. H., Griel A.E., Etherton T.D. (2002).** Bioactive Compounds in Foods: Their Role in the Prevention of Cardiovascular Disease and Cancer. *The american journal of medicine*, 113: 71S- 88S.
- ✚ **Kruger N.J. (1994).** The Bradford method for protein quantitation. *Methods in Molecular Biology*, 32:9-15. PMID: 7951753. doi: 10.1385/0-89603-268-X:9.
- ✚ **Kumar M. S., Rajeswari, Astalakshmi N. (2011).** Evaluation of antimicrobial activities of *Aristolochia indica* (linn). *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3 (4): 271-272.
- ✚ **Kumar S., Yadav A., Yadav M., Yadav Jaya P. (2017).** Effect of climate change on phytochemical diversity, total phenolic content and in vitro antioxidant activity of *Aloe vera* (L.). *BMC Research Notes*, 10(60) : 1-12. Doi: 10.1186/s13104-017-2385-3.

ℒ

- ✚ **LaBauve A. E., Wargo M.J. (2012).** Growth and Laboratory Maintenance of *Pseudomonas aeruginosa*. *Current Protocols in Microbiology* 6: 1-11. doi: 10.1002/9780471729259.mc06e01s25.
- ✚ **Lafka T.I., Sinanoglou V., Lazos E. S. (2007).** On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes. *Food Chemistry*, 104: 1206–1214. Doi : 10.1016/j.foodchem.2007.01.068.
- ✚ **Lamarck J. B. P. A. M. (1805).** Flore française ou descriptions succinctes de toutes les plantes qui croissent naturellement en France: disposées selon une nouvelle Méthode d'Analyse, et précédées par un Exposé des Principes élémentaires de la Botanique. 3 ième Edition, Agasse, France, 548 pages.
- ✚ **Lampart-Szczapa E., Siger A., Trojanowska K., Nogala-Kalucka M., Malecka M., Pacholek B. (2003).** Chemical composition and antibacterial activities of lupin seeds extracts. *Nahrung/Food*, 47 (5): 286– 290. doi: 10.1002/food.200390068.
- ✚ **Lamuela-Raventós R. M. (2017).** Folin–Ciocalteu method for the measurement of total phenolic content and antioxidant capacity. In *Measurement of Antioxidant Activity & Capacity: Recent Trends and Applications*. Sous la dir .de Resat Apak Esra Capanoglu Fereidoon Shahidi. American, John Wiley & Sons Ltd , 107-115 pp. https://doi.org/10.1002/9781119135388.ch6.
- ✚ **Le Loir Y., Gantier M. (2009).** *Staphylococcus aureus*. Lavoisier, Paris, 1-6 pages.
- ✚ **Lee K.W., Kim Y. J., Lee H. J., Lee Ch. Y. (2003).** Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51:7292-7295. doi : 10.1021/jf0344385.
- ✚ **Lekha P.K., Lonsane B.K. (1997).** Production and Application of Tannin Acyl Hydrolase: State of the Art. *Advances in Applied Microbiology*,44:215-260. https://doi.org/10.1016/S0065-2164(08)70463-5.
- ✚ **Li X., Luo Y., Wang L., Li Y., Shi Y., Cui Y., Xue M. (2010).** Acute and subacute toxicity of ethanol extracts from *Salvia przewalskii Maxim* in rodents. *Journal of ethnopharmacolog*, 131: 110–115. doi:10.1016/j.jep.2010.06.012.
- ✚ **Lima C. F., Azevedo M. F., Araujo R., Fernandes-Ferreira M., Pereira-Wilson C. (2006).** Metformin-like effect of *Salvia officinalis* (common sage): is it useful in diabetes prevention?. *British Journal of Nutrition*, 96: 326–333. Doi: 10.1079/BJN20061832.

✚ **Lobo V., Patil A., Phatak A., Chandra N. (2010).** Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4 (8): 118-126. Doi: 10.4103/0973-7847.70902.

✚ **Luckner M. (2013).** Secondary Metabolism in Microorganisms, Plants and Animals. 2<sup>ème</sup> Édition, Springer Science & Business Media. Berlin, 247 pages.

### M

✚ **Mahdizadeh R., Moein S., Soltani N., Malekzadeh K., Moein M. (2018).** Study The Molecular Mechanism Of *Salvia* Species In Prevention Of Diabetes. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 9 (11): 4512-4521. Doi: 10.13040/IJPSR.0975-8232.9 (11).4512-21.

✚ **Manning Sh. D. (2010).** *Escherichia Coli* Infections. Infobase Publishing 2<sup>ème</sup> Edition, 16-17 pages.

✚ **Mansouri E., Khorsandi L., Abedi H. A. (2014).** Antioxidant effects of proanthocyanidin from grape seed on hepatic tissue injury in diabetic rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 17:460-464.

✚ **Marcelo S. P., Iuhara S. R., Ieila S. N., Rafaienne Q. M., Thagra S. S., madileine F. A., kleber E. C., débora C. D., Gustavo T. V. (2017).** Effect of *Bauhinia holophylla* treatment in Streptozotocin-induced diabetic rats. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 89(1): 263-272. <http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201720160050>.

✚ **Marella S. (2017).** Flavonoids-The Most Potent Poly-phenols as Antidiabetic Agents: An Overview. *Modern Approaches in Drug Designing*,1(3):1-5. Doi: 10.31031/MA DD.2017.01.000513.

✚ **Marella S., Dilip R. M., Kameswara R. B., Jyothi K. M. V., Chippad A. (2015).** Antihyperlipidemic and Biochemical Activities of Mcy Protein in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 35:1326-1334. doi: 10.1159/000373954.

✚ **Mariee A. D., Abd-Allah G. M., El-Yamany M. F. (2009).** Renal oxidative stress and nitric oxide production in streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats: the possible modulatory effects of garlic (*Allium sativum* L.). *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 52: 227–232. doi:10.1042/BA20080086.

- ✚ **Mariita R.M., Oguge N., Ogol C.K.P.O., Okemo P.O. (2011).** Methanol Extract of Three Medicinal Plants from Samburu in Northern Kenya Show Significant Antimycobacterial, Antibacterial and Antifungal Properties. *Research Journal of Medicinal Plant*, 5(1):54-64. doi: 10.3923/rjmp.2011.54.64.
- ✚ **Mazari K., Bendinerad N., Benkhechi Ch., Fernandez X. (2010).** Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* L and *Cupressus sempervirens*. *Medicinal Plants Research*, 4(10): 959-964.
- ✚ **Mekhaldi A., Bouznad A., Djibaoui R., Hamoum H. (2014).** Phytochemical Study and Biological Activity of Sage (*Salvia officinalis* L.). *International Journal of Biological, Veterinary, Agricultural and Food Engineering*, 8 (11): 1165- 1169.
- ✚ **Melo G. A. N. F., Jefferson P., Farinha T. O., Pinho R. J. D., Damião M. J., Grespan R., Silva E., Bersani-Amado C. A. Cuman Roberto K. N. (2012).** Anti-inflammatory activity of *Salvia officinalis* L. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(35), 4934-4939. DOI: 10.5897/JMPR12.251.
- ✚ **Merouani N., Belhattabe R., Sahli F. (2017).** Evaluation of the biological activity of *Aristolochia longa* L. Extracts. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 8(5): 1978-1992. doi: 10.13040/IJPSR.0975-8232.8 (5).1978-92.
- ✚ **Metrouh-Amir H., Duarte Catarina M.M., Maiza F. (2015).** Solvent effect on total phenolic contents, antioxidant, and antibacterial activities of *Matricaria pubescens*. *Industrial Crops and Products*, 67: 249–256. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.01.049>.
- ✚ **Mickymaray S. (2019).** Efficacy and Mechanism of Traditional Medicinal Plants and Bioactive Compounds against Clinically Important Pathogens. *Antibiotics*, 8(257): 1-57. doi:10.3390/antibiotics8040257.
- ✚ **Migdal C, Serres M. (2011).** Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Medicine/sciences* (Paris), 27 (4): 405 – 412. Doi :<https://doi.org/10.1051/medsci/2011274017>.
- ✚ **Miltiadous G., Elisaf M. (2011).** Native valve endocarditis due to *Micrococcus luteus*: a case report and review of the literature. *Journal of Medical Case Reports*, 5(251): 1-3. doi:10.1186/1752-1947-5-251.
- ✚ **Mirmohammadlu M., Hosseini S. H., Kamalinejad M., Gavvani M.E., Noubarani M., Eskandari M. R. (2015).** Hypolipidemic, Hepatoprotective and Renoprotective Effects of *Cydonia Oblonga* Mill. Fruit in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 14 (4): 1207-1214.

- ✚ **Moazzem H. S. M., Shakhawat H. M., Jahidul I., Nurunnobi P. M., Nur-E-Jannat, Firoj A. (2014).** Comparative preliminary phytochemical and biological investigations on *Andrographis paniculata* (Nees) and *Aristolochia indica* (Linn). *Journal for medicinal chemistry, pharmaceutical chemistry, pharmaceutical sciences and computational chemistry*, 6(3):332-338.
- ✚ **Morita M., Naito Y., Yoshikawa T., Niki E. (2016).** Plasma lipid oxidation induced by peroxy nitrite, hypochlorite, lipoxygenase and peroxy radicals and its inhibition by antioxidants as assessed by diphenyl-1-pyrenylphosphine. *Redox Biology*, 8:127–135. <http://dx.doi.org/10.1016/j.redox.2016.01.005>.
- ✚ **Mosafa E., Yahyaabadi S., Doudi M. (2014).** In-Vitro Antibacterial Properties of Sage (*Salvia officinalis*) Ethanol Extract against Multidrug Resistant *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumonia*. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 16(10): 42-46.
- ✚ **Muia B. M., Mbaria J. M., Kanja L. W., Gitahi N., Okumu P. O., Okumu M. O. (2019).** Acute and sub-acute toxicity study of the root extracts of *Fagaropsis hildebrandtii* in mice and evaluation of their antimicrobial effects [version 2; peer review: 1 approved, 1 approved with reservations]. *F1 000 Research*, 8: 1444 . <https://doi.org/10.12688/f1000research.19915.2>.
- ✚ **Mujeeb F., Bajpai P., Pathak N. (2014).** Phytochemical Evaluation, Antimicrobial Activity, and Determination of Bioactive Components from Leaves of *Aegle marmelos*. *Biomed research international*, 2014: 1-11, <http://dx.doi.org/10.1155/2014/497606>.
- ✚ **Murugan M., Mohan V. R. (2012).** Efficacy of different solvent extracts of *Vitex trifolia* L. and *Aristolochia indica* L. for potential antibacterial activity. *Science Research Reporter*; 2(1): 110-114.

*N*

- ✚ **Nacz M., Shahidi F. (2006).** Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41:1523–1542. Doi: 10.1016/j.jpba.2006.04.002.
- ✚ **Nascimento G. G. F., Locatelli J., Freitas P.C., Silva G.L. (2000).** Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic resistant bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*, 31:247-256. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822000000400003>.

- ✚ **Nisar B., Sultan A., Rbab S. L. (2017).** Comparison of Medicinally Important Natural Products versus Synthetic Drugs-A Short Commentary. *Natural Products Chemistry & Research*; 6: 308. doi:10.4172/2329-6836.1000308.
- ✚ **Noémie V. (2013).** Remèdes et recettes à la sauge: Les bonnes plantes de nos grands-mères. Fleurus, Bretagne, 64 p.
- ✚ **Noudogbessi J. P. A., Natta K A., Tchobo F. P., Bogninou G. S., Bothon F. T. D., Bossou A. D., Figueredo G., Chalard P., Chalchat J. C., Sohounhloùé D, C. K. (2013).** Phytochemical screening of *pentadesma butyracea sabine* (clusiaceae) acclimated in benin by gc/ms. *ISRN Analytical Chemistry*, 2013: 1-7, <https://dx.doi.org/10.1155/2013/172397>.

### O

- ✚ **Obafemi T.O., Akinmoladun A.C., Olaleye M.T., Agboade S. O., Onasanya A. A. (2017).** Antidiabetic potential of methanolic and flavonoid-rich leaf extracts of *Synsepalum Dulcificum* in type 2 diabetic rats. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, 8:238-246. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaim.2017.01.008>.
- ✚ **Obiudu I.K., Okolie A.C., Agbafor K.N., Unaegbu M.E., Engwa G.A., Obiudu C.V. (2015).** Anti-Diabetic Property and Phytochemical Composition of Aqueous and Methanol Extracts of *Buchholzia Coriacea* Seeds in Alloxan-Induced Diabetic Rats. *Journal Of Medical Sciences*, 15 (5): 241-245. Doi: 10.3923/jms.2015.241.245.
- ✚ **Oliveira G. O., Braga C. P., Fernandes Ana A. H. (2013).** Improvement of biochemical parameters in type 1 diabetic rats after the roots aqueous extract of yacon [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.& Endl.)] treatment. *Food and Chemical Toxicology*, 59: 256–260. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2013.05.050>.
- ✚ **Öncül N., Karabıyıklı Ş. (2016).** Mechanism of antibacterial effect of plant based antimicrobials. *Ukrainian Food Journal*, 5(3) : 541-549.
- ✚ **Organisation de Coopération et de Développement Economiques. (2001).** Guidance Document On Acute Oral Toxicity Testing. Environment, Health and Safety N°24. Paris.
- ✚ **Osasenaga M. I., Abiola M. A., Oluseyi A. A. (2017).** Alloxan-induced diabetes, a common model for evaluating the glycemic-control potential of therapeutic compounds and plants extracts in experimental studies. *Medicina*, 53: 365-374. <https://doi.org/10.1016/j.medic.2018.02.001>.

✚ **Oyedemi S. O., Adewusi EA., Aiyegoro OA., Akinpelu DA. (2011).** Antidiabetic and haematological effect of aqueous extract of stem bark of *Afzelia africana* (Smith) on streptozotocin-induced diabetic Wistar rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 353-358.

✚ **Ozen T., Bora N., Yenigun S., Korkmaz H. (2009).** An investigation of chemical content, enzyme inhibitory property, antioxidant and antibacterial activity of *Aristolochia bodamae* Dingler (develiotu) (Aristolochiaceae) root extracts from Samsun, Turkey. *Flavour and Fragrance Journal*, 1–14. Doi: 10.1002/ffj.3559.

*P*

✚ **Panche A. N., Diwan A. D., Chandra S. R. (2016).** Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*, 5 (47):1 -15. doi:10.1017/jns.2016.41.

✚ **Pandey Kanti Bh., Rizvi S. I. (2009).** Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5) : 270-278. doi: 10. 41 61 /oxim.2.5.9498.

✚ **Perera C., Brown R. H. (1996).** A new method for lipid extraction at ambient temperature. *CYTA - Journal of Food*, 1:31:3-18. doi: 10.1080/11358129609487557.

✚ **Perry N. B., Anderson R. E., Brennan N. J., Douglas M. H., Heaney A. J., McGimpsey J. A., Smallfield B. M. (1999).** Essential Oils from Dalmatian Sage (*Salvia officinalis* L.): Variations among Individuals, Plant Parts, Seasons, and Sites. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 2048-2054. Doi :10.10 21/jf981170m.

✚ **Peter H., Bennett, William C. k. (2005).** Chapter 19: Definition, Dagnosis, and Classification of Diabetes Mellitus and Glucose Homeostasis. In *Joslin's Diabetes Mellitus*. 14<sup>ième</sup> édition, Lippincott Williams & Wilkins, USA, 331 pages.

✚ **Pop A., Muste S., Mureşan C., Pop C., Salanţă L. (2013).** Comparative study regarding the importance of sage (*Salvia Officinalis* L.) In terms of antioxidant capacity and antimicrobial activities. *Hop and medicinal plants*, 1(2 ):41-42.

✚ **Prabhakar P. K., Doble M. (2008).** A Target Based Therapeutic Approach Towards Diabetes Mellitus Using Medicinal Plants. *Current Diabetes Reviews*, 4(04) : 291-308.

✚ **Pratima H., Policepatil V. (2017).** Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of Various Extracts of *Salvia aegyptiaca* L. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6 (01): 600-608. <http://dx.doi.org/10.20546/ijcmas2017.601.073>.

✚ **Puchchakayala G., Jadhav R. (2012).** Hypoglycemic And Antidiabetic Activity Of Flavonoids: Boswellic Acid, Ellagic Acid, Quercetin, Rutin On Streptozotocin-Nicotinamide Induced Type 2 Diabetic Rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(2) : 251-256.

### R

✚ **Radder J.K., Lemkes H.H.P.J., Krans H.M.J. (2012).** Pathogenesis and Treatment of Diabetes Mellitus. Springer Science & Business Media, 188 pages.

✚ **Rahman T., Hosen I., Islam M., Towhidul M., Shekhar H. U. (2012).** Oxidative stress and human health. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 3: 997-1019. <http://dx.doi.org/10.4236/abb.2012.327123>.

✚ **Raja R. Ramasubramania P., P. Shanmuga. (2016).** Pharmacognostical Phytochemical Screening Of *Aristolochia Bracteolata* (Aristolochiaceae). *Indian Journal of Pharmacology*, 3(11): 496-500. <https://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.IJ>.

✚ **Raju M. G., Sundar Reddy T. H. (2017).** *Aristolochia bracteolata* – antihyperglycemic and antihyperlipidemic activity in dexamethasone-induced diabetic rat model. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10(8): 75-77. Doi: <http://dx.doi.org/10.22159/ajpcr.2017.v10i8.18328>.

✚ **Ramírez J. H., Palacios M., Tamayob O., Jaramillo R., Gutiérrez O. (2007).** Acute and subacute toxicity of *Salvia scutellarioides* in mice and rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 109(2): 348- 353. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.07.040>.

✚ **Rasmy N. M., Hassan Amal A., Foda M. I., El-Moghazy M. M. (2012).** Assessment of the Antioxidant Activity of Sage (*Salvia officinalis* L.) Extracts on the Shelf Life of Mayonnaise. *World Journal of Dairy & Food Sciences*, 7 (1): 28-40. doi: 10.5829/idosi.wjdfs.2012.7.1.1103.

✚ **Rasool H. B. A. (2002).** Medicinal Plants (Importance and Uses). *Pharmaceutica Analytica Acta*, 3(10). <http://dx.doi.org/10.4172/2153-2435.1000e139>.

✚ **Rebiere C., Rebiere O. (2019).** Plantes aromatiques pour votre santé: Petit guide digital des herbes aromatiques, graines et épices et leurs propriétés médicinales, recettes simples et gourmandes pour vous faire plaisir. 8<sup>ième</sup> édition de Nature Passion. Rebiere, 80 pages.

✚ **Richard A. (1831).** Éléments d'histoire naturelle médicale. Volume 2. Éditeur : Felix Locquin, Paris, 478 page.

✚ **Romeo F. V., Fabroni S., Ballistreri G., Muccilli S., Spina A., Rapisarda P. (2018).** Characterization and Antimicrobial Activity of Alkaloid Extracts from Seeds of Different Genotypes of *Lupinus* spp. *Sustainability*, 10(3): 1-12. <https://doi.org/10.3390/su10030788>.

✚ **Roopalatha U C., Vijay M. N. (2013).** Phytochemical analysis of successive reextracts of the leaves of *Moringa Oleifera* lam. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5 (3) : 629-634.

✚ **Rosângela A. F.F., Martins Danyelly B. G., Borba Maria Amélia C.S.M. (2016).** Chapter 10: Oxidative Stress and Disease.185-199 page. In *A Master Regulator of Oxidative Stress - The Transcription Factor Nrf2*.

### S

✚ **Saad B., Zaid H., Shanak S., Kadan S. (2017).** Chapter 7: Antidiabetic Medicinal Plants and Their Mechanisms of Action. In *Anti-diabetes and Anti-obesity Medicinal Plants and Phytochemicals: Safety, Efficacy, and Action Mechanisms*. Springer, 182-204 pages.

✚ **Safdar M. N., Kausar T., Jabbar S., Mumtaz A., Ahad K., Saddozai A.A. (2016).** Extraction and quantification of polyphenols from kinnow (*Citrus reticulata* L.) peel using ultrasound and maceration techniques. *Journal of Food and Drug Analysis*, 1-13. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfda.2016.07.010>.

✚ **Saleh F., Kheirandish F., Azizi H., Azizi M. (2014).** Molecular Diagnosis and Characterization of *Bacillus subtilis* Isolated from Burn Wound in Iran. *Research in Molecular Medicine*, 2(2): 40-44. Doi: 10.18869/acadpub.rmm.2.2.40.

✚ **Sani U. M. (2015).** Phytochemical screening and antidiabetic effect of extracts of the seeds of *Citrullus lanatus* in alloxan-induced diabetic albino mice. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5 (03) : 051-054. Doi: 10.7324/JAPS.2015.50309.

✚ **Schwalbe R., Steele-Moore L., Goodwin A. C. (2007).** Chapitre 4: Macro- and Microdilution Methods of Antimicrobial Susceptibility Testing, In *Antimicrobial Susceptibility Testing Protocols*, 1<sup>ère</sup> Édition, Editeur : CRC Press. Pp 75- 78.

✚ **Seifert H., Kaltheuner M., Perdreau-Remington F. (1995).** *Micrococcus luteus* endocarditis: Case report and review of the literature. *Zentralblatt für Bakteriologie*, 282(4) :431-435. [https://doi.org/10.1016/S0934-8840\(11\)80715-2](https://doi.org/10.1016/S0934-8840(11)80715-2).

- ✚ **Sepahpour S., Selamat J., Manap Mohd Y.A., Khatib A., Razis A. F. A. (2018).** Comparative Analysis of Chemical Composition, Antioxidant Activity and Quantitative Characterization of Some Phenolic Compounds in Selected Herbs and Spices in Different Solvent Extraction Systems. *Molecules*, 23(402):1-17. doi:10.3390/molecules23020402.
- ✚ **Shanak S., Saad B., Zaid H. (2019).** Metabolic and Epigenetic Action Mechanisms of Antidiabetic Medicinal Plants. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-18. <https://doi.org/10.1155/2019/3583067>.
- ✚ **Sharma M., Koul A., Sharma D., Kaul S., Swamy M. K., Dhar M. K. (2019).** “Metabolic engineering strategies for enhancing the production of bio-active compounds from medicinal plants,” in *Natural Bio-active Compounds*, eds M. Akhtar and M. Swamy, (Singapore: Springer), pp 287-316. Izmir, Turkey. doi: 10.1007/978-981-13-7438-8\_12.
- ✚ **Sharma S., Kulkarni Sh. K., Chopra K. (2006).** Curcumin, The Active Principle Of Turmeric (*Curcuma Longa*), Ameliorates Diabetic Nephropathy In Rats. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 33: 940–945. doi: 10.1111/j.1440-1681.2006.04468.x.
- ✚ **Shovon Lal S., Prianka S., Nigarin S. (2016).** In vitro evaluation of phytochemical components and antimicrobial activity of the methanolic extract of *Tridax procumbens* L. against pathogenic microorganisms. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 5(5): 42-46.
- ✚ **Sibul F., Orcic D., Nadjpal J., Mrkonjic Z., Franciskovic M., Majkic T., Bekvalac K. (2015).** Anti-inflammatory and antioxidant activity of white lupin (*Lupinus albus*) aerial parts. *Planta Med*, 81(16) : 79. doi: 10.1055/s-0035-1565703.
- ✚ **Siddiqui A. A., Siddiqui Sh. A., Ahmad S., Siddiqui S, Ahsan I., Sahu K. (2013).** Diabetes: Mechanism, Pathophysiology and Management-A Review. *International Journal of Drug Development & Research*, 5 (2): 1-23.
- ✚ **Singh L. W. (2011).** Traditional medicinal plants of Manipur as anti-diabetics. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(5): 677-687.
- ✚ **Singleton V.L., Rossi J.A. (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Technology and Viticulture*, 16:144-153.
- ✚ **Sirivole M.R., Eturi S. (2017).** A study on blood urea and serum creatinine in diabetes mellitus from Sangareddy District, Telangana, India. *International Journal of Medical and Health Research*, 3(12): 132-136.

✚ Solowey E., Lichtenstein M., Sallon S., Paavilainen H., Solowey E., Lorberboum-Galski H. (2014). Evaluating Medicinal Plants for Anticancer Activity. *The Scientific World Journal*, 1- 12. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/721402>.

✚ Soni A., Sosa S. (2013). Phytochemical Analysis and Free Radical Scavenging Potential of Herbal and Medicinal Plant Extracts. *Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2 (4): 22-29.

✚ Stefanović O. D. (2018). Synergistic Activity of Antibiotics and Bioactive Plant Extracts: A Study Against Gram-Positive and Gram Negative Bacteria. In: Kırmusaoğlu Sahra. Bacterial Pathogenesis and Antibacterial Control. Éditeur BoD – Books on Demand, Croatia.,23-48 p.

✚ Sussman M. (1997). *Escherichia Coli: Mechanisms of Virulence*. Cambridge University Press, 639 pages.

### *T*

✚ Tan S. Y., Mei Wong J. L., Sim Y. J., Wong S. S., Mohamed E. S. A., Tan S. H., Ling L. G.P., Rong T. N. W., Annan N. Ch., Bhattamisra S. K., Candasamy M. (2018). Type 1 and 2 diabetes mellitus: A review on current treatment approach and gene therapy as potential intervention. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 1-31. Doi: 10.1016/j.dsx.2018.10.008.

✚ Tanada Y., Kaya H. K. (2002). *Insect Pathology*. Academic Press, The United States of America, 86 pages.

✚ Thielens A. (1862). Flore médicale belge. A. Lacroix, Verboeckhoven, Paris, 12-13 p.

✚ Thirumal M., Vadivelan R., Kishore G., Brahmaji V.S. (2012). *Aristolochia bracteolata*: An Overview on Pharmacognostical, Phytochemical and Pharmacological Properties. *Critical Review In Pharmaceutical Sciences*, 1(1):70-82.

✚ Tirzitis G., Bartosz G. (2010). Determination of antiradical and antioxidant activity: basic principles and new insights. *Review Acta Biochimica Polonica*, 57(1): 139–142.

✚ Tiwari P., Kumar B., Kaur M., Kaur G., Kaur H. (2011). Phytochemical screening and extraction: A review. *International Pharmaceutical Sciences*, 1(1):98-106.

✚ Tosun M., Ercisli S., Sengul M., ozer H., Polat T., Ozturk E. (2009). Antioxidant Properties and Total Phenolic Content of Eight Salvia Species from Turkey. *Biological Research*, 42: 175-181.

✚ Trousseau A. (1858). *Traité de thérapeutique et de matière médicale*, volume 2, 6<sup>ième</sup> édition, Béchét jeune, Paris, 480-481 pages.

✚ Tuekaew J., Siritwatanametanon N., Wongkrajang Y., Tamsiririrkkul R., Jantan I. (2014). Evaluation of the Antioxidant Activities of Ya-hom Intajak, a Thai Herbal Formulation, and its Component Plants. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 13 (9): 1477-1485. <http://dx.doi.org/10.4314/tjpr.v13i9.14>.

U

✚ Uygun M., Uygun D. A., Aktaş K., Özdemir C., Özkan M., Karagözler A. A. (2012). Antioxidant activity of *Salvia Tchihatcheffii* leaf extracts. *Ege university journal of the faculty of science*, 36 (1/2): 18-33.

V

✚ Velayutham R., Sankaradoss N., Nazeer KFH A. (2012). Protective effect of tannins from *Ficus Racemosa* in hypercholesterolemia and diabetes induced vascular tissue damage in rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 367-373.

✚ Veličković D. T., Karabegović I.T., Stojičević S. S., Lazić M. L., Marinković V. D., Veljković V. B. (2011). Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained from *Salvia glutinosa* L. and *Salvia officinalis* L. *Hemijaska industrija*, 65 (5): 599–605 . doi: 10.2298/HEMIND110412034V.

✚ Vergès B. (2001). Insulinosensibilité et lipides. *Diabetes and Metabolism*, 27 :223-227.

✚ Verpoorte R., Alfermann A. Wilhelm. (2013). Chapitre 01: secondary metabolism. In *Metabolic Engineering of Plant Secondary Metabolism*. Springer Science & Business Media, 1-23 pages.

✚ Vidyarthi N., Mazumdar A. (2014). “Oxidative stress and antioxidant enzymes”, *Pharmacophore*, 5 (6):889-894.

W

✚ Walia A., Gupta A.K., Sharma V. (2019). Role of Bioactive Compounds in Human Health. *Acta Scientific Medical Sciences*, 3(9): 25-33.

✚ Willett Julia L. E., Ji Michelle M., Dunny Gary M. (2019). Exploiting biofilm phenotypes for functional characterization of hypothetical genes in *Enterococcus faecalis*. *npj Biofilms and Microbiomes*, 5(23): 1-14. <https://doi.org/10.1038/s41522-019-0099-0>.

✚ Wink M. (1999). *Biochemistry of Plant Secondary Metabolism*. Volume 2 de Sheffield Annual Plant Reviews. CRC Press , Germany, 262 pages.

✚ Wu S, Chappell J. (2008). Metabolic engineering of natural products in plants; tools of the trade and challenges for the future. *Current Opinion in Biotechnology*, 19:145–152. DOI 10.1016/j.copbio.2008.02.007.

Y

- ✚ **Yoshikawa T., Naito Y. (2002).** What Is Oxidative Stress?. *the Journal of the Japan Medical Association*, 124(11): 1549–1553.
- ✚ **Young M., Artsatbanov V., Beller Harry R., Chandra G., Chater Keith F., Dover Lynn G., Goh Ee-Been, Kahan T., Kaprelyants Arseny S., Kyrpides N., Lapidus A., Lowry Stephen R., Lykidis A., Mahillon J., Markowitz V., Mavromatis K., Mukamolova Galina V., Oren A., Rokem J. S., Smith Margaret C. M., Young Danielle I., Greenblatt Ch. L. (2010).** Genome Sequence of the Fleming Strain of *Micrococcus luteus*, a Simple Free-Living Actinobacterium. *Journal Of Bacteriology*, 192: (3)841–860. Doi :10. 1128 /JB. 01254-09.

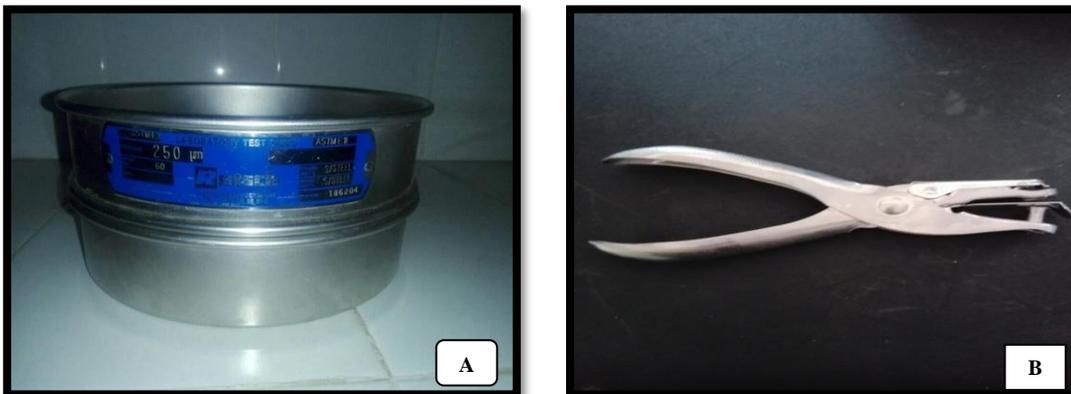
Z

- ✚ **Zarei A., Vaezi Gh., Malekirad A.A., Abdollahi M. (2014).** Hypoglycemic and hypolipidemic activities of *Salvia hydrangea* in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 18: 417-422.
- ✚ **Zhang S., Xu H., Yu X., Wu Y., Sui D. (2017).** Metformin ameliorates diabetic nephropathy in a rat model of low-dose streptozotocin-induced diabetes. *Experimental And Therapeutic Medicine*, 14: 383-390. Doi: 10.3892/etm.2017.4475.
- ✚ **Zhou K., Yu L. (2004).** Effects of extraction solvent on wheat bran antioxidant activity estimation. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol*, 37: 717–721. Doi :10. 1016 /j. l w t.2004.02.008.
- ✚ **Ziegler J., Facchini P.J. (2008).** Alkaloid biosynthesis: metabolism and trafficking. *Annual Review of Plant Biology*, 59:735-69. doi: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092730.

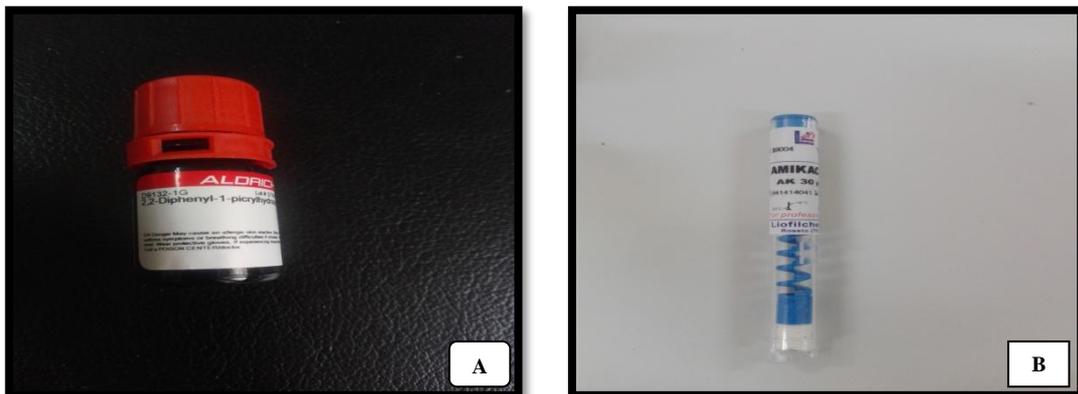
# ***ANNEXES***



**Figure N°01 :** Parties aérienne *A. longa* et *L. albus* au niveau de Herbar de laboratoire de botanique de l'Ecole National Supérieur d'Agronomie (Alger).



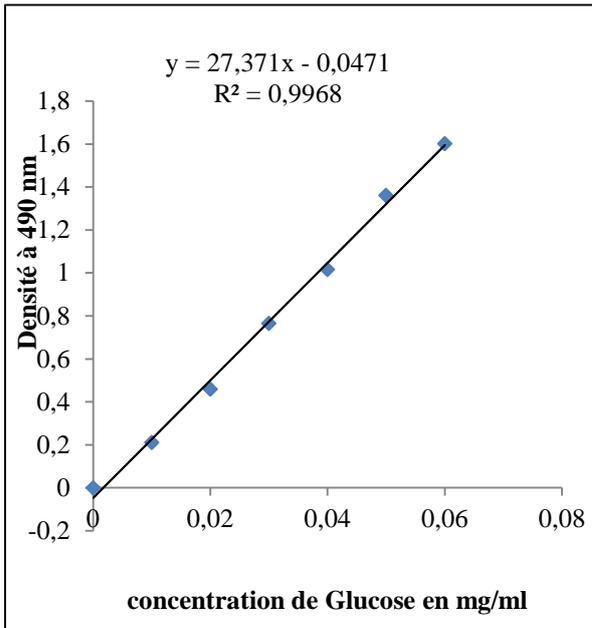
**Figure N° 02:** (A) : Tamis ; (B) : Pince des disque antibiotique de papies whatman.



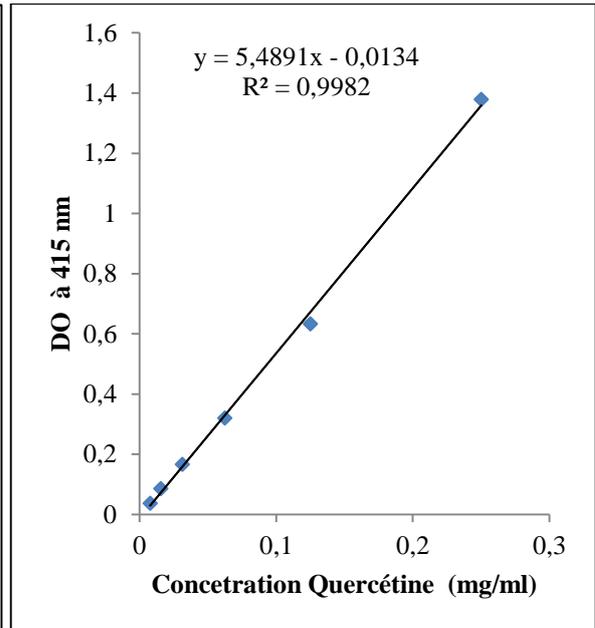
**Figure N° 03:** (A): DPPH ; (B) : Disque Antibiotique Amikacine 30µg.



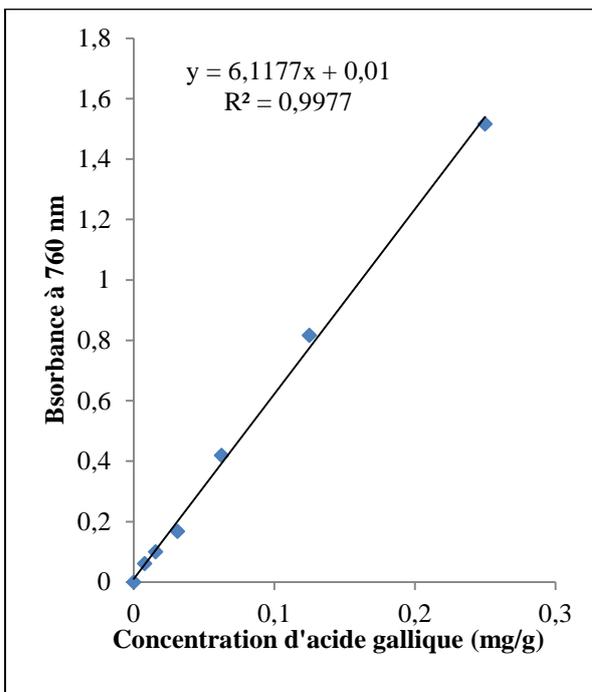
Figure N° 04: Screening phytochimique des extraits des plantes.



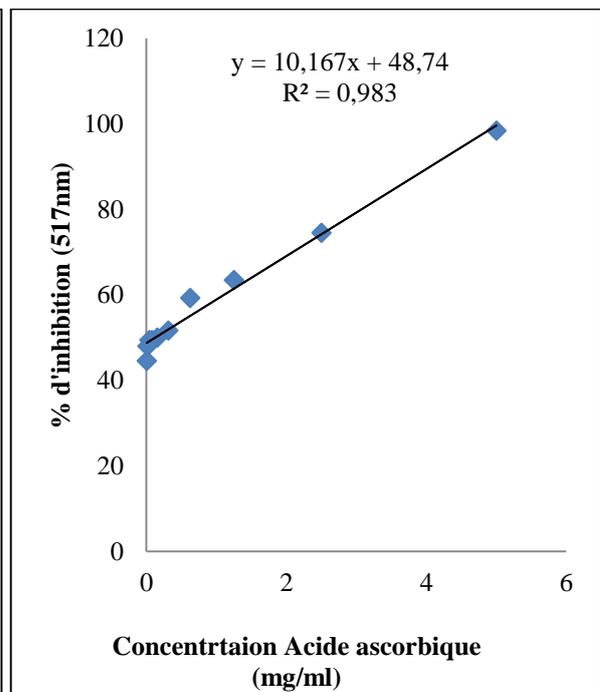
Courbe étalonnage de Sucres réducteurs.



Courbe d'étalonnage des Flavonoïdes.



Courbe d'étalonnage des Polyphénols.



Courbe d'étalonnage de DPPH.



Figure N°05 : Dosage de polyphénols des extraits de *S. officinalis*, *A. longa* et *L. albus*.

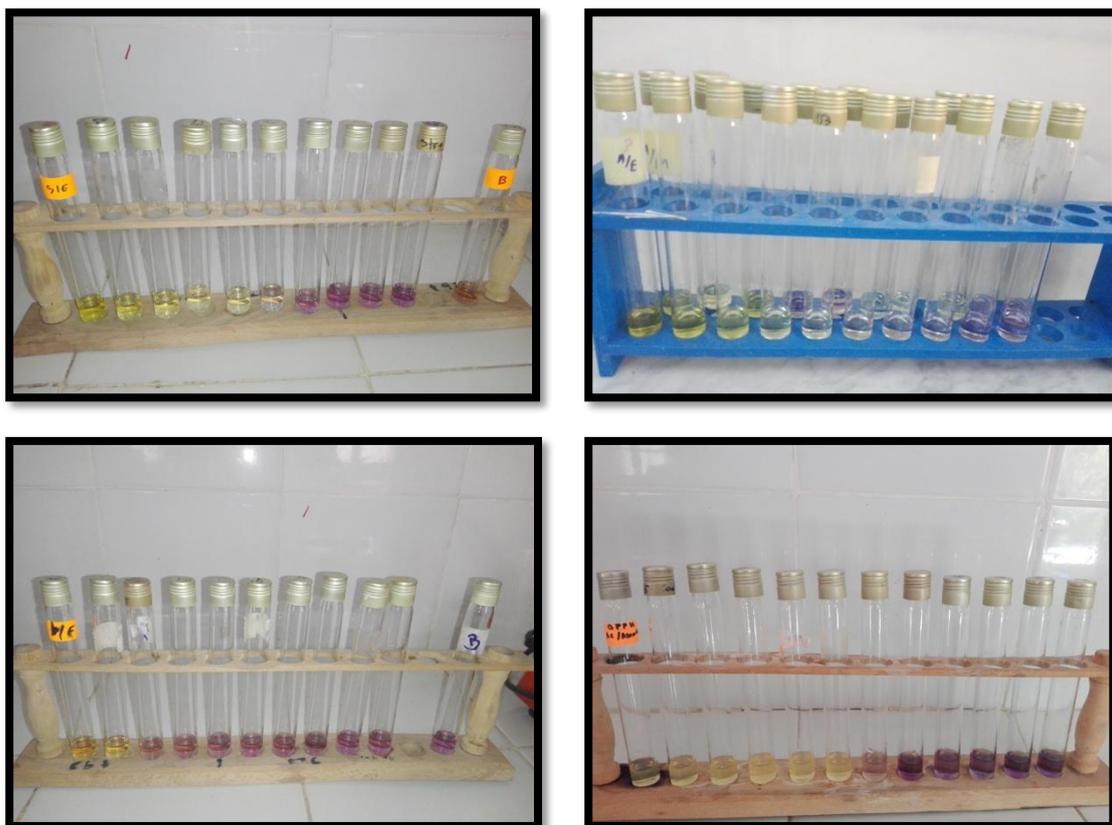


Figure N°06 : Test de DPPH pour extrait éthanolique de *S. officinalis* ; *A. longa* ; *L. albus* et D'acide ascorbique.

**Composition de milieu de culture utilisée**➤ **Gélose nutritive (Delarras, 2014) :**

La composition chimique du milieu e g/l d'eau distillée est :

Peptone .....	05
Extrait de viande.....	05
Agar.....	13

pH=  $6,8 \pm 0,2$  à 25 °C.

Stérilisation à l'autoclave à  $121 \pm 1$  °C pendant 15 minutes.

➤ **Gélose Mueller Hinton (Delarras, 2014) :**

Peptone .....	10
Extrait de levure .....	05
Chlorure de sodium.....	05
Glucose.....	01
Agar.....	15

pH non précisé ajouté à 7,0.

Stérilisation à l'autoclave à 118 °C pendant 15 minutes.

➤ **Réactif de Wagner (Kanoun 2010) :**

Iodure de potassium (KI).....	02 g
Diiodure (I <sub>2</sub> ).....	1,27g dans 75 ml d'eau.
Ajuster le volume total à 100 ml d'eau.	

Les alcaloïdes donnent avec ce réactif un précipité brun.

➤ **Réactif de Bouchard (Chenni, 2010):**

Iode.....	02g
Iodure de potassium .....	02g
Eau distillé.....	100ml



Figure N°07 : Repiquage des souches.

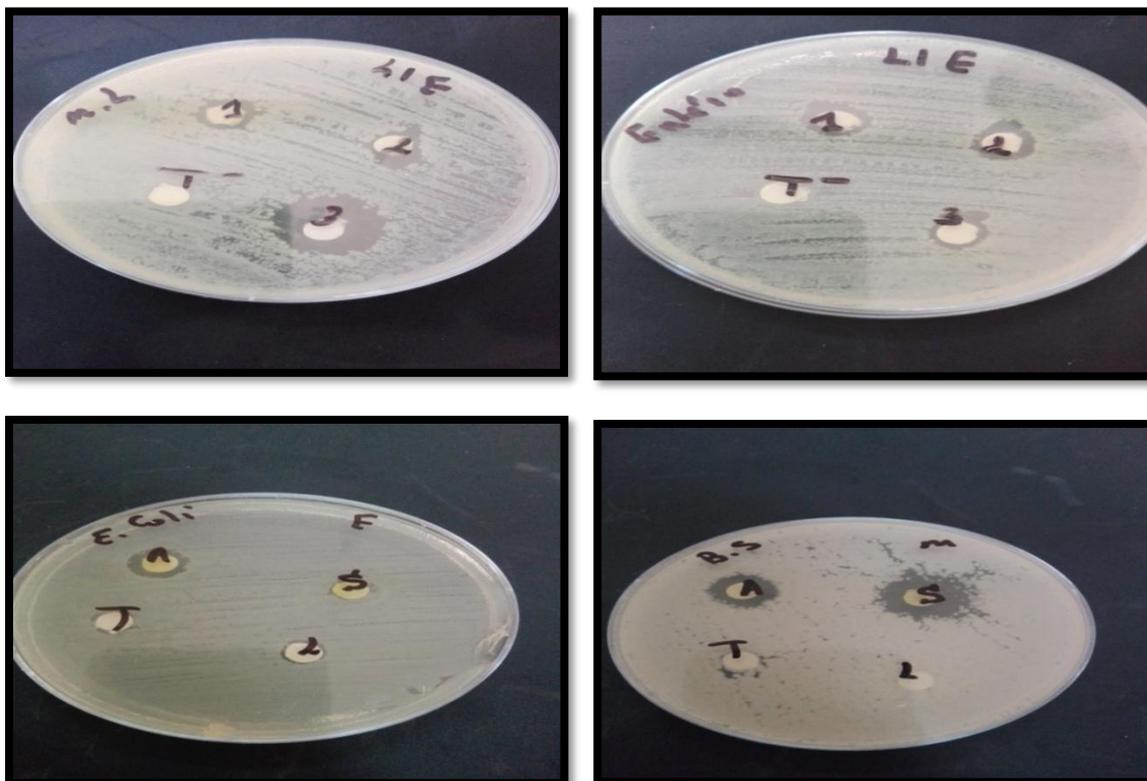
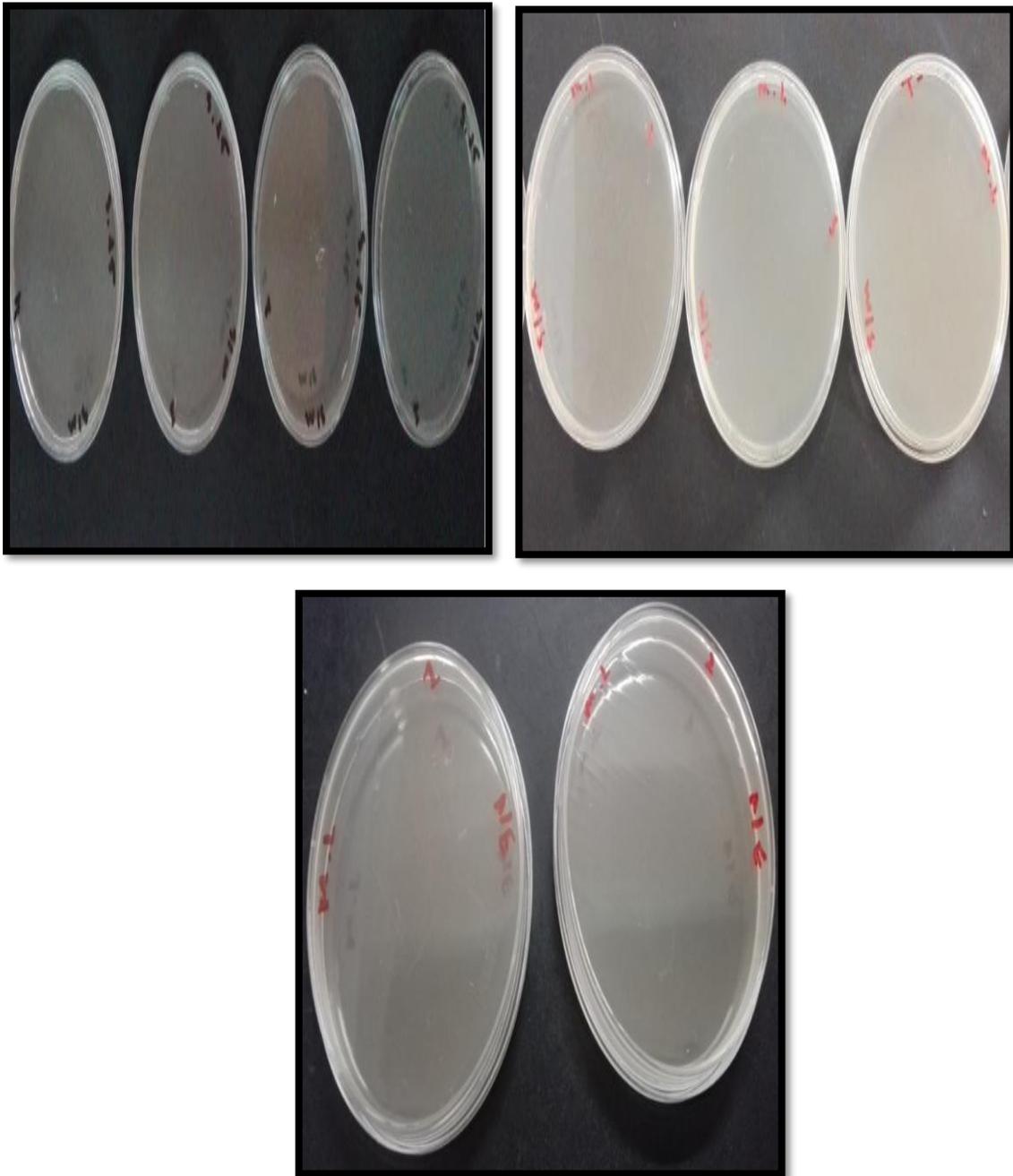


Figure N°08: Activité antibactérien par la technique d'imprégnation des disques.





**Figure N°10:** Ensemencement des tubes de macrodilution après l'incubation 24h à 37°C.

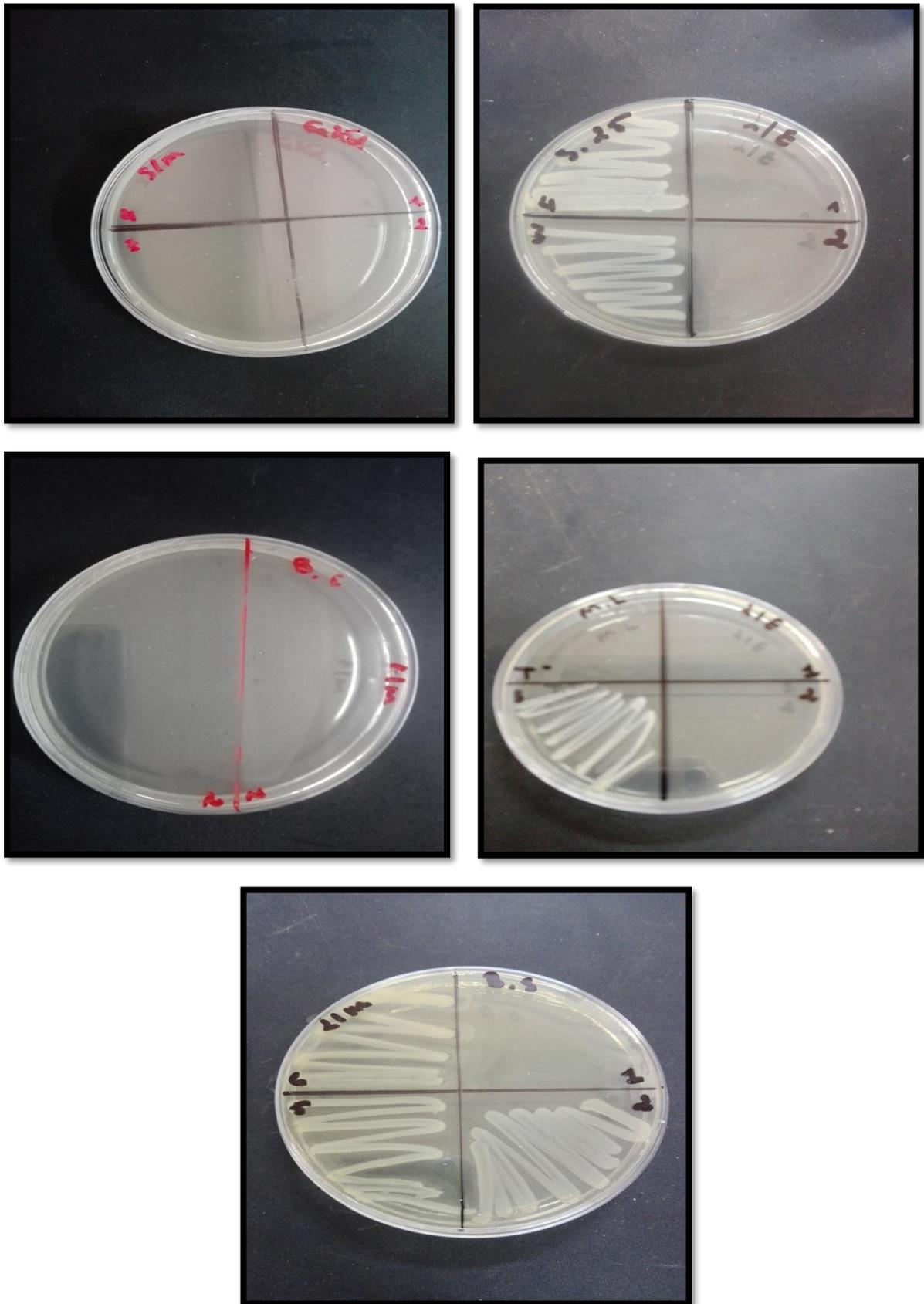
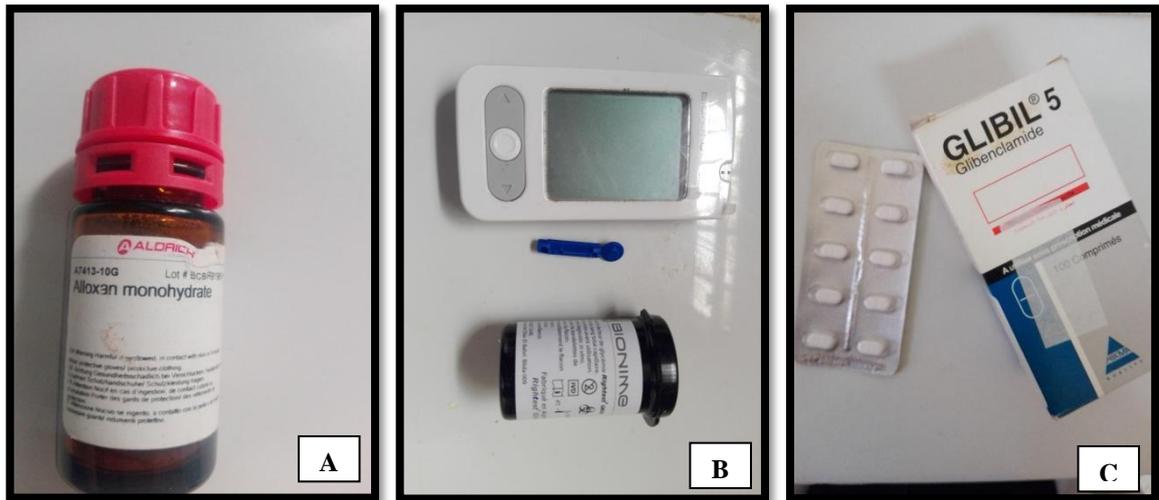


Figure N°11 : Détermination de la CMI.



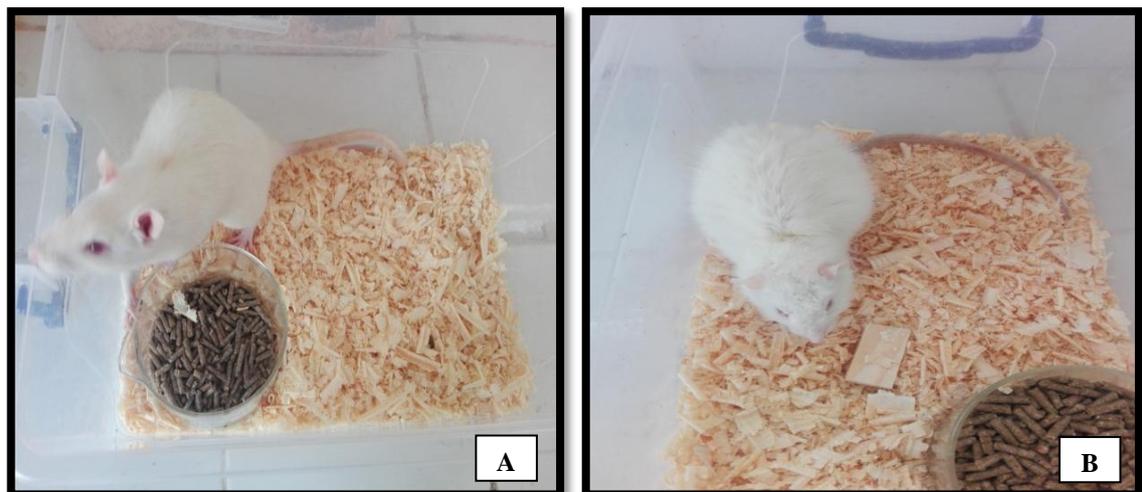
Figure N° 12: Répartition des groupes des rats.



**Figure N° 13:** (A) : Substance diabétogène ‘Alloxane,’ (B) : lecteur de glycémie (C) :Médicament antidiabétique Glibenclamide.



**Figure N° 14:** Dosage de la glycémie des rats à partir de l'extrémité de la queue .



**Figure N°15 :** (A) : Rat appartient de groupe GT- (B) : Rat diabétique de groupe GD.



**Figure N° 16:** Rat appartenant au groupe  
**GT :**



**Figure N° 17:** Rat appartenant au groupe  
**GDS.**



**Figure N° 18:** Rat appartenant au groupe  
**GDGL.**



**Figure N° 19:** Rat appartenant au groupe  
**GDES.**



**Figure N° 20:** Rat appartenant au groupe **GTES.**

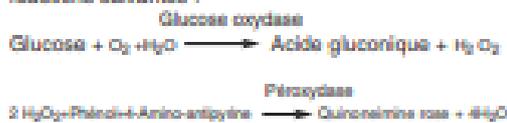
## Biomoghreb

### PRESENTATION

Ref. 20121, (1000 Tests) R1 : 3 x 500 ml R2 : 3 flacons (lyophil) R3 : 3 x 6 ml	Ref. 20124, (2000 Tests) R1 : 6 x 500 ml R2 : 6 flacons (lyophil) R3 : 3 x 11 ml	Ref. 20127, (400 Tests) R1 : 4 x 100 ml R2 : 4 flacons (lyophil) R3 : 1 x 5 ml
Ref. 20123, (3000 Tests) R1 : 3 x 1000 ml R2 : 3 flacons (lyophil) R3 : 3 x 11 ml	Ref. 20126, (1000 Tests) R1 : 5 x 300 ml R2 : 5 flacons (lyophil) R3 : 3 x 10 ml	

### PRINCIPE

Détermination enzymatique du glucose selon les réactions suivantes :



### REACTIFS

<b>Réactif 1</b>	Tampon Tris pH= 7	100 mmol/l
Solution tampon	Phénol	0,3 mmol/l
<b>Réactif 2</b>	Glucose oxydase	10 000 UI
Enzymes	Péroxydase	1000 UI
	Amino 4 -Antipyrine	2,6 mmol/l
<b>Réactif 3</b>	Glucose	100 mg/dl
Standard		1 g/l
		5,56 mmol/l

### PREPARATION ET STABILITE

Dissoudre le lyophilisat R2 dans le tampon R1.  
Protéger de la lumière.

Stabilité du réactif de travail

- 8 semaines à 20 - 25°C
- 8 mois à 2 - 8°C

### ECHANTILLONS

Sérum (non hémolysé)  
Plasma recueilli sur fluorure-héparine ou héparine-ioda-cétate (non hémolysé)  
Liquide Céphalo-rachidien.

### MODE OPERATOIRE

Longueur d'onde : \_\_\_\_\_ 505 nm (492-550)

Température : \_\_\_\_\_ 37° C (20-25°C)

Cuve : \_\_\_\_\_ 1 cm d'épaisseur

Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif.

	Blanc	Standard	Echantillon
Standard	--	10 µl	--
Echantillon	--	--	10 µl
Réactif de travail	1 ml	1 ml	1 ml

Mélanger, lire les DO après une incubation de 10 minutes à 37 °C ou 30 mn à 20-25 °C.  
La coloration est stable 30 minutes.

## GLUCOSE

Méthode enzymatique (GOD - PAP)

### CALCUL

$$\text{Glucose} = \frac{\text{D.O Echantillon}}{\text{D.O Standard}} \times n$$

mg/dl	n = 100
g/l	n = 1
mmol/l	n = 5,56

### LINÉARITÉ

La méthode est linéaire jusqu'à 5 g/l (500 mg/dl-27,8 mmol/l).

Si la concentration en glucose est supérieure à 5 g/l, recommencer le dosage sur l'échantillon dilué au 1/2 avec une solution de NaCl à 9 g/l. Multiplier le résultat par 2.

### VALEURS USUELLES

Sérum, plasma	70 - 105 mg/dl
	0,70 - 1,05 g/l
	3,89 - 5,84 mmol/l
Liquide céphalo rachidien	50 - 70 mg/dl
	0,50 - 0,70 g/l
	2,78 - 3,89 mmol/l

### NOTES

Les substances suivantes n'interfèrent pas :  
Hémoglobine (jusqu'à 4 g/l), Bilirubine (jusqu'à 200 mg/l), créatinine (jusqu'à 100 mg/l), Galactose (jusqu'à 1 g/l) et EDTA (jusqu'à 2 g/l).

### BIBLIOGRAPHIE

- Dingem B., Ann. Biol. Clin. 33,3 (1975)
- Lott J.A. Clin. Chem. 21. 1754 (1975)
- Trinder P.n Ann. Clin. Biochem 6,24 (1969)

## Biomoghreb

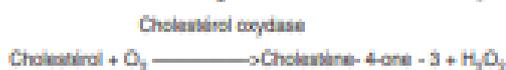
### PRESENTATION

Ref. 2011 1 (500 Tests) R1 : 2 x 125 ml R2 : 3 flacons (50 ml) R3 : 1 x 5 ml	Ref. 2011 1 (1000 Tests) R1 : 2 x 250 ml R2 : 6 flacons (50 ml) R3 : 2 x 5 ml	Ref. 2011 2 (500 Tests) R1 : 2 x 25 ml R2 : 3 flacons (50 ml) R3 : 1 x 5 ml	Ref. 2011 8 (500 Tests) R1 : 2 x 125 ml R2 : 3 flacons (50 ml) R3 : 2 x 5 ml
---	--	--	---

### PRINCIPE

Le cholestérol est mesuré après hydrolyse enzymatique puis oxydation. L'indicateur quinonimine est formé à partir du peroxyde d'hydrogène et du amino-4 antipyrine en présence de phénol et de peroxydase.

Détermination enzymatique selon les réactions suivantes :



La quantité de quinonimine formée est proportionnelle à la concentration de cholestérol.

### REACTIFS

<b>Réactif 1</b>	Pipets pH 6,9	90 mmol/l
Solution tampon	Phénol	26 mmol/l
<b>Réactif 2</b>	Cholestérol oxydase	300 U/l
	Peroxydase	1250 U/l
	Cholestérol estérase	300 U/l
	Amino-4-antipyrine	0,4 mmol/l
<b>Réactif 3</b>		200 mg/dl
Standard		2 g/l
		5,17 mmol/l

### PREPARATION ET STABILITE

Dissoudre le contenu d'un flacon de R2 avec un flacon de tampon R1.

Le réactif de travail est stable : 1 mois à 20 - 25°C  
4 mois à 2 - 8°C

### ECHANTILLONS

Sérum

Plasma recueilli sur héparine

### MODE OPERATOIRE

Longueur d'onde : .....505 nm (500 - 550)

Température : .....37°C

Cuve : .....1 cm d'épaisseur

Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif.

## CHOLESTEROL

Test enzymatic colorimétrique  
(CHOD- PAP)

	Bianc	Standard	Echantillon
Standard	--	10 µl	--
Echantillon	--	--	10 µl
Réactif de travail	1 ml	1 ml	1 ml

Mélanger, lire les densités optiques après une incubation de 5 min. à 37° C.

La coloration est stable 30 minutes.

### CALCUL

$$\text{Cholesterol} = \frac{\text{D.O. Echantillon}}{\text{D.O. Standard}} \times n$$

mg/dl : n = 200

g/l : n = 2

mmol/l : n = 5,17

### LINÉARITÉ

La méthode est linéaire jusqu'à 6 g/l (600 mg/dl - 15,4 mmol/l). Si la concentration en cholestérol est supérieure à 6 g/l, diluer l'échantillon au 1/2 avec une solution de NaCl à 9 g/l et refaire le test. Multiplier le résultat par 2.

### VALEURS USUELLES

Sérum, plasma	3,6 à 5,7 mmol/l
	1,4 à 2,2 g/l
	140 à 220 mg/dl

### BIBLIOGRAPHIE

Trinder P., Ann. Clin. Biochem. 6, 24 (1969)

Richmond, Clin. Chem. 19, 1350 (1973)

Fasce C.F., Clin. Chem. 18901 (1982)

## Biomaghreb

### PRESENTATION

Réactif 201611, (colorless)	Réactif 201612, (colorless)	Réactif 201613, (colorless)
R1 : 3 x 60 ml	R1 : 3 x 600 ml	R1 : 1 x 600 ml
R2 : 3 x 60 ml	R2 : 3 x 600 ml	R2 : 1 x 600 ml
R3 : 1 x 10 ml	R3 : 3 x 60 ml	R3 : 3 x 25 ml

### PRINCIPE

La créatinine forme en milieu alcalin un complexe coloré avec l'acide picrique. La vitesse de formation de ce complexe est proportionnelle à la concentration de créatinine.

Réactif 1	Hydroxyde de sodium	1.6 mol/l
Réactif 2	Acide picrique	17.5 mmol/l
Réactif 3	créatinine	2 mg/dl
Standard		20 mg/l 178,8 µmol/l

### PREPARATION ET STABILITE

Les réactifs sont prêts à l'emploi, stables à température ambiante jusqu'à la date indiquée sur l'étiquette.

Réactif de travail: mélanger à parts égales R1 et R2  
Stabilité : 1 mois à 20°-25°C.

### ECHANTILLONS

Sérum, plasma recueilli sur héparine

Urine diluée au 1/20 dans l'eau distillée (tenir compte de la dilution pour le calcul).

### MODE OPERATOIRE

Longueur d'onde: .....492 nm (490 - 510)

Température:.....25 - 30 ou 37 °C

Cuve:.....1 cm d'épaisseur

Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur l'air ou l'eau distillée.

	Standard	Echantillon
Standard	100 µl	--
Echantillon	--	100 µl
Réactif de travail	1 ml	1 ml

Mélanger et lire les densités optiques DO1 après 30 sec.  
Lire ensuite DO2 exactement 1 minute après.

## CREATININE

### Méthode cinétique colorimétrique sans déprotéinisation

### CALCUL

Calculer  $\Delta DO = DO2 - DO1$  pour le standard et les échantillons.

$$\text{Créatinine} = \frac{\Delta D O \text{ Echantillon}}{\Delta D O \text{ Standard}} \times n$$

mg/dl:	n = 2
mg/l:	n = 20
µmol/l:	n = 178.8

### LINEARITE

La méthode est linéaire jusqu'à 150 mg/l (15 mg/dl - 1328 µmol/l).

Si la concentration en créatinine est supérieure à 150 mg/l, diluer l'échantillon au 1/2 avec une solution de NaCl à 9 g/l et recommencer le test. Multiplier le résultat par 2.

### VALEURS USUELLES

Sérum	0.7 - 1.4 mg/dl 7-14 mg/l 61.8 - 132.8 µmol/l
Urine	15-25 mg/kg/24h

### BIBLIOGRAPHIE

Henry J.B., Clinical Diagnosis and management 17th édition, Saunders Publisher 1984.

Larsen K., Clin. Chim. Acta 66, 209 (1972).

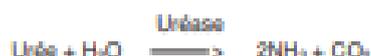
## Biomaghreb

### PRESENTATION

Réf. 20141 (200 Tests) R1 : 2 x 100 ml	Réf. 20146 (300 Tests) R1 : 1 x 300 ml	Réf. 20148 (1200 Tests) R1 : 2 x 300 ml
R2 : 2 flacons (lyophil) R3 : 1 x 5ml	R2 : 1 flacon (lyophil) R3 : 1 x 5 ml	R2 : 2 flacons (lyophil) R3 : 2 x 5 ml
R4 : 2 x 10 ml (10 x doses)	R4 : 1 x 30 ml (10 x doses)	R4 : 2 x 30 ml (10 x doses)

### PRINCIPE

L'urée est dosée en cinétique selon la réaction suivante :



Les ions ammonium, en présence de salicylate et d'hypochlorite de sodium réagissent en formant un composé de couleur verte (Dicarboxylindophenol) dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en urée.

### REACTIFS

<b>Réactif 1</b> Tampon	
<b>Réactif 2</b>	EDTA 2 mmol/l
	Salicylate de sodium 60 mmol/l
	Nitroprussiate de sodium 32 mmol/l
	Uréase 30000 UI
	Phosphate pH 6,7 60 mmol/l
<b>Réactif 3</b>	Etalon urée 0,50 g/l 8,325 mmol/l
<b>Réactif 4</b>	Hypochlorite de sodium 40 mmol/l
10 x [ ]	Hydroxyde de sodium 150 mmol/l

### PREPARATION ET STABILITE

Le réactif 4 est à compléter avec 90 ml d'eau distillée :  
Réf. 20141, 450 ml d'eau distillée Réf. 20146 ou Réf. 20148

Dissoudre le flacon R2 dans le tampon R1 : réactif A.  
Les réactifs de travail sont stables : 6 mois à 2-8°C,  
14 Jours à 20-25°C

### ECHANTILLONS

Sérum, plasma recueilli sur héparine.  
Urine diluée au 1/50 avec de l'eau distillée.

### MODE OPERATOIRE

Longueur d'onde : \_\_\_\_\_ 590 nm (578 Hg)  
Température : \_\_\_\_\_ 25-30-37°C  
Cuve : \_\_\_\_\_ 1 cm d'épaisseur  
Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif.

## UREE COLOR

Méthode Berthelot modifiée

	Blanc	Etalon	Echantillon
Etalon	-	10 µl	-
Echantillon	-	-	10 µl
Réactif de travail A	1 ml	1 ml	1 ml
Mélanger, incuber 5 min. à 37° C ou 10 min. à 20° - 25°C. Ajouter ensuite.			
Réactif 4	1 ml	1 ml	1 ml
Mélanger, incuber 5 min. à 37°C ou 10 min. à 20° - 25°C. Lire contre le blanc. Stabilité de la coloration 2 heures à l'abri de la lumière			

### CALCUL

$$\text{Urée} = \frac{\text{D.O. Echantillon}}{\text{D.O. Etalon}} \times n$$

$$\begin{aligned} \text{g/l} : & \quad n = 0,50 \\ \text{mmol/l} : & \quad n = 8,325 \end{aligned}$$

### LINEARITE

La méthode est linéaire jusqu'à 4 g/l (56,6 mmol/l)  
Dans les urines, la méthode est linéaire jusqu'à 100 g/l .

### VALEURS USUELLES

Sérum, plasma	0,15 - 0,40 g/l 2,49 - 6,66 mmol/l
Urine	20-35 g/24h

### BIBLIOGRAPHIE

Ballester, W.G., Bushaman, C.S., Tidwell, P.W., Anal. Chim. 33.59  
Berthelot, M.P.E., Report Chim. Appl. 284 (1859)  
Mac Kay, E.M., Rackeyll, J. Clin. Invest, J. Clin. Invest. 4, 295 (1927)

# Biomaghreb



## PRESENTATION

Kit 201 301, (240 Tests) R1 : 2 x 100 ml  
R2 : 8 flacons (lyophil) R2 : 1 x 4 ml  
R3 : 1 x 4 ml

Kit 201 302, (120 Tests) R1 : 4 x 30 ml  
R2 : 4 flacons (lyophil) R2 : 1 x 3 ml  
R3 : 1 x 3 ml

Kit 201 303, (200 Tests) R1 : 5 x 100 ml  
R2 : 8 flacons (lyophil) R2 : 2 x 5 ml

## PRINCIPE

Les triglycérides sont déterminés selon les réactions suivantes :

Lipoprotéine lipase  
Triglycérides  $\longrightarrow$  Glycérol + Acides gras

Glycérol + ATP  $\xrightarrow{\text{Glycérolkinase, Mg}^{++}}$  Glycérol-3-P + ADP

Glycérol-3-Phosphate oxydase  
Glycérol-3-Phosphate + O<sub>2</sub>  $\longrightarrow$  H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + Dihydroxyacétone-P

Péroxydase  
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + Amino-4-Antipyrine + chloro-4-phénol  $\longrightarrow$  Quinone rose + H<sub>2</sub>O

## REACTIFS

Réactif 1 Tampon pipes pH 7,2 50 mmol/l  
Solution tampon Chloro-4-phénol 2 mmol/l

Réactif 2 Lipoprotéine lipase 150000 UI  
enzymes Glycérolkinase 800 UI  
Glycérol 3-P-Oxydase 4000 UI  
Péroxydase 440 UI  
Amino-4-antipyrine 0,7 mmol/l  
ATP 0,3 mmol/l

Réactif 3 Standard glycérol 200 mg/dl  
Standard (en trioléine) 2 g/l  
2,28 mmol/l

## PREPARATION ET STABILITE

Dissoudre le lyophilisat R2 avec un flacon de tampon R1.  
Stabilité du réactif de travail : 1 semaine à 20-25°C  
4 semaines à 2-8°C.

## ECHANTILLONS

Sérum, plasma recueilli sur héparine.

## MODE OPERATOIRE

Longueur d'onde : 505 nm (490-550)  
Température : 37°C  
Cuve : 1 cm d'épaisseur  
Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif.

## TRIGLYCERIDES

Méthode colorimétrique enzymatique  
(GPO- PAP)

	BLanc	Standard	Echantillon
Standard	-	10 µl	-
Echantillon	-	-	10 µl
Réactif de travail	1 ml	1 ml	1ml

Mélanger et lire les DO après incubation de 5 min à 37°C ou de 10 min à 20-25°C. La coloration est stable 30 minutes.

## CALCUL

D.O. Echantillon  
Triglycérides =  $\frac{\text{D.O. Echantillon}}{\text{D.O. Standard}} \times n$

mg/dl : n = 200

g/l : n = 2

mmol/l : n = 2,28

## LINÉARITÉ

La méthode est linéaire jusqu'à 10 g/l (1000 mg/dl -11,4 mmol/l). Si la concentration est plus importante, diluer l'échantillon au 1/10 avec une solution de NaCl à 9 g/l et refaire le dosage. Multiplier le résultat par 10.

## VALEURS USUELLES

Femmes	40 - 140 mg/dl
	0,40 - 1,40 g/l
	0,46 - 1,60 mmol/l
Hommes	60 - 165 mg/dl
	0,60 - 1,65 g/l
	0,68 - 1,88 mmol/l

## NOTE

Les triglycérides sont stables dans le sérum 3 jours à 2 - 8°C

## BIBLIOGRAPHIE

Fossati P., Prencipe L, Clin. Chem. 28, 2077 (1982)  
Young D., Pestaner L, Clin. Chem., 21,5 (1975)

## Biomaghreb

### PRESENTATION

Ref. 30009 (100 Tests TGO-C)	Ref. 30041 (50 Tests TGO + 50 Tests TGP)	Ref. 30048 (100 Tests TGP)	Ref. 30049 (100 Tests TGO-C)
R1: 3 x 100 ml	R1: 1 x 50 ml	R2: 3 x 50 ml	R1: 3 x 50 ml
R2: 3 x 100 ml	R2: 1 x 50 ml	R3: 3 x 50 ml	R2: 3 x 50 ml
R3: 1 x 14 ml	R3: 1 x 100 ml	R4: 1 x 10 ml	R3: 1 x 10 ml
	R4: 1 x 10 ml		

### PRINCIPE

Détermination colorimétrique de l'activité TGO ou TGP selon les réactions suivantes :

TGO: Aspartate +  $\alpha$  céto glutarate TGO oxaloacétate+ glutamate

TGP: Alanine +  $\alpha$  céto glutarate TGP pyruvate + glutamate

Le pyruvate ou l'oxaloacétate formés sont dosés sous forme de leurs dérivés 2,4 dinitrophénylhydrazones.

### REACTIFS

<b>Réactif 1</b>		
Substrat TGO	Tampon phosphate pH 7,5 aspartate $\alpha$ céto glutarate	85 mmol/l 200 mmol/l 2 mmol/l
<b>Réactif 2</b>		
Substrat TGP	tampon phosphate pH 7,5 alanine, $\alpha$ céto glutarate.	85 mmol/l 200 mmol/l 2 mmol/l
<b>Réactif 3</b>		
Réactif de coloration	2,4 dinitrophénylhydrazine	1 mmol/l
<b>Réactif 4</b>	étalon pyruvate	

### STABILITE

Les réactifs sont stables plusieurs années à 2-8°C.

Le réactif 3 est à conserver à l'abri de la lumière

Réactif auxiliaire : Soude 0,4 N

### ECHANTILLONS

Sérum

Hémolyse gênante

### MODE OPERATOIRE

Longueur d'onde : 505 nm (490 à 520 nm)

Zéro de l'appareil : eau distillée

#### 1- Courbe d'étalonnage

Dans des tubes à essai répartir (en ml) :

N° des tubes	1	2	3	4	5
Eau distillée	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Réactif 1	1	0,9	0,8	0,7	0,6
Réactif 4	-	0,1	0,2	0,3	0,4
Réactif 3	1	1	1	1	1

Mélanger. Laisser 20 min à température ambiante.

Soude 0,4 N	10	10	10	10	10
-------------	----	----	----	----	----

Mélanger. Attendre 5 min. Photométrer

Unités TGO/ml	0	22	55	95	150
Unités TGP/ml	0	25	50	83	128

## TRANSAMINASES

### Méthode colorimétrique

Etablissement de la courbe d'étalonnage sur papier millimétré:

- en abscisse: nombre d'unités/ml
- en ordonnée: densité optique

### 2- Dosage

Pour chaque sérum, préparer les tubes suivants:

	TGO	TGP
Réactif 1	1 ml	-
Réactif 2	-	1 ml
Incuber 5 min à 37°C		
Sérum	0,2 ml	0,2 ml
Mélanger et mettre à 37°C	exactement 1 heure	exactement 30 min
Réactif 3	1 ml	1 ml
Mélanger. Laisser 20 min à température ambiante.		
Soude 0,4 N	10 ml	10 ml

Mélanger. Attendre 5 min. Photométrer dans les mêmes conditions que la courbe d'étalonnage.

### 3- Stabilité de la coloration : .....1 heure

### 4- RÉSULTATS

Déterminer à partir de la courbe d'étalonnage le nombre d'unités TGO et TGP par ml de sérum.

### LINEARITE

Pour une activité TGO > 150 unités/ml, et TGP > 125 unités/ml, refaire la détermination en diluant l'échantillon au 1/10ème dans une solution de chlorure de sodium à 9 g/l. Multiplier alors le chiffre lu sur la courbe par 10.

### VALEURS USUELLES

TGO : < 40 unités/ml

TGP : < 45 unités/ml

### BIBLIOGRAPHIE

REITMANS; FRANKELS.

Am. d. Clin. Path. 28,58 (1957).

## Biomaghreb

### PRESENTATION

Réf 20042 (50 Tests)    Réf 20043 (100 Tests)    Réf 20050 (100 Tests)    Réf 20049 (200 Tests)  
 R1 : 1 x 60 ml    R1 : 1 x 100 ml    R1 : 1 x 60 ml    R1 : 2 x 100 ml  
 R2 : 20 x 3 ml (opac)    R2 : 10 x 10 ml (opac)    R2 : 1 x 60 ml (opac)    R2 : 2 x 100 ml (opac)

### PRINCIPE

Détermination cinétique de l'activité aspartate aminotransférase.

La réaction est initiée par addition de l'échantillon du patient au réactif. Le schéma réactionnel est le suivant :



Le taux de diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité aspartate aminotransférase dans l'échantillon.

GOT: Transaminase glutamique oxaloacétique

MDH: Malate Dehydrogenase

### REACTIFS

<b>Réactif 1</b>	Tampon Tris PH 7.8 à 30°C	80 mmol/l
Solution Tampon	L- aspartate	200 mmol/l
<b>Réactif 2</b>	NADH	0.18 mmol/l
Substrat	LDH	800 UI
	MDH	600 UI
	Oxoglutarate	12 mmol/l

### PREPARATION ET STABILITE

Prendre le substrat R2 par 3 ml Réf (20042) ou 10 ml Réf (20043) de Tampon R1. Pour les Réf (20050) et (20049) reconstituer chaque R2 par un flacon R1. cette solution de travail est stable : 7 jours à 2-8°C.  
 : 24 heures à 20-25°C.

### ECHANTILLON

Sérum ou plasma hépariné sans hémolyse.

### MODE OPERATOIRE

Longueur d'onde.....340 nm  
 Température.....25-30-37°C  
 Cuve.....1 cm d'épaisseur

Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur l'air ou l'eau distillée.

Solution de travail	1 ml	3 ml
Préincuber à la température choisie (25, 30 ou 37°C)		
Echantillon	100 µl	300 µl
Mélanger et incubé 1 minute. Mesurer la diminution de la densité optique par minute pendant 1 à 3 minutes.		

## GOT-ASAT

Méthode cinétique IFCC  
 sans phosphate de pyridoxal

### CALCUL

à 340 nm     $\Delta\text{DO}/\text{min} \times 1750 = \text{UI}$

### LINEARITE

Si la  $\Delta\text{DO}/\text{min}$  à 340 nm est supérieure à 0.15, répéter le test en diluant l'échantillon au 1/10 avec une solution de NaCl à 9 g/l. Multiplier le résultat par 10.

### VALEURS USUELLES

	25°C	30°C	37°C
Femmes	Jusqu'à 16 UI	Jusqu'à 22 UI	Jusqu'à 31 UI
Hommes	Jusqu'à 19 UI	Jusqu'à 26 UI	Jusqu'à 36 UI

### REMARQUE

L'hémolyse peut interférer.

### BIBLIOGRAPHIE

Bergmeyer H, Bower and Cols. Clin. Chim Acta 70, (1976)  
 Bergmeyer H et Wahlgeld Clin. Chem 24, 58 (1978). minutes.

## Biomaghreb

### PRESENTATION

Réf. 20046, (50 Tests)	Réf. 20047, (100 Tests)	Réf. 20048, (150 Tests)	Réf. 20049, (200 Tests)
R1: 1 x 50 ml	R1: 1 x 100 ml	R1: 1 x 50 ml	R1: 2 x 100 ml
R2: 20 x 3 ml (ppph)	R2: 12 x 10 ml (ppph)	R2: 6 x 50 ml (ppph)	R2: 2 x 100 ml (ppph)

### PRINCIPE

Détermination cinétique de l'activité Alanine amino transférase

La réaction est initiée par addition de l'échantillon du patient au réactif. Le schéma réactionnel est le suivant:



Le taux de diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité alanine transférase dans l'échantillon.

GPT: Transaminase Glutamique pyruvique

LDH: Lactate Dehydrogenase

### REACTIFS

<b>Réactif 1</b>	Tampon Tris PH 7.5 à 30°C	100 mmol/l
Solution Tampon	Alanine	500 mmol/l
<b>Réactif 2</b>	NADH	0.18 mmol/l
Substrat	LDH	1200 UI/l
	Oxoglutarate	15 mmol/l

### PREPARATION ET STABILITE

Reprendre le substrat R2 par 3 ml Réf (20046) ou 10 ml Réf (20047) de Tampon R1. Pour les Réf (20048) et (20049) reconstituer chaque R2 par 1 flacon R1.

Cette solution de travail est stable 7 jours à 2-8°C.

24 heures à 20-25°C.

### ECHANTILLON

Sérum ou plasma hépariné sans hémolyse.

### MODE OPERATOIRE

Longueur d'onde.....340 nm

Température ..... 25-30-37°C

Cuve.....1 cm d'épaisseur

Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur l'air ou l'eau distillée.

## GPT-ALAT

Méthode cinétique (IFCC)  
sans phosphate de pyridoxal

solution de travail	1 ml	3 ml
Préincuber à la température choisie (25,30 ou 37 °C)		
Echantillon	100 µl	300 µl
Mélanger et incuber 1 minute. Mesurer la diminution de la densité optique par minute pendant 1 à 3 minutes.		

### CALCUL

à 340 nm  $\Delta\text{DO}/\text{min} \times 1750 = \text{UI/l}$

### LINEARITE

Si le  $\Delta\text{DO}/\text{min}$  à 340 nm est supérieure à 0,15 répéter le test en diluant l'échantillon au 1/10 avec une solution de NaCl à 9 g/l. Multiplier le resultat par 10.

### VALEURS USUELLES

	25°C	30°C	37°C
Femmes	jusqu'à 16 UI/l	Jusqu'à 22 UI/l	Jusqu'à 31 UI/l
Hommes	jusqu'à 22 UI/l	Jusqu'à 29 UI/l	Jusqu'à 40 UI/l

### REMARQUE

L'hémolyse peut interférer.

### BIBLIOGRAPHIE

Bergmeyer H. Schaiba and Walefeld. Clin. Chem. 24 58 - 73 (1978).

Bergmeyer and Horder Clin. Chem. Acta 105 147 F (1980).

**Participations Scientifiques :**

- 1<sup>er</sup> congrès International des Biotechnologies et du Développement Durable. (CIBSDD 2017). 24-25 Octobre, Boumerdes. Algérie.
- 1<sup>er</sup> séminaire international sur les plantes médicinales. (SIPM- 2018).17-18 janvier. Université d'el- Oued. Algérie.
- 1<sup>er</sup> colloque international de bio-ressources et économie bleu et verte. (BEBV 2018). 26-29 avril. Hammamet. Tunisie.
- 8<sup>ième</sup> journées nationales des sciences et de la vie. Mostaganem. Algérie : les 24-25 avril 2018.

*Publications Scientifiques:*

**Biological activity of *Aristolochia longa* L. against some pathogenic bacteria  
and phytochemical screening.**

**‘LUCRĂRIS ȘTIINȚFICE MEDICINĂ VETERINARĂ. VOL LII(3), 2019,  
TIMIȘOARA’**

## BIOLOGICAL ACTIVITY OF ARISTOLOCHIA LONGA L. AGAINST SOME PATHOGENIC BACTERIA AND PHYTOCHEMICAL SCREENING

BOUTELDJA R.<sup>1,2</sup>, DOUCENE R.<sup>3</sup>, BOUZID R.<sup>4</sup>, MOULAY M.<sup>4</sup>, AGGAD H.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Natural and Life Sciences, University IbnKhaldoun of Tiaret

<sup>2</sup>Laboratory of Hygiene and Animal Pathology, Institute of Veterinary Sciences

<sup>3</sup>Laboratory Reproduction of farm animals, Institute of Veterinary Sciences

<sup>3</sup>Faculty of nature and life science, University ChadliBenDjedid, El Tarf

<sup>4</sup>Laboratory of Agro-Biotechnology and Nutrition in Semi-Arid Area

E-mail: h\_aggad@yahoo.com

### Summary

This work aims the phytochemical study and biological activity of methanolic, ethanolic and aqueous extracts of *Aristolochia longa* L stems and leaves. Polyphenols were estimated by spectrophotometer and antioxidant activity by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl while activity against *Micrococcus luteus* ATCC 14452, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 and *Escherichia coli* ATCC 25922 was realized by disc impregnation. The rates of polyphenols (39.01mg.ml<sup>-1</sup>, 38.25 mg.ml<sup>-1</sup> and 33.78mg.ml<sup>-1</sup>) and flavonoides (21.56 mg.ml<sup>-1</sup>; 27.86 mg.ml<sup>-1</sup> and 28.22 mg.ml<sup>-1</sup>) for methanolic, ethanolic and aqueous extracts respectively. The antioxidant activity of methanolic, ethanolic and aqueous extracts was 443 µg.ml<sup>-1</sup>, 860 µg.ml<sup>-1</sup> and 998 µg.ml<sup>-1</sup> respectively.

The most significant antibacterial activity in the form of inhibition diameter was observed with methanolic extracts on *B. subtilis* (11.05 mm) and *M. luteus* (9.08 mm). Ethanolic extracts was 12.91 mm on *B. subtilis* and 10.75 mm against *M. luteus* and finally 10.93 mm on *S. aureus*.

**Keywords:** *Aristolochia longa* L., antioxidant, polyphenols, flavonoids, antibacterial

Conventional antibiotic medications are becoming unable to inhibit pathogenic bacteria that have developed resistance to these antibiotics, threatening the survival of all humanity. To palliate this growing threat, research is focusing on medicinal plants as the main resources of therapeutic agents. In addition to their use in health care by about 80% of the world's population (19), these plants are used in the pharmaceutical, cosmetic, health and nutritional industries (23). Indeed, they are sources of a variety of biologically active compounds; phenolic compounds with antioxidant biological properties and antimicrobial potential (13).

*Aristolochia longa* L. is a perennial plant with heart-shaped leaves and yellow-labeled flowers, native to central and southern Europe and widespread throughout southwest Asia. This plant is used in traditional pharmacopoeia in the Western Algerian region to treat several diseases. Its roots can inhibit breast cancer in postmenopausal women (3), and pathogenic bacteria due to their richness in bioactive compounds (4, 15).

This work involved the phytochemical study of *Aristolochia longa* L. and its biological effect including the determination of polyphenols, flavonoids and an in vitro study of antioxidant and antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* and *Micrococcus luteus* by the disc impregnation method.

## Materials and Methods

### Plant material and extracts preparation

The aerial parts (leaves and stems) of *Aristolochia longa* were collected in April 2017 in the region of Tiaret (Algeria) and the identification of the species was performed by the botany laboratory of higher national school of agronomy (Alger). They were then washed and dried in the fresh air, crushed with an electric shredder and stored at room temperature, away from humidity and light. The extracts were prepared by maceration (11), with a ratio of 5 g of powder mixed with 50 ml of the solvent (methanol, ethanol and aqueous) under continuous agitation for 24 hours at room temperature. Then the mixture was filtered on filter paper and the filtrate was evaporated and dried at 40°C.

### Phytochemical screening

- **Alkaloids:** Bouchardat test: 2 ml of an extract solution with 2 drops of Bouchardat reagent added. A positive result is revealed by a reddish brown precipitation (26).

Wagner test: The crude extract was mixed with 2 ml of the Wagner reagent. A reddish brown precipitate indicates the presence of alkaloids (1).

- **Tannins:** highlighted by adding 1 to 2 drops of 0.1% diluted ferric chloride solution ( $\text{FeCl}_3$ ) to 2 ml of each extract. A dark green color indicates the presence of catechic tannins while blue-green indicates the presence of gallic tannins (12).

- **Steroids:** The presence of steroids was detected by adding 5 ml of the extract to 5 ml of acetic anhydride to which 0.5 ml of concentrated  $\text{H}_2\text{SO}_4$  is added. The appearance of a purple coloration that turns blue and then green indicates a positive reaction (12).

- **Saponins:** introduce 10 ml of each of the extracts into a test tube. The tube is stirred for 15 S and then left to stand for 15 min. A persistent foam height greater than 1cm indicates the presence of saponosides (positive reaction) (6).

- **Terpenoid** (salkowski test): 0.2 g of dry extract is mixed with 2 ml of chloroform and then 3 ml of concentrated sulphuric acid are carefully added to form a layer. The presence of terpenoid gives a rusty coloration of the interface (16).

- **Cardiac glycosides:** 2 ml of each extract was dissolved with 2 ml of chloroform, and then 3 ml of concentrated sulfuric acid was carefully added to form a dark red to brownish layer, at the interface of the ring indicates the presence of cardiac glycosides (26).

- **Anthocyanins:** 1 ml of each extract was added to 3 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> at (10%) and 1 ml NH<sub>4</sub>OH (10%). If the coloration increases by acidification and then turns blue in a basic medium, the result was considered positive.
- **Flavonoids:** A few drops of lead acetate solution were added to 3 ml of extract. The formation of yellow precipitate indicates the presence of flavonoids (29).
- **Mucilages:** 1ml of extract was added to 5 ml of absolute ethanol. The appearance of a flaky precipitate indicates the presence of mucilage (18).

#### **Determination of polyphenols and flavonoids**

Polyphenols are determined by the Ciocalteufolin method based on electron transfer (24). 0.2 ml of different dilutions (1mg.ml<sup>-1</sup> to 0.125mg.ml<sup>-1</sup>) of the extracts was mixed with 1 ml of freshly prepared Ciocalteu foliar reagent (10%) and 0.8 ml of 7.5% sodium carbonate (Na<sub>2</sub> CO<sub>3</sub>). The mixture was incubated for 30 min at room temperature and then read against a blank at a wavelength of 765 nm (25).

For flavonoids, 0.5 ml of each extract was added to 1.5 ml of methanol (95%), 100 μl of aluminium chloride (AlCl<sub>3</sub>) at 10% (m/v) plus 100 μl of sodium acetate (1 M) and 2.8 ml of distilled water. The mixture was agitated and incubated in the dark and at ambient temperature for 30 minutes. The blank was achieved by replacing the extract with 95% methanol and the absorbance was performed at 415 nm using a spectrophotometer. The results were expressed in mg quercetin equivalent/g dry plant matter using the quercetin calibration curve (8).

#### **Antioxidant activity**

Antioxidant activity of *Aristolochia longa* extracts has been achieved by the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method described by Braca et al. (7) with some modifications: an equal volume of the different dilutions (from 0.009mg.ml<sup>-1</sup> to 5 mg.ml<sup>-1</sup>) of the methanolic, ethanolic and aqueous extracts of *Aristolochia longa* was mixed with a volume of methanolic solution of 0.004% (m/v) DPPH. Then incubation for 30 min at room temperature before reading with at λ =517 nm. Percentage of inhibition is calculated by the following equation: % Inhibition =  $\frac{A_c - A_e}{A_c} \times 100$ .

Where Ac: absorbance of the control solution which contains an equal volume of methanolic solution of DPPH and methanol, Ae: extract absorbance.

#### **Antibacterial activity**

The antibacterial power of *Aristolochia longa* plant extracts was evaluated against four referenced bacteria: *Micrococcus luteus* ATCC 14452, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 and *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 and Gram negative *Escherichia coli* ATCC 25922 by the disc impregnation method (2) at a concentration of 20mg.ml<sup>-1</sup>. The Protocol followed is the one described by (14).

## Results and discussions

### Phytochemical screening

The obtained phytochemical results revealed the presence of tannins, flavonoids, terpenoids, mucilages, alkaloids, cardiac glycosides and the absence of steroids, anthocyanins and saponins (Table 1).

Table 1

Phytochemical screening results for methanolic, ethanolic and aqueous extracts of *Aristolochia longa*

Test	Methanolic extract	Ethanolic extract	Aqueous extract
Alkaloids W	P	P	N
B	P	P	N
Tanins	P	P	N
Steroids	N	P	N
Saponins	N	N	N
Terpenoid	N	P	P
Cardiac glycosides	P	P	P
Anthocyanins	N	N	N
flavonoids	P	P	N
Mucilage	N	P	P

W: Wagner test, B: Bouchardat test, P: Positive result, N: Negative result.

These results are consistent with several studies; they state that phytochemical screening of aqueous extract of *Aristolochia longa* revealed the presence of polyphenols, flavonoids and saponins and the absence of alkaloids (3).

Other studies have shown the presence of alkaloids, glycosides, phenolic compounds, flavonoids, terpenoids and saponins in *Aristolochia longa* extracts (9).

In addition, others have published that phytochemical screening of *Aristolochia bracteata* reveals the presence of alkaloids, flavonoids, cardiac glycosides and tannins and other compounds such as carbohydrates, proteins and steroids and sterols (5, 10, 28).

### Polyphenols and flavonoids

The dosage of polyphenols in methanolic, ethanolic and aqueous extracts of *Aristolochia longa* is  $33.01 \pm 0.19$ ;  $38.25 \pm 0.33$  and  $33.78 \pm 0.38$  E AG.g<sup>-1</sup> and for flavonoids  $21.56 \pm 0.075$ ;  $27.86 \pm 0.19$  and  $28.22 \pm 0.15$  mg EQ.g<sup>-1</sup> respectively).

These results are corroborated by several studies that have demonstrated the richness of *Aristolochia longa* extracts in phenolic compounds, as is the case with the studies published by Benarba et al. (3), reveal that the aqueous extract of

*Aristolochia longa* L. roots contains polyphenols and flavonoids. In addition, other work shows that the aerial part of aqueous extract rich in polyphenols carries methanolic extract and flavonoids (15).

Secondary metabolite products that are found in many foods and have a beneficial effect on human health by protecting against various diseases such as diabetes, infections and cancer due to their antioxidant, anti-inflammatory and anticancerous effects (20, 21).

#### Antioxidant activity

Antioxidants are molecules involved in the body's protection mechanism against pathologies associated with free radical attack (22).

Screening for antioxidant activity results shows the ability of the different extracts of *Aristolochia longa* to trap free radicals in which IC 50 of 0.86 mg.ml<sup>-1</sup>, 0.44 ± 0.005mg. ml<sup>-1</sup> and 0.99 ± 0.05 mg. ml<sup>-1</sup> of ethanolic, methanolic and aqueous extracts respectively.

Solvents used for antioxidant extraction play an important role in determining the sweeping capacity of DPPH for extracts (30).

#### Antibacterial activity

The antibacterial activity of methanolic extract on *B. subtilis*, *M. luteus*, *S. aureus* (11.05 mm, 9.08 mm, 3.11 mm inhibition diameter respectively). The activity of their ethanol extracts was 12.91 mm on *B. subtilis* and 10.75 mm against *M. luteus* and finally 10.93 mm on *S. aureus* (Fig. 1).

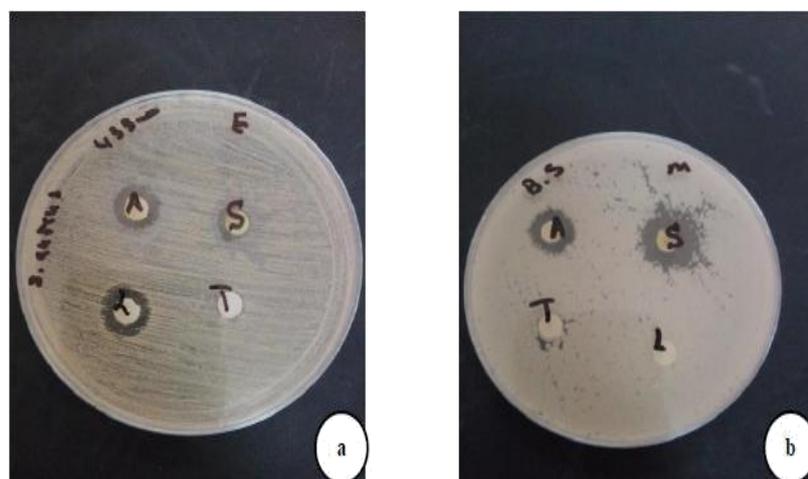


Fig. 1. (a) Antibacterial activity of *Aristolochia longa* ethanolic extract against *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, (b) Antibacterial activity of *Aristolochia longa* methanolic extract against *Bacillus subtilis* ATCC 6633

The ethanolic extract of *Aristolochia longa* had a high inhibition power against the four germs tested. This is in line with the results reported by Surendra Kumar et al. (27) on the ethanolic extract of *Aristolochia Indica*. Indeed, it has been demonstrated that the different extracts of *A. Indica* have antibacterial activity

against *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* (17).

This antibacterial activity can be explained by the richness of *Aristolochia longa* in bioactive compounds. Plants containing tannins, alkaloids, flavonoids and glycosides have a broad spectrum of antimicrobial activity (4).

In this context, studies prove the biological activity of *Aristolochia longa* extracts and their richness in bioactive compounds, demonstrating that they have good antibacterial activity against Gram positive and Gram-negative bacteria (15).

### Conclusion

The results show the richness of the various extracts of the aerial part of *Aristolochia longa* in bioactive compounds including tannins, terpenoids, mucilages, anthocyanins, alkaloids, cardiac glycosides, polyphenols and flavonoids. The latter play also a major role in antioxidant activity with the inhibition of pathogenic bacteria, which gives the possibility to use this plant as natural medication for the treatment of various diseases related to oxidative stress and indeed as effective natural antibiotics against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* and *Micrococcus luteus*.

### References

1. **Bagre, I., Bahi, C., Gnahoue, G., Djaman, A.J., Guede, G.F.**, Phytochemical composition and in vitro evaluation of the antifungal activity of extracts of morindamorindoides (baker) milne-redhead (rubiaceae) leaves on *Aspergillus fumigatus* and *Candida albicans*, Int J SciPharmaBiol, 2007, 8, 15-23.
2. **Balouiri, M., Sadiki, M., Ibensouda, S.K.**, Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review, Pharmaceut Anal, 2016, 6, 71-79.
3. **Benarba, B., Pandiella, A., Elmallah, A.**, Anticancer activity, phytochemical screening and acute toxicity evaluation of an aqueous extract of *Aristolochia longa* L., Int J Pharmaceut Phytopharmacol Res, 2016, 6, 20-26.
4. **Benarba, B., Meddah, B.**, Ethnobotanical study, antifungal activity, phytochemical screening and total phenolic content of Algerian *Aristolochia longa*, Intercult Ethnopharmacol, 2014, 3, 150-154.
5. **Bhaaskaran, C.T., Tamilselvi, S., Bharathajothi, P.**, Antibacterial Activity of *Aristolochia Bracteolata* Lam., Int J Innov ResDev, 2014, 3, 319-321.
6. **Bidie, A., N'guessanBanga, B., Yapo, A.F., N'guessan, J.D., Djaman, A.J.**, Antioxidant activities of ten medicinal plants from the Ivorian pharmacopoeia, Sci Nature, 2011, 8, 1-11.
7. **Braca, A., Sortino, C., Politi, M., Morelli, I., Mendez, J.**, Antioxidant activity of flavonoids from Licanialicaniae flora, Ethnopharmacol, 2002, 79, 379-381.

8. **Dehpour, A., Ibrahimzadeh, M.A., Seyedfazelet, N., Seyed, M.,** Antioxydant activity of the methanol extract of *Ferula assafoetida* and its essential oil composition, *Grasas Aceites*, 2009, 60, 405-412.
9. **Derouiche, S., Zeghib, K., Gharbi, S., Khelef, Y.,** Beneficial Effects of *Aristolochia Longa* and *Aquilaria Malaccensis* on lead-induced hematological alterations and heart oxidative stress in rats, *Chem Pharmaceut Res*, 2018, 10, 8-15.
10. **Chawla, P., Chawla, A., Shah, G., Baghel, U.S., Dhawan, R.K.,** A Review On Pharmacognosy And Biological Activities Of *Aristolochia*, *Asian J Res Biol Pharmaceut Sci*, 2013, 1, 101-110.
11. **Ghezalbash, Gh.R., Parishani, M.R., Fouani, M.H.,** Antimicrobial activity of *Salvia officinalis* acetone extract against pathogenic isolates, *Herb Drugs*, 2015, 5, 215-218.
12. **Harborne, J.B.,** Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plants analysis, Third Ed. Chapman and Hall Publishers, London, 1998.
13. **Kaneria, M., Kanari, B., Chanda, S.,** Assessment of effect of hydroalcoholic and decoction methods on extraction of antioxidants from selected Indian medicinal plants, *Asian Pac J Trop*, 2,2012, 195-202.
14. **Mazari, K., Bendimerad, N., Benkhechi, Ch., Fernandez, X.,** Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* L and *Cupressus sempervirens*, *Med Plant Res*, 2010, 4, 959-964.
15. **Merouani, N., Belhattabe, F.R., Sahli, F.,** Evaluation of the biological activity of *Aristolochia longa* L. Extracts, *Int J Pharmaceut Sci Res*, 2017, 8, 1978-1992.
16. **Mujeeb, F., Bajpai, P., Pathak, N.,** Phytochemical Evaluation, Antimicrobial Activity, and Determination of Bioactive Components from Leaves of *Aeglemarmelos*, *Biomed Res Int*, 2014, 11.
17. **Murugan, M., Mohan, V.R.,** Efficacy of different solvent extracts of *Vitex trifolia* L. and *Aristolochia indica* L. for potential antibacterial activity, *Sci Res Repot*, 2012, 2, 110-114.
18. **Noudogbessi, J.P.A., Natta, K.A., Tchobo, F.P., Bogninou, G.S., Bothon, F.T.D., Bossou, A.D., Figueredo, G., Chalard, P., Chalchat, J.C., Sohounhloué, D.C.K.,** Phytochemical Screening of pentadesmabutyraceasabine (clusiaceae) acclimated in Benin by GC/MS, *ISRN Anal Chem*, 2013, 1-8.
19. **Oliveira, S.G., Moura, F.R., Demarco, F.F., Nascente, P.D.A.S., Pino, F.A., Lund, R.G.,** An ethnomedicinal survey on phytotherapy with professionals and patients from basic care units in the Brazilian Unified Health System, *J Ethnopharmacol*, 2012, 40, 428-37.
20. **Panche, N., Diwan, A.D., Chandra, S.R.,** Flavonoids: an overview. *NutrSci*, 2016, 5, 1-15.
21. **Pandey, K.B., Rizvi, S.I.,** Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease, *Oxid MedCell Longev*, 2009, 2,270-278.