



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mohamed El Bachir El Ibrahimy Bordj Bou Arreridj
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la
Terre et de l'Univers
Département des Sciences Biologiques
Laboratoire Caractérisation et Valorisation des Ressources Naturelles



Thèse

En vue de l'obtention du Diplôme de Doctorat
Domaine S.N.V.
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie

INTITULE

**Etude phytochimique et détermination *in vitro* et *in vivo* des activités
biologiques des huiles essentielles et des extraits méthanoliques de
Lavandula stoechas L. et *Mentha pulegium* L.**

Présentée par: BAALI Faiza

Soutenue le 10/06/2021

Devant le Jury :

Président	M. BENTABET Abdelouahab	Professeur	Université de Bordj Bou Arreridj
Directeur de thèse	Mme. BOUMERFEG Sabah	Professeur	Université de Bordj Bou Arreridj
Co-directeur de thèse	Mme. BOUDJELAL Amel	Professeur	Université de M'sila
Examineur 1	M. BELIK Yuva	MCA	Université de Bordj Bou Arreridj
Examineur 2	M. ARRAR Lekhmici	Professeur	Université Fahat Abbas Sétif 1
Examineur 3	Mme. SAFFIDINE Karima	MCA	Université Fahat Abbas Sétif 1
Invité	M. BAGHIANI Abderrahmane	Professeur	Université Fahat Abbas Sétif 1

Année Universitaire 2020/2021

DEDICACES

Je dédie le fruit de ce travail s'il a une récompense chez ALLAH à toutes les personnes qui ont une place particulière pour moi :

La lumière de ma vie, **ma mère** pour son encouragement et sacrifices que le Dieu me la garde et la protège.

Mon père « que Dieu l'accueille en son vaste paradis In chaallah »

Mes sœurs et frères pour leur soutien permanent,

A toute ma famille, surtout **mes nièces** : Amira, Amani, Fatima, Ammar, Haithem, Houcem, Mouataz, Achraf, Aïmed, Rihem.

A mon cher neveu **WAIL** « que Dieu l'accueille en son vaste paradis In chaallah »

A mon cher petit Sami LAIFA

A **mes amis** qui ont suivi vraiment de très près ces quelques années de ma vie, surtout : LAHOUAOU Amel, RIGHI Nadjat, CHABANE Sarra, GHEDJEMIS Amina, ZAID Youssra, ABADA Amel, DADACHE Bouthaina.

A ma chère amie et collègue BELKASMI Farida, de m'avoir soutenue et accompagnée aux moments les plus durs.

A mes collègues et mes amies les doctorantes pour les sympathiques moments qu'on a passé ensemble : DEHIRI Mounira, ALIANE Wahiba, BELABED Imen, BAKHOUCHE Imen, CHADI Sara.

A toutes les personnes que je connais et que je n'ai pas citées.

A ceux que j'**aime** et qui **m'aiment**.

Faiza

Remerciements

Avant toute chose, je remercie ALLAH, le tout puissant, pour m'avoir donné la force et la patience.

Ce travail a été réalisé au Laboratoire caractérisation et valorisation des ressources naturelles, université Bordj Bou Arreridj, laboratoire de biochimie appliquée, université Setif 1 et laboratoire de l'université de M'sila. Il n'aurait pu être mené à bien sans l'aide, la patience et le soutien de nombreuses personnes auxquelles j'aimerais adresser tous mes remerciements.

J'exprime d'abord mes profonds remerciements et ma vive connaissance à Pr. BOUMERFEG Sabah, pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'elle m'a accordé qui m'ont permis de réaliser ce travail.

J'exprime ma profonde gratitude à Pr. BOUDJELAL Amel, mon co-encadreur, pour sa disponibilité tout au long de ce travail pour m'avoir guidé dans ce travail, pour ses conseils, ses orientations, et sa patience.

J'exprime mes vifs remerciements à Pr. BENTABET Abdeelhahab pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider le jury

Je remercie également Dr. BELIK Yuva de l'Université de Bordj Bou Arreridj et Pr. ARRAR Lekhmici ainsi que Dr. SAFFIDINE Karima de l'Université Sétif 1, qui m'ont fait l'honneur d'accepter de juger et évaluer ce travail.

Je tiens à remercier Pr. BAGHIANI Abderrahmane de l'Université Sétif 1, pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire et pour sa disponibilité cordiale et ses précieux conseils.

Je voudrais adresser aussi mes vifs remerciements à Pr. RUBERTO Giuseppe de l'Institut de Chimie Biomoléculaire de Catania (ICB Catania /Italie) et à Pr. TROMBETTA Domenico de l'université de Messina (Italie) pour leur soutien et pour le temps qu'ils ont consacré à l'identification phytochimique des différents extraits étudiés.

Je tiens à remercier sincèrement RIGHI Nadjat et son marié DEGHIMA Amirouche pour leurs aides, leur disponibilité, leurs contributions lors de la réalisation de ce travail.

Je remercie Dr. BENBACHA Faycel pour leur aide précieuse dans la réalisation et l'interprétation des coupes histologiques.

Je remercie infiniment Mr SEGHIRI kamel responsable des laboratoires de l'université de M'sila. Mes sincères remerciements vont également à tout le personnel de son laboratoire pour leurs aides.

Que toute personne ayant participé de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail, trouve ici l'expression de mes très vifs remerciements.

ملخص

يهدف هذا العمل إلى دراسة التركيب الكيميائي للزيوت الأساسية ومستخلصات الميثانول للنبتين الطبيتين *M. pulegium* و *L. stoechas* المعروفتين باسم الفليو و الخزامة، اللتان تستخدمان بشكل واسع في الطب الشعبي الجزائري وكذا تقييم سميتهما و دراسة النشاطية البيولوجية ، منها النشاطية المضادة للأكسدة مخبريا وفي الجسم الحي و النشاطية المضادة للبكتيريا وقدرتهما على شفاء الجروح. أظهر التحليل بواسطة GC/FID و GC/MS أن المركبات الأساسية Fenchone (50.29%)، Camphre (14.02%)، Acétate de bornyle (5.60%) هي المكونات الأساسية للزيوت الأساسية للخزامة أما المركبين الغالبين في تركيب الزيوت الأساسية للفليو هما Pulegone (81.04%) و Pipériténone (13.60%). كشف التقدير الكمي والتحليل الكروماتوغرافي لمحتوى المستخلصين من عديدات الفينول، الفلافونيدات، الفلافون و الفلافونول، الدباغ غنى المستخلصين بالمركبات الفينولية، وتميزها بوجود الفلافونيدات بشكل رئيسي من نوع الفلافون والفلافونول وهيمنة الاحماض الفولية خاصة حمض الروزمارينيك. بينت دراسة النشاطية المضادة للأكسدة مخبريا باستعمال العديد من الاختبارات مثل TAC، DPPH، ABTS، FRAP، ORAC، استخلاص الحديد و β -carotene أن مستخلصي الميثانول للنبتين يملكان نشاطية مضادة للأكسدة عالية، من جهة اخرى لوحظ ان مستخلص الميثانول للفليو يملك أعلى تأثير مضاد للانحلال ($IC_{50} = 21.41 \pm 0.49$ ميكروغرام/مل). كما أشارت نتائج دراسة النشاط المضاد للبكتيريا للزيوت الأساسية للخزامة و الفليو تملكان نشاطية مضادة للبكتيريا بالنسبة لجميع السلالات التي تم اختبارها خاصة منها *S. aureus* ($CMI = 0.78 - 0.15$ مل/مغ) و *B. subtilis* ($CMI = 0.10 - 0.30$ مل/مغ) بينما كانت مستخلصات الميثانول نشطة فقط ضد البكتيريا موجبة الجرام. أظهر تقييم السمية الحادة في الجسم الحي أن الجرعة المميئة DL_{50} أكبر من 2000 مغ/كغ بالنسبة لمستخلصي الميثانول للنبتين و الزيوت الأساسية للخزامة، بينما كانت DL_{50} للزيوت الأساسية للفليو أكبر من 300 ملغ/كغ. في حين لم تظهر دراسة السمية شبه الحادة للمستخلصين بجرعات مختلفة اي علامات للسمية أو تغيير في المعطيات البيوكيميائية، باستثناء بعض تغيرات في أنسجة الكبد سببها الجرعات 400 و 800 مغ/كغ. أدت المعالجة بمستخلصات الميثانول للنبتين (200 و 400 و 800 مغ/كغ) إلى زيادة ملحوظة في مستويات الكاتالاز و الغلوتاتيون وإنخفاض في مستوى اكسدة الدهون MDA في الكبد، مع زيادة في القدرة المضادة للأكسدة للبلازما، مما يعكس القدرة المضادة للأكسدة لمستخلصات الميثانول للنبتين في الجسم الحي. كما اعتمدنا في هذه الدراسة أيضًا على تقييم نشاطية الشفاء لمستخلصات كلتا النبتتين باستعمالها كمراهم طبيعية لعلاج الجروح، حيث أظهر استخدام مراهم مستخلص الميثانول 5% و 10% و مرهم الزيوت الأساسية 10% للخزامة نشاط شفائي لالتئام الجروح (93.1%، 97.19% و 90.43% على التوالي) أعلى من ذلك الخاص بكريم الشفاء التجاري (84.52% (Cicatryl®)). من خلال ما سبق نستنتج أن كل من الخزامة و الفليو تملكان قدرة مضادة للأكسدة جد عالية سواء مخبريا أو في الجسم الحي ونشاطية مضادة للبكتيريا و قدرة على التئام الجروح و التي تدعم استخدام هذه النباتات في الطب التقليدي.

الكلمات المفاتيح: *M. pulegium*، *L. stoechas*، الكيمياء النباتية، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للبكتيريا، سمية حادة، سمية فوق الحادة و نشاط إلتئام الجروح.

Résumé

L.stoechas et *M.pulegium* connus sous le nom de Khûzama et fliyou, respectivement, sont des plantes médicinales largement utilisées dans la médecine traditionnelle Algérienne. La présente étude vise à étudier la composition phytochimique des huiles essentielles (HE) et des extraits méthanoliques (EMs), et à évaluer leurs toxicités et certaines activités biologiques (antioxydant *in vitro* et *in vivo*, antibactérienne et cicatrisante). L'analyse GC/FID et GC/MS a montré que la fenchone (50.29%), le camphre (14.02%), l'acétate de bornyle (5.60%) sont les principaux composés des HE de *L. stoechas*, tandis que les HE de *M. pulegium* sont dominées par la pulegone (81.04%) et pipériténone (13.60%). L'évaluation quantitative et l'analyse chromatographique (RP-LC-DAD-ESI-MS/MS) des EMs en polyphénols totaux, en flavonoïdes, en flavones en flavonols et en tanins totaux, ont révélé, la richesse des EMs en composés phénoliques, de plus ils étaient marqués par la présence des flavonoïdes, principalement des flavones et des flavanols. Des acides phénoliques ont été également identifiés, avec la dominance de l'acide rosmarinique. L'évaluation de l'activité antioxydante à l'aide de plusieurs tests *in vitro* (TAC, DPPH, ABTS, FRAP, ORAC, Chelation du fer et β -carotène) a montré que les EMs des plantes étudiées avaient un pouvoir antioxydant élevé. L'effet anti-hémolytique le plus élevé a été observé chez l'EM de *M. pulegium* ($IC_{50}=21.41\pm 0.49$ $\mu\text{g/mL}$). Les HE de *L. stoechas* et *M. pulegium* ont montré une bonne activité antibactérienne contre toutes les souches testées, en particulier *S.aureus* (CMI=0.78-0.15 mg/mL) et *B.subtilis* (CMI=0.10- 0.30 mg/mL), alors que les EMs étaient actifs seulement contre les bactéries Gram-positives. L'évaluation de la toxicité aiguë *in vivo* a révélé une DL_{50} supérieure à 2000 mg/kg pour les HE de *L. stoechas* et les EMs de deux plantes, alors que la DL_{50} des HE de *M. pulegium* était supérieure à 300 mg/kg. L'étude de toxicité subaiguë des EMs à différentes doses n'a provoqué aucun signe de toxicité ou d'altération des paramètres biochimiques, à l'exception de certaines altérations des tissus hépatiques aux doses 400 et 800 mg/kg. L'administration des EMs (200, 400 et 800 mg/kg) a augmenté de manière significative les niveaux de CAT et de GSH et a diminué le niveau de MDA dans le foie, une augmentation de la capacité antioxydante plasmatique a été observée, ce qui reflètent la capacité antioxydante *in vivo* des EMs des deux plantes. Notre étude a porté aussi sur l'évaluation de l'activité cicatrisante des HE et des EMs des plantes pour le traitement des plaies. Le pouvoir cicatrisant des onguents naturels à base d'EM à 5% et 10% et des onguents à base d'HE à 5% de *L. stoechas* est supérieur (93.1%, 97.19% et 90.43% respectivement) de celui de la crème cicatrisante commerciale (84.52%) (Cicatryl®). En conclusion, *L. stoechas* et *M. pulegium* ont des effets antioxydants puissants à la fois *in vitro* et *in vivo*, des effets antimicrobiens et cicatrisants qui soutiennent leurs utilisation en médecine traditionnelle.

Mots clés : *L. stoechas*, *M. pulegium*, phytochimie, activité antioxydante, activité antibactérienne, toxicité aiguë, toxicité subaiguë et activité cicatrisante.

Abstract

L. stoechas and *M. pulegium* known as Khûzama and fliyou, respectively, are medicinal plants widely used in traditional Algerian medicine. The present study aims to investigate the phytochemical composition of essential oils (HE) and methanolic extracts (EMs), and to evaluate their toxicity and certain biological activities (antioxidant *in vitro* and *in vivo*, antibacterial and healing activity). GC/FID and GC/MS analysis showed that fenchone (50.29%), camphor (14.02%), bornyl acetate (5.60%) are the main compounds of HE *L. stoechas*, while the HE of *M. pulegium* are dominated by pulegone (81.04%) and piperite (13.60%). Quantitative evaluation and chromatographic analysis (RP-LC-DAD-ESI-MS / MS) of EMs contents in total polyphenols, flavonoids, flavones, flavonols, total tannins, revealed the richness of the extract in these phenolic compounds and the presence of flavonoids, mainly flavones and flavanols. Phenolic acids have also been identified, with the dominance of rosmarinic acid. Evaluation of the antioxidant activity using several *in vitro* assays such as TAC, DPPH, ABTS, FRAP, ORAC, Chelation of iron and β -carotene/linoleic acid showed that the EMs of both plants studied had a powerful antioxidant activity. The highest antihemolytic effect was observed for EM of *M. pulegium* with $IC_{50} = 21.41 \pm 0.49 \mu\text{g/mL}$. HE of *L. stoechas* and *M. pulegium* showed a good antibacterial effect against all tested strains, in particular *S. aureus* (MIC=0.78-0.15 mg/mL) and *B. subtilis* (MIC=0.10-0.30 mg/mL), while EMs were only active against Gram-positive bacteria. *In vivo* acute toxicity assessment revealed an LD_{50} greater than 2000 mg/kg for *L. stoechas* HE and ME of both plants, while the LD_{50} of *M. pulegium* HE was greater than 300 mg/kg. Subacute toxicity study of EMs at different doses did not cause any sign of toxicity or alteration of biochemical parameters, with the exception of certain alterations in hepatic tissues at 400 and 800 mg/kg doses. Administration of EMs (200, 400 and 800 mg/kg) increased the levels of CAT and GSH and decreased the level of MDA in the liver, an increase in plasma antioxidant capacity was observed, this reflect the antioxidant capacity *in vivo* of EMs of both plants. Our study also focused on the evaluation of the healing activity of EMs and HE for the treatment of wounds. Using 5% and 10% EM, and 5% HE from *L. stoechas* natural ointments leads to a powerful healing (93.1%, 97.19% and 90.43%, respectively) greater than that of commercial healing cream (84.52%) (Cicatryl®). In conclusion, *L. stoechas* and *M. pulegium* have potent antioxidant effects both *in vitro* and *in vivo*, antimicrobial and healing effects which support their use in traditional medicine.

Key words: *L. stoechas*, *M. pulegium*, Phytochemistry, Antioxidant activity, Antibacterial activity, Acute Toxicity, Subacute Toxicity and healing activity.

LISTE DES ABREVIATIONS

AA	Activité antioxydante
AAPH	2,2'-azo-bis (2-amidinopropane) HCl
ABTS	2,2'-azynobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique)
AINS	Anti-inflammatoires non stéroïdiens
AIS	Anti-inflammatoires stéroïdiens
AlCl₃	Aluminium chloride
ATCC	American type culture collection
BHT	Butylated hydroxytoluene
CAP	Capacité antioxydant plasmatique
CAT	Capacité antioxydante totale
CAT	Catalase
CIC	Cicatryl
CMI	Concentration minimale inhibitrices
COX	Cyclooxygénase
CPG	Chromatographie en phase gazeuse
DAD	Diode array detector
D1	Dose 1 (200mg/kg)
D2	Dose 2 (400mg/kg)
D3	Dose 3 (800mg/kg)
DMSO	Diméthyl Sulfoxide
DPPH	2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl
DTNB	5,5 0- dithiobis-(2-nitrobenzoic acid)
EAA	Equivalent d'acide ascorbique
EAG	Equivalent d'acide gallique
EAT	Equivalent d'acide Tannique
EX LS	Extrait méthanolique <i>Lavandula stoechas</i>
EX MP	Extrait méthanolique <i>Mentha pulegium</i>
EC₅₀	Concentration effective
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
EQ ou R	Equivalent de quercétine ou la rutine
ERO	Espèces Réactives de l'Oxygène

EX	Extrait
FID	Flame Ionisation Detector
GSH	Glutathion réduit
HE	Huile Essentielle
IC₅₀	Concentration inhibitrice de 50 %
MDA	Malondialdéhyde
MH	Gélose Mueller Hinton
MHB	Bouillon Mueller Hinton
MPO	Myéloperoxydase
OEM	Onguent Extrait Méthanolique
OHE	Onguent Huile Essentielle
OMS	Organisation mondiale de la santé
ORAC	Oxygen radical absorbance capacity
PAL	Phosphatase alcaline
RL	Radical libre
RNS	Reactive nitrogene species
SM	Spectrophotomètre de masse
TBA	Thiobarbituric acid
TCA	Trichloroacetic acid
TGO	Transaminase glutamate oxoloacétate
TGP	Transaminase glutamate pyruvate
XO	Xanthine oxydase

LISTE DES FIGURES

Figure 01 : Sources endogènes des espèces réactives oxygénées.....	6
Figure 02 : Les principales étapes de la réaction inflammatoire.....	15
Figure 03 : Classes des polyphénols.....	18
Figure 04 : Principaux acides hydroxycinnamiques.....	19
Figure 05 : Principaux acides hydroxybenzoïques.....	19
Figure 06 : Structures chimiques des tanins.....	21
Figure 07 : Mécanisme de piégeage d'un radical par les flavonoïdes.....	23
Figure 08 : Sites de chélation des ions métalliques par les flavonoïdes.....	24
Figure 09 : Structure de la molécule d'isoprène.....	28
Figure 10 : Aspect morphologique de <i>M. pulegium</i> L.....	32
Figure 11 : Aspect morphologique de <i>L. stoechas</i> L.....	34
Figure 12 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	39
Figure 13 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	40
Figure 14 : Courbe d'étalonnage de la rutine.....	41
Figure 15 : Courbe d'étalonnage de l'acide tanique.....	42
Figure 16 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.....	43
Figure 17 : Les différentes étapes de l'excision.....	55
Figure 18 : Profils chromatographiques des huiles essentielles par CPG/SM	59
Figure 19 : Chromatogramme de l'extrait méthanolique de <i>L. stoechas</i> par RP-LC-DAD-ESI-MS/MS.....	69
Figure 20 : Chromatogramme de l'extrait méthanolique de <i>M. pulegium</i> par RP-LC-DAD-ESI-MS/MS.....	70
Figure 21 : Histogramme comparatif de la capacité antioxydante totale, des huiles essentielles de <i>L. stoechas</i> (HE LS), <i>M. pulegium</i> (HE MP), des extraits méthanoliques de <i>L. stoechas</i> (EX LS), <i>M. pulegium</i> (EX MP) et le standard (BHT).....	72
Figure 22 : Activité anti-radicalaire du DPPH des huiles essentielles de <i>L. stoechas</i> (HE LS), <i>M. pulegium</i> (HE MP), des extraits méthanoliques de <i>L. stoechas</i> (EX LS), <i>M. pulegium</i> (EX MP) et du BHT.....	74
Figure 23 : Activité antiradicalaire des huiles essentielles de <i>L. stoechas</i> (HE LS), <i>M. pulegium</i> (HE MP), des extraits méthanoliques de <i>L. stoechas</i> (EX LS) et <i>M. pulegium</i> (EX MP) et de Trolox vis à vis du radical ABTS.	76
Figure 24 : Cinétique d'inhibition de blanchissement de β -carotène par les huiles	

essentielles de <i>L. stoechas</i> (HE LS), <i>M. pulegium</i> (HE MP), des extraits méthanoliques de <i>L. stoechas</i> (EX LS), <i>M. pulegium</i> (EX MP) et l'antioxydant de référence BHT.....	78
Figure 25 : Activité antioxydante en présence des huiles essentielles de <i>L. stoechas</i> (HE LS), <i>M. pulegium</i> (HE MP), des extraits méthanoliques de <i>L. stoechas</i> (EX LS), <i>M. pulegium</i> (EX MP) et du BHT par le test de β -carotène / acide linoléique.....	79
Figure 26 : Pouvoir réducteur à 700 nm des huiles essentielles de <i>L. stoechas</i> (HE LS), <i>M. pulegium</i> (HE MP), des extraits méthanoliques de <i>L. stoechas</i> (EX LS), <i>M. pulegium</i> (EX MP) et de l'acide ascorbique.....	80
Figure 27 : Pouvoir chélateur des extraits méthanoliques de <i>L. stoechas</i> (EX LS), <i>M. pulegium</i> (EX MP) et l'EDTA vis-à-vis du Fer ferreux.	81
Figure 28 : Pourcentage d'hémolyse des érythrocytes induite par l'AAPH en présence des extraits méthanoliques de <i>L. stoechas</i> (EX LS), de <i>M. pulegium</i> (EX MP) et de l'acide ascorbique	83
Figure 29. Evolution du poids corporel des souris témoins, traitées par les huiles essentielles de <i>L. stoechas</i> (HE LS), <i>M. pulegium</i> (HE MP), des extraits méthanoliques de <i>L. stoechas</i> (EX LS) et <i>M. pulegium</i> (EX MP).....	89
Figure 30 : Comparaison du gain de poids entre souris témoins, traitées par les huiles essentielles de <i>L. stoechas</i> (HE LS), <i>M. pulegium</i> (HE MP), des extraits méthanoliques de <i>L. stoechas</i> (EX LS) et <i>M. pulegium</i> (EX MP).....	89
Figure 31 : Variation des paramètres biochimiques des souris témoins, traitées par les huiles essentielles de <i>L. stoechas</i> (HE LS), <i>M. pulegium</i> (HE MP), des extraits méthanoliques de <i>L. stoechas</i> (EX LS) et <i>M. pulegium</i> (EX MP).	91
Figure 32 : Figure 32 : Coupes histologique du parenchyme hépatique des souris témoins; traitées par les huiles essentielles et par les extraits méthanoliques de <i>L. stoechas</i> et de <i>M. pulegium</i>	92
Figure 33 : Coupes histologique du parenchyme rénal des souris témoins; traitées par les huiles essentielles et par les extraits méthanoliques de <i>L. stoechas</i> et de <i>M. pulegium</i>	93
Figure 34 : Evolution du poids corporel des souris témoins (T), traitées à l'extrait de <i>L. stoechas</i> (EX LS), traité à l'extrait de <i>M. pulegium</i> (EX MP) aux dose D1, D2 et D3 (200, 400 et 800 mg/kg) et de Vit C	94
Figure 35 : Comparaison du gain de poids entre souris témoins (T), traitées à l'extrait de <i>L. stoechas</i> (EX LS), traité à l'extrait de <i>M. pulegium</i> (EX MP) aux dose D1, D2 et D3 (200, 400 et 800 mg/kg) et de Vit C.....	95
Figure 36 : Coupes histologique du parenchyme hépatique des souris témoins; traités à	

vitamine C, traités à l'extrait méthanolique de <i>L. stoechas</i> et à l'extrait méthanolique de <i>M. pulegium</i> aux doses 200, 400, 800 mg/kg	97
Figure 37: Coupes histologique du parenchyme rénal des souris témoins; traités à vitamine C, traités à l'extrait méthanolique de <i>L. stoechas</i> et à l'extrait méthanolique de <i>M. pulegium</i> aux doses 200, 400, 800 mg/kg.....	98
Figure 38 : Evolution du poids corporel des rats non traités (NT), traitées par Cicatryl (CIC), vaseline (VAS), les onguants des extraits méthanoliques (OEML 5 et 10%) et par les onguants des huiles essentielles (OHEL 5 et 10%) de <i>L. stoechas</i>	103
Figure 39 : Evolution du poids corporel des rats non traités (NT), traitées par Cicatryl (CIC), vaseline (VAS), les onguants des extraits méthanoliques (OEMM 5 et 10%) et par les onguants des huiles essentielles (OHEM 5 et 10%) de <i>M. pulegium</i>	104
Figure 40 : Chronologie de la cicatrisation des plaies d'excision chez le groupe non traités (NT), traitées par Cicatryl (CIC), vaseline (VAS), les onguants des extraits méthanoliques (OEML 5 et 10%) et par les onguants des huiles essentielles (OHEL 5 et 10%) de <i>L. stoechas</i>	105
Figure 41 : Chronologie de la cicatrisation des plaies d'excision chez le groupe non traités (NT), traitées par Cicatryl (CIC), vaseline (VAS), les onguants des extraits méthanoliques (OEMM 5 et 10%) et par les onguants des huiles essentielles (OHEM 5 et 10%) de <i>M. pulegium</i>	106
Figure 42 : Coupe histologique de peau des rats non traité (NT), traités par vaseline (VAS) et Cicatryl (CIC).....	110
Figure 43 : Coupe histologique de la peau des rats traités par les onguents des extraits méthanoliques 5 et 10% (OEML 5 et 10%) et traités par les onguents des huiles esntielles (OHEL 5 et 10%) de <i>L. stoechas</i>	110
Figure 44 : Coupe histologique de la peau des rats traités par les onguents des extraits méthanoliques 5 et 10% (OEMM 5 et 10%) et traités par les onguents des huiles esntielles (OHEM 5 et 10%) de <i>M. pulegium</i>	111

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 : Les principales espèces oxygénées réactives générées dans les systèmes biologiques.....	4
Tableau 02 : Principaux pathologies des radicaux libres.....	10
Tableau 03 : Plantes médicinales utilisées en Algérie dans le traitement des maladies inflammatoires humaines.....	17
Tableau 04 : Principales classes des flavonoïdes.....	20
Tableau 05 : Echelle de sensibilité des germes.....	49
Tableau 06 : Répartition et doses gavées pour chaque groupe.....	52
Tableau 07 : Différents groupes et leurs traitements.....	56
Tableau 08 : Composition chimique des huiles essentielles <i>L. stoechas</i> et de <i>M. pulegium</i>	60
Tableau 09 : Identification des composés de l'extrait méthanolique de <i>L. stoechas</i> par RP-LC-DAD-ESI-MS/MS	69
Tableau 10 : Identification des composés de l'extrait méthanolique de <i>M. pulegium</i> par RP-LC-DAD-ESI-MS/MS	71
Tableau 11 : IC ₅₀ de l'activité antiradicalaire des huiles essentielles de <i>L. stoechas</i> (HE LS), <i>M. pulegium</i> (HE MP), des extraits méthanoliques de <i>L. stoechas</i> (EX LS), <i>M. pulegium</i> (EX MP) et du BHT vis-à-vis du radical DPPH	74
Tableau 12 : IC ₅₀ l'activité antiradicalaire des huiles essentielles de <i>L. stoechas</i> (HE LS), <i>M. pulegium</i> (HE MP), des extraits méthanoliques de <i>L. stoechas</i> (EX LS), <i>M. pulegium</i> (EX MP) et de Trolox vis-à-vis du radical ABTS	77
Tableau 13 : EC ₅₀ du pouvoir réducteur des huiles essentielles de <i>L. stoechas</i> (HE LS), <i>M. pulegium</i> (HE MP), des extraits méthanoliques de <i>L. stoechas</i> (EX LS), <i>M. pulegium</i> (EX MP) et d'acide ascorbique.....	80
Tableau 14 : Capacité d'absorption du radical d'oxygène (IC ₅₀) des huiles essentielles de <i>L. stoechas</i> (HE LS), <i>M. pulegium</i> (HE MP), des extraits méthanoliques de <i>L. stoechas</i> (EX LS), <i>M. pulegium</i> (EX MP) et de Trolox.....	82
Tableau 15 : EC ₅₀ de l'activité anti-hémolytique des huiles essentielles de <i>L. stoechas</i> (HE LS), <i>M. pulegium</i> (HE MP), des extraits méthanoliques de <i>L. stoechas</i> (EX LS), <i>M. pulegium</i> (EX MP) et d'acide ascorbique.....	84
Tableau 16 : Diamètre (mm) des zones d'inhibition des huiles essentielles de <i>L. stoechas</i> (HE LS), <i>M. pulegium</i> (HE MP), des extraits méthanoliques de <i>L. stoechas</i> (EX LS), <i>M. pulegium</i> (EX MP) et la Gentamicine	

.....	85
Tableau 17 : CMI des extraits des huiles essentielles de <i>L. stoechas</i> (HE LS), <i>M. pulegium</i> (HE MP), des extraits méthanoliques de <i>L. stoechas</i> (EX LS), <i>M. pulegium</i> (EX MP).....	86
Tableau 18 : Poids relatif des organes (g/kg) des souris témoins, traitées par les huiles essentielles de <i>L. stoechas</i> (HE LS), <i>M. pulegium</i> (HE MP), des extraits méthanoliques de <i>L. stoechas</i> (EX LS) et <i>M. pulegium</i> (EX MP).....	90
Tableau 19 : Poids relatif des organes (g/kg) des souris témoins, traitées à l'extrait méthanolique de <i>L. stoechas</i> , <i>M. pulegium</i> aux doses 200, 400, 800 mg/kg pc et traitées avec le Vit C.....	95
Tableau 20 : Variation des paramètres biochimiques des souris témoins, traitées à l'extrait méthanolique de <i>L. stoechas</i> aux doses 200, 400, 800 mg/kg pc et traitées avec Vit C	96
Tableau 21 : Variation des paramètres biochimiques des souris témoins, traitées à l'extrait méthanolique de <i>M. pulegium</i> aux doses 200, 400, 800 mg/kg pc et traitées avec Vit C.....	96
Tableau 22 : Capacité anti-oxydante plasmatique de groupe témoins, des groupes traités par extraits méthanolique de <i>L. stoechas</i> et de <i>M. pulegium</i> aux doses 200, 400, 800 mg/kg pc et de groupe traité avec Vit C.....	99
Tableau 23 : Estimation de l'activité CAT (μ mole / min / mg de protéine), GSH (nmole / g de tissu) et MDA (nmole / g de tissu) dans le foie de souris.....	100
Tableau 24 : Evolution de la contraction (%) des plaies non traités (NT), traitées par Cicatryl (CIC), vaseline (VAS), les onguants des extraits méthanoliques (OEML 5 et 10%) et par les onguants des huiles essentielles (OHEL 5 et 10%) de <i>L. stoechas</i>	107
Tableau 25 : Evolution de la contraction (%) des plaies non traités (NT), traitées par Cicatryl (CIC), vaseline (VAS), les onguants des extraits méthanoliques (OEML 5 et 10%) et par les onguants des huiles essentielles (OHEL 5 et 10%) de <i>M. pulegium</i>	108

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	
1. Stress oxydant.....	3
1.1. Définition	3
1.2. Radicaux libres et les espèces réactives.....	3
1.3. Formes des radicaux libres.....	3
1.4. Source des radicaux libres.....	4
1.4.1. Sources endogènes.....	4
1.4.2. Sources exogène.....	6
1.5. Rôles physiologiques des radicaux libres.....	7
1.6. Cibles des radicaux libres.....	8
1.7. Stress oxydatif et pathologies humaines	9
1.8. Systemes de defense antioxydants.....	10
1.8.1. Antioxydants enzymatiques.....	10
1.8.2. Antioxydants non enzymatiques.....	11
2. Inflammation.....	14
2.1. Inflammation aiguë.....	14
2.2. Inflammation chronique.....	15
2.3. Les anti-inflammatoires.....	16
3. Polyphenols.....	18
3.1. Classes principales des polyphénols.....	18
3.2. Activités biologiques des polyphénols.....	22
4. Huiles essentielles.....	27
4.1. Composition chimique des huiles essentielles.....	27
4.2. Activités biologiques des huiles essentielles.....	29
5. Présentation des plantes étudiées.....	31
5.1. <i>Mentha pulegium</i> L. ssp. <i>pulegium</i>	31
5.1.1. Systématique.....	31
5.1.2. Description botanique.....	31
5.1.3. Utilisation traditionnelle.....	32
5.1.4. Composition chimique.....	32
5.2. <i>Lavandula stoechas</i> L.....	33

5.2.1. Systématique.....	33
5.2.2. Description botanique.....	34
5.2.3. Utilisation traditionnelle.....	34
5.2.4. Composition chimique.....	35

MATERIEL ET METHODES

1. Matériel.....	36
1.1. Matériel végétal.....	36
1.2. Animaux.....	36
2. Méthodes.....	36
2.1. Extraction des huiles essentielles.....	36
2.1.1. Analyses des huiles essentielles par CPG/SM.....	37
2.2. Extraction des composés phénoliques	38
2.2.1. Caractérisation phytochimique.....	38
2.3. Etude de l'activité antioxydante <i>in vitro</i>	43
2.3.1. Capacité antioxydante totale (CAT).....	43
2.3.2. Test d'activité anti-radicalaire (DPPH).....	44
2.3.3. Test de réduction du radical-cation ABTS•+.....	44
2.3.4. Test de blanchissement de β-carotène.....	45
2.3.5. Pouvoir réducteur du fer	45
2.3.6. Chélation du fer ferreux.....	46
2.3.7. Activité antioxydante ORAC.....	46
2.3.8. L'activité anti-hémolytique.....	47
2.4. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	48
2.4.1. Méthode des disques.....	48
2.4.2. Détermination des CMI.....	49
2.5. Etude Toxicologique.....	49
2.5.1. Toxicité orale aiguë.....	49
2.5.2. Toxicité orale subaiguë des extraits méthanoliques et évaluation de leurs activités antioxydantes <i>In vivo</i>	52
2.5.2.1. Traitement des animaux.....	52
2.5.2.2. Préparation du plasma et analyse biochimique.....	52
2.5.2.3. Test de capacité antioxydante plasmatique (DPPH <i>in vivo</i>).....	53
2.5.2.4. Masse relative des organes, préparation de l' homogénat et Examens histologiques.....	53

2.5.2.5. Estimation de l'activité enzymatique de la catalase.....	54
2.5.2.6. Estimation de GSH.....	54
2.5.2.7. Estimation de MDA.....	54
2.6. Evaluation de l'activité cicatrisante <i>In vivo</i>	55
2.6.1. Préparation de l'onguent.....	55
2.6.2. Test d'irritation cutanée.....	55
2.6.3. Activité cicatrisante.....	55
2.6.4. Suivi des animaux avant sacrifice.....	56
2.6.5. Examens histologiques.....	57
2.7. Analyses statistique.....	57

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Analyses phytochimiques.....	58
1.2. Rendement des huiles essentielles.....	58
1.2.1. Identification chimique des huiles essentielles.....	58
1.3. Extraction des composés phénoliques.....	64
1.3.1. Dosage des polyphénols totaux.....	65
1.3.2. Dosage des flavonoïdes.....	66
1.3.3. Dosage des flavones et flavonols.....	67
1.3.4. Dosage des tanins totaux.....	68
1.3.5. Profil chromatographique global en polyphénols (Analyse qualitative).....	68
2. Etude de l'activité antioxydante <i>in vitro</i>.....	72
2.1. Capacité antioxydante totale (CAT).....	72
2.2. Activité anti-radicalaire vis-à-vis le radical DPPH.....	73
2.3. Activité anti-radicalaire vis-à-vis le radical ABTS•+.....	76
2.4. Inhibition de la peroxydation lipidique par le test de β-carotène.....	77
2.5. Pouvoir réducteur du fer.....	79
2.6. Chélation de fer ferreux.....	81
2.7. Activité antioxydante ORAC.....	82
2.8. Activité anti-hémolytique.....	83
3. Activité antibactérienne.....	85
4. Etude toxicologique.....	88
4.1. Toxicité orale aiguë.....	88

4.1.1. Mortalité et signes généraux.....	88
4.1.2. Evolution pondérale.....	88
4.1.3. Masses relatives des organes.....	90
4.1.4. Paramètres biochimiques.....	90
4.1.5. Histopathologie.....	92
4.2. Toxicité orale subaiguë des extrait méthanoliques et évaluation de leur activité antioxydante <i>In vivo</i>	94
4.2.1. Mortalité et signes généraux.....	94
4.2.2. Evolution pondérale.....	94
4.2.3. Masses relatives des organes.....	95
4.2.4. Paramètres biochimiques.....	96
4.2.5. Histopathologie.....	97
4.2.6. Capacité antioxydante plasmatique vis-à-vis le radical DPPH	99
4.2.7. Analyse des paramètres du potentiel antioxydant.....	100
4.2.7.1. Estimation de l'activité enzymatique de la catalase.....	100
4.2.7.2. Estimation de GSH.....	101
4.2.7.3. Estimation de MDA.....	102
5. Evaluation de l'activité cicatrisante <i>In vivo</i>.....	103
5.1. Test d'irritation cutané.....	103
5.2. Variations du poids des animaux.....	103
5.3. Evolution du processus cicatriciel des plaies.....	104
5.4. Examen histologique.....	109
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	113
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	117

INTRODUCTION

Introduction

Le stress oxydatif est définie comme un déséquilibre de la balance entre antioxydants et pro-oxydants. Ce déséquilibre est étroitement associé à la production en excès des radicaux libres et les espèces réactives d'oxygène (ERO). Le mode de vie (tabagisme, alcoolisme, obésité, exercice physique intense), et les mauvaises habitudes alimentaires, augmentent de façon anormale la production des ERO dans l'organisme. A long terme, ceci peut contribuer à l'apparition de diverses pathologies comme le cancer, le diabète, l'asthme, les maladies cardiovasculaires, neurodégénératives et inflammatoires. De plus, l'usage excessif d'agents antibactériens et antifongiques chimiques dans la médication humaine ainsi que dans l'élevage animal et la conservation des aliments conduit au développement de microorganismes résistants à la plupart des antibiotiques. L'émergence de bactéries et de champignons résistants à de nombreux antibiotiques conventionnels pose un grave problème de santé publique. Ces agents infectieux multirésistants sont néfastes surtout chez les sujets vulnérables tels que les enfants, les vieillards et les personnes immunodéprimées. D'autre part, le traitement des plaies fait encore de nombreuses controverses, il va tout de même vers une simplification avec une remise en cause de l'utilisation systématique des traitements médicamenteux.

Les pratiques de la médecine traditionnelle varient grandement d'un pays à l'autre. Elles sont influencées par des facteurs connus: la culture, l'histoire et les philosophies personnelles. Selon l'OMS, près de 80% des populations des pays en voie de développement de la région d'Afrique ont recours à la médecine traditionnelle. La valorisation des ressources naturelles est une préoccupation qui devient de plus en plus importante dans de nombreux pays en vue de standardiser leur usage et les intégrer dans les systèmes de soins conventionnels. Il est important donc d'orienter les recherches vers la découverte de nouveaux médicaments et de trouver des alternatives à base de plantes pour remédier aux problèmes des effets indésirables des molécules synthétiques, lutter contre le stress oxydant et maîtriser les infections bactériennes qui constituent un problème de santé majeur. Les recherches actuelles sur les différentes activités pharmacologiques des huiles essentielles et des composés phénoliques des plantes ont ressorti plusieurs effets de grande importance pour la médecine moderne, ces composés sont reconnus par leurs nombreuses activités biologiques, telles que les activités antioxydantes, antivirales, antimicrobiennes et cicatrisantes. Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à étudier deux plantes: *Lavandula stoechas* L. et *Mentha pulegium* L., de la famille des Lamiacées, connues localement sous le nom de « Khozama et fliyou,

respectivement», elles sont utilisées en médecine traditionnelle pour traiter diverses maladies telles que les troubles intestinaux et digestifs, les maladies inflammatoires et les infections bactériennes et cicatrisantes. Pour cela, notre travail vise à atteindre les objectifs suivants:

- Préparation des extraits méthanoliques et des huiles essentielles à partir des parties aériennes de *Lavandula stoechas* L. et *Mentha pulegium* L.
- Analyses quantitatives et qualitatives des extraits méthanoliques et des huiles essentielles.
- Evaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne *in vitro*.
- Etude toxicologique et activités antioxydantes *in vivo*.
- Evaluation du pouvoir cicatrisant *in vivo*.

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Stress oxydant

1.1. Définition

Le stress oxydant résulte d'un déséquilibre entre les systèmes de défense antioxydants et la production de radicaux libres. Ce déséquilibre peut être dû à un déficit nutritionnel en antioxydants, à une surproduction endogène ou à une exposition environnementale à des facteurs pro oxydants (**Collard., 2014 ; Zbadi *et al.*, 2018**). Le déséquilibre peut déclencher des facteurs spécifiques responsables des dommages oxydatifs au niveau des acides nucléiques, des lipides et des protéines cellulaires, et donc l'apparition des maladies. (**Pisoschi et Pop, 2015; Smaga *et al.*, 2015**).

1.2. Radicaux libres et les espèces réactives

Un radical libre (RL) se définit comme tout atome, groupe d'atomes ou molécules possédant un électron non apparié (célibataire) sur leur orbitale externe. Il s'agit d'espèces chimiques très réactives qui cherchent dans leur environnement un électron pour s'apparier (**Ahmadinejad *et al.*, 2017**). En biologie, les radicaux libres sont formés le plus souvent à partir de l'oxygène, d'où leur appellation : espèces réactives de l'oxygène (ERO). Les espèces réactives oxygénées incluent les radicaux libres tel que, le radical hydroxyl (OH[•]), le radical superoxyde (O₂^{•-}), le radical peroxy (ROO[•]) et les espèces non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et l'oxygène singulet (¹O₂) (**MunnéBosch et Pintó-Marijuan, 2017**). D'autres espèces radicalaires dérivent de l'azote, appelées espèces réactives du nitrogène (ERN), c'est le cas; du radical monoxyde d'azote (NO[•]), l'anion peroxydinitrite (ONOO⁻), le radical dioxyde d'azote (NO₂[•]) (**Singh *et al.*, 2019**).

1.3. Formes des radicaux libres

Parmi les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint des composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux primaires. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires, se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (**Favier, 2003**). Les radicaux libres se distinguent en radicaux libres et dérivés non radicalaires, ces derniers sont très réactifs et peuvent être les précurseurs de radicaux libres (**Bartosz, 2003; Halliwell et Whiteman, 2004**) (Tableau 1).

Tableau 1. Les principales espèces oxygénées réactives générées dans les systèmes Biologiques (Tvrđá *et al.*, 2017).

Espèces radicalaires		Espèces non radicalaires	
Nom	Symbole	Nom	Symbole
Anion superoxyde	$O_2^{\cdot-}$	Acide hypochlorique	HOCl
Monoxyde d'azote	NO^{\cdot}	Oxygène singulet	1O_2
Radical alkoxyde	RO^{\cdot}	Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Radical hydroxyle	OH^{\cdot}	Peroxyde organique	ROOH
Radical peroxyde	ROO^{\cdot}	Peroxynitrite	ONOO

1.4. Sources de radicaux libres

Les radicaux libres sont produits à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule eucaryote par divers mécanismes. On parle donc de deux sources : endogènes et exogènes. La production endogène (Figure 1) est considérée significativement plus importante que celle d'origine exogène.

1.4.1. Sources endogènes

- **Chaîne mitochondriale de transport d'électrons**

La mitochondrie, via le fonctionnement de la chaîne respiratoire, est considérée comme une des principales sources des ERO dans la cellule. La principale forme réactive générée par la mitochondrie est l' $O_2^{\cdot-}$ (Tvrđá *et al.*, 2017).

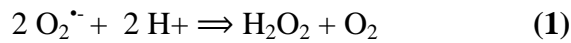
- **Le réticulum endoplasmique**

Le réticulum endoplasmique contient des enzymes qui catalysent une série de réactions pour détoxifier les molécules liposolubles et d'autres produits métaboliques toxiques (Yue *et al.*, 2018). Les enzymes telles que les cytochromes P450 (en particulier CYP1A2) contribuent partiellement à la production d'espèces réactives d'oxygène intracellulaire (ERO) et entraînent des dommages oxydatifs (Nair *et al.*, 2016).

- **Les peroxysomes**

Les peroxysomes, représentent une source importante de la production cellulaire de H_2O_2 (Valko *et al.*, 2007). La catalase peroxysomale utilise l' H_2O_2 (Equation 1), généré par

les enzymes de peroxydase, comme substrat pour réaliser des réactions de peroxydation d'autres substrats, ces enzymes sont importantes dans les processus de détoxification présents dans le foie (**Wages et al., 2014**).



- **Réponse des cellules phagocytaires aux inflammations et infections**

L'inflammation est une source importante de radicaux oxygénés produits directement via les cellules immunitaires comme les monocytes, les macrophages et les polynucléaires neutrophiles pour détruire les microorganismes et les macromolécules étrangères. La stimulation de ces cellules immunitaires s'accompagne d'une accélération de leur consommation d'oxygène avec activation d'une enzyme membranaire, la NADPH oxydase qui catalyse la réduction de cet oxygène en anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$ (**Equation 2**). Il s'ensuit, la formation de H_2O_2 par dismutation. Le $O_2^{\cdot-}$ et H_2O_2 participent à la libération d'hypochlorite et de chloramines sous l'influence d'une enzyme leucocytaire, la myéloperoxydase (**Liguori et al., 2018 ; Donaghy et al., 2015**).



- **Xanthine oxydase**

La xanthine oxydase (XO) responsable de la transformation de l'hypoxanthine en xanthine, est à l'origine de la formation de radicaux superoxydes $O_2^{\cdot-}$ (**Equation 3**). La XO joue un rôle crucial dans la génération de l' $O_2^{\cdot-}$ et de H_2O_2 (**Rahman et al., 2006**). L' $O_2^{\cdot-}$ produit au cours de l'ischémie-reperfusion est rapidement converti en $ONOO^-$ par son interaction avec le NO .



- **Oxyde nitrique synthase**

L'oxyde nitrique synthase (NOS) est un générateur important du NO , à des fins de médiation par les neurones, les cellules endothéliales ou les macrophages. Le NO permet la production d'autres ERN tel que le peroxynitrite ($ONOO^-$) (**Rahal et al., 2014 ; Liguori et al., 2018**).

- **Lipoxygénase et Cyclooxygénase**

La lipoxygénase (LO) et la cyclooxygénase représentent une source importante de production des ERO (Madamanchi, 2005). La 5-LO catalyse l'oxydation des acides gras polyinsaturés (AGPI) afin de produire des hydroperoxydes qui sont toxiques pour la cellule, elles interviennent également dans la formation de H₂O₂ par les lymphocytes T en réponse aux interleukines-1β (Muñoz et al., 2015).

- **Les ions métalliques**

Le fer et le cuivre, sont de remarquables promoteurs de processus radicalaire, ces métaux induisent la réaction de Fenton et la réaction de Haber-Weiss, dans laquelle le radical hydroxyle est généré à partir du peroxyde d'hydrogène. Ce radical fortement réactif peut oxyder des molécules lipidiques dans la membrane cellulaire et accélère la peroxydation lipidique (figure.1) (Cotticelli et al., 2013).

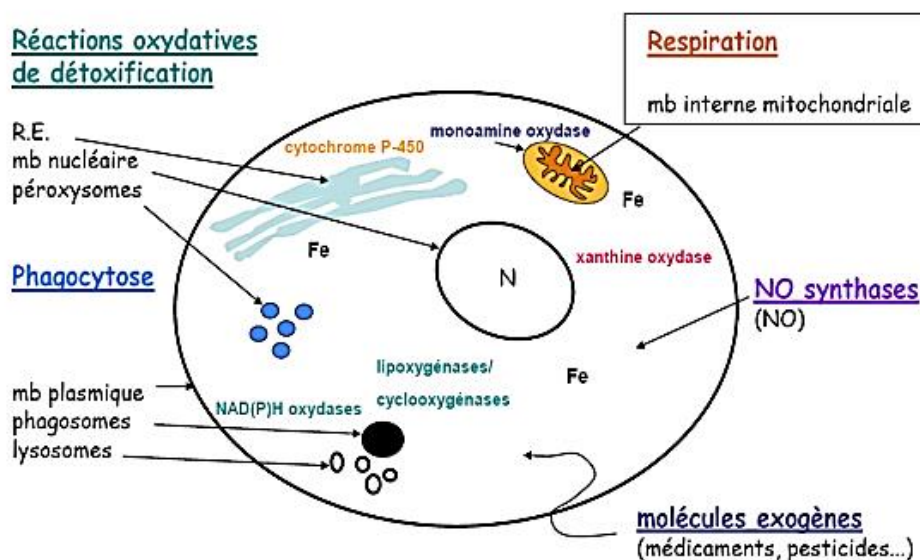


Figure 1. Sources endogènes des espèces réactives oxygénées (Shahrokhian & Ghalkhani., 2006).

1.4.2. Sources exogène

Les facteurs exogènes associés à une production accrue et/ou à une diminution de l'élimination de radicaux libres sont également très variés (Valko et al., 2005 ; Pickering et al., 2013 ; Wages et al., 2014). Parmi ces facteurs, on retrouve :

- L'alimentation (antibiotiques, alcool, aliments riches en protéines et/ou en lipides et/ou à indice glycémique élevé, faible consommation d'antioxydants) ;
- Le CO₂ atmosphérique
- Les polluants (fumée de cigarette, pollution atmosphérique (SO₂, NO₂, O₃, hydrocarbures), métaux occupationnels (métaux de transition tels le mercure, le fer, le cadmium et le nickel, arsenic, amiante) ;
- Les métaux lourds ayant une grande affinité avec les groupements sulfhydryles (-SH), ils inactivent facilement les antioxydants contenant du soufre ;
- Les médicaments (traitements contre le cancer, psoralène;
- Les radiations (ionisantes, ultraviolets, micro-ondes) ;
- L'absorption dermique (insecticides, médicaments).

1.5. Rôles physiologiques des radicaux libres

Les espèces réactives de l'oxygène présentent un paradoxe dans leurs fonctions biologiques. D'une part, ils préviennent les maladies en aidant le système immunitaire par la médiation de la signalisation cellulaire et en jouant un rôle essentiel dans l'apoptose. D'autre part, ils peuvent endommager des macromolécules importantes dans les cellules.

Du fait de l'importance de l'oxygène dans les systèmes biologiques, en situation physiologique, les espèces réactives sont créées en continu dans l'organisme. Ainsi, les radicaux libres générés de façon permanente par le métabolisme normal de l'oxygène, ne sont pas seulement des produits agressifs mais aussi des modulateurs de voies de transduction du signal et de l'expression de gènes qui participent à l'homéostasie vasculaire. Ils jouent le rôle de messenger pour la cellule dans l'apoptose et dans la défense contre les infections (**Dröge, 2003**).

Les phagocytes activés produisent des ERO en quantités suffisantes pour lutter contre les bactéries. Dans ce système, les ERO sont produits par le complexe NADPH qui transforme le O₂ en O₂^{•-} (**Kardeh et al., 2014**). Le O₂^{•-} est ensuite réduit dans le phagosome par la Superoxyde dismutase (SOD) en H₂O₂ qui peut être par la suite converti en HOCl par la Myéloperoxydase (MPO) (**Lloyd et al., 2013**). Le HOCl peut alors former spontanément le OH[•]. Ces deux molécules hautement réactives sont très toxiques pour les bactéries ingérées par les phagocytes. Le HOCl est également un élément important de la défense antimicrobienne par destruction de l'ancrage de l'acide désoxyribonucléique (ADN) à la

membrane bactérienne, ce qui entraîne l'arrêt de la réplication de l'ADN des bactéries (Nordberg et Arnér, 2001).

L'oxyde nitrique (NO \cdot) joue un rôle dans plusieurs processus physiologiques tel que la protection cardiaque, la régulation de la pression artérielle, la neurotransmission et les mécanismes de défense (Penna *et al.*, 2009).

1.6. Rôles pathologiques radicaux libres

Les ROS deviennent néfastes et toxiques pour l'organisme à des doses excessives. Cette surproduction au-delà des capacités antioxydantes des systèmes biologiques donne lieu au stress oxydant qui est impliqué dans l'apparition de plusieurs maladies allant de l'artériosclérose au cancer tout en passant par les maladies inflammatoires, les ischémies et le processus du vieillissement. Ces ROS attaquent principalement les lipides membranaires, mais aussi les protéines et les acides nucléiques.

1.6.1. Oxydation de l'ADN

L'ADN nucléaire et mitochondrial est également des cibles des ERO. Les altérations les plus communes sont l'hydroxylation des bases puriques et pyrimidiques et du squelette désoxyribose provoquant le clivage des brins et des mutations génétiques (Valko *et al.*, 2006). Le radical OH \cdot s'additionne sur les doubles liaisons de ces bases généralement en C₅ ou C₈ et les oxyde. Un taux élevé de 8-oxo-guanine est un des principaux marqueurs d'agression oxydante dans l'ADN (Valko *et al.*, 2006 ; Pisoschi et Pop, 2015).

1.6.2. La peroxydation lipidique

En raison de leur haut degré d'insaturation, les membranes riches en acides gras polyinsaturés sont très sensibles à l'oxydation. Ce processus induit une modification de la fluidité, de la perméabilité et de l'excitabilité des membranes (Tvrdá *et al.*, 2017). La réaction incontrôlée des ROS avec les lipides membranaires conduit à une génération innombrable de radicaux libres produits dans une réaction en chaîne, qui provoque la détérioration des membranes (Kardeh *et al.*, 2014; Pisoschi et Pop, 2015).

Dans la phase d'initiation de la réaction en chaîne de la peroxydation, un radical hydroxyle réagit avec une chaîne d'acide gras insaturé (LH) et produit un radical d'acide gras et une molécule d'eau. Le radical d'acide gras n'est pas stable, dans la phase de propagation il a tendance à réagir avec l'O₂ pour produire un radical peroxyde lipidique (LOO \cdot). Cette

molécule générée réagit ensuite avec un autre acide gras insaturé et produit un autre radical d'acide gras et un peroxyde lipidique (LOOH) (**Kardeh et al., 2014**). Ce dernier est très réactif, il fournit une grande variété de produits actifs qui peuvent réagir avec les protéines et l'ADN. L'attaque oxydative des lipides génère également des aldéhydes réactifs, tels que le malondialdéhyde et le 4-hydroxynonéal qui sont cancérigènes et mutagènes, car ils peuvent détériorer l'ADN. D'autre part, ils peuvent attacher à des protéines et peuvent donc affecter leurs fonctions (**Kardeh et al., 2014; Pisoschi et Pop, 2015**).

1.6.3. Oxydation des protéines

Les protéines sont susceptibles d'être oxydées par les ROS. Cette oxydation peut rompre les liaisons peptidiques modifiant ainsi la chaîne protéique. Elle provoque des modifications par addition de produits issus de la peroxydation. Le dommage des protéines peut se produire par oxydation du thiol, une carbonylation, une fragmentation ou un mauvais repliement et déploiement, ce qui pourrait conduire à la perte de l'activité de la protéine (**Pisoschi et Pop, 2015**). Les protéines oxydées perdent leurs propriétés biologiques et deviennent plus sensibles à l'action des protéases. Elles deviennent aussi très hydrophobes, soit par suppression de groupements amines ionisables, soit par extériorisation des zones hydrophobes centrales et vont alors former des amas anormaux dans ou autour des cellules (**Favier, 2003**).

Tous les acides aminés sont sensibles à l'oxydation, en particulier, la cystéine et la méthionine sont facilement oxydables (**Raedschelders et al., 2012; Pisoschi et Pop, 2015**). L'oxydation de la lysine, la proline, l'arginine et la thréonine donne également lieu à des marqueurs de dérivés carbonylés (**Pisoschi et Pop, 2015**). L'oxydation de la tyrosine par les radicaux OH• produit la dityrosine, la réaction avec des ERN forme la 3-nitrotyrosine, alors que la réaction avec le HOCl donne la 3-chlorotyrosine (**Raedschelders et al., 2012; Sung et al., 2013**).

L'oxydation des protéines est impliquée dans plusieurs pathologies telles que l'athérosclérose, les maladies neurodégénératives, l'ischémie-reperfusion et le vieillissement (**Goto et Radak, 2013; Bordt et Polster, 2014; Moniczewski et al., 2015 ; Pisoschi et Pop, 2015**).

1.7. Stress oxydatif et pathologies humaines

Le dysfonctionnement des systèmes de régulation de l'oxygène et de ses métabolites est à l'origine des phénomènes de stress oxydant dont l'importance dans de nombreuses pathologies

est maintenant largement démontrée. En fait, de nombreuses études, tant épidémiologiques que cliniques, indiquent que le stress oxydant est potentiellement impliqué dans le développement de plus d'une centaine de pathologies humaines différentes (**Chandrasekaran et al., 2017**) allant de l'athérosclérose au cancer tout en passant par les maladies inflammatoires, cardiovasculaires, neurodégénératives et le diabète (Tableau 2). Le rôle du stress oxydant à été également évoqué même dans des processus physiologiques tel que le vieillissement (**Torres-Cuevas et al., 2017**). Néanmoins, la plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale des radicaux (**Liguori et al., 2018**).

Tableau 2. Principaux pathologies des radicaux libres

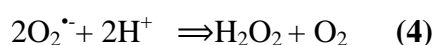
Pathologie	Références
Les maladies cardiovasculaires	Liguori et al., 2018
Cancers	Valko et al., 2007 ; Nichols et al., 2017
Maladies inflammatoires	Densiov et Afanas'ev, 2005 ; Pisoschi et Pop, 2015
Athérosclérose	Harrison et al, 2003 ; Pisoschi et Pop, 2015
Maladies auto-immunes	Colucci et al., 2015
Maladies d'Alzheimer, de parkinson	Peña-Bautista et al., 2019 ; Smaga et al., 2015
Diabète	Liguori et al., 2018
Arthrite rhumatoïde	Ahsan et al., 2003

1.8. Systemes de defense antioxydants

1.8.1. Antioxydants enzymatiques

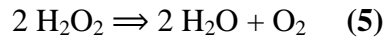
1.8.1.1. Superoxyde dismutase (SOD)

Les SOD sont les premières enzymes à intervenir dans la cascade des ROS. Elle catalyse la catalyse la dismutation d' $O_2^{\cdot-}$ en H_2O_2 (**Equation 4**) (**Ighodara et al., 2018**). Trois isoformes de cette enzyme sont décrites en fonction de ses cofacteurs métalliques et de ces localisations : SOD 1 (Cu/Zn-SOD et localisation cytosolique et nucléaire), SOD 2 (Mn-SOD et localisation mitochondriale) et SOD 3 (Cu/Zn-SOD et localisation extracellulaire) (**Peng et al., 2014**).



1.8.1.2. Catalase (CAT)

La CAT est une enzyme qui catalyse la transformation d' H₂O₂ en H₂O et oxygène moléculaire (**Equation 5**) (Saify *et al.*, 2016), et se trouve dans les hématies et dans les peroxysomes de nombreux tissus et cellules (Tokarz *et al.*, 2014).



1.8.1.3. Glutathion peroxydase (GPx)

La glutathion peroxydase (GSH-peroxydase) est une enzyme séléno-dépendante (Tvrdá *et al.*, 2017), présente à la fois dans le cytosol et dans la mitochondrie. Elle joue un rôle de détoxification par la réduction de deux substrats, le peroxyde d'hydrogène et les hydroperoxydes lipidiques (**Equation 6 et 7**) (Mukwevho *et al.*, 2014; Pisoschi et Pop, 2015). Elle agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation de H₂O₂ en H₂O et O₂ (Arora *et al.*, 2002).



1.8.2. Les antioxydants non enzymatiques

1.8.2.1. Glutathion réduit (GSH)

Le GSH est un tripeptide (Lγglutamy-l-cystéinyl-glycine), c'est l'antioxydant intracellulaire le plus abondant, présent dans toutes les cellules aérobies; eucaryotes et procaryotes (Poljsak *et al.*, 2013). Il peut piéger le peroxyde d'hydrogène, le radical hydroxyle et l'acide hypochloreux (Sung *et al.*, 2013). Le glutathion est aussi un cofacteur indispensable au bon fonctionnement de la glutathion peroxydase GPx (Bonfont-Rousselot, 2002).

1.8.2.2. Acide urique

Produit terminal majeur du métabolisme des purines chez l'homme, il est à pH physiologique majoritairement ionisé sous forme d'urate, un piègeur puissant de radicaux (OH•, ROO•, NOO•...). Ces réactions conduisent à des espèces radicalaires qui seront à leur tour réduites (notamment par la vitamine C). Les propriétés antioxydantes de l'urate *in vivo* peuvent être appréciées indirectement par le fait qu'un produit de réaction de l'urate avec l'allantoïne est présent à des taux élevés lors d'un stress oxydant (Haleng *et al.*, 2007).

1.8.2.3. Vitamine C

La vitamine C Appelé aussi l'acide L-ascorbique, c'est un antioxydant hydrosoluble, qui se trouve dans le cytosol et dans le fluide extracellulaire. Elle peut piéger directement l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$, le radical hydroxyle HO^{\bullet} , l'oxygène singulet et réduit le peroxyde d'hydrogène en eau via l'ascorbate peroxydase (**Smirnoff, 2018**). Elle protège également les phospholipides membranaires des dommages peroxydante (**Pisoschi et Pop, 2015**). Les résultats d'une récente étude expérimentale sur les animaux indiquent que la vitamine C améliore l'activité des enzymes antioxydantes et réduit significativement la concentration de malondialdéhyde (MDA) dans les structures testiculaires (**Tvrđá et al., 2017**).

1.8.2.4. Vitamine E

La forme naturelle de la vitamine E inclut quatre tocophérols isomères α , β , γ , δ , avec une activité antioxydante variable. L' α -tocophérol est la forme la plus active de la classe des tocophérols (**Oroian et Escriche, 2015**). Elle est liposoluble et se fixe à la membrane cellulaire et inhibe la chaîne de réactions de peroxydation des lipides en capturant un radical lipidique peroxyde (ROO^{\bullet}) pour former un radical tocophéryle (**Equation 8**) (**Tvrđá et al., 2017**).



1.8.2.5. Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments issus des plantes et microorganismes, et sont regroupés en deux grandes familles: les carotènes et les xanthophylles (**Nève, 2002 ; Josse, 2003**). L'activité antioxydante de ceux-ci est liée à leur longue chaîne polyénique qui leur permet de réagir avec les radicaux ROO^{\bullet} , HO^{\bullet} , $O_2^{\bullet-}$, R^{\bullet} par simple addition électrophile et transfert d'électron. Ils permettent, en particulier, de neutraliser l'oxygène singulet (**Bernstein et al., 2016**).

1.8.2.6. Oligoéléments

Les oligoéléments (Cu, Zn, Se, Mn) ont des propriétés antioxydantes. Ils servent notamment de cofacteurs des enzymes antioxydantes (**Liguori et al., 2018**).

1.8.2.7. Polyphénols

Les polyphénols sont des métabolites secondaires d'un poids moléculaire élevé. Ils sont largement distribués dans le règne végétal et ont des propriétés antioxydantes et en particulier la classe des flavonoïdes. Les flavonoïdes peuvent agir de différentes façons dans les processus de régulation du stress oxydant : par capture directe des espèces réactives de l'oxygène, par chélation différents métaux de transition comme le fer et et par inhibition de l'activité de certaines enzymes responsables de la production des ERO comme la xanthine oxydase (**Li *et al.*, 2014 : Xu *et al.*, 2017**).

2. Inflammation

L'inflammation est un mécanisme de défense (**Li et al., 2017**) et une réponse immunitaire naturelle, qui se développe suite à une lésion tissulaire provoquée par des facteurs physicochimiques (irradiations, brûlure, traumatismes mécaniques...) ou des infections microbiennes (bactériennes, virales ou parasitaire). Elle est accompagnée par la production de divers médiateurs inflammatoires tels que les cytokines, les leucotriènes et les prostaglandines (**Noack et al., 2018**) pour éliminer l'agent pathogène et réparer les lésions tissulaires (**Medzhitov, 2008**). En outre, les cellules inflammatoires peuvent produire des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote qui peuvent déclencher des réactions d'oxydation toxiques, conduisant à des lésions tissulaires (**Majdalawieh et Fayyad, 2015**).

L'inflammation peut être aiguë ou chronique. La première est une réponse immédiate de courte durée, habituellement, elle disparaît spontanément ou avec un traitement. Toutefois, elle peut évoluer vers une inflammation chronique à laquelle plusieurs maladies peuvent être liées (**Noack et al., 2018 ; Michels da Silva et al., 2019**).

2.1. Inflammation aiguë

L'inflammation aiguë est la réponse immédiate à un agent agresseur, de courte durée (quelques jours à quelques semaines), l'installation souvent brutale. Elle se traduit par quatre symptômes cardinaux: œdème, rougeur, douleur et chaleur. (**Rathinam et Fitzgerald, 2016**). Elle est caractérisée par des phénomènes vasculoexsudatifs intenses, par une forte présence des polymorphonucléaires au niveau du foyer inflammatoire (**Chen et al., 2018**). Les inflammations aiguës guérissent spontanément ou avec un traitement mais peuvent laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante. Les étapes de la réponse inflammatoire aiguë sont toujours les mêmes quelque soit le stimulus inflammatoire et le tissu enflammé (**Dorward et al., 2012**) peut être divisée en trois grandes phases.

Une phase vasculaire immédiate (de l'ordre de minutes) caractérisée par des modifications de la microcirculation locale. Une phase cellulaire consécutive caractérisée par la mobilisation de nombreuses cellules immunitaires qui permettra l'élimination des microorganismes pathogènes et des tissus lésés. Une phase de résolution et de cicatrisation qui en quelques jours conduira à la restauration des tissus (Figure 2) (**Weill et al., 2003**).

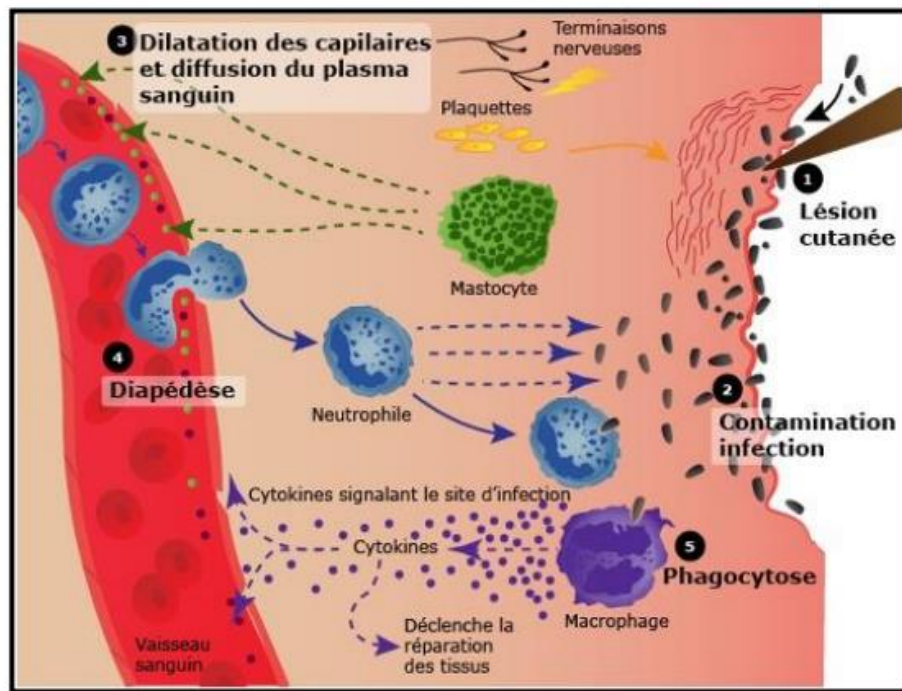


Figure 2. Les principales étapes de la réaction inflammatoire (Noack *et al.*, 2018).

2.2. Inflammation chronique

Est une inflammation prolongée, peut durer plusieurs semaines voire plusieurs années. Elle définit par la présence des cellules immunitaires (Howcroft *et al.*, 2013 ; Park *et al.*, 2014). L'inflammation chronique peut survenir dans trois contextes principaux : La persistance de la réaction inflammatoire et la perturbation de son contrôle physiologique (Serhan *et al.*, 2010) une infiltration excessive des leucocytes au niveau du site inflammatoire et une mauvaise élimination de l'agent causal de l'inflammation (Dorward *et al.*, 2012). Certaines maladies auto-immunes et ainsi caractérisée par une longue durée (Anzai *et al.*, 2004).

De façon schématique, l'inflammation chronique se différencie de l'inflammation aiguë essentiellement par : les phénomènes d'inflammation, de destruction tissulaire et de réparation coexistent tout au long de l'évolution de l'inflammation ; Les tissus ne se régèrent pas correctement et un phénomène de cicatrisation pathologique s'installe (Weill *et al.*, 2003).

2.3. Les anti-inflammatoires

2.3.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Sont des médicaments à propriétés anti-inflammatoires, antipyrétiques et analgésiques. Les effets des AINS résultent principalement de l'inhibition de la cyclooxygénase et ainsi de la synthèse des prostaglandines. Cette inhibition peut être irréversible, avec les AINS salicylés, ou non avec les autres AINS (**Trécot et Jouzeau, 2014**). Ils présentent une grande hétérogénéité chimique mais ils ont en commun l'inhibition non sélective de l'enzyme Cyclooxygénase (COX) (**Ortega et al., 2014**). De nombreuses études ont toutefois montré que l'administration à long terme des AINS peut avoir des effets secondaires importants sur le tractus gastro-intestinal avec de nombreux effets nocifs tels que des lésions muqueuses, des saignements, des ulcères peptiques et une perforation intestinale (**Firestein et McInnes, 2017**). Elles sont également associées à une incidence relativement élevée d'effets indésirables rénaux, syndrome néphrotique, d'hypertension artérielle, de nécrose tubulaire aiguë et de toxicité cardiovasculaire (**Antman, 2017; Grosser et al., 2017**).

2.3.2. Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)

L'anti-inflammatoire stéroïdien constitue une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol principal glucocorticoïde surrénalien (**Taofiq et al., 2015**). Ils représentent le traitement le plus efficace utilisé pour les maladies inflammatoires chroniques (**Payne et Adcock., 2001 ; Kessel et al., 2014**). Les AIS empêchent l'activation de la phospholipase A2, en bloquant à la fois la voie des prostaglandines et celles des leucotriènes (**Mallem et Gogny, 2014**). Les glucocorticoïdes représentent le traitement le plus efficace des maladies inflammatoires chroniques telles que l'arthrite rhumatoïde et les maladies auto-immunes (**Kessel et al., 2014**). L'usage des glucocorticoïdes est associé à de nombreux effets indésirables qui s'accroissent avec le prolongement de la durée du traitement. Ces effets secondaires sont l'hypertension artérielle et les ulcères gastro-duodénaux (**Chung, 2014**).

2.3.3. Anti-inflammatoires d'origine végétale

Les substances naturelles sont de bonnes ressources pour le développement de composés thérapeutiques à potentiel anti-inflammatoire sans ou avec des effets toxiques plus faibles (Tableau 3) (**Catarino et al., 2016**).

Ce potentiel anti-inflammatoire est dû à leur richesse en métabolites secondaires bioactifs, tels que les polyphénols, les stérols, les alcaloïdes, les coumarines les terpènes...etc.

L'activité anti-inflammatoire des composés phénoliques a été démontrée dans de nombreuses études *in vitro* et *in vivo*. Ces substances actives peuvent agir à plusieurs niveaux de la réaction inflammatoire en inhibant le métabolisme de l'acide arachidonique en bloquant les voies de la cyclooxygénase et la lipoxygénase (Yoon et Baek, 2005 ; Larsen *et al.*, 2015).

Tableau 3. Plantes médicinales utilisées en Algérie dans le traitement des maladies inflammatoires humaines (Boudjelal *et al.*, 2013).

Famille/espèce de la plante	Nom local	Partie utilisé/ Mode d'utilisation	Utilisations recommandées	Usages dans la littérature
Asteracées <i>Anthemis nobilis</i> L.	Babounje	Fleurs/Infusion	Anti-inflammatoire, Sédative, Eczema	Anti-inflammatoire ^a
Apiacées <i>Thapsia garganica</i> L.	Bounafaà	Partie aérienne/ Racine	Anti-inflammatoire, Eczema	Irritation de la peau ^b
Borraginacées <i>Anchusa azurea</i> Mill.	Lessan elthor	Partie aérienne/ Infusion	Anti-inflammatoire, Antitumeur	Cicatrisation des plaies ^c
Cupressacées <i>Juniperus oxycedrus</i> L.	Taga	Partie aérienne/ Tablette	Anti-inflammatoire, infections oculaires	Calculs rénaux ^c
Lamiacées <i>Mentha rotundifolia</i> L.	Meguene	Partie aérienne/ Infusion	Anti-inflammatoire	Antihypertenseur ^d
Malvacées <i>Malva sylvestris</i> L.	Khobeiz	Partie aérienne/ Décoction	Anti-inflammatoire, perte de poids	Emolliente ^e
Urticacées <i>Urtica dioica</i> L.	Horeig	Fleurs/Décoction	Anti-inflammatoire, antidiabétique	Antirhumatismal ^c

^a(Rossi *et al.*, 1988), ^b(Christensen *et al.*, 1982), ^c(Cakilcioglu and Turkoglu, 2010), ^d(Heamalatha *et al.*, 2011),
^e(Asgarpanah and Roohi, 2012).

3. Polyphenols

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires des plantes qui se trouvent à l'état naturel dans toutes les matières végétales, y compris les produits alimentaires à base de plantes (Giordano *et al.*, 2017). Ces composés font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale. Ils représentent le groupe le plus important d'antioxydants naturels (Gonçalves *et al.*, 2017).

Les composés polyphénoliques sont caractérisés par leur structure de base constituée d'un cycle aromatique hydroxylé, le phénol. Lorsqu'ils comportent plusieurs groupements hydroxyles associés à un ou plusieurs noyaux benzéniques, ces composés sont qualifiés de polyphénols (Legrand, 2015).

3.1. Classes principales des polyphénols

Les principaux groupes de polyphénols sont les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins (Huyut *et al.*, 2017) et d'autres substances phénoliques (Figure 3).

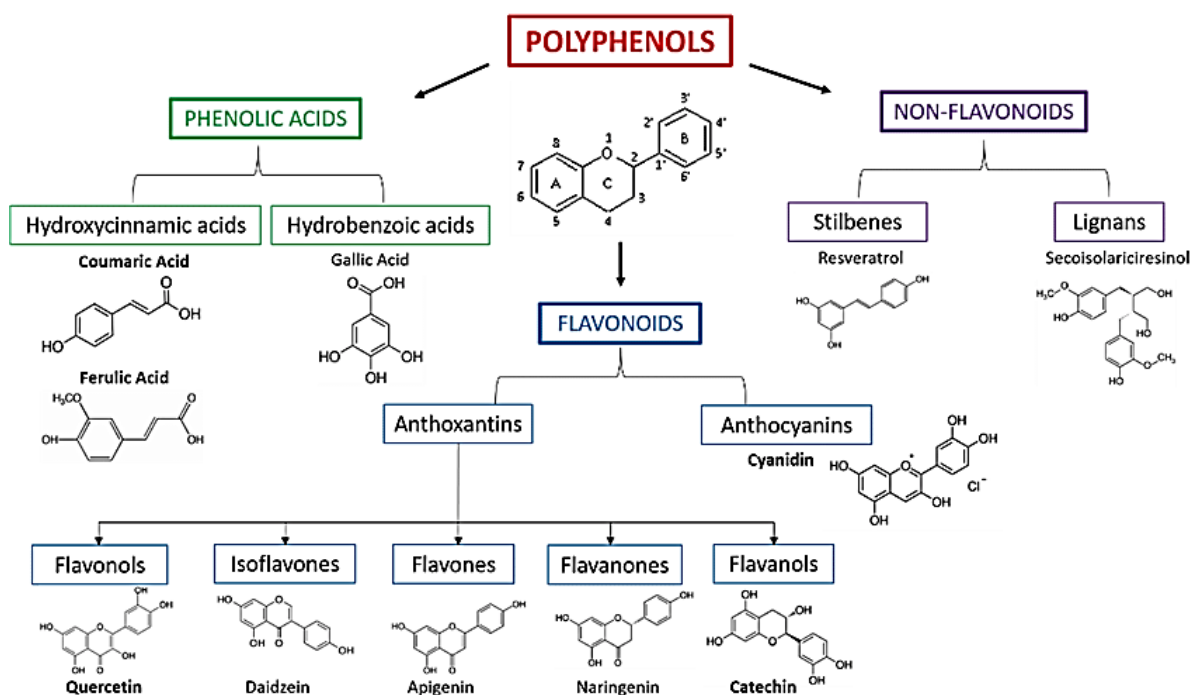


Figure 3. Classes de polyphénols (Beconcini *et al.*, 2020).

3.1.1. Acides phénoliques

Sont les principaux polyphénols alimentaires (Watson *et al.*, 2013), ils sont présents dans tous les fruits et les légumes et représentent environ un tiers de la teneur totale de

l'alimentation en polyphénols (Sharma *et al.*, 2015). Les acides phénoliques sont des composés polyphénoliques non-flavonoïdes qui peuvent être divisés en deux classes principaux: dérivés de l'acide cinnamique et dérivés de l'acide benzoïque et ont une formule de base de type C6-C3 et C6-C1, respectivement (Figure 3 et 4) (Călinoiu *et al.*, 2018). La concentration de l'acide hydroxy-benzoïque est généralement très faible chez les végétaux comestibles. Ces dérivés sont assez rares dans l'alimentation humaine par contre ceux d'acides hydroxycinnamiques sont très présents (Fleuriet *et al.*, 2005).

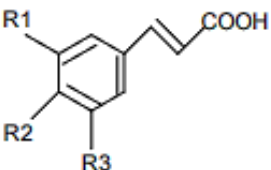
	R1	R2	R3	Acide phénolique
	H	H	H	Acide cinnamique
	H	OH	H	Acide p-coumarique
	OH	OH	H	Acide caféique
	OCH ₃	OH	H	Acide férulique
OCH ₃	H	OCH ₃	Acide sinapique	

Figure 4. Principaux acides hydroxycinnamiques (Călinoiu *et al.*, 2018)

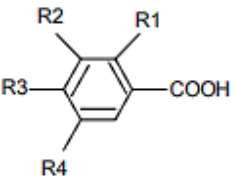
	R1	R2	R3	R4	Acide phénolique
	H	H	H	H	Acide benzoïque
	H	H	OH	H	Acide p-hydroxy benzoïque
	H	OH	OH	H	Acide protocatechique
	H	OCH ₃	OH	H	Acide vanillique
	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	Acide syringique
	OH	H	H	H	Acide salicylique
OH	H	H	OH	Acide gentisique	

Figure 5. Principaux acides hydroxybenzoïques (Călinoiu *et al.*, 2018).

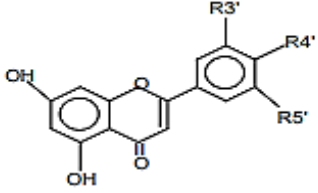
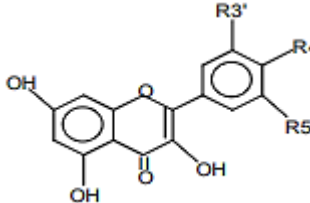
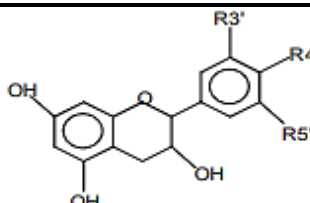
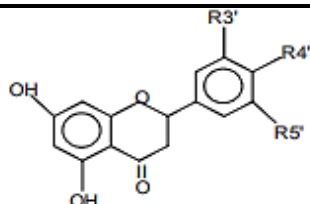
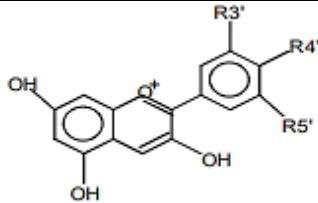
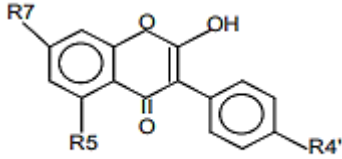
3.1.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments végétaux qui représentent la famille la plus importante des polyphénols avec plus de 9000 composés (Wang *et al.*, 2018) appartenant à plus de 10 classes dont les principales sont les flavonols, les flavones, les flavanols, les isoflavones et les anthocyanes et proanthocyanidines (Losada-Barreiro and Bravo-Díaz, 2017).

Les flavonoïdes sont caractérisés par une structure de base à 15 atomes de carbone, constitués de deux noyaux aromatiques et d'un hétérocycle central de type pyrane, formant

une structure C6-C3-C6. Les classes diffèrent entre elles par la structure et le degré d'oxydation de l'hétérocycle central (cycle C), ainsi que par la nature de ses connexions avec les cycles A et B (Valenzuela *et al.*, 2016). Cette classification a été basée sur la nature des substitutions R5 et R7 du cycle A, la nature des groupements R3', R4' et R5' du cycle C ou bien le degré d'oxydation et la diversité fonctionnelle au niveau des positions 2, 3 et 4 du cycle (Tableau 4) (Malešev et Kuntić, 2007).

Tableau 4. Principales classes des flavonoïdes (Trembl et Smejkal, 2016).

Classes	Structures chimiques	R3'	R4'	R5'	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH ₃	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavanols		OH	H	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflavones		R5	R7	R4'	
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O-Glu	OH	Daidezine

3.1.3. Tanins

Ce sont des polyphénols polaires d'origine végétale de haut poids moléculaire, existent dans presque chaque partie de la plante : écorce, bois, feuilles, fruits et racines (**Redondo et al., 2014**). Ils possèdent un grand nombre de groupements hydroxyles qui leur permettent des combinaisons stables avec les protéines, les polysaccharides, les acides nucléiques, les stéroïdes mais aussi à d'autres polymères tels que les alcaloïdes et les gélatines (**Okuda et Ito, 2011**). D'après leurs natures, les tanins sont répartis en tanins hydrolysables ou pyrogalliques et en tanins condensés ou pyrocatechiques (Figure 6) (**Bennick, 2002**). Ils peuvent avoir plusieurs activités biologiques dont l'activité antioxydante, antimicrobienne, anti-inflammatoire, analgésique, antifongique, antitumorale et antivirale et guérison d'un ulcère gastrique (**Lamy et al., 2014 ; Valverde Malaver et al., 2019**).

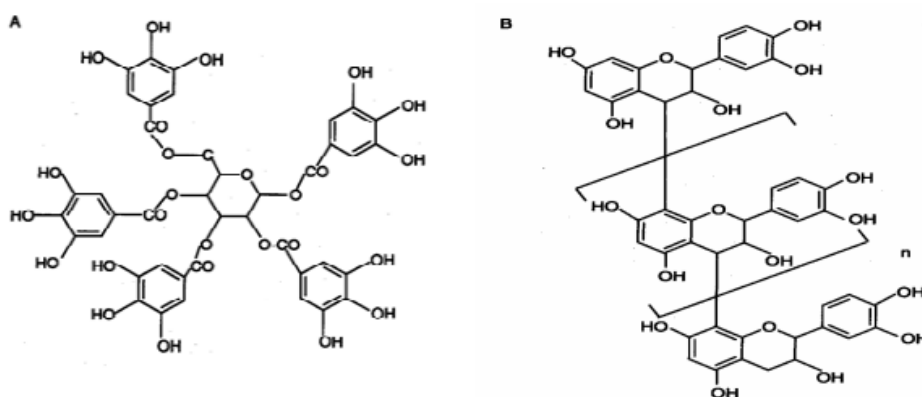


Figure 6. Structures chimiques des tanins (**Bennick, 2002**)

(A : Tanins hydrolysables ; B : Tanins condensés).

3.1.4. Stilbènes

Les membres de cette famille possèdent la structure C6-C2-C6. Ces composés sont en très petite quantité dans notre alimentation. Ce sont des phytoalexines, composés produits par les plantes en réponse à l'attaque par les microbes pathogènes fongiques, bactériens et viraux. Les sources principales des stilbènes sont les raisins, le soja et les arachides. Le plus connu d'entre eux est le resvératrol qui a été largement étudié pour ses propriétés anticancéreuses (**Martinez et al., 2014; Losada-Barreiro and Bravo-Díaz, 2017**).

3.1.5. Les lignanes

Composés qui s'accumulent au niveau des parois cellulaires (tissus sclérenchymes ou le noyau des fruits), au niveau de sève brute qu'ils permettent la rigidité des fibres. Ils sont constitués de deux unités de phénylpropane (C6-C3) (**Martinez et al., 2014**). Bien qu'ils

entrent dans la composition de certaines graines, céréales, fruits et autres légumes (El Gharras, 2009).

3.2. Activités biologiques des polyphénols

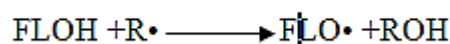
Les effets bénéfiques des polyphénols intéressent particulièrement dans deux domaines: la phytothérapie et l'hygiène alimentaire (Leong et Shui, 2002). Les recherches récentes sur les composés phénoliques en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussées en raison de leurs diverses propriétés physiologiques, ils sont doués d'activité antioxydantes et antiradicalaires (Ahmed *et al.*, 2015), antiallergique, anti-inflammatoire, hépatoprotective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, anti-thrombotique, cardioprotective et vasodilatatoire (Shahidi *et al.*, 2018).

3.2.1. Activité antioxydante

Les polyphénols sont des antioxydants naturels puissants impliqués dans la défense contre les dommages oxydatifs au niveau de la cellule et réduisent le risque de diverses maladies en raison de leur capacité à éliminer les radicaux libres, à restaurer les antioxydants enzymatiques car ils possèdent des structures chimiques idéales (Losada-Barreiro et BravoDíaz, 2017). Cependant, l'intérêt principal a été consacré à l'activité antioxydante des flavonoïdes, en raison de leur capacité à réduire la formation et à éliminer les radicaux libres (Carocho et Ferreira, 2013b; Catarino *et al.*, 2016).

- Piégeage des radicaux libres

Les flavonoïdes comme la catéchine ou la quercétine avec leur structure sont capables de réduire les radicaux libres tel que l'anion superoxyde, les radicaux: hydroxyle (OH•), alkoxy et peroxy, par le transfert d'hydrogène (Quiñones *et al.*, 2013), selon la réaction suivante :



Où R• : représente le radical et FL-O• : un radical flavonoxyl qui peut réagir avec un autre radical et donner un composé stable (Figure 7).

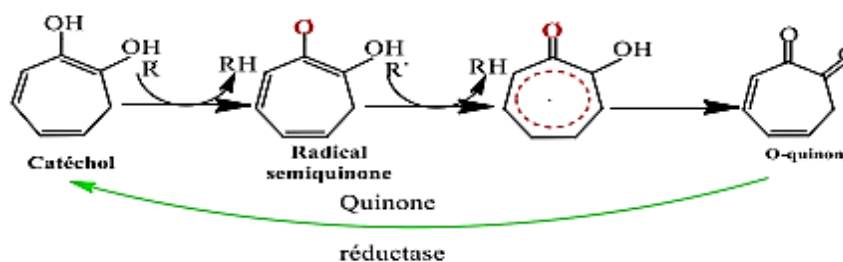
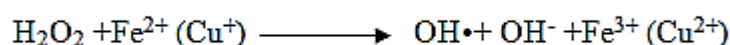


Figure 7. Mécanisme de piégeage d'un radical par les flavonoïdes (Terao, 2009).

De nombreuses études ont montré qu'il existe des relations entre la structure chimique des flavonoïdes et leur capacité à piéger les radicaux libres (Pietta, 2000).

• Chélation des ions métalliques

Un certain nombre de flavonoïdes chélate efficacement les métaux, qui jouent un rôle important dans le métabolisme de l'oxygène. Le fer (Fe^{2+}) et le cuivre (Cu^+) libres ont un potentiel amplificateur pour la formation des espèces réactives d'oxygène, à titre d'exemple; lors d'une réaction de fenton : la réduction de peroxyde d'hydrogène provoque la formation du radical hydroxyle et des complexes métalliques stables (Zhang et Tsao, 2016).



Les Composés phénoliques avec catécholate et groupes gallate peut inhiber le métal induit la formation du radical oxygène soit par coordination avec le Fe^{2+} et le renforcement de l'auto-oxydation de Fe^{2+} soit par la formation de complexe inactif avec le Cu^{2+} , Fe^{2+} ou le Cu^+ relativement avec faible interaction (Perron & Brumaghin, 2009).

La chélation des ions métalliques par les flavonoïdes nécessite trois sites principaux (Figure 8) :

- Noyau catéchol sur le cycle B
- Les groupe 3-hydroxyle et 4-oxo du cycle C
- Le groupe 4-oxo et 5-hydroxyle entre les cycles A et C (Pietta, 2000).

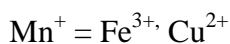
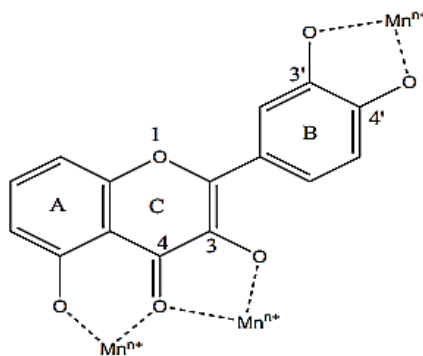


Figure 8. Sites de chélation des ions métalliques par les flavonoïdes (Kasprzak *et al.*, 2015).

Des études récentes suggèrent que le site privilégié de complexation des ions fer par la quercétine, la lutéoline et le kaempférol est le groupement 3-hydroxy-4-oxo du cycle C (Middleton *et al.*, 2000).

- **Modulation des enzymes**

Les polyphénols peuvent stimuler les enzymes antioxydantes telles que la glutathion peroxydase, la catalase et la superoxyde dismutase, et inhiber l'expression des enzymes impliquées dans la génération des radicaux libres telle que la xanthine oxydase, cyclooxygénase, la lipoxygénase la monooxygénase microsomale, la glutathione S-transferase et la NADH oxydase (Pokorny *et al.*, 2001 ; Alvarez-Suarez *et al.*, 2011).

3.2.2. Activité anti-inflammatoire

De nombreux travaux *in-vitro* et *in-vivo* montrent que les composés phénoliques possèdent des propriétés anti-inflammatoires et sont aussi capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire (De Medina *et al.*, 2009). Les polyphénols sont des inhibiteurs de certaines enzymes, la cyclooxygénase (COX), la lipoxygénase (LOX) et l'iNOS, associées aux propriétés pro-inflammatoires (Călinoiu *et al.*, 2018).

Par ailleurs, les flavonoïdes sont susceptibles de diminuer la libération de l'histamine des basophiles et des mastocytes. La quercétine a un effet anti-inflammatoire en inhibant quelques enzymes de synthèse tel que la cyclooxygénase (Gonzalez *et al.*, 2011). Une étude portant sur l'astragaline, la fisétine, le kaempferol, la myricétine, la quercétine et la rutine, sur les réactions inflammatoires allergiques induites par les mastocytes a permis de constater que toutes ces molécules, hormis l'astragaline, inhibent la sécrétion de l'histamine (Park *et al.*, 2008).

3.2.3. Activité anticancéreuse

Plusieurs études menées *in vitro* sur des lignées de cellules cancéreuses (**Pan et al., 2015 ; Pavan et al., 2015 ; Terkmane et al., 2018**) ou *in vivo* à l'aide de modèles animaux (**Alonso-Castro et al., 2013 ; Thangavel et Vaiyapuri, 2013**) ont rapporté que les composés phénoliques possèdent une activité anti-carcinogène. Ces composés peuvent être facilement absorbés par les cellules et avoir des effets à la fois protecteurs et délétères. Ils peuvent bloquer l'initiation de la cancérogénèse par l'inactivation de molécules génotoxiques exogènes ou endogènes, y compris les espèces réactives de l'oxygène (**Fantini et al., 2015**). Certains flavonoïdes (epigallocatechin-3-gallate, Quercétine, génistéine, daidzéine et biochanine) le resvératrol, les tannins, l'épigallocatechine-3-gallate, l'acide gallique et l'anthocyanine ont montré des effets protecteurs dans certains modèles cancéreux (**Kumar et al., 2013 ; Rady et al., 2018**). Les flavonoïdes ont montré également, des effets protecteurs contre les cancers de la prostate, du côlon et du poumon (**Duthie, 2000**).

3.2.4. Effet sur le système cardiovasculaire

Diverses études épidémiologiques ont montré qu'il existe une corrélation inverse entre la consommation d'aliments riches en polyphénols et le risque de développement des maladies cardiovasculaires (**Auger et Schini Kerth, 2014 ; Sung et al., 2019**). Au niveau des artères, ces molécules préviennent l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL) évitant ainsi l'athérosclérose. Les polyphénols inhibent aussi l'agrégation plaquettaire impliquée dans le phénomène de thrombose. Ainsi en prévenant l'athérosclérose et les risques de thrombose, ces composés limitent les risques de l'infarctus du myocarde (**Akroum, 2010**). La naringine a un effet anti-athérosclérose en cas d'hypercholestérolémie, en préservant la paroi vasculaire (**Moghaddam et al., 2020**).

3.2.5. Polyphénols et maladies neurodégénératives

Les polyphénols et en particulier les flavonoïdes comme les xanthones, la quercétine, la gossypétine, la myricétine et l'epicatechin-3-gallate ont été révélés comme des inhibiteurs efficaces de l'acétylcholinestérase (AChE) qui est l'enzyme cible dans le traitement de la maladie d'Alzheimer (**Brühlmann et al., 2004**). Ainsi, l'augmentation du niveau de l'acétylcholine est le premier précurseur du traitement de la maladie d'Alzheimer (**Jabir et al., 2018**).

3.2.6. Activité antimicrobienne

Des recherches antérieures ont révélé que, les polyphénols et principalement les flavonoïdes, sont dotés d'une activité bactéricide qui se manifeste par de trois mécanismes différents: dommages de la membrane plasmique bactérienne par la diminution de la fluidité membranaire, effet inhibiteur sur le métabolisme énergétique bactérien et inhibition de la synthèse des acides nucléiques (**Djahra *et al.*, 2015; Zacchino *et al.*, 2017**).

3.2.7. D'autres effets biologiques des polyphénols

Les polyphénols sont connus pour leur effet antidiabétique (**Kim *et al.*, 2016**), effet contre le vieillissement (**Serino *et al.*, 2019**), certains effets sur les lésions gastriques et hépatiques, la protection de l'intestin et la stabilité des cellules rouges sanguines (**Quiñones *et al.*, 2013**).

4. Huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des composés naturels, complexes, de structures organiques variées, liquide, odorantes, volatiles, synthétisées par les plantes aromatiques et médicinales (PAM) comme métabolites secondaires (**Fokou *et al.*, 2020**). Elles sont présentes sous forme de minuscules gouttelettes dans les feuilles, la peau des fruits, les racines, les branches, les bois (**Cherrat, 2013**) les écorces et les graines (**Lakhdar, 2015**). Elles sont très sensibles aux variations de température, à la lumière et à l'oxygène (**Cherrat, 2013**) et présentes en petites quantités par rapport à la masse du végétal (**Padrini et Lucheroni, 1996**). Les huiles essentielles ne représentent qu'une petite fraction de la composition globale de la plante, néanmoins, elles confèrent les caractéristiques par lequel les plantes aromatiques sont utilisées dans l'alimentation, le domaine de la cosmétologie et les industries pharmaceutiques (**Pourmortazavi et Hajimirsadeghi, 2007**).

4.1. Composition chimique des huiles essentielles

La composition chimique des huiles essentielles est complexe, on trouve généralement de nombreux constituants dans une huile essentielle appartenant principalement à deux grands groupes chimiques ; les composés terpéniques et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane (**Catier et Roux., 2007**).

4.1.1. Les composés terpéniques

Les terpènes constituent une famille de composés largement répandus dans le règne végétal dont la majorité est rencontrée dans les huiles essentielles (HEs) (**Fokou *et al.*, 2020**). Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'unités isoprénique à 5 atomes de carbone (C_5H_8) (Figure 9). Ils sont subdivisés selon le nombre d'entités isoprènes en monoterpènes formés de deux isoprènes ($C_{10}H_{16}$), les sesquiterpènes, formés de trois isoprènes ($C_{15}H_{24}$), les diterpènes, formés de quatre isoprènes ($C_{20}H_{32}$), les triterpènes, formés de six isoprènes ($C_{30}H_{48}$). Les tetraterpènes sont constitués de huit isoprènes qui conduisent aux caroténoïdes. Les polyterpènes ont pour formule générale : $(C_5H_8)_n$, ou n varie de 9 à 30. Les térapénoïdes sont des terpènes ayant une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide). Dans la composition de la plupart des HEs, les monoterpénoïdes et les sesquiterpénoïdes forment la majeure partie (**Eslahi *et al.*, 2017**).

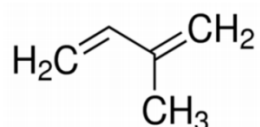


Figure 9. Structure de la molécule d'isoprène

4.1.1.1. Les monoterpènes

Sont volatils, entraînés à la vapeur d'eau, d'odeur souvent agréable et représentent la majorité des constituants des HEs, parfois plus de 90%. Ils peuvent être acyclique (myrcène, o-cymène), monocyclique (terpinène, p-cimène) ou bicyclique (pinène, sabinène). A ces terpènes se rattachent un certain nombre de substances à fonction chimique (**Bruneton, 2009**). :

- Alcools : géraniol, menthol.
- Aldéhydes : gèranial, citronellal, sinesnal.
- Cétones : carvone, menthone, β -vétivone.
- Esters : acétate de gèranyle, acétate de linalyl, acétate de cédryle, acétate α terpinyle.
- Peroxydes : ascaridol, allicine.

4.1.1.2. Les sesquiterpènes

Ils comportent trois unités d'isoprène, leur formule est $C_{15}H_{24}$. Il existe une grande variété de structure, les monoterpènes, acycliques (farnésol), monocycliques (humulène, α -zingibèrene) ou polycycliques (matricine, artéannuine, β artémisinine). Ils renferment des fonctions chimiques caractéristiques comme l'alcool (farnésol, carotol, β -santalol, patchoulol), les cétones (nootkatone, cislongipinane-2.7-dione, β -vétivone), les aldéhydes (sinensals) et les esters (acétate de cédryle) (**Eslahi et al., 2017**).

4.1.2. Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane

Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane sont beaucoup moins fréquents dans les huiles essentielles que, les monoterpènes et sesquiterpènes (**Pavela, 2015**). Ils sont caractérisés par un noyau aromatique lié à une chaîne de trois atomes de carbone propène (**Hylgaard et al., 2012**). Très souvent, il s'agit d'allyle et de propénylphénol.

Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole et bien d'autres (**Eslahi et al., 2017**). Ils sont davantage

fréquents dans les HEs d'*Apiaceae* (persil, anis, fenouil, etc.) et sont caractéristiques de celles du clou de girofle, la vanille, la cannelle, le basilic, l'estragon, etc (**Scimeca, 2007**).

4.2. Activités biologiques des huiles essentielles

4.2.1. Activité antioxydante

Certains constituants des huiles essentielles présentent un potentiel antioxydant très marqué, ils sont actuellement commercialisés ; c'est le cas de l'eugénol (**Barclay et al., 2006; Amorati et al., 2013**), le thymol (**Echazú et al., 2017; Luna et al., 2017; Meeran et al., 2017; Razavi et al., 2017**) et le carvacrol (**Zareiyan et al., 2017; Baranauskaite et al., 2017; Homayounia et al., 2017**).

4.2.2. Activité anti-inflammatoire

Les huiles essentielles sont utilisées en milieu clinique pour soigner des maladies inflammatoires, tels que les rhumatismes, les allergies et l'arthrite (**Maruyama et al., 2005**), le cas de l'huile de Gingembre qui est utilisé comme anti-inflammatoire (**Ezzat et al., 2017; Rondanelli et al., 2017; Abolaji et al., 2017**).

4.2.3. Activité antimicrobienne

La majorité des huiles essentielles ont un spectre d'action très étendu contre un large éventail de microorganismes dont les bactéries, les champignons et les levures, les virus et les protozoaires. Les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature ayant la propriété antibactérienne et antifongique appartiennent à la famille des Lamiaceae (**Ramdan et al., 2017**), tel le cas des huiles essentielles de l'origan (**Soares et al., 2017; Bouyahya et al., 2017; Nabet et al., 2017; Özkan et al., 2017**), l'huile essentielle de la lavande (**Benbelaid et al., 2012; Minooeianhaghighi et al., 2017; Ouedrhiri et al., 2017**); l'huile essentielle de la menthe (**Abdelli et al., 2016; Chrysargyris et al., 2017**), l'huile essentielle du romarin (**Khia et al., 2014; Bouyahya et al., 2017; Hadian et al., 2017**).

4.2.4. Activité insecticide

De nombreuses études se développent actuellement pour isoler ou identifier des substances secondaires extraites de plantes qui ont une activité insecticide, répulsive ou antiappétante vis-à-vis des moustiques et autres insectes (**Govindarajan et al., 2016; Hussein et al., 2017; Castillo et al., 2017; Demircia et al., 2017**). De plus, des produits issus de

plusieurs espèces florales possèdent des effets répulsifs, contre un certain nombre d'insectes Coléoptères ont été décelés (**Hashem *et al.*, 2012**).

4.2.5. Activité cicatrisante

Les huiles essentielles favorisent la réparation tissulaire, elles maintiennent l'asepsie et empêchent l'inflammation des tissus, favorisant ainsi la cicatrisation ; certaines huiles essentielles agissent sur les tâches brunes de la peau. L'huile essentielle d'Arbre à thé peut régénérer les tissus irradiés par les radiothérapies (**Millet, 2015 ; Raynaud, 2016 ; Benkhaled *et al.*, 2020**).

5. Présentation des plantes étudiées

Notre travail porte sur l'étude de deux espèces de la famille des Lamiacées : *Mentha pulegium* L. et *Lavandula stoechas* L.

5.1. *Mentha pulegium* L. ssp. *pulegium*

Connue sous le nom, la menthe pouliot, le mot « pouliot » vient du latin *pulegium*, qui dérive de *pulex* : la puce ; fait référence à la propriété que possède la plante, est d'éloigner les puces (Dellille, 2007), dont le nom vernaculaire « fliyou » cette plante est largement utilisée en médecine populaire dans de nombreuses cultures (Agnihotri *et al.*, 2005 ; Diaz-Maroto *et al.*, 2007). Elle est représentée par deux sous espèces: *Mentha pulegium* ssp. *vulgaris* et *Mentha pulegium* ssp. *pulegium* (Quézel et Santa, 1962). Cette dernière fera l'objet de notre étude.

5.1.1. Systématique

- **Règne:** Plantes
- **Embranchement:** Phanérogames ou Spermaphytes
- **Sous-embranchement:** Angiospermes
- **Classe :** Dicotylédone
- **Sous-classe:** Gamopétale
- **Ordre:** Lamiales
- **Famille:** Lamiacées
- **Genre:** *Mentha*
- **Espèce:** *Mentha pulegium* Linné, 1753 (Quézel et Santa, 1963).

5.1.2. Description botanique

M. pulegium L. (Figure 10) est une plante à tige dressée, Sa saveur est fortement aromatique et son odeur est intense. Les tiges à section carrée, sont plus ou moins dressées, verdâtres ou grisâtres, très ramifiées. Les feuilles, opposées et petites, sont ovales ou oblongues presque entières (légèrement dentelées ou crénelées) et munies d'un court pétiole. C'est une plante glabre de 10 – 30 cm à inflorescences formées de nombreux verticillatres denses, feuillés et distants (Quézel et Santa, 1963 ; Arvy et Gallouin, 2003). Les fleurs, qui apparaissent en été, de Mai à fin Septembre, sont roses lilas, parfois blanches, et sont groupées à l'aisselle des feuilles en glomérules largement espacés le long de la tige (Quézel et Santa, 1963 ; Arvy et Gallouin, 2003). Le calice est à cinq dents pileuses, à gorge obstruée

de poils à la maturation. La corolle est à gorge pileuse, bossée d'un côté à la gorge (**Beloued, 2003**).



Figure 10. Aspect morphologique de *M. pulegium* L. (**Originale, 2017**).

5.1.3. Utilisation traditionnelle

Les parties aériennes fleuries de la plante sont traditionnellement utilisées pour leurs propriétés antimicrobiennes, expectorantes, carminatives et antispasmodiques dans le traitement du rhume, la bronchite, la tuberculose, la sinusite, utilisée également pour traiter le choléra, les intoxications alimentaires, les flatulences et les coliques intestinales (**Baba Aissa, 2000 ; Delille, 2007 ; Ouakouak et al., 2015**).

La menthe pouliot combat l'ingestion et rétablit les troubles gastriques comme les crampes et les gaz intestinaux, c'est un excellent carminative contre les ballonnements, elle est également cholagogue : efficace contre les brûlures d'estomac (stomachique) (**Baba Aissa, 2000**) et cicatrisante (**Rebbas et al., 2012**). Cette plante a un pouvoir insecticide, elle lutte contre les poux, les moustiques et les puces. Elle protège, rafraichit et nettoie la peau (**Guy, 2005**).

Les feuilles de la menthe pouliot confites ou séchées sont particulièrement appropriées pour parfumer et décorer les plats, les sauces et les soupes, Elle est aussi utilisée pour préparer les tisanes. Le pouliot est surtout employé pour parfumer les savons, les détergents, ainsi que les dentifrices (**Boukenna et Bouzidi, 2007**).

5.1.4. Composition chimique

La composition chimique des huiles essentielles de *M. pulegium* L. a fait l'objet de nombreuses publications. Elle est caractérisée par la présence majoritaire de cétones possédant un squelette menthanique. En effet, les compositions décrites de la menthe pouliot

dans différents pays ont montré la prédominance de la pulegone. La menthe pouliot marocaine est également caractérisée par la dominance de ce constituant: 78.07% (**Sbayou et al., 2016**), 69.8% (**Ait-Ouazzou et al., 2012**). En Egypte Inde la menthe pouliot contient la pulégone (65,9 - 83,1%) (**Agnihotri et al., 2005**); en Algérie 81,4% (**Baali et al., 2019**) et en Turquie (51,17%) (**Jafari et al., 2019**). L'association pipéritone (38% et 35,56%)/ pipériténone (33% et 21,18%) respectivement (**Mahboubi et al., 2008; Derwich et al., 2010**).

La menthe pouliot comprend des métabolites secondaires tels que les flavonoïdes et les acides phénoliques (**Zaidi et al., 1998**). La composition chimique de l'extrait méthanolique de la menthe pouliot a été décrite par plusieurs chercheurs, dont les principaux composés identifiés, sont l'acide rosmarinique, l'acide chlorogénique et la diosmine (**Sankara Subramanian and Nair 1972 ; Dorman et al. 2003 ; Brahmi et al., 2015 ; Taamalli et al., 2015 ; Baali et al., 2021**).

5.2. *Lavandula stoechas* L.

Le mot lavande dérive du verbe laver, il est peut être issu de l'italien *lavando* (action de laver) mais peut remonter au latin *lavare* qui signifie laver et aussi se baigner (**Ryley, 1998**). Elle a été historiquement la première lavande à être formellement décrite et c'est aussi la lavande la plus répandue (**Upton et al., 2000**).

L'espèce *Lavandula stoechas* L. (syn. *Stoechas officinarium* Moench) est communément appelée 'lavande française', 'lavande italienne', 'lavande espagnole', 'lavande des stoechades', 'lavande maritime', 'lavande papillon' ou 'lavande à toupet'. La lavande des stoechades, connue sous le nom vernaculaire arabe de «Helhal, Amezzir, Khûzama» (**Benabdelkader, 2012**).

5.2.1. Systématique

- **Règne:** Plantes
- **Embranchement:** Phanérogames ou Spermaphytes
- **Sous-embranchement:** Angiospermes
- **Classe:** Dicotylédones
- **Sous-classe:** Astéridées
- **Ordre:** Lamiales
- **Famille:** Lamiacées
- **Genre:** *Lavandula*
- **Espèce:** *Lavandula stoechas* Linné, 1753 (**Quezel et Santa, 1963**).

5.2.2. Description botanique

L. stoechas se présente sous la forme d'un arbrisseau ou d'un buisson très aromatique et très ramifié pouvant atteindre un mètre de haut avec une lourde odeur semblable à celle du pin (Figure 11). Les feuilles opposées de 2-4 cm de long sont sessiles, tomenteuses, oblongues, lancéolées, linéaires, étroites et recourbées sur les bords et sont souvent grises. Les inflorescences de coupe carrée sont sessiles, compactes et surmontées d'une couronne de bractées florales violettes, élargies, stériles, obovales ou spatulées de 1 à 2 cm de longueur.

Les bractées fertiles sont largement ovales à obovales-subtrilobées, brièvement acuminées, membraneuses, veinées et plus courtes que le calice. Le Calice est sessile, à treize nervures avec des lobes moyens modifiés en un appendice. La Corolle est de couleur violet foncée ou mauve (**Benabdelkader, 2012**). La floraison, plus précoce que chez les autres lavandes, se déroule d'avril à mai puis en automne (**Giray et Kirici, 2008**).



Figure 11. Aspect morphologique de *L. stoechas* L. (**Originale, 2017**).

5.2.3. Utilisation traditionnelle

L.stoechas est une espèce végétale bien connue et utilisée à travers toutes les régions méditerranéennes pour ses vertus médicinales principalement attribués à sa teneur en H.E. Elle a été largement utilisée par les médecins musulmans pour ses nombreuses vertus, comme céphalique (tonique), résolvente, désobstruante, et carminative. Ils la prescrivaient également pour lutter contre les divers infections pulmonaires (**Said, 1996**).

La plante est également employée traditionnellement dans la médecine populaire comme antispasmodique (**Schulz, 2005**), expectorant, stimulant, (**Giray et al., 2008**) et pour de multiples maladies du système nerveux central, comme l'épilepsie et la migraine, elle est ainsi nommé, 'le balai du cerveau' (**Rabiei et al., 2014**). Elle est de même utilisée sous

forme de fumigation pour soigner "le mal des sinus" (**Simonpoli et al., 1993**), la plante bénéficie d'autres propriétés ; cicatrisante et réparatrice (**Baldovini et al., 1998 ; Hendel et al., 2012 ; Özcan et al., 2018**) utilisée comme désinfectant des plaies contre les problèmes dermiques et l'eczéma (**Gören et al., 2002**), les infections urinaires, les maladies cardiaques (**Baytop, 1999**), elle possède aussi des vertus analgésiques, sédatives, antiseptiques (**Lim, 2014**) et antimicrobiennes (**Zuzarte et al., 2013**).

5.2.4. Composition chimique

La composition chimique des huiles essentielles de la lavande a été décrite par plusieurs chercheurs. Elle renferme comme composés phytochimiques : α pinène, β pinène, borneol, camphre, fenchone, limonene, linalol, luteoline, 1,8-cineole, (**Özcan et al., 2018**). Le fenchone et le camphre constituent les composés majoritaires. La lavande Italienne est également caractérisée par la dominance de ces deux constituants: 37% et 27.3% respectivement (**Zuzarte et al., 2013**), en Espagne 55.79 %, 18.18 % (**Dadalioglyu et Evrendilek, 2004**), en Algérie 50.29% et 14.02% respectivement (**Baali et al., 2019**).

Les principaux flavonoïdes de *L. stoechas* L. identifiés sont apigénine 7-glucoside, lutéoline 7-glucoside et lutéoline 7-glucuronide (**Upson et al., 2000 ; Algieri et al., 2016 ; Celep et al., 2018 ; Baali et al., 2021**).

MATERIEL ET METHODES

1. Matériel

1.1. Matériel végétal

La partie aérienne de deux plantes (*M. pulegium* L ; *L. stoechas* L.) ont été récoltées durant la période Juin 2017 de la wilaya de M'sila et Bouira respectivement (35° 34' N et 4° 30' E pour *M. pulegium* ; 36° 21' N et 4° 16' E pour *L. stoechas*). Des échantillons de *M. pulegium* *L. stoechas* ont été déposés à l'herbier de l'université de M'sila sous les spécimens de référence AB-50 et AB-106 respectivement.

L'identification botanique des deux espèces a été effectuée par le botaniste Mr SARRI Djamel au niveau du département des sciences de la nature et de la vie, Université de M'sila.

Les plantes fraîchement collectées ont été séchées à l'abri de la lumière et conservées dans un endroit sec et à température ambiante.

1.2. Animaux

Des souris *Swiss albinos*, mâles et femelles dont le poids varie entre 25-30 g ont été et des rats femelles Albino Wistar pesant entre 140-220g ont été utilisés. Les animaux ont été procurés auprès de l'Institut Pasteur d'Alger et ont été placés dans des cages en polypropylène dans des conditions normales du laboratoire, 12 h lumière/12 obscurité, à température ambiante (23-25°C), ils ont accès libre à l'eau et à l'aliment standard fourni par l'office national des aliments de bétails (ONAB) de Bejaia. Après une période d'adaptation de 7 jours, les animaux sont pesés, marqués, et soumis à jeun pendant une nuit avant de le début des expérimentation.

2. Méthodes

2.1. Extraction des huiles essentielles

La méthode d'extraction des huiles essentielles utilisée au cours de notre expérimentation est l'hydrodistillation à l'aide d'un dispositif de type « Clevenger ». C'est la méthode préconisée par la Pharmacopée Européenne (**Ph. Eurp., 2008**). Cette technique courante permet de séparer les huiles essentielles à l'état pur et de fournir de meilleurs rendements.

100 g de la partie aérienne séchée des deux plantes sont émiettées puis introduites dans un ballon monocol de 2 L, on y ajoute une quantité suffisante d'eau distillée (1L). Ce dernier

a été ensuite mis à ébullition pendant 3 heures. Les huiles essentielles extraites sont déshydratées avec du sulfate de sodium anhydre, pesées et conservées à 4°C à l'obscurité.

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile récupérée et la masse de la matière végétale. Le rendement est calculé selon la relation suivante :

$$R = \frac{m_{HE}}{m_V} \times 100$$

R : rendement en %

m_{HE} : la masse de l'huile essentielle récupérée en gramme

m_V : la masse de la matière végétale sèche en gramme

2.1.1. Analyses des huiles essentielles par CPG/SM

Les analyses par chromatographie en phase gazeuse (CPG) ont été effectuées sur un chromatographe en phase gazeuse Shimadzu, modèle 17-A équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) et d'un logiciel d'exploitation Class VP Chromatography Data System version 4.3 (Shimadzu). Les conditions analytiques étaient les suivantes : colonne capillaire SPB-5 (15 m x 0,10 mm x 0,15 µm), hélium comme gaz vecteur (1 mL / min). Injection en mode split (1 : 200), avec injection de 1 µL (4% huile essentielle / CH₂Cl₂ v / v), la température de l'injecteur et du détecteur était 250 - 280 °C, respectivement. Vitesse linéaire dans la colonne 19 cm/sec. La température du four a été maintenue à 60 °C pendant 1 minute, puis programmée comme indiqué précédemment (Saija *et al.*, 2016). Les pourcentages de composés ont été déterminés à partir de leurs aires maximales dans les profils CPG-FID.

La chromatographie en phase gazeuse- Spectrophotomètre de masse (CPG-SM) a été réalisée en mode rapide sur un mod Shimadzu CPG-SM (GC-MS-QP5050A), avec la même colonne et les mêmes conditions opératoires utilisées pour l'analyse GC-FID et le logiciel d'exploitation GC-MS solution version 1.02 (Shimadzu). La Tension d'ionisation de 70 eV a été utilisé avec un multiplicateur d'électrons 900 V, et une température de la source d'ions de 180 °C. Les données de spectre de masse ont été acquises dans le mode de balayage dans le rang m/z de 40 à 400. Les mêmes solutions d'huile (1 µL) ont été injectées en mode split (1 :96).

2.1.1.1. Identification des composants des huiles essentielles

L'identification des composants est basée sur leurs indices de rétention CPG (par rapport aux alcanes C₉-C_{22n} sur la colonne SPB-5), sur la correspondance informatique des données spectrales MS avec celles des bibliothèques NIST MS (NIST, 1998), et sur la comparaison des schémas de fragmentation avec ceux rapportés dans la littérature et dans la mesure du possible, par co-injections avec des standards purs authentiques.

2.2. Extraction des composés phénoliques

Les extraits méthanoliques de *L. stoechas* L. et de *M. pulegium* L sont obtenus par macération de 100 g des broyats dans 1 L de méthanol pendant 7 jours à température ambiante, sous agitation magnétique (ratio 1 :10). L'opération est répétée trois fois. Le macéras sont filtrés sur un papier Whatman. Ensuite les filtrats sont évaporés à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif "BÜCHI" à une température moyenne de 45°C. Les extraits obtenus sont séché puis stockés à température de 4°C jusqu'à leurs utilisations (Sharma *et al.*, 2008).

Le rendement en extrait méthanolique (R) est le rapport entre la masse de l'extrait et la masse de la matière végétale utilisée multiplié par 100.

2.2.1. Caractérisation phytochimique

2.2.1.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux présente dans les extraits méthanoliques de *M. peleguim* et *L. stoechas* est estimée par la méthode de folin-Ciocalteau (Aouachria *et al.*, 2017). Ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif de Folin-Ciocalteau en un complexe ayant une couleur bleue constitué d'oxyde de tungstène et de molybdène.

Brièvement ; 1mL de réactif de folin (10 fois dilué) est ajouté à 200µL d'échantillon ou standard (préparé dans le méthanol) avec des dilutions convenables. Après 4 minutes d'incubation, 800µL d'une solution de carbonate de sodium (Na₂CO₃) (7.5%) sont additionnées au milieu réactionnel. Après 2 heures d'incubation à température ambiante, l'absorbance est mesuré à partir d'un spectrophotomètre UV-visible (SECOMAM) à 765nm.

La concentration des phénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (0-90 µg/mL) et est exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g Ex).

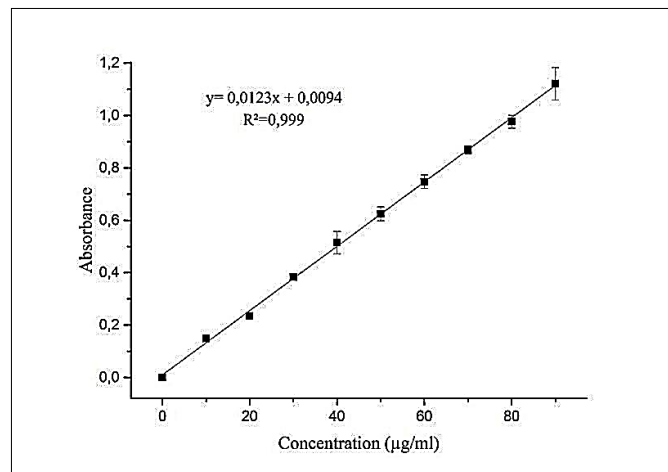


Figure 12. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n = 3).

2.2.1.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes des extraits méthanoliques de *M. peleguim*, *L. stoechas* a été effectué selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) (Djeridane *et al.*, 2006) dont le principe est basé sur la formation d'une liaison covalente entre le trichlorure d'aluminium et les groupements hydroxyles (OH) des flavonoïdes en produisant un complexe de couleur jaune ayant une absorbance maximale à 430 nm.

Un volume de 1 mL d'échantillon ou standard (Quercétine) dilué dans le méthanol est ajouté à 1 mL de la solution AlCl_3 (2% dans le méthanol). Après 10 min d'incubation à température ambiante, l'absorbance est lue à 430 nm.

La concentration des flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage (Figure 13) établie avec la Quercétine (0-30 µg/mL) et est exprimée en milligramme équivalent de Quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g Ex).

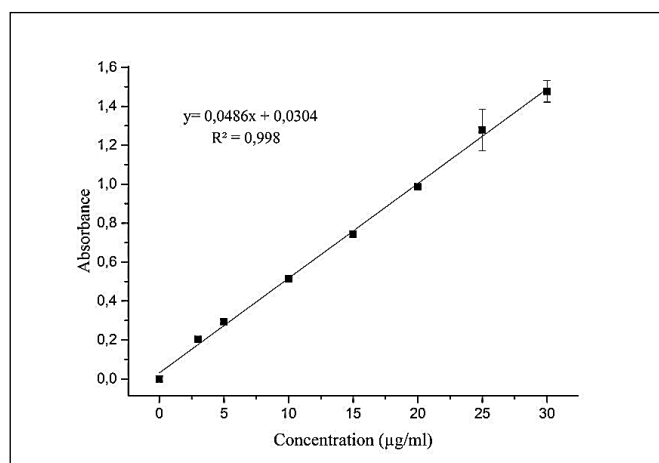


Figure 13. Courbe d'étalonnage de la quercétine. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n = 3).

2.2.1.3. Dosage des flavones et flavonols

Le dosage des flavones et flavonols des extraits méthanoliques de *M. pelegim*, *L. stoechas* a été effectué selon la méthode décrite par (Kosalec *et al.*, 2004).

Brièvement, à 0.5 mL des extraits méthanoliques dans un tube à essai ; sont ajoutés 1.5 mL d'éthanol, 0.1 mL de solution méthanolique de chlorure d'aluminium à 10 % puis 0.1 mL d'acétate de sodium et 2.8 mL d'eau distillé. Après 30 min d'incubation à température ambiante, l'absorbance est lue à partir du spectrophotomètre UV-visible (SECOMAM) à 415 nm.

La concentration des des flavones et flavonols est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la Rutine (30-100 µg/mL) et est exprimée en milligramme équivalent de Rutine par gramme d'extrait (mg ER/g Ex).

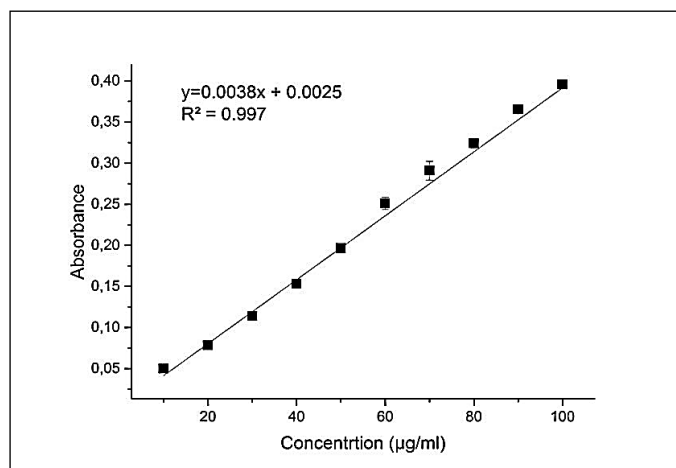


Figure 14. Courbe d'étalonnage de la rutine. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n = 3).

2.2.1.4. Dosage des tanins totaux

La méthode à la BSA décrite par **Hagerman et Butler (1978)** et **Pilarski *et al.* (2006)**, est utilisée pour le dosage des tanins totaux. Cette méthode repose sur la précipitation des tanins en présence de la protéine BSA. Le complexe tanins-protéine BSA réagit avec le chlorure ferrique (FeCl_3), en milieu alcalin et en présence du Dodécyl Sulfate de Sodium (SDS) et du triéthanolamine (TEA), pour former des chélates de couleur violette, dont la formule générale est $\text{Fe}(\text{OR}^{3-})$, où le OR^- représente le polyphénol ionisé.

Dans des tubes à essai, 1 mL de chaque extrait méthanolique est ajouté à 2 mL d'une solution de BSA (1 mg/mL), préparée dans un tampon acétate (pH 4,9 ; 0,20 M). Le mélange est agité immédiatement et incubé à 4 °C pendant 24 heures. Les solutions sont ensuite centrifugées à 3000 tours/min pendant 15 min pour obtenir une meilleure précipitation des complexes tanins-BSA. Le précipité est dissout dans 4 mL d'une solution contenant le SDS (1%) et le triéthanolamine (5%). La solution obtenue est additionnée de 1 mL de FeCl_3 (0,01M) et est mélangée vigoureusement. Après 15 min d'incubation, l'absorbance est mesurée à 510 nm. La concentration des tanins est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide tannique (25-1200 µg/mL). Les résultats sont exprimés en milligramme équivalents d'acide tannique par gramme d'extrait (mg EAT /g Ex).

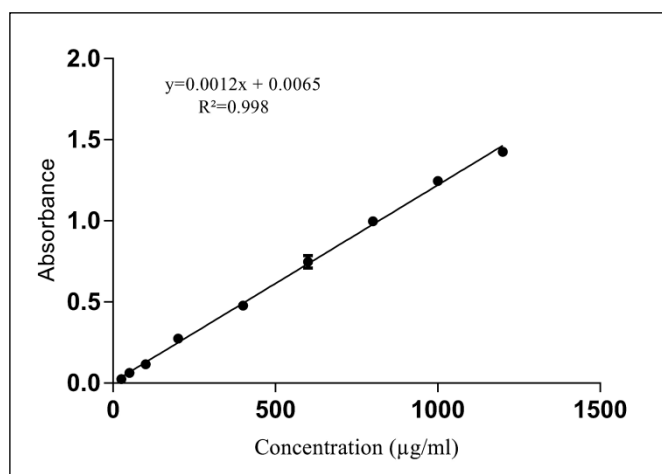


Figure 15. Courbe d'étalonnage de l'acide tannique. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n = 3).

2.2.1.5. Analyse des extraits par RP-LC-DAD-ESI-MS/MS

La caractérisation des polyphénols a été réalisée par une chromatographie liquide en phase inversée couplée à un détecteur de type « Diode Array Detector » (DAD) et à un spectromètre de masse à piège à ions (RP-LC-DAD-ESI-MS/MS).

La séparation chromatographique a été obtenue en utilisant une colonne Luna Omega PS C18 (150 x 2,1 mm, 5 μ m ; Phenomenex, Torrance, CA, USA) à température ambiante et avec un débit de 0,4 mL/min en utilisant une phase mobile constituée du solvant A (acide formique à 0,1%) et du solvant B (acétonitrile) selon le programme d'éluion suivant : 0-3 min, 0% B ; 3-9 min, 3% B ; 9-24 min, 12% B ; 24-30 min, 20% B ; 30-33 min, 20% B ; 33-43 min, 30% B ; 43-63 min, 50% B ; 63-66 min, 50% B ; 66-76 min, 60% B ; 76-81 min, 60% B ; 81-86 min, 0% B ; 86-90 min, 0% B. Le volume d'injection était de 5 μ L et les spectres UV-Vis ont été enregistrés dans la gamme 190-600 nm. Les chromatogrammes ont été acquis à 292 nm pour les acides hydroxycinnamiques et les flavanols, à 330 nm pour les flavones et à 370 nm pour les flavonols.

Compte tenu de cela, la longueur d'onde d'acquisition choisie pour montrer le profil des polyphénols des extraits de *L. stoechas* et de *M. pulegium*, et à laquelle tous les pics identifiés sont visibles, est de 330 nm. Les paramètres expérimentaux du spectromètre de masse (piège à ions modèle 6320) fonctionnant en mode d'ionisation positive (ESI⁺) et négative (ESI⁻) ont été fixés comme suit : la tension capillaire était de 3,5 kV, la pression du nébuliseur (N₂) était de 40 psi, la température du gaz de séchage était de 350 °C, le débit du gaz de séchage était de 9 L/min et la tension de l'écumoire était de 40 V. En utilisant l'hélium comme gaz de collision

($1,46 \times 10^{-5}$ bar). Les spectres de dissociation induite par la collision ont été obtenus avec une amplitude de fragmentation de 1,0 V (MS/MS). Le spectromètre de masse a fonctionné en mode plein balayage dans la gamme m/z 90-1000. Les données ont été acquises par Agilent ChemStation version B.01.03 et par le logiciel de contrôle des pièges version 6.2.

2.3. Etude de l'activité antioxydante *in vitro*

2.3.1. Capacité antioxydante totale (CAT)

La capacité antioxydante totale (CAT) des extraits (Huiles essentielles et extraits méthanoliques) est évaluée par la méthode décrite par **Prieto *et al.* (1999)**. Ainsi, un volume de 0,3 mL de chaque extrait à différentes concentrations est mélangé à 3 mL de solution du réactif (0,6 M acide sulfurique, 28 mM phosphate de sodium et 4 mM molybdate d'ammonium). Les tubes sont incubés au bain-marie à 95°C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695 nm contre un blanc où l'extrait est remplacé par le méthanol.

La capacité antioxydante totale est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide ascorbique (0-250 $\mu\text{g/mL}$) et est exprimée en μg d'équivalent d'acide ascorbique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EAA/mg Ex}$). L'activité de l'extrait est enfin comparée à celle d'un témoin positif, le butylated hydroxytoluene (BHT).

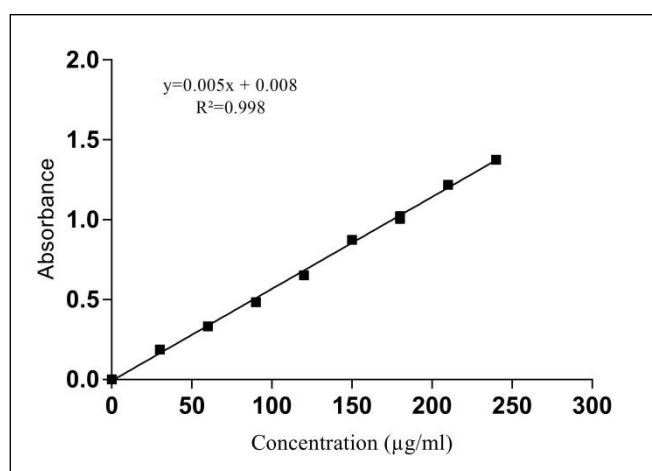


Figure 16. Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD ($n=3$).

2.3.2. Test d'activité anti-radicalaire (DPPH)

Le pouvoir antiradicalaire ou l'effet « scavenger » sur le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) est une méthode indirecte qui est initialement utilisée pour déterminer les donneurs de protons dans les composés naturels.

Le DPPH• (2,2-phényl-1-picryl hydrazyl) est un radical libre de couleur violette qui est réduit en DPPH de couleur jaune en présence de donneurs de protons. L'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à l'activité antiradicalaire. Ce test est réalisé selon le protocole décrit par **Li et al. (2009)**. Un volume de 1 mL de la solution de DPPH• 0.1 mM est ajouté à 3 mL de l'échantillon à différentes concentrations ou du standard (BHT), le mélange est vigoureusement agité puis laissé à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 min. L'absorbance est lue à 517 nm contre un blanc (contenant 3 mL du méthanol et 1 mL de la solution DPPH•). Les essais sont réalisés en triplicata et les résultats sont exprimés selon la relation qui suit :

$$I (\%) = [(A_c - A_t)/A_c] \times 100$$

I : Pourcentage d'inhibition exprimé en %.

A_c: Absorbance de la solution du DPPH (contrôle négatif).

A_t : Absorbance de la solution du DPPH en présence de l'échantillon.

La concentration inhibitrice de 50% du DPPH (IC50) de chaque extrait est calculée et exprimée en µg/mL et comparée avec celle du BHT.

2.3.3. Test de réduction du radical-cation ABTS^{•+}

Le test de piégeage du radical ABTS^{•+} (2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique) est basé sur la capacité d'un antioxydant de le réduire. Le radical ABTS^{•+} en contact avec un donneur d'hydrogène (H) conduit à l'ABTS-H⁺ et à la décoloration de la solution à 734nm (**Marc et al., 2004**).

Ce test a été réalisé selon le protocole décrit par **Re et al. (1999)**. La solution du radical cationique ABTS^{•+} a été préparée en mélangeant 2,45 Mm d'ABTS avec 7 mM de persulfate de potassium. Après 16 heures d'incubation la solution ABTS^{•+} est diluée avec l'eau déminéralisée, afin d'obtenir une absorbance de 0,7±0,05 à 734 nm. Un volume de 2.9 mL de cette solution fraîchement préparée est ajouté à 0.1 mL de différents extraits et l'absorbance est mesurée après 7 min d'incubation à température ambiante. Le trolox a été utilisé comme antioxydant de référence. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition et en

activité antiradicalaire (IC50) de la même façon que ceux décrits précédemment pour le test DPPH.

2.3.4. Test de blanchissement de β -carotène

La capacité des extraits à inhiber la peroxydation lipidique a été étudiée par le test au β -carotène/acide linoléique (Aslan *et al.*, 2006). Elle consiste à mesurer à 490 nm la décoloration du β -carotène résultant de son oxydation par les produits de décomposition de l'acide linoléique. Une émulsion β -carotène/acide linoléique est préparée par dissolution de 0.5 mg de β -carotène dans 1 mL de chloroforme, auxquels sont additionnés 25 μ L d'acide linoléique et 200 mg de Tween 40. Le chloroforme a été évaporé à 40 °C dans le rotavapor "BÜCHI". 100 mL d'eau distillée saturée en oxygène ont été ajoutées au mélange avec agitation vigoureuse. Le mélange réactionnel a été par la suite aliquoté (2.5 mL) dans des tubes à essai, et 350 μ l de chacun des extraits préparés (2 mg/mL pour les extraits et 5 mg/mL pour les huiles essentielles, dans le méthanol) ont été ajoutés. La même procédure a été répétée avec l'hydroxytoluène butylé (BHT ; 2 mg/mL) comme un contrôle positif et avec le méthanol et l'eau distillée comme des contrôles négatifs. Les absorbances ont été lues à 490 nm après 1 heure, 2 h, 3 h, 4 h, 6 h, 24 h et 48 h d'incubation à température ambiante à l'obscurité. Le pourcentage de l'activité antioxydante (% AA) a été calculé ainsi :

$$AA\% = (AE / AEt_0) \times 100$$

AE : absorbance en présence de l'extrait ou BHT

AEt₀ : absorbance en absence de l'extrait ou BHT à t₀

Les valeurs de % AA prises pour la comparaison sont ceux calculées à 24 h.

2.3.5. Pouvoir réducteur du fer (FRAP)

L'activité réductrice d'un extrait est évaluée par la réaction oxydoréduction entre l'extrait et les ions métalliques de transition, notamment le fer (Huang *et al.*, 2005), le ferricyanure de potassium K₃Fe(CN)₆ fournit des ions Fe³⁺ qui seront réduits en Fe²⁺ par les antioxydants présents dans l'extrait végétal. Par conséquent, Fe²⁺ peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu dans le milieu réactionnel à 700nm. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.

Le pouvoir réducteur est déterminé selon la méthode décrite par Oyaizu. (1986). 2,5 mL de différents extraits ou de l'antioxydant standard (Acide ascorbique) à différentes

concentrations est mélangé avec 2,5 mL d'une solution tampon phosphate (0.2M, pH 6.6) et 2,5 mL d'une solution de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ à 1%. Le mélange est incubé au bain-marie (MEMMERT) à une température de 50°C pendant 20 min, ensuite 2,5 mL d'acide trichloracétique (TCA) à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction puis les tubes sont centrifugés (SIGMA) à 3000 rpm pendant 10 min. Un aliquote de (2,5 mL) du surnageant est combiné à 2,5 mL d'eau distillée et 0.5 mL d'une solution aqueuse de $FeCl_3$ à 0,1%. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel est faite à 700nm contre un blanc préparé en remplaçant l'extrait par méthanol.

Les résultats permettent de calculer la concentration effectrice (EC_{50} $\mu g/mL$), concentration de l'extrait correspond à une absorbance égale à 0,5 obtenue par l'interprétation de la courbe de régression linéaire. L'activité de l'extrait est enfin comparée à celle de témoin positif (Acide ascorbique).

2.3.6. Chélation du fer ferreux

La capacité chélatrice des extraits des plantes est déterminée selon la méthode de **Le et ses collaborateurs (2007)**. La méthode est basée sur l'inhibition de la formation du complexe Fe(II)-Ferrosine après le traitement des échantillons avec les ions Fe^{2+} . 500 μL de solutions d'extraits ou du standard (EDTA) à différentes concentrations sont mélangées avec 100 μL de $FeCl_2$ (0.6 mM) et 900 μL de méthanol. Après 5 min d'incubation, 100 μL de ferrozine (5 mM) sont ajoutées au milieu réactionnel, le mélange est agité et laissé réagir pendant 10 min pour permettre la complexation du fer résiduel. L'absorbance du complexe Fe^{2+} -ferrosine est mesurée à 562 nm.

L'activité chélatrice est exprimée en pourcentage en utilisant l'équation ci-dessous:

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

Ac : Absorbance du contrôle

At : Absorbance du test

Les concentrations (EC_{50}) des deux extraits qui produisent 50% d'activité chélatrice ont été calculées.

2.3.7. Activité antioxydante ORAC

La capacité d'absorption des radicaux oxygène a été évaluée selon **Barreca et al. (2016)**. 20 μL des différents extraits dilué dans une solution tampon de phosphate 75 mM (pH 7,4) a été mélangé avec 120 μL d'une solution de fluorescéine fraîchement préparée à 117 nM.

Après 15 minutes d'incubation à 37 ° C, 60 µL de solution de 2,2'-azo-bis (2-amidinopropane) HCl (AAPH) fraîchement préparée (40 mM) ont été ajoutés. La fluorescence a été surveillée toutes les 30 secondes pendant 90 min (λ_{ex} 485 nm; λ_{em} 520 nm) en utilisant un lecteur de microplaque à fluorescence (Fluostar Omega, BMG Labtech, Ortenberg, Allemagne). Pour le control, en utilisant un tampon phosphate au lieu de l'échantillon et le trolox a été utilisés comme antioxydant de référence (10-100 µM). Les résultats sont exprimés sous forme de pourcentage d'inhibition (%) de la décroissance de la fluorescence en utilisant l'équation suivante :

$$I (\%) = [(A_c - A_t)/A_c] \times 100$$

I : Pourcentage d'inhibition exprimé en %.

A_c : fluorescence de la solution de l'APPH sans échantillon.

A_t : fluorescence de la solution de l'APPH en présence de l'échantillon.

La concentration inhibitrice de 50 % d'AAPH (IC₅₀) de chaque extrait a été par la suite calculée.

2.3.8. Activité anti-hémolytique

L'activité anti hémolytique des extraits a été évaluée comme décrit par **Aman et al. (2013)**. L'AAPH a été utilisé comme un générateur de radicaux libres. L'AAPH se décompose en milieu aqueux et en présence de molécules d'oxygène, il produit les radicaux peroxy, afin de stimuler une série d'oxydation radicalaire de la membrane des globules rouges. Le sang des souris sains a été collecté dans des tubes héparinés et centrifugés à 4000 rpm pendant 10 min, ensuite les globules rouges ont été lavés trois fois par le tampon phosphate PBS (pH 7.4). Les érythrocytes ont ensuite été dilués avec PBS pour donner une suspension à 20%.

500 µl de différentes concentrations des extraits méthanoliques de *L. stoechas* (EX LS), de *M. pulegium* (EX MP) et de l'acide ascorbique ont été ajoutés à 500 µL de la suspension érythrocytaire (RBC). Le mélange a été incubé pendant 5 min à température ambiante, ensuite 500 µL de solution AAPH (200 mM) a été ajouté, ce qui provoque après 3h à 37°C d'incubation environ 90% d'hémolyse des cellules sanguines. Après incubation, 8 volumes de PBS ont été ajoutés et le mélange réactionnel a été centrifugé (4000 rpm, 10 min) l'étendue de l'hémolyse a été déterminée en mesurant l'absorbance à 540 nm correspondant à la libération de l'hémoglobine, contre un blanc préparé en remplaçant le volume d'extrait et le PBS par

l'eau distillé. Les lectures des essais sont réalisées en triplicata pour chaque concentration. Le taux d'hémolyse (H) est calculé selon la formule ci-dessous :

$$H (\%) = [(Ac - At)/Ac] \times 100$$

H (%) : Taux d'hémolyse

Ac: Absorbance de contrôle négative.

At: Absorbance de l'échantillon (test).

Les concentrations (EC50) des deux extraits qui produisent 50% d'hémolyse ont été calculées.

2.4. Evaluation de l'activité antibactérienne

2.4.1. Méthode des disques

La méthode de diffusion sur disques en milieu gélosé est utilisée pour la détermination de l'activité antibactérienne des extraits et des huiles de deux plantes selon la méthode décrite par **Abdelli et al, (2016)** en présence de quatre souches bactériennes pathogènes dont 2 souches bactériennes Gram positif (*Staphylococcus aureus* ATCC 25 923, *Bacillus subtilis* ATCC 66 33) et 2 Gram négatif (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27 853, *Escherichia coli* ATCC 25 922), référentielles de l'American Type Culture Collection (ATCC). Ces souches nous ont été fournies aimablement par les responsables du laboratoire de Microbiologie du complexe Antibiotical SAIDAL de Médéa et de l'Institut Pasteur.

Les souches bactériennes ont été réactivées afin d'obtenir des cultures jeunes en phase de croissance exponentielle. Elles ont été repiquées sur bouillon nutritive et incubées à 37 °C pendant 18 à 24 h. Une ou plusieurs gouttes de chaque culture pure ont été prélevées et suspendues dans 10 mL d'eau physiologique stérile pour obtenir une turbidité équivalente à 0.5 McFarland (**Aycan et al., 2015**). Les concentrations bactériennes de l'inoculum sont évaluées par turbidité et sont exprimées par la mesure de la densité optique (DO) à 600 nm sur un spectrophotomètre (SECOMAM). Une DO de 0,08 à 0,1 correspond à une concentration de 10⁶ UFC/mL (units forming colony/ mL) (**Athamena et al., 2010**).

La gélose Mueller-Hinton (MH) stérilisées, est distribuée dans des boîtes de Petri stériles de 9 cm de diamètre à raison de 15 mL par boîte, après solidification, elles ont été inoculées avec les microorganismes testés. Les disques de 6 mm de diamètre (papier Wattman n°1)) imprégnés de 10 µl des extraits à étudier, dissous dans le diméthyle sulfoxyde 10% (DMSO) à différentes concentrations, ils sont ensuite placés sur les géloses. Les boîtes de

Petri sont maintenues à 4 °C pendant 2 h pour les huiles puis incubées à 37 °C pendant 24. Les disques témoins sont imprégnés de DMSO. Les essais sont réalisés en triplicata dans les mêmes conditions expérimentales. En parallèle la Gentamicine 10µg (GM) a été utilisée comme control positif. Les diamètres des zones d'inhibition (mm) ont été mesurés, y compris le diamètre des disques. Cette mesure est souvent transcrite dans différents symboles proportionnels à l'activité antimicrobienne (Tableau 5).

Tableau 5. Echelle de sensibilité des germes (**Djabou et al., 2013**).

Inhibition* mm	Transcription	Sensibilité
0	0	Résistant
<8	±	Non sensible
8 < Ø < 14	+	moyennement sensible
14 < Ø < 20	++	Sensible
> 20	+++	Extrêmement sensible

* valeur du diamètre du disque imbibé soustraite.

2.4.2. Détermination des CMI

L'effet bactériostatique des extraits étudiés est évalué en déterminant la concentration minimale inhibitrice (CMI) par la méthode des microdilutions (**Kpodekon et al., 2013**). La CMI est définie comme la plus faible concentration de l'extrait à laquelle le micro-organisme ne montre aucune croissance visible (**Haddouchi et al., 2016**). Tous les tests ont été effectués dans le milieu Mueller Hinton en bouillon (MHB). Des dilutions en série au demi ont été préparées dans des microplaques de microtitration de 96 puits dans la gamme de concentrations choisie. Les souches, dont la concentration finale a été ajustée à 10⁶ UFC/ML et le rouge de phénol (0,02g/l) a été utilisé comme indicateur de la croissance des microorganismes. Les microplaques ont été incubées, à 37 °C pendant 24 h.

2.5. Etude Toxicologique

2.5.1. Toxicité orale aiguë

Le test de toxicité orale aiguë a été évalué conformément à la ligne directrice n° 423 de l'OCDE pour les essais des substances chimiques adoptées le 17 décembre 2001, suivant l'essai limite à 2000 mg/kg de poids corporel (**OCDE, 2001**). L'essai a été réalisé sur 27 souris femelles *Swiss albinos*. Après 4 h de jeûne pour enrayer toute interaction digestive alimentaire, elles ont été réparties selon l'homogénéité de leur poids de la façon suivante : lot

témoin constitué de 3 femelles recevant de l'eau physiologique (NaCl 0.9%), pour chaque type d'extrait (extraits méthanoliques et huiles essentielle) ; 2 lots expérimentaux constitués de 3 femelles séparément recevant l'extrait, à dose de 2000 mg/kg de poids corporel en dose unique par voie orale à raison de 1 mL/100g de poids corporel et leur comportement a été observé ainsi que le nombre de décès sur une période de 14 jours. Au cas où il y'a 2 ou 3 mort dans le lot de souris traitées, un lot supplémentaire de 3 souris devrait recevoir à nouveau les extraits (extraits méthanoliques et/ou huiles essentielle) à 300 mg/kg.

2.5.1.1. Observations

Les souris traitées sont observées individuellement toutes les 30 minutes et régulièrement pendant 24 heures, avec une attention particulière pendant les 4 premières heures. Ensuite, elles étaient ensuite observées quotidiennement pendant 14 jours, afin de noter le comportement des souris, les symptômes manifestés ainsi que la mortalité. Pendant cette période toutes les variations comportementales et symptomatiques observées à l'œil nu sont reportées. Les principaux signes cliniques recherchés sont l'apparence physique externe (aspect et chute des poils), les signes cliniques mesurables (changements des rythmes cardiaque et respiratoire, contraction abdominale, diarrhée, sommeil et coma) et enfin le changement du comportement (posture, grattage, agressivité, sensibilité au bruit et à la lumière, hypersalivation, ...etc.).

2.5.1.2. Evolution du poids corporel

Le poids corporel des souris utilisées dans cette étude a été mesuré, peu de temps avant l'administration de l'échantillon, et après chaque 7 jours du début du test de la toxicité aigüe (0, 7^{ème} et 14^{ème} jours).

2.5.1.3. Préparation du plasma et analyse biochimique

Au 14^{ème} jour de l'expérience, les animaux ont été mis à jeun durant 4 h, avant le sacrifice. Le sang est récupéré dans des tubes héparinés est soumis à une centrifugation à 3000 rpm pendant 10 min à 4°C. Le plasma obtenu est aliquoté et conservé à froid afin de doser l'urée, créatinine, transaminase glutamate oxaloacétate (TGO), transaminase glutamate pyruvate (TGP) et phosphatase alcaline (PAL) à l'aide des kits commerciaux (Spinreact, Espagne).

2.5.1.4. Masses relatives des organes

Les organes (foie, reins, cœur) ont été prélevés rapidement et pesés. Le poids relatif des organes de chaque animal a ensuite été calculé en rapportant le poids absolu des organes et le poids corporel de l'animal le jour du sacrifice. Le poids relatif de chaque organe a été calculé suivant la formule :

$$Pr = \frac{Po}{Pa} \times 1000$$

Pr : poids relatif de l'organe (g/kg) ;

Po : poids de l'organe (g) ;

Pa : poids corporel de la souris (g).

2.5.1.5. Examens histologiques

Après sacrifice des souris, les reins et le foie ont été récupérés, ces derniers ont été rincés avec une solution salée à 0,9%, pesés et fixés dans du formol à 10 %. Les coupes histologiques sont préparées au niveau du laboratoire privé d'anatomopathologie Bordj Bou-Argeridj sous la direction de Dr. BENBACHA Faycal. Ces échantillons sont déshydratés par passage dans trois bains d'éthanol successifs de 8h à 16h (70-75° ; 90-95° et 100°). Ensuite ils sont éclaircis dans deux bains de quelques heures de xylène et inclus dans la paraffine par deux bains successifs à 60°C pendant quelques heures chacun (**Marque, 2010**). L'inclusion définitive est ensuite réalisée dans des moules métalliques contenant de la paraffine fondue par chauffage à 60°C. Après refroidissement, les blocs de paraffines obtenus sont coupés par un microtome (LEICA RM 2145). Les coupes de 5 µm d'épaisseur obtenues sont étalées sur des lames et séchées pendant 1 heure à 37°C pour être réhydratées et colorées à l'hématoxyline-éosine. Les analyses des différents organes (foie et reins) ont été effectuées à l'aide d'un microscope Optika B-500BPL (10 et 40×) afin de vérifier les altérations des tissus.

2.5.2. Toxicité orale subaiguë des extraits méthanoliques et évaluation de leurs activités antioxydantes *In vivo*

2.5.2.1. Traitement des animaux

Cette étude est réalisée dans le but de rechercher les organes et les fonctions touchés par extraits méthanoliques administrés quotidiennement, en une période de 21 jours. Des souris mâles, *Swiss albinos*, adultes de poids variant entre 25 et 30 g ont été répartis selon l'homogénéité de leurs poids en plusieurs lots expérimentaux de 8 animaux chacun. L'administration des extraits se fait par voie orale quotidiennement durant trois semaines (Tableau 6).

Tableau 6. Répartition et doses gavées pour chaque groupe.

Groupe	Solution gavée	Dose (mg/Kg)
T	NaCl (0.9 %)	/
Vit C	Vit C	100
LS D1	EX LS	200
LS D2	EX LS	400
LS D3	EX LS	800
MP D1	EX MP	200
MP D2	EX MP	400
MP D3	EX MP	800

T : Témoins ; Vit C : Vitamine C ; LS D1, D2 et D3 : *L. stoechas* doses 1, 2 et 3 (200, 400 et 800 mg/Kg respectivement) ; MP D1, D2 et D3 : *M. pulegium* 1, 2 et 3 (200, 400 et 800 mg/Kg respectivement) ; EX LS : extrait *L. stoechas* ; EX MP : extrait *M. pulegium* .

Les différents traitements ont été administrés par voie orale une fois par jour pendant 21 jours (**Baghiani et al., 2013**).

Le poids corporel de toutes les souris a été noté avant le traitement (jour 0), au jour 7, au jour 14 et au jour 21 du traitement.

2.5.2.2. Préparation du plasma et analyse biochimique

Afin de déceler d'éventuels effets toxiques des extraits étudiés, le sang des souris après 21 jours d'expérimentation a été récupéré dans des tubes héparinés puis centrifugés à 3000 g pendant 10 min à 4°C. Le plasma obtenu est divisé en deux parties, une partie pour déterminer

l'activité antioxydante par le test de DPPH, l'autre partie pour explorer certains paramètres biochimiques notamment les paramètres sériques en relation avec la fonction hépatique (TGO, TGP et PAL) et la fonction rénale (créatinine, urée) en utilisant des kits commerciaux (Spinreact, Spain).

2.5.2.3. Test de capacité antioxydante plasmatique (DPPH *in vivo*)

La capacité du plasma à piéger le radical DPPH a été évaluée selon la méthode de **Moldovan et ses collaborateurs (2017)** avec quelques modifications. Brièvement, un volume de 25 µL de plasma est additionné à 625 µl de la solution méthanolique de DPPH (0,004%). Après 30 min d'incubation à l'obscurité suivie d'une centrifugation, l'absorbance à 517 nm est mesurée. La capacité antioxydante plasmatique (CAP) a été ensuite calculée selon l'équation mentionnée ci-dessus (voir la partie 2.1.2).

2.5.2.4. Masses relatives des organes, Préparation de l'homogénat et examens histologiques

Les reins et le foie ainsi récupérés, sont pesés. Le poids relatif des organes de chaque animal a ensuite été calculé en rapportant le poids absolu des organes et le poids corporel de l'animal le jour du sacrifice.

Pour chaque animal, le foie est divisé en deux parties, l'une des parties avec les reins pour être fixés dans du formol à 10 % pour analyse histologique. Les coupes histologiques sont préparées au niveau du laboratoire privé d'anatomopathologie de Bordj Bou-Arredj sous la direction de Dr. BENBACHA Faycal. Les coupes de 5 µm d'épaisseur obtenues sont étalées sur des lames et séchées pendant 1 heure à 37°C pour être réhydratées et colorées à l'hématoxyline-éosine. Les analyses des différents organes (foie et reins) ont été effectuées à l'aide d'un microscope Optika B-500BPL (10 et 40×) afin de vérifier les altérations des tissus.

L'autre partie du foie est coupée en petits morceaux, pesée et enfin homogénéisée à l'aide d'un homogénéisateur électrique dans une solution de KCl 1.15% à raison de 10% p/v. L'homogénat obtenu est centrifugé à 4000 tours/minute pendant 10 minutes afin d'éliminer les débris cellulaires. Ensuite, le surnageant est récupéré dans des tubes secs et stocké à -20°C jusqu'à quantification des marqueurs de stress oxydant : CAT, GSH et MDA. La concentration en protéines dans le surnageant a été mesurée en utilisant un kit commercial (Spinreact, Spain).

2.5.2.5. Estimation de l'activité enzymatique de la catalase

La méthode utilisée pour le dosage de l'activité enzymatique de la catalase (CAT) est celle d'**Aouachria et al. (2017)** dont le principe est basé sur la diminution de l'absorbance à 240 nm qui est due à la décomposition du superoxyde d'hydrogène (H₂O₂) en présence de la catalase. Dans une cuve en quartz 50 µl de l'homogénat chaque échantillon est mélangé à 2.95 mL d'une solution de H₂O₂ à 19 mM préparée dans le tampon phosphate de potassium pH 7.4 (0.1M). La diminution de l'absorbance est suivie pendant deux minutes à des intervalles de 30 secondes. L'activité de la catalase tissulaire est exprimée en : µmole de H₂O₂/ minute / mg protéine. Le coefficient d'extinction de H₂O₂ (43,6 M⁻¹cm⁻¹) a été utilisé pour déterminer l'activité de catalase.

2.5.2.6. Estimation de GSH

Le dosage du glutathion (GSH) au niveau du foie, a été réalisé selon la méthode de **Aouachria et al. (2017)**. La formation de GSH peut être détectée indirectement grâce à l'ajout de l'acide 5,5' -dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB). Le groupe sulfhydryl (-SH) du glutathion réagit spontanément avec le DTNB et forme un composé jaune, l'acide 5-thio-2-nitrobenzoïque (TNB) ce qui permet sa quantification spectrophotométrique à 412 nm. Brièvement, 5 mL de tampon phosphate de potassium pH 8 (0.1M) est mélangé avec 25 µl du surnageant. A un volume de 1,5 mL de ce dernier mélange sont ajoutés 10 µl de DTNB (0,01 M). La quantité de GSH présente dans le tissu a été calculée à l'aide du coefficient d'extinction DTNB soit $1,36 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ à 412 nm et exprimée en nmoles / g de tissu du foie.

2.5.2.7. Estimation de MDA

Le malondialdéhyde (MDA) est l'un des produits terminaux formés lors de la décomposition des acides gras polyinsaturés sous l'effet des radicaux libres, libérés au cours du stress. La peroxydation des lipides dans le foie est évaluée par le dosage de MDA selon la méthode de **Aouachria et al. (2017)**. En milieu acide et à chaud (pH 2 à 3, 100 °C) une molécule de MDA est condensée avec deux molécules d'acide thiobarbiturique (TBA), pour former un complexe coloré en rose (lecture à 535 nm), extractible par le solvant organique comme le butanol. En bref, une aliquote (0.5 mL) de l'homogénat a été ajoutée à 0.5 mL de TCA à 20% et 1 mL de TBA à 0.67%. Le mélange a ensuite été porté à ébullition pendant 20 minutes à 100°C, refroidit puis additionné à 4 mL de n-butanol. Après centrifugation à 3000

rpm pendant 15 minutes, l'absorbance du surnageant a été mesurée par le spectrophotomètre à 530 nm. La concentration de MDA a été calculée en utilisant le coefficient d'extinction à $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ à 530 nm et exprimé en nanomoles MDA / g de tissu du foie.

2.6. Evaluation de l'activité cicatrisante *in vivo*

2.6.1. Préparation de l'onguent

L'onguent est préparé selon une méthode traditionnelle, en mélangeant les extraits (méthanoliques et huiles essentielles) des deux plantes avec la vaseline. Quatre onguents ont été testés: deux onguents à base des extraits méthanolique et deux onguents à base des huiles essentielles à deux différentes concentrations (5% et 10% chacun) (Megha *et al.*, 2012).

2.6.2. Test d'irritation cutanée

Le but de cette étude est d'évaluer le potentiel irritant des différents onguents testés, elle est conduite en conformité avec la ligne directrice de l'OCDE n° 404 (OCDE, 2015).

Les rats sont traités par une application unique de 0.5 g de chaque onguent au dos. La peau des animaux est observée, dont le but de détecter des signes d'inflammations (érythème et œdème) et la cotation des réactions est effectuée au bout de 60 minutes, ensuite après 24, 48 et 72 heures après l'application (OCDE, 2015).

2.6.3. Activité cicatrisante

Les animaux sont anesthésiés par une injection intrapéritonéale de kétamine (Ketasol®, 75 mg / kg de p.c.) et de xylazine (Xylazin Bio®, 5 mg / kg de p.c.) (Mashreghi *et al.*, 2013). Un cercle de 2.5 cm de diamètre est tracé sur la peau de la région dorsolombaire puis il est excisé selon la figure 17.

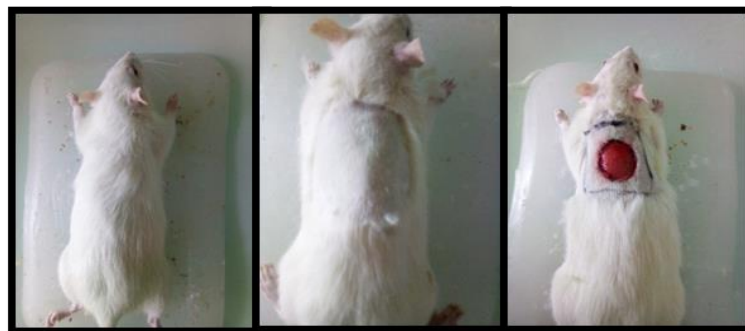


Figure 17. Les différentes étapes de l'excision (Originale, 2019).

Les plaies d'excision sont immédiatement traitées après l'intervention chirurgicale selon le tableau 7. Les animaux sont placés dans des cages individuelles avec des litières propres. Les différentes préparations sont appliquées topiquement à raison de 0,5 g par rat une fois par jour jusqu'à réépithélisation complète (**Pipelzadeh et al., 2003**).

Tableau 7. Différents groupes et leurs traitements.

Groupes	Traitements
NT	Non Traité
CIC	Cicatryl (Médicament de référence)
OEML 5%	Onguent Extrait Méthanolique <i>Lavandula</i>
OEML 10%	Onguent Extrait Méthanolique <i>Lavandula</i>
OEMM 5%	Onguent Extrait Méthanolique <i>Mentha</i>
OEMM 10%	Onguent Extrait Méthanolique <i>Mentha</i>
OHEL 5%	Onguent Huiles Essentielles <i>Lavandula</i>
OHEL 10%	Onguent Huiles Essentielles <i>Lavandula</i>
OHEM 5%	Onguent Huiles Essentielles <i>Mentha</i>
OHEM 10%	Onguent Huiles Essentielles <i>Mentha</i>
VAS	Vaseline

2.6.4. Suivi des animaux avant sacrifice

2.6.4.1. Poids corporel

L'évolution du poids corporel moyen de chaque lot a été suivie durant toute la durée de l'expérimentation, chaque trois jour grâce à une balance de paillasse (KERN).

2.6.4.2. Pourcentage de contraction des plaies

Le diamètre des plaies d'excision est mesuré tous les 3 jours pendant la période d'essai, en traçant la plaie sur papier transparent et en les mesurant par la suite grâce au papier millimétrique. Le pourcentage de l'évolution de la contraction des plaies est calculé selon la formule suivante (**Tamri et al., 2014**) :

$$\% \text{ Contraction de la plaie} = \frac{\text{La taille initiale} - \text{La taille d'une journée spécifique}}{\text{La taille initiale}} \times 100$$

2.6.5. Examens histologiques

A la fin de l'expérimentation, les rats sont sacrifiés. 1cm de la peau saine et cicatrisée est excisé. Les échantillons sont fixés dans du formol (10%) pendant 72h. Les coupes histologiques sont préparées au niveau du laboratoire privé d'anatomopathologie Bordj Bou-Argeridj sous la direction de Dr. BENBACHA Faycal. Ces échantillons sont déshydratés par passage dans trois bains d'éthanol successifs de 8h à 16h (70-75° ; 90-95° et 100°). Ensuite ils sont éclaircis dans deux bains de xylène et inclus dans la paraffine par deux bains successifs à 60°C (**Marque, 2010**). L'inclusion définitive est ensuite réalisée dans des moules métalliques contenant de la paraffine fondue par chauffage à 60°C. Après refroidissement, les blocs de paraffines obtenus sont coupés grâce à un microtome (LEICA RM 2145). Les coupes de 5 µm d'épaisseur obtenues sont étalées sur des lames, séchées pendant 1 heure à 37°C puis réhydratées et colorées à l'hématoxyline-éosine. Les analyses de la peau ont été effectuées à l'aide d'un microscope Optika B-500BPL (4 et 20×) afin de vérifier les altérations des tissus.

2.7. Analyses statistique

Les résultats des différents tests effectués *in vitro* et *in vivo* sont exprimés en moyenne \pm SD et moyenne \pm SEM, respectivement. La comparaison des moyennes et des variances est déterminée grâce au logiciel Graphpad Prism version 7.0. Les résultats des différents tests ont été analysés par ANOVA univariée, suivie du test de Dunnett pour les comparaisons avec les standards ou test de Tukey's pour les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification. Les valeurs de $p \leq 0.05$ sont considérées statistiquement significatives.

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Analyses phytochimiques

1.2. Rendement des huiles essentielles

Les huiles essentielles des deux plantes étudiées sont obtenues par la méthode d'hydrodistillation de type clevenger. L'huile essentielle de la plante *L. stoechas* (HE LS) est de couleur jaune foncée, de saveur piquante et d'odeur fortement aromatique. L'huile essentielle de la deuxième plante *M. pulegium* (HE MP) est de couleur jaune très pale, de saveur douce et d'odeur très aromatique.

L'hydrodistillation a donné un rendement de $1,46 \pm 0,06\%$ pour *L. stoechas*; ce résultat est similaire à ceux obtenus par **Benabdelkader (2012)** provenant de plantes algériennes (1,63%) et supérieur à ceux rapportés par **La Bella et al. (2015)** et **Tuttolomondo et al. (2015)** du sud de l'Italie (0.37% et 1.08% respectivement).

L'HE des parties aériennes de *M. pulegium* a donné un rendement ($3,96 \pm 0,12\%$) important comparant aux résultats obtenus par certaines études. Ainsi, les rendements obtenus par les travaux menés par **Ait-Ouazzou et al. (2012)** et **Beghidja et al. (2007)** sont de 1,66% et 2,70% du maroc et 2,19 d'Algerie respectivement. Cependant **Zekri et al. (2013)** ont obtenus des rendements allant jusqu'à 5.29% à 6.2% pour la menthe pouliot du Maroc. Ce résultat est nettement supérieur à celui rapporté par **Beghidja et al. (2007)** et **Abdelli et al. (2016)** qui ont étudié la menthe pouliot de plusieurs régions de l'Algérie ; Jijel ainsi que Bouira dont les rendements en HE étaient de 1.16 à 2.19% et 1.45%, respectivement.

1.2.1. Identification chimique des huiles essentielles

La composition chimique des HE de *L. stoechas* et de *M. pulegium* a été déterminée par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) conformément aux indices de Kovats et en comparant avec la littérature, 68 composés ont été identifiés pour l'HE de *L. stoechas* (représentant 93.51 % de la composition globale de l'HE) et 27 composés pour l'HE de *M. pulegium* (représentant 98.06 % de la composition globale de l'HE). Les chromatogrammes de cette analyse CPG/SM est présenté dans la figure 18.

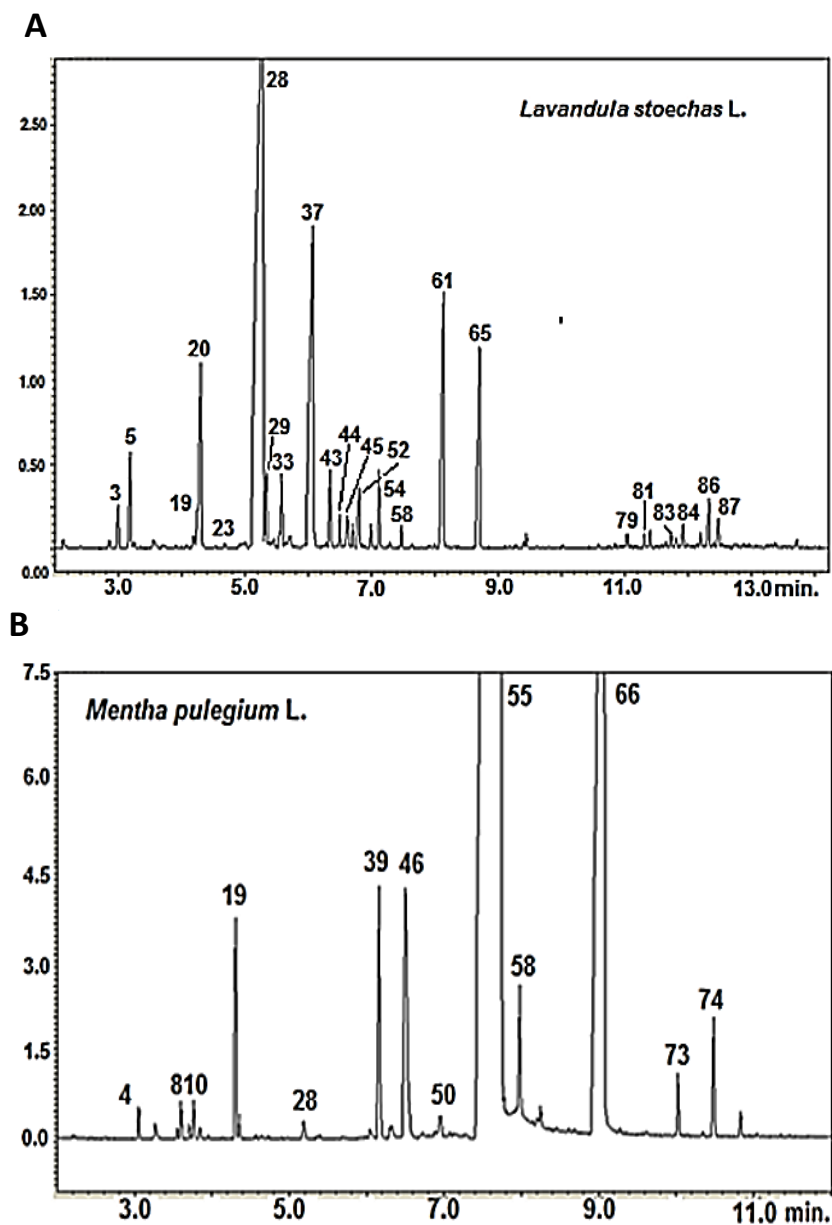


Figure 18. Profils chromatographiques des huiles essentielles par CPG/SM.

A : *L. stoechas* ; B : *M. pulegium*.

Les Monoterpènes oxygénés représentent la fraction prédominante des HE de *L. stoechas* et *M. pulegium* (87,21% et 96,26%, respectivement suivie des Monoterpènes hydrocarbonés (4,52% et 1,03%, respectivement) et des fractions Sesquiterpéniques (1,25% et 0,56%, respectivement) (Tableau 08). Les numéros de pics se réfèrent au tableau 8.

Tableau 8. Composition chimique des huiles essentielles *L. stoechas* et de *M. pulegium* .

N ^a	IR ^b	IR ^c	Classe/Composé	<i>L. stoechas</i>	<i>M. pulegium</i>
			Monoterpènes hydrocarbonés	4.52 ± 0.070	1.03 ± 0.008
2	926	926	Tricyclene	0.15 ± 0.001	-
3	937	930	α-Thujene	0.87 ± 0.003	-
4	939	939	α-Pinene	-	0.09 ± 0.001
5	953	954	Camphene	1.94 ± 0.009	-
7	958	960	Thuja-2,4(10)-diene	0.11 ± 0.000	-
8	980	975	Sabinene	0.04 ± 0.002	0.03 ± 0.000
10	980	979	β-Pinene	-	0.11 ± 0.002
13	992	990	Myrcene	0.05 ± 0.008	0.13 ± 0.004
15	1005	1003	<i>p</i> -Mentha-1(7),8-diene	-	0.01 ± 0.002
16	1013	1011	δ-3-Carene	0.01 ± 0.001	-
17	1019	1017	α-Terpinene	0.04 ± 0.000	0.01 ± 0.002
18	1027	1020	<i>p</i> -Cymene	0.30 ± 0.010	-
19	1032	1029	Limonene	0.95 ± 0.062	0.63 ± 0.003
22	1048	1044	<i>E</i> -β-Ocimene	-	t
23	1062	1059	γ-Terpinene	0.08 ± 0.002	0.01 ± 0.001
			Monoterpènes oxygénés	87.21 ± 0.271	96.26 ± 0.096
20	1035	1031	1,8-Cineole	2.98 ± 0.085	-
24	1078	1073	<i>trans</i> -Linalool oxide (furanoid)	0.08 ± 0.001	-
25	1079	1072	<i>cis</i> -Linalool oxide (furanoid)	0.18 ± 0.048	-
26	1088	1082	Camphenilone	0.11 ± 0.008	-
27	1090	1088	<i>p</i> -Mentha-2.4(8)-diene	-	0.01 ± 0.000
28	1095	1086	Fenchone	50.29 ± 0.380	0.06 ± 0.384
29	1102	1096	Linalool	1.28 ± 0.006	-
30	1105	1099	α-Fenchocamphorone	0.02 ± 0.008	-
32	1113	1112	<i>endo</i> -Fenchol	0.04 ± 0.001	-
33	1119	1116	<i>exo</i> -Fenchol	1.28 ± 0.009	-
34	1130	1126	α-Campholenal	0.20 ± 0.054	-
35	1143	1136	<i>cis</i> -Limonene oxide	-	0.02 ± 0.001
36	1144	1139	<i>trans</i> -Pinocarveol	0.08 ± 0.014	-
37	1151	1146	Camphre	14.02 ± 0.068	0.02 ± 0.001
38	1155	1148	<i>neo</i> -Isopulegol	0.14 ± 0.041	-
39	1158	1153	Menthone	-	0.93 ± 0.003
40	1168	1164	Pinocarvone	0.06 ± 0.001	-
42	1170	1162	<i>iso</i> -Menthone	-	0.05 ± 0.001
43	1172	1169	Borneol	1.11 ± 0.009	-
44	1177	1174	<i>cis</i> -Linalool oxide (pyranoid)	0.01 ± 0.007	-
45	1182	1177	Terpinen-4-ol	0.40 ± 0.012	-
46	1185	1180	<i>trans-p</i> -Menth-8-en-3-one	-	1.35 ± 0.005
48	1189	1182	<i>p</i> -Cymen-8-ol	0.58 ± 0.003	-

49	1192	1189	<i>p-trans</i> -Mentha-1(7).8-diene-2-ol	0.03 ± 0.000	
50	1194	1189	α-Terpineol	0.29 ± 0.001	0.08 ± 0.002
51	1199	1195	Myrtenal	0.33 ± 0.082	-
52	1200	1195	Myrtenol	1.36 ± 0.214	-
53	1214	1229	Verbenone	0.38 ± 0.059	-
54	1223	1232	<i>exo</i> -Fenchyl acetate	0.91 ± 0.007	-
55	1233	1237	Pulegone	-	81.04 ± 0.020
56	1234	1239	Isobornyl formate	0.01 ± 0.000	-
57	1241	1241	<i>trans</i> -Chrysanthenyl acetate	0.01 ± 0.004	
58	1248	1243	Carvone	0.29 ± 0.006	0.39 ± 0.007
60	1261	1263	<i>cis</i> -Carvone oxide	0.06 ± 0.015	-
61	1290	1285	Bornyl acetate	5.60 ± 0.020	-
62	1292	1290	Thymol	0.03 ± 0.001	0.04 ± 0.001
63	1301	1295	Perilla alcohol	-	0.01 ± 0.000
64	1307	1299	Carvacrol	0.03 ± 0.032	-
65	1331	1326	Myrtenyl acetate	4.99 ± 0.021	-
66	1353	1340	Piperitenone	-	13.60 ± 0.005
69	1372	1361	Neryl acetate	0.02 ± 0.034	-
71	1385	1381	Geranyl acetate	0.16 ± 0.001	-
			Sesquiterpenes	1.25 ± 0.029	0.56 ± 0.014
67	1362	1351	α-Cubebene	0.02 ± 0.001	-
70	1383	1375	α-Ylangene	0.09 ± 0.001	-
72	1393	1408	<i>Z</i> -Caryophyllene	0.16 ± 0.001	-
73	1428	1417	<i>E</i> -Caryophyllene	-	0.17 ± 0.003
74	1444	1454	α-Humulene	0.03 ± 0.003	0.33 ± 0.007
75	1469	1466	9- <i>epi-E</i> -Caryophyllene	0.05 ± 0.003	-
76	1482	1476	<i>trans</i> -Cadina-1(6)-4-diene	0.02 ± 0.009	-
77	1486	1479	γ-Muurolene	0.01 ± 0.001	-
78	1486	1485	Germacrene D	0.05 ± 0.014	0.07 ± 0.006
80	1500	1492	10.11-epoxy-calamenene	0.02 ± 0.003	-
81	1504	1493	<i>trans</i> -Muurolo-4(14)-5-diene	0.17 ± 0.005	-
82	1516	1500	α-Muurolene	0.02 ± 0.003	-
83	1523	1513	γ-Cadinene	0.18 ± 0.003	-
84	1530	1523	δ-Cadinene	0.22 ± 0.002	-
85	1532	1529	Zonarene	T	-
86	1556	1534	<i>trans</i> -Cadina-1.4-diene	0.20 ± 0.003	-
87	1637	1636	<i>cis</i> -Cadina-4-en-7-ol	0.18 ± 0.007	-
			Autres	0.53 ± 0.033	0.21 ± 0.008
1	855	855	2 <i>E</i> -Hexenal	0.16 ± 0.010	-
6	957	952	3-methyl-Cyclohexanone		0.05 ± 0.000
9	982	979	1-Octen-3-ol	0.23 ± 0.025	
11	989	983	3-Octanone	-	0.03 ± 0.002
12	990	985	6-methyl-5-Hepten-2-one	0.03 ± 0.038	

14	998	991	2-Octanol	-	0.03 ± 0.001
21	1036	1043	Benzene acetaldehyde	-	0.06 ± 0.001
31	1110	1105	1-Octen-3-yl acetate	0.09 ± 0.002	-
41	1169	1162	<i>m</i> -Cresol acetate	-	0.04 ± 0.009
47	1186	1182	<i>p</i> -methyl-Acetophenone	0.03 ± 0.001	-
59	1259	1258	2-Phenyl ethyl acetate	0.01 ± 0.005	-
68	1367	1359	Eugenol	0.02 ± 0.004	-
79	1497	1487	Phenyl ethyl 2-methylbutanoate	0.03 ± 0.005	-
Monoterpènes hydrocarbonés				4.52 ± 0.070	1.03 ± 0.008
Monoterpènes oxygénés				87.21 ± 0.271	96.26 ± 0.096
Sesquiterpènes				1.25 ± 0.029	0.56 ± 0.014
Autres				0.53 ± 0.033	0.21 ± 0.008
Total				93.51 ± 0.189	98.06 ± 0.105

^a La numérotation se réfère à l'ordre d'éluion et les valeurs (aire de pic relative% ± SD) représentent des moyennes de 3 déterminations (t = trace, <0,05%).

^b Indice de rétention (IR) par rapport au mélange standard de colonne n-alcaneson SPB-5.

^c Indice de rétention littérature.

Les composés majoritaires de l'HE de *L. stoechas* étant Fenchone (50.29 %), Camphre (14.02 %), Acétate de bornyle (5.60 %) et Acétate de myrtenyle (4.99 %).

Beaucoup de travaux ont révélé la dominance de Fenchone, Camphre et Acétate de bornyle dans les HE des Lavandes de différentes origines, à titre d'exemple les travaux de **Zuzarte et al. (2013)** ont noté les constituants majoritaires suivants : Fenchone (37%), Camphre (27,3%), Acétate de bornyle (6,2%), par ailleurs **Gören et al. (2002)** ont trouvé que *L. stoechas* turque est dominé par la présence de Pulégone (40.37%), le Menthol (18.09%) et la Menthone (12.57%). **Karaca et al. (2018)** ont montré que le Camphre (46.7%), l' α -Fenchone (28.9%), le Bornyl acetate (4.5%), et le 1,8- Cineole (3.5%) sont les principaux composants.

Plusieurs travaux ont révélé la dominance du fenchone, du Cinéole et du Camphre dans les HE de la lavande des différentes origines de la Turquie (**Gören et al. 2002**) et de Sicile (Italie) (**La Bella et al., 2015**). **Özcana et al. (2018)** ont trouvé que Linalyl acetate (14.4%) et linalool (49.9%) sont les constituants majeurs.

Nos résultats sont en accord avec des travaux menés sur d'autres lavandes du nord africaines et du reste du bassin méditerranéen. Ces études ont révélé la présence de plusieurs chémotypes. Le chémotype le plus décrit de *L. stoechas* est le chémotype Fenchone/Camphre enregistré en Algérie (**Loukhaoukha et al., 2018**), en Tunisie

(**Bouzouita et al ., 2005**), au Maroc (**Zrira & Benjilali, 2003**), en Italie (**Angioni et al., 2006**), en Espagne (**Garcia-Vallejo, 1992**).

Une différence qualitative et quantitative de la composition chimique des HE de *L. stoechas* provenant d'autres pays est nette, par comparaison aux résultats que nous avons obtenus (**Skoula et al. (1996)** et **Hassiotis (2010)**) ont trouvé que le Fenchone (44,8–45,2%), 1,8 Cinéole (16,87–16,3%) et le Camphre (6,2–9,9%) ont été les principaux composants.

L'HE de *M. pulegium* elle, est principalement composée de la Pulegone (81,04%), Pipériténone (13,60%) et Trans-p-mentha-8-en-3-one (1,35%). Cette composition est cohérente avec les résultats rapportés par **Nickavar et Jabbarreh (2018)** pour *M. pulegium* de l'Iran.

Des études antérieures sur la même plante collectées en Iran, en Inde et en Turquie ont indiqué que la Menthone et la Pulegone ont été les principaux composants des HE, mais avec des proportions différentes (**Agnihotri et al., 2005 ; Fancello et al., 2017**).

Le chémotype a pulégone étant le plus abondant, il a été observé dans des travaux portant sur la détermination de la composition de l'HE de *M. pulegium* récolté en Egypte (**Aziz et Abbass, 2010**), en Algérie (**Abdelli et al., 2016**) et en Iran (**Darabi et al., 2017**).

Jafari et al. (2019) ont montré que Pulégone (51,17%), Pipériténone (13,60%), Isomenthone (5,40%) ont été les principaux composants de l'HE de *M. pulegium*.

Mahboubi et Haghi (2008) ; Derwich et al. (2010) ont identifié un deuxième chémotype : pipéritone / pipériténone dont les composants majoritaires sont : (pipéritone 38.0% et pipériténone 33.0%), (pipéritone 35.56% et pipériténone 21.12%) respectivement.

Hassanpouraghdam et al. (2011) ; Chalchat et al. (2000) ont étudié les HE de la menthe pouliot de la Yougoslavie et l'Iran dont la composition chimique est dominée par la Menthone (38,7% et 31% respectivement).

Ces variations sur la composition chimique peuvent être dues à plusieurs facteurs citées précédemment.

1.3. Extraction des composés phénoliques

L'extrait méthanolique de *L. stoechas* et de *M. pulegium* a été préparé dans la présente étude par macération de la partie aérienne dans le méthanol. L'utilisation de cet alcool a pour but d'extraire les composés polaires ainsi que les composés de moyenne et de faible polarité. L'aptitude du méthanol d'augmenter la perméabilité des parois cellulaires facilite l'extraction d'un plus grand nombre de composés. L'utilisation du méthanol permet d'empêcher la croissance microbienne au cours de la macération (**Seidel, 2005**). De même, le déroulement de cette extraction à température ambiante ainsi que l'épuisement du solvant à pression réduite permet d'obtenir le maximum de composés et d'éviter leur dénaturation ou modification probable dues aux températures élevées utilisées dans d'autres méthodes d'extraction.

Le rendement en composés phénoliques est de l'ordre de $22,72 \pm 1,65$ % et $13,79 \pm 0,38$ % pour *L. stoechas* et de *M. pulegium*, respectivement.

L'extrait méthanolique de *L. stoechas* (EX LS) a donné un rendement de $22,72 \pm 1,65$ %. Ce résultat est très important et nettement supérieurs à celui rapporté par **Bachiri et al. (2016)** ; qui ont obtenus un rendement de $13,4 \pm 0,12$ % au Maroc et similaire à celle des travaux de **Mushtaq et al. (2018)** dont le rendement est 22%.

Pour *M. pulegium* le calcul de rendement montre une proportion élevée de l'ordre de $13,79 \pm 0,38$ %. Ce résultat est relativement similaire à celle des travaux de **Bencheikh (2012)** et **Kasimi (2016)** et de **Medjekal et al. (2016)** qui ont obtenus un rendement de 14,4%, 16 % et 17,16%, respectivement.

L'extrait méthanolique de *M. pulegium* (EX MP) a fait objet de quelques études, dont le rendement a été supérieur au notre. Notamment celle de **Khaled-Khodja et al. (2014)**, de **Bouhaddouda (2016)** et de **Hajlaoui et al. (2009)** qui ont obtenus un rendement de 25.12% (la région de Bejaia) et 24.87% (la Wilaya de Guelma), 24% (Tunisie) respectivement.

Selon plusieurs auteurs, l'origine de récolte de l'espèce, la période de récolte, l'organe de la plante, la durée de séchage et la méthode d'extraction, la polarité de solvants utilisés sont des facteurs parmi d'autres qui peuvent aussi avoir un impact direct sur les

rendements en composés polaires (**Salminen, 2003; Iloki-Assanga et al., 2015 ; Zhang et al., 2018**).

1.3.1. Dosage des polyphénols totaux

Le choix de quantifier les polyphénols totaux parmi les différentes substances photochimiques, résulte du fait que les polyphénols ont des activités biologiques très importantes (**Meddour et al., 2013**).

La détermination de la teneur en phénols totaux dans l'EX LS et l'EX MP est estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu, une méthode qui satisfait aux critères de faisabilité et de reproductibilité, c'est un test largement pratiqué dans les laboratoires de recherche d'antioxydants alimentaires à travers le monde (**Khadhri et al., 2012**).

Le contenu en polyphénols totaux est déterminé à partir l'équation de la régression linéaire ($y=ax+b$) de la courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique à différentes concentration. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique (EAG) par g d'extrait (mg EAG /g Ex).

Les résultats du dosage des polyphénols totaux révèlent que l'EX LS contient une teneur de 289.67 ± 1.06 mg EAG/g Ex. Cette teneur est largement supérieure par rapport à celle trouvée par **Ceylan et al. (2015)** ($105,5 \pm 2,7$ mg EAG/ g Ex).

D'après **Messaoud et al. (2012)**, la teneur en polyphénols totaux de la partie aérienne de l'extrait méthanolique de cette même espèce étudiée en Tunisie, a montré un taux de polyphénols totaux de 25.2 ± 0.4 mg EAG/g d'extrait, ce qui est 10 fois moins que celui obtenu dans notre étude. **Gulçin et al. (2004)** ont trouvé une teneur inférieure (226.74 mg EAG/ g Ex et 153.92 mg EAG/ g Ex) dans l'extrait éthanolique et l'extrait aqueux respectivement.

Nos résultats ressemblent à ceux trouvés par **Mushtaq et al. (2018)** sur la même espèce végétale de Pakistan (285.91 ± 0.75 mg EAG/g Ex).

Pour l'EX MP, la teneur en polyphénols totaux est de $168,52 \pm 2,85$ mg EAG/g Ex. Ce résultat est proche à ceux des travaux de **Stagos et al. (2012) ; Bencheikh (2012) ; Medjekal et al. (2016)** et de **Salhi et al. (2017)**. Nos résultats sont semblables à ceux obtenus par **Barchan et al. (2015)** (167.2 mg EAG/g Ex).

Hajlaoui et al. (2009) et **Hajlaoui et al. (2015)** ont aussi indiqués un taux de composés phénoliques totaux relativement faible (37.4 et 62.06 mg EAG/g Ex, respectivement). Par contre les teneurs de polyphénols déterminés par les travaux menés sur la même plante par **Bouhaddouda (2016)** et **Ghazghazi et al. (2013)** sont nettement supérieurs (386.33 et 338 mg EAG/g Ex, respectivement).

L'origine de la plante et les conditions environnementales sévère telles que, le type du sol, la salinité, les faibles précipitations et le stress hydrique induisent la synthèse de composés phénoliques (**Falleh et al., 2008**). De plus les teneurs phénoliques totales dans les extraits de plantes dépend également du type de solvant utilisé, de sa polarité et de la solubilité des composés phénoliques dans les solvants d'extraction (**Tanase et al., 2019**). Le méthanol est le solvant le plus largement utilisé pour l'extraction de substances phénoliques des Lamiacées (**Cakir et al., 2006 ; Sharififar et al., 2009**).

1.3.2. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes comme l'un des groupes les plus diverse et répandue des composés naturels, se sont probablement les composés phénoliques naturels les plus importants. Ces composés possèdent un large spectre d'activité chimiques et biologiques, y compris les propriétés anti-radicalaires (**Djeridane et al., 2010; Meddour et al., 2013**).

La détermination de la teneur en flavonoïdes dans l'EX LS et dans l'EX MP est estimée par la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃). La méthode AlCl₃ est simple, peu couteuse et offre une bonne sensibilité. Cette méthode permet de déterminer le teneur en flavonoïdes totale, qui forment un complexe avec AlCl₃ même en présence d'autres composés phénoliques (**Matyushchenko et Stepanova, 2003**).

Le contenu en flavonoïdes est déterminé à partir l'équation de la régression linéaire ($y=ax+b$) de la courbe d'étalonnage réalisée avec la quercétine à différentes concentrations (Figure 13). Les résultats sont exprimés en mg équivalent de quercétine (EQ) par g d'extrait (mg EQ /g Extrait).

Les résultats du dosage quantitatif des flavonoïdes révèlent que l'EX LS contient 50.47 ± 1.17 mg EQ/g Ex.

Messaoud et al (2012) ont également trouvé que l'EX LS contient 10.1 ± 0.3 mg EQ/g Ex. Ces teneurs sont inférieurs par rapport à nos résultats.

Ces résultats obtenus sont supérieurs aux résultats trouvés par **Menaceur et Hazzit. (2014)** qui est de 26 µg EQ/ mg d'extrait éthanolique de la même variété de la région de Bouira.

La concentration des flavonoïdes pour l'EX MP est de 43.86±0.41 mg EQ/g Ex. Ce résultat est proche à celle trouvée dans les travaux de **Ghazghazi et al. (2013)** et de **Sarikurkcu et al. (2012)** qui ont obtenus un teneur de 37 et 20.88 µg ER/mg Ex, respectivement.

Mais notre teneur reste plus faible à celle trouvée dans les travaux de **Bencheikh, (2012)** et **Kasimi (2016)** qui ont obtenus un teneur de 59,87 et 93,64 µg EQ/mg Ex, respectivement. Et plus élevée à celle trouvée dans les travaux de **Salhi et al. (2017)** qui ont obtenus un teneur 10,72 µg EQ/mg Ex.

1.3.3. Dosage des flavones et flavonols

La méthode de e trichlorure d'aluminium (AlCl₃) a été utilisée pour quantifier les flavones et flavonols dans l'EX LS et dans l'EX MP. Le contenu en flavones et flavonols est déterminé à partir l'équation de la régression linéaire ($y=ax+b$) de la courbe d'étalonnage réalisée avec la Rutine à différentes concentrations (Figure 14). Les résultats sont exprimés en mg équivalent de Rutine (ER) par g d'extrait (mg ER /g Ex).

Les teneurs en flavones et flavonols des EX LS et EX MP sont 78.52±2.01 mg ER /g Ex et 58.31±2.03 mg ER /g Ex respectivement.

D'après **Yumrutas et Saygideger (2012)**, la teneur en flavones et flavonols de l'extrait méthanolique de la partie aérienne de *M. pulegium* de la Turc est estimée à 30.28 mg EQ/g Ex. Cette valeur est inférieure à la notre.

1.3.4. Dosage des tanins totaux

La détermination de la teneur en tanins totaux dans l'EX LS et dans l'EX MP est estimée par la méthode de **Hagerman et Butler (1978)** qui repose sur leur propriété à former des combinaisons avec les protéines. Cette méthode est rapide, reproductible et peut être utilisée aussi bien pour pour le dosage des tanins hydrolysables que les tanins condensés. Le contenu en tanins totaux est déterminé à partir l'équation de la régression linéaire ($y=ax+b$) de la courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide tanique à différentes

concentration (Figure 15). Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide tannique (EAT) par g d'extrait (mg EAT /g Ex).

Pour l'EX LS, la concentration des tanins totaux est de 42.02 ± 0.58 mg EAT /g Ex. Notre teneur reste plus faible à celle trouvée dans les travaux de par **Mushtaq *et al.* (2018)** qui ont obtenus un teneur de 149.60 ± 0.93 mg EAT /g Ex.

La concentration des tanins totaux pour l'EX MP est de $53,02 \pm 1.39$ mg EAT/g d'extrait. Cette teneur est inférieure par rapport celle trouvée dans les travaux de par **Seddik *et al.* (2013)** qui ont obtenus un teneur de 145.55 ± 0.067 mg EAT /g Ex.

1.3.5. Profil chromatographique global en polyphénols (Analyse qualitative)

Les résultats de l'analyse qualitative des extraits méthanoliques de *L. stoechas* et *M. pulegium* par RP-LC-DAD-ESI-MS/MS sont présentés dans les tableaux 09 et 10, respectivement.

Suivant le nombre de pics sur les chromatogrammes, les extraits méthanoliques sont très riches en composés phénoliques. Ces résultats confirment ceux obtenus lors du dosage par la méthode spectrophotométrique de Folin-Ciocalteu.

La figure 19 représente le profil chromatographique de l'EX LS obtenu avec assignation des pics majoritaires. Le profil révèle la présence de 9 pics majeurs détectés avec des temps de rétention variant entre 16.9 et 43.2 min.

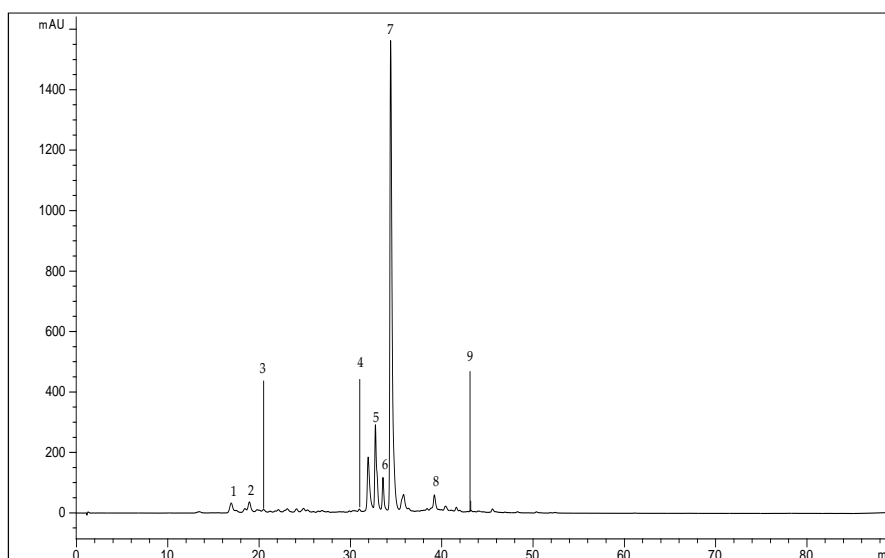


Figure 19. Chromatogramme de l'extrait méthanolique *L. stoechas* par RP-LC-DAD-ESI-MS/MS.

Il s'agit de 2 acides phenoliques (acide Rosmarinique, acide Salviolique B), 6 Flavones (Apiénine C hexoside isomère 1C, Apiénine C hexoside isomère 2C, Biacalin, Lutéoline-7-O-glucoside, Lutéoline-7-O-glucuronide, Chrysoeriol C-hex, C-pen) et 1 Flavonol (Hyperoside) (Tableau 09). Les numéros de pics se réfèrent au tableau 09.

Tableau 09. Identification des composés de l'extrait méthanolique de *L. stoechas* par RP-LC-DAD-ESI-MS/MS.

Pics	TR (min)	λ_{max}	[M-H] ⁻	MM	Identifiacation	mg/100g ES
1	16,9	232	341	342	Apigenine C-Hexoside Isomer 1c	-
2	18,9	232	341	342	Apigenine C-Hexoside Isomer 2c	-
3	20,5	232 ;298 ;330	445	446	Biacalin	-
4	30,9	256 ;356	463	464	Hyperoside (quercetin-3-O-galactosid)	352,9*
5	32,7	232 ;260 ;300	447	448	Luteoline-7-O-Glucoside	-
6	33,5	232 ;260 ;300	461	462	Luteoline-7-O-Glucuronide	-
7	34,4	288 ;330	359	360	Acide rosmarinique	5658.4*
8	39,1	232 ;310	717	718	Acide Salvianolique B	-
9	43,2	232 ;262 ;302	593	594	Chrysoeriol C-hex,C-pen	-

TR : Temps de rétention, **λ_{max} :** Longueur d'onde maximale (nm), **ES :** Extrait sec, **MM :** Masse molaire.

* La quantificaton a été réalisée par des courbes d'étalonnage externes des étalons de référence.

Sur le plan quantitatif l'analyse RP-LC-DAD-ESI-MS/MS a révélé que l'extrait méthanolique de *L. stoechas* est composé essentiellement d'acide rosmarinique (5658.4 mg/100 g ES). Ces résultats concordent avec ceux de **Ceylan et al. (2015) ; Algeri et al. (2016) ; Karan (2018)**.

Nos résultats concordent bien avec ceux de plusieurs recherches quant à la richesse des extraits de la partie aérienne de plusieurs espèces *L. stoechas* en composés phénoliques et plus particulièrement l'apigénine 7-glucoside et la lutéoline 7-glucoside (**Gabrieli et Kokkalou, 2003; Celep et al., 2018**).

L'acide rosmarinique, l'acide salvianolique B, l'apigénine di-C-hexoside, l'apigénine C-hexoside isomère 1, l'apigénine C-hexoside isomère 2, la lutéoline 7-O-glucuronide, la lutéoline 7-Oglucoside, ont été signalés chez notre extrait méthanolique de *L. stoechas*. Ces résultats sont conformes aux études d'**Algieri et al. (2016)**.

La comparaison des temps de rétention des composés de l'EX MP avec ceux des différents standards a permis de suspecter la présence de 12 composés phénoliques avec des temps de rétention variant entre 20.4 et 46.31 min dont le chromatogramme est présenté dans la figure 20.

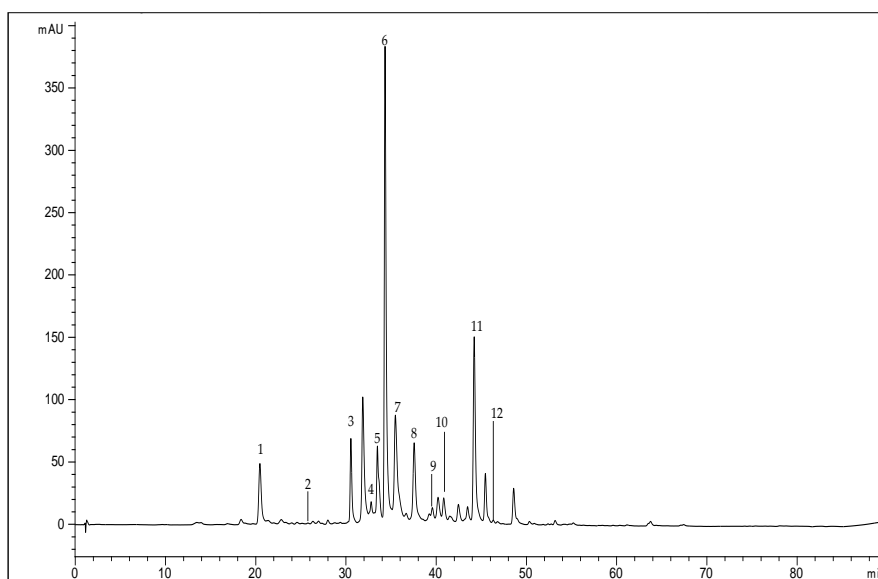


Figure 20. Chromatogramme de l'extrait méthanolique *M. pulegium* par RP-LC-DAD-ESI-MS/MS.

L'EX MP se compose de 6 acides phénoliques (acide Rosmarinique, acide chlorogénique, acide Salviolique I, Salviolique B, Salviolique C, Acide lithospermique), 2 Flavones (Vicenin-2, Diosmina), 1 Flavanol (Gallicatéchine isomère 1) et 3 Flavonols (Syringétine, Jaceidin Isomer 1, Jaceosidin) (Tableau 10). Les numéros de pics se réfèrent au tableau 10.

L'analyse quantitatif HPLC a révélé que l'acide rosmarinique (1201.35 mg/100g MS) et la diosmine (632.8 mg/100g MS) sont les principaux composés phénoliques de l'extrait méthanolique de *M. pulegium*.

Tableau 10. Identification des composés de l'extrait méthanolique de *M. pulegium* par RP-LC-DAD-ESI-MS/MS.

Pics	TR	λ_{\max}	[M-H] ⁻	MM	Identification	mg/100g ES
1	20,4	232;264;310	353	354	Acide chlorogénique	347,96*
2	25,7	232;260;306	305	306	Isomère de gallocatéchine 1	
3	30,5	232-260-306	537	538	Acide salvianolique I	
4	32,7	232;260;306;322	593	594	Vicenin-2	
5	33,4	232;260;306	717	718	Acide salvianolique B	
6	34,3	288;330	359	360	Acide rosmarinique	1201,35*
7	35,4	254;266;346	607	608	Diosmin	632,8*
8	37,6	232;266	537	538	Acide lithospermique	
9	39,5	232;264	345	346	Syringétine	
10	40,8	232;264	491	492	Acide salvianolique C	
11	44,19	232;260;310	359	360	Isomère 1 de jaceidin	
12	46,31	232;256;354	329	330	Jaceosidin	

TR : Temps de rétention, **λ_{\max}** : Longueur d'onde maximale (nm), **ES** : Extrait sec, **MM** : Masse molaire. * La quantification a été réalisée par des courbes d'étalonnage externes des étalons de référence.

L'acide chlorogénique a également été identifié comme faisant partie des principaux composés phénoliques de *M. pulegium* (**Brahimi et al., 2015**). Notre résultat confirme la présence de l'acide chlorogénique.

Les principaux constituants phénoliques de *M. pulegium* sont des dérivés de l'acide caféïque, en particulier l'acide rosmarinique et les flavonoïdes, y compris les flavones, les flavanones et leurs formes glycosidiques (**Dorman et al., 2003**).

Le profil PLC-DAD de l'EX MP de la Bosnie a révélé que la diosmine, l'acide rosmarinique et l'acide chlorogénique étaient les principaux composés (**Dorman et al., 2003 ; Politeo et al., 2018**).

La plupart des genres de Lamiaceae sont riches en terpènes et contiennent également une quantité considérable de différents glycosides, flavonoïdes et acides phénoliques tels que l'acide rosmarinique et d'autres composés phénoliques (**Naghbi et al., 2005**).

L'acide rosmarinique est bien connu, c'est un métabolite secondaire appartenant à la classe des esters de l'acide caféique et de l'acide 3,4-dihydroxyphénylacétique. D'après la littérature, il est couramment identifié dans les espèces de la famille des Lamiacées (Litvinenko *et al.*, 1975). L'acide rosmarinique est un contributeur majeur aux nombreuses propriétés bénéfiques de la lavande et de la menthe (Exarchou *et al.*, 2002 ; Pizzale *et al.*, 2002).

2. Etude de l'activité antioxydante *in vitro*

2.1. Capacité antioxydante totale (CAT)

L'activité antioxydante totale est déterminée à partir de l'équation de régression linéaire ($y=ax+b$) de la courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide ascorbique à différentes concentrations (Figure 16). Les résultats sont exprimés en μg équivalent d'acide ascorbique (EAA) par mg d'extrait ($\mu\text{g EAA / mg Ex}$). A la différence des autres tests, la CAT permet non seulement de quantifier l'apport de l'activité antioxydante des polyphénols mais aussi d'autres composés antioxydants tel que les vitamines (C.E) (Figure 21).

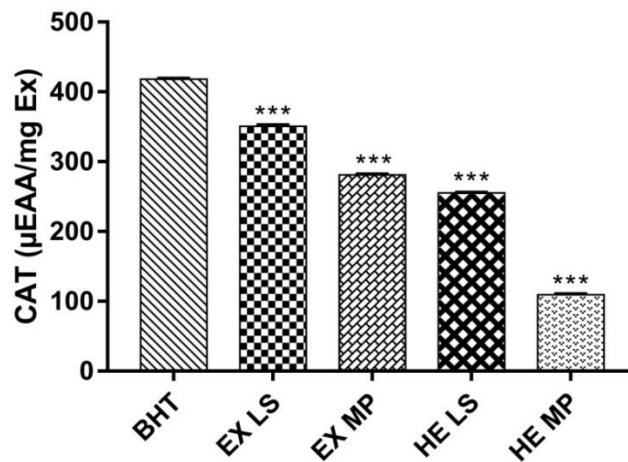


Figure 21. Histogramme comparatif de la capacité antioxydante totale des huiles essentielles de *L. stoechas* (HE LS), *M. pulegium* (HE MP), des extraits méthanoliques de *L. stoechas* (EX LS), *M. pulegium* (EX MP) et le standard (BHT). Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n=3). ***: $p \leq 0.001$.

L'estimation de la capacité antioxydante totale des extraits a montré que les deux extraits EX LS et EX MP possèdent une bonne activité antioxydante de $350.63 \pm 2.10 \mu\text{g EAA/mg Ex}$ et $281.23 \pm 1.05 \mu\text{g EAA/mg Ex}$ respectivement, par rapport aux HE LS et

HE MP ($255.32 \pm 0.90 \mu\text{g EAA/mg HE}$ et $109.52 \pm 0.91 \mu\text{g EAA/mg HE}$ respectivement), mais cette capacité reste faible ou significativement inférieure ($p \leq 0.001$.) par rapport au BHT, dont la CAT est de $417,99 \pm 1,31 \mu\text{g d'AA/mg Ex}$.

Les polyphénols sont des composés naturels largement répandus dans le règne végétal. Leur rôle d'antioxydants naturels est dû à leurs propriétés redox qui leur permettent d'agir soit comme des agents réducteurs (donneurs d'hydrogène), ou des chélateurs de métaux (Ahmadi *et al.*, 2007). Plusieurs études ont montrés que les groupements hydroxyles dans les composés phénoliques et flavonoïdes sont responsables de leur pouvoir antioxydant (Heim *et al.*, 2002).

Nos résultats concordent avec ceux Kosar *et al.* (2007) ; Chaabi *et al.* (2008) et Wu *et al.* (2013) qui ont rapportés une telle corrélation positive entre le contenu phénolique et l'activité antioxydante. De plus, une forte relation entre la teneur en composés phénoliques totaux et l'activité antioxydante dans les fruits, les légumes, les produits céréaliers et les plantes a été rapportée par plusieurs auteurs (Dorman *et al.*, 2003 ; Turkmen *et al.*, 2007; Baghiani *et al.*, 2011; Boumerfeg *et al.*, 2012).

2.2. Aactivité anti-radicalaire vis-à-vis du radical DPPH

Le DPPH est le radical libre largement utilisé comme modèle pour estimer la capacité antioxydante des plantes (Kasote *et al.*, 2019). La méthode est utile en raison de sa grande reproductibilité, de son efficacité et de sa rapidité (Alam *et al.*, 2013 ; Akar *et al.*, 2017).

L'évaluation de la capacité des différents extraits des deux plantes à piéger le radical libre DPPH est évalué en utilisant la méthode décrite par Li *et al.* (2009).

A partir des valeurs obtenues de l'Abs, le pourcentage d'inhibition (PI) des différents extraits et l'antioxydant standard (BHT) ont été calculés (Figure 22).

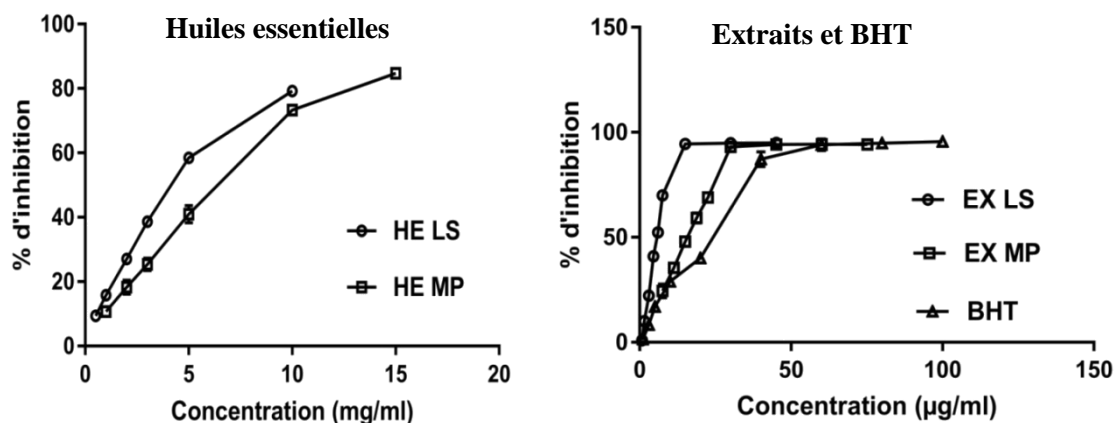


Figure 22. Activité anti-radicalaire du DPPH des huiles essentielles de *L. stoechas* (HE LS), *M. pulegium* (HE MP), des extraits méthanoliques de *L. stoechas* (EX LS), *M. pulegium* (EX MP) et du BHT. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n = 3).

L'activité anti-radicalaire est estimée par la valeur IC_{50} , elle exprime la quantité d'antioxydant nécessaire pour réduire la concentration en DPPH de 50%, plus la valeur IC_{50} est faible, plus l'activité antioxydante est grande (Oliveira *et al.*, 2016).

Ainsi on note que l'EX LS ($IC_{50}=7.49\pm 0.12 \mu\text{g/mL}$) possède l'activité antioxydante la plus efficace qui est même supérieure à celle du standard BHT ($IC_{50}= 19\pm 0.68 \mu\text{g/mL}$) (***) : $p \leq 0.001$) (Tableau 11).

Tableau 11. IC_{50} de l'activité antiradicalaire des huiles essentielles de *L. stoechas* (HE LS), *M. pulegium* (HE MP), des extraits méthanoliques de *L. stoechas* (EX LS) *M. pulegium* (EX MP) et du BHT vis-à-vis du radical DPPH.

	Type d'extrait	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
<i>L. stoechas</i>	EX LS	$7.49\pm 0.12^{***}$
	HE LS	$4040 \pm 47^{***}$
<i>M. pulegium</i>	EX MP	$22.13\pm 0.92^*$
	HE MP	$6100 \pm 490^{***}$
Standard	BHT	19 ± 0.68

Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n = 3). * : $p \leq 0.05$, *** : $p \leq 0.001$, comparé avec le contrôle positif BHT.

Plusieurs études menées sur la même espèce de plante *L. stoechas*, notamment celles de Messaoud *et al.* (2012) en Tunisie et Mushtaq *et al.* (2018) en Pakistan, révèlent une activité légèrement inférieure ($IC_{50} = 34.2\pm 3.1 \mu\text{g/mL}$ et $76.73 \mu\text{g/mL}$, respectivement).

A l'inverse les travaux de **Ceylan et al. (2015)** montrent que la même espèce de la plante de la Turquie possède une activité beaucoup plus faible ($IC_{50} = 300 \pm 1.24 \mu\text{g/mL}$).

L'activité anti-radicalaire de l'EX MP ($IC_{50} = 22.13 \pm 0.92 \mu\text{g/mL}$) est aussi importante, par comparaison au BHT (* : $p \leq 0.05$). Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par **Stagos et al. (2012)** ; **Teixeira et al. (2012)** ; **Taalbi (2016)** et **Medjekal et al. (2016)** dont les IC_{50} sont respectivement de $26 \mu\text{g/mL}$; $16.3 \mu\text{g/mL}$; $15.04 \mu\text{g/mL}$ et $24 \mu\text{g/mL}$.

Hajlaoui et al. (2009) ; **Bencheikh (2012)** ; **Hajlaoui et al. (2015)** et de **Salhi et al. (2017)** ont obtenus des valeurs légèrement inférieure à la nôtre ($IC_{50} = 48$; 31 ; 33.53 et $36,62 \mu\text{g/mL}$, respectivement).

Egalement une activité anti-radicalaire encore plus faible de l'EX MP a été rapportée dans les travaux de **Ghazghazi et al. (2013)** ; **Khaled-Khodja et al. (2014)** et de **Bouhaddouda (2016)** (IC_{50} de : 56.51 et $187.37 \mu\text{g/mL}$, respectivement).

Les résultats obtenus de l'EX MP et EX LS sont conformes aux résultats de beaucoup de travaux de recherche, il a été rapporté, une corrélation positive entre le contenu phénolique total et l'activité antioxydante (**Wong et al., 2006** ; **Djeridane et al., 2006** ; **Riahia et al., 2013**).

D'autre part, l'HE des deux plantes (HE LS et HE MP) présentent une activité antioxydante faible ($IC_{50} = 4040 \pm 47 \mu\text{g/mL}$ et $IC_{50} = 6100 \pm 490 \mu\text{g/mL}$) par rapport au BHT et aux extraits méthanoliques ($p \leq 0.001$).

Des études antérieures ont rapporté une grande variation dans l'activité antioxydante des huiles essentielles de *L. stoechas*. Ainsi, les travaux de **Benabdelkader (2012)**, dans trois régions différentes de la wilaya de Bouira (Algérie) (Lakhedaria, Ain Bessam, Taguedit) ont révélé une activité antioxydante plus faible (IC_{50} de $5100 \mu\text{g/mL}$; $32420 \mu\text{g/mL}$; $26800 \mu\text{g/mL}$, respectivement). Par contre l'étude menée par **Noureddine et al. (2019)** de la région de Tiaret a montré un fort pouvoir antioxydant ($IC_{50} = 15.26 \pm 0.24 \mu\text{g/mL}$). Cette activité peut être due à la forte proportion de sesquiterpènes oxygénés (**Cherrat, 2014**). En outre, la présence du fenchone, camphre et 1,8-cinéole comme majeurs composés (37%) peut jouer aussi un rôle important dans les propriétés antioxydantes de cette huile essentielle (**Insawang et al., 2019**), ce qui peut mener à des résultats variables selon le test employé et la région d'origine.

Concernant l'HE MP, quelques travaux ont pu en déterminer des activités antioxydantes nettement supérieures à la nôtre. **Hajlaoui et al. (2009)** ont rapporté une forte capacité antioxydante de l'huile essentielle ($IC_{50} = 10 \mu\text{g/mL}$).

Les résultats obtenus par le piégeage du radical libre DPPH dans la présente étude montrent que les EX LS et EX MP sont plus actifs que les HE et cela est probablement dû à la complexité de la composition des extraits en substances phénoliques y compris les acides phénoliques, notamment l'acide rosmarinique, les flavonoïdes et la synergie entre eux pour une meilleure activité antioxydante (**Bourgou et al., 2008 ; Malik et al., 2013 ; Adomako-Bonsu et al., 2017**).

La faible capacité des HE peut s'expliquer par le fait que nos huiles essentielles sont peu efficaces pour donner un atome d'hydrogène ou un électron singulier, et aussi par la faible solubilité de leurs constituants dans le milieu réactionnel (**Noureddine et al., 2019**).

2.3. Aactivité anti-radicalaire vis-à-vis le radical ABTS^{•+}

A partir des valeurs obtenues de l'Abs, les PI des différents extraits et l'antioxydant standard (Trolox) ont été calculés (Figure 23). Cette inhibition était dose dépendante pour les extraits méthanoliques et les huiles essentielles de deux plantes.

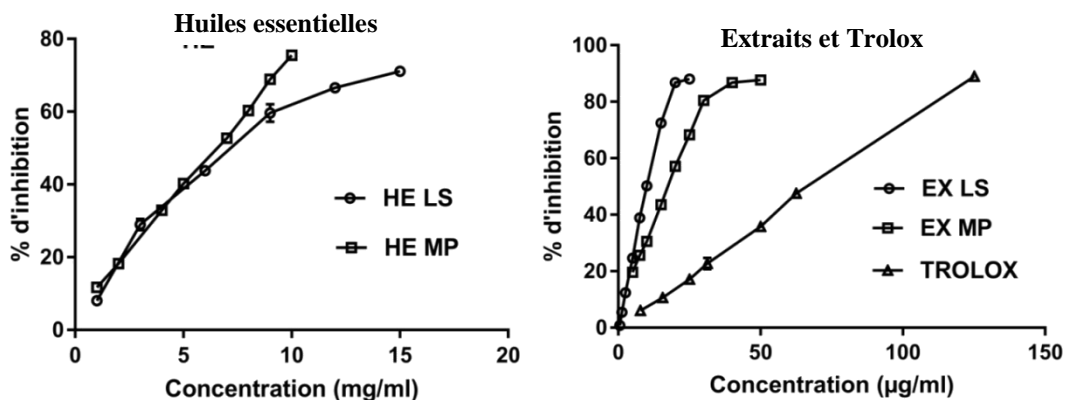


Figure 23. Activité antiradicalaire des huiles essentielles de *L. stoechas* (HE LS), *M. pulegium* (HE MP), des extraits méthanoliques de *L. stoechas* (EX LS), *M. pulegium* (EX MP) et de Trolox vis à vis du radical ABTS. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n = 3).

L'EX LS s'est montré le plus actif ($IC_{50} = 194.67 \pm 14.92 \mu\text{g/mL}$) suivi par l'EX MP (Tableau 12).

Tableau 12. IC₅₀ de l'activité antiradicalaire des huiles essentielles de *L. stoechas* (HE LS), *M. pulegium* (HE MP), des extraits méthanoliques de *L. stoechas* (EX LS), *M. pulegium* (EX MP) et de Trolox vis-à-vis du radical ABTS.

	Type d'extrait	IC ₅₀ (µg/mL)
<i>L. stoechas</i>	EX LS	194.67±14.92 ***
	HE LS	5620 ±80 ***
<i>M. pulegium</i>	EX MP	351.74±1.04 ***
	HE MP	5720 ± 60 ***
Standard	Trolox	63±0.98

Chaque valeur représente la moyenne ± SD (n = 3). *** : p ≤ 0.001, comparé au contrôle positif Trolox.

Les résultats des HE LS sont 70 supérieurs fois à ceux trouvés par **Insawang et al. (2019)** avec valeurs IC₅₀ = 39755 µg /mL alors les résultats de l'EX LS sont nettement inférieurs par comparaison à ceux de **Karan (2018)** (IC₅₀ = 14.93±0.27 µg/mL). Cependant, l'effet scavenger concernant EX MP est presque le même que celui déterminé chez la même plante d'Iran (IC₅₀=152.60 µg/mL) (**Nickavar et al., 2008**).

L'effet scavenger de l'HE LS et de l'HE MP s'avère plus faible que les extraits méthanoliques (Tableau 12). Néanmoins le potentiel antioxydant de l'HE LS est 70 fois supérieur à celui déterminé par **Insawang et al. (2019)** (IC₅₀ =39755 µg /mL). Par contre l'activité antioxydante de l'HE MP rapportée par le travail de **Brahmi et al. (2016)** est nettement supérieure (IC₅₀ =57.4 ± 1.9 µg /mL) à la notre.

2.4. Inhibition de la peroxydation lipidique par le test de β-carotène

La méthode de blanchissement β-carotène est largement utilisée pour mesurer l'inhibition de la peroxydation lipidique/l'activité antioxydante des extraits de plantes. Dans ce système, les radicaux libres peroxydes ont été générés par l'oxydation de l'acide linoléique. Ces radicaux libres vont par la suite oxyder le β-carotène hautement insaturé entraînant ainsi la disparition de sa couleur rouge, qui est suivie spectrophotométriquement à 490 nm (**Fidelis et al., 2019**). La présence de différents antioxydants peuvent protéger l'étendue et peut empêcher l'attaque et de conserver la couleur jaune - orange du β-carotène en neutralisant le radical libre linoléate et d'autres radicaux libres formés dans le système (**Pandey et al., 2018**).

Le blanchissement du β -carotène suivi pendant 48 heures, est ralenti fortement durant toute cette période en présence des deux extraits méthanoliques EX LS et EX MP, contrairement aux HE (Figure 24).

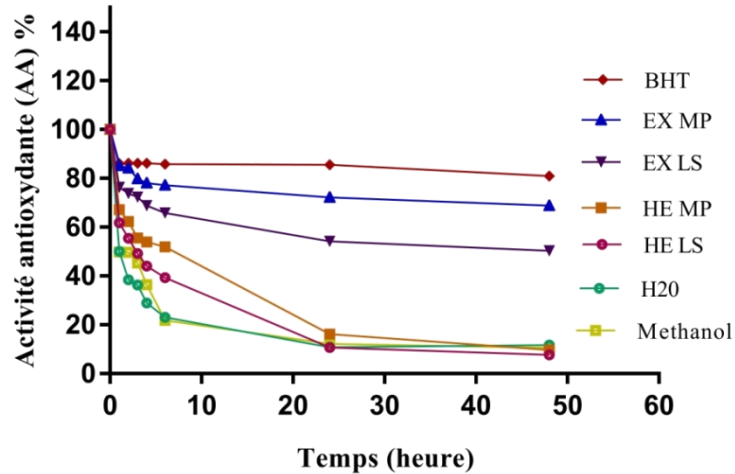


Figure 24. Cinétique d'inhibition de blanchissement de β -carotène par les huiles essentielles de *L. stoechas* (HE LS), *M. pulegium* (HE MP), des extraits méthanoliques de *L. stoechas* (EX LS), *M. pulegium* (EX MP) et l'antioxydant de référence BHT. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n = 3).

L'évaluation de l'activité des extraits est comparée à celle du BHT dont le pourcentage d'inhibition est de 85.60 ± 1.55 % à la même concentration (2 mg/mL) (Figure 25). Le pourcentage d'inhibition le plus élevé est celui de EX MP (72.20 ± 1.2 %), légèrement inférieur celui du BHT, suivi de EX LS (54.10 ± 2 %).

Le blanchissement du β -carotène a été suivi pendant 2 heures, par certains auteurs, ils ont rapportés que l'extrait méthanolique de la même espèce *L. stoechas* (en Turquie) présente un pourcentage de 47.98 ± 0.94 % (Ceylan *et al.*, 2015). De même, Benabdelkader *et al.* (2011) ont montré que l'HE LS de la région de Jijel possède une activité de 22.87 ± 0.52 % après 2h.

Egalement, les études menées par Kamkar *et al.* (2010) sur l'espèce *M. pulegium*, montrent que après 2 h, les HE et de l'extrait méthanolique présentent une faible activité antioxydante (AA = 26.01% et AA = 60.30% respectivement. Ces résultats confirment que les extraits des deux plantes étudiées sont largement efficaces.

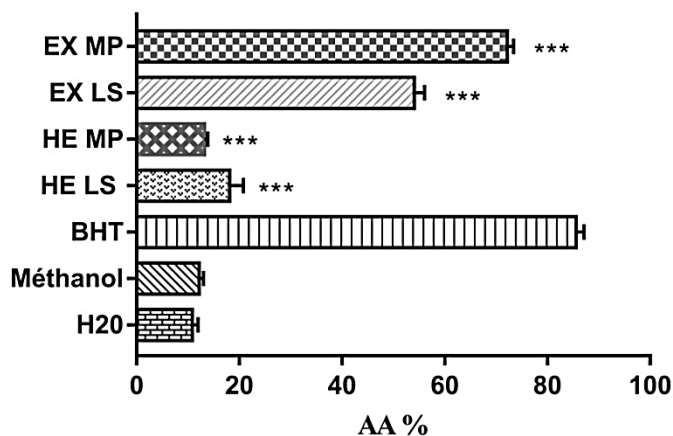


Figure 25. Activité antioxydante en présence des huiles essentielles de *L. stoechas* (HE LS), *M. pulegium* (HE MP), des extraits méthanoliques de *L. stoechas* (EX LS), *M. pulegium* (EX MP) et du BHT par le test de β -carotène / acide linoléique. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n = 3). *** : $p \leq 0.001$, comparé avec le contrôle positif BHT.

Certains auteurs ont signalé, qu'une synergie possible entre les composés polyphénoliques et les autres composants présents dans les extraits pourrait contribuer à l'activité antioxydante globale (Arina et Azrina, 2016).

Les flavonoïdes et autres polyphénols ont la capacité de piéger les radicaux libres et par conséquent, retarder l'auto-oxydation des lipides (Gao *et al.*, 2005).

2.5. Pouvoir réducteur du fer (FRAP)

L'activité antioxydante des extraits méthanoliques et des huiles essentielles de deux plantes, a été évaluée en utilisant la méthode de FRAP. Le pouvoir réducteur est souvent utilisé pour évaluer la capacité d'un antioxydant à donner des électrons. En d'autre terme, le système $\text{FeCl}_3/\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ confère à la méthode la sensibilité pour la détermination des concentrations des polyphénols qui participent à la réaction redox (Amarowicz, 2004 ; Papuc *et al.*, 2017).

Les résultats obtenus (Figure 26), montrent que la capacité de réduction du fer est proportionnelle à la concentration des différents extraits et de l'acide ascorbique utilisé comme standard.

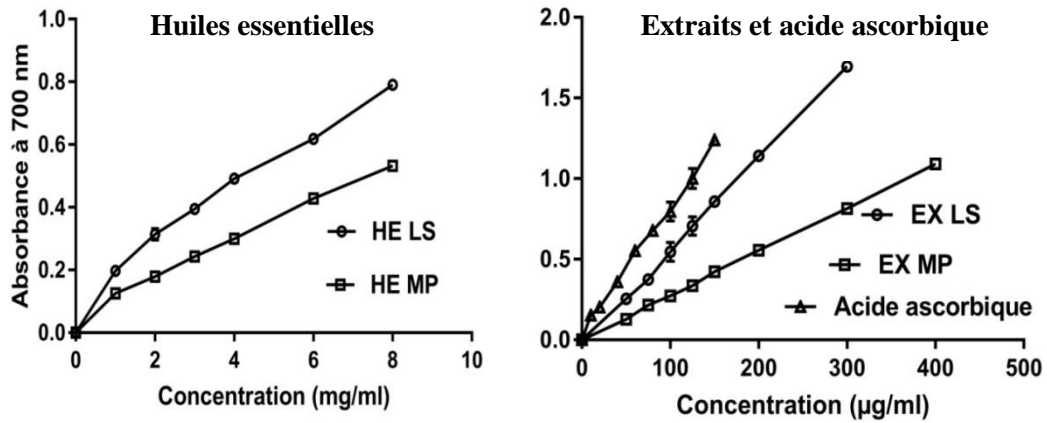


Figure 26. Pouvoir réducteur à 700 nm des huiles essentielles de *L. stoechas* (HE LS), *M. pulegium* (HE MP), des extraits méthanoliques de *L. stoechas* (EX LS), *M. pulegium* (EX MP) et de l'acide ascorbique. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n=3).

Les concentrations effectrices (EC_{50}) des extraits rapportés sur le tableau 13 montrent que EX LS possède le pouvoir réducteur le plus puissant ($EC_{50} = 79.65 \pm 1.90 \mu\text{g/mL}$) comparé aux reste des extraits, suivi par EX MP ($EC_{50} = 181.37 \pm 0.51 \mu\text{g/mL}$). Ce pouvoir réducteur reste inférieur à celui de la Vit C ($p \leq 0.001$) dont les EC_{50} sont de $33 \pm 0.7 \mu\text{g/mL}$.

Tableau 13. EC_{50} du pouvoir réducteur des huiles essentielles de *L. stoechas* (HE LS), *M. pulegium* (HE MP), des extraits méthanoliques de *L. stoechas* (EX LS), *M. pulegium* (EX MP) et d'acide ascorbique.

	Type d'extrait	EC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
<i>L. stoechas</i>	EX LS	79.65 ± 1.90 ***
	HE LS	4400 ± 20 ***
<i>M. pulegium</i>	EX MP	181.37 ± 0.51 ***
	HE MP	7380 ± 200 ***
Standard	Acide ascorbique	33 ± 0.7

Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n = 3). *** : $p \leq 0.001$, comparé avec le contrôle positif (Acide ascorbique).

Les extraits méthanolique des deux plantes étudiées possèdent un pouvoir réducteur très intéressant, par comparaison aux résultats déterminés par plusieurs auteurs menés sur les mêmes espèces. Notamment, les travaux de **Ceylan et al. (2015)** menés sur l'espèce *L. stoechas* dont le pouvoir réducteur déterminé est 4 fois inférieur ($EC_{50} = 300 \pm 10 \mu\text{g/mL}$), de même **Hajlaoui et al. (2015)**, ont montré que l'extrait méthanolique de l'espèce

M. pulegium possède un pouvoir réducteur ($EC_{50} = 1525.26 \pm 5.05 \mu\text{g/mL}$) 8 fois inférieur. Contrairement aux résultats obtenus par les travaux de **Teixeira et al. (2012)** et qui montrent que le pouvoir de réduction de l'espèce *M. pulegium* est nettement important.

Les composés phénoliques et les flavonoïdes en particulier sont connus pour leurs propriétés réducteurs/antioxydantes (**Weidner et al., 2018**).

Le pouvoir réducteur des HE des deux plantes s'est montré faible, par rapport à plusieurs études. Le pouvoir réducteur de HE LS est nettement inférieur à celui obtenu **Insawang et al. (2019)** ($EC_{50} = 107.53 \pm 1.74 \mu\text{g/mL}$). De même, l'HE MP, a révélé un pouvoir réducteur moindre par rapport aux résultats trouvés par **Bouyahya et al. (2017)** ($EC_{50} = 58.27 \pm 2.72 \mu\text{g/mL}$).

2.6. Chélation de fer ferreux

Les résultats obtenus montrent que l'EX LS et l'EX MP exercent un effet chélateur dose dépendante (Figure 27). L'effet chélateur exprimé par la concentration effectrice EC_{50} est atteint à $516.53 \pm 1.35 \mu\text{g/mL}$, $445.05 \pm 1.30 \mu\text{g/mL}$ pour l'espèce *L. stoechas* et *M. pulegium*, respectivement. La différence entre l'activité de ces deux extraits EX LS et EX MP et l'EDTA utilisé comme standard est statistiquement très significatives ($5.37 \pm 0.13 \mu\text{g/mL}$) ($p \leq 0.001$).

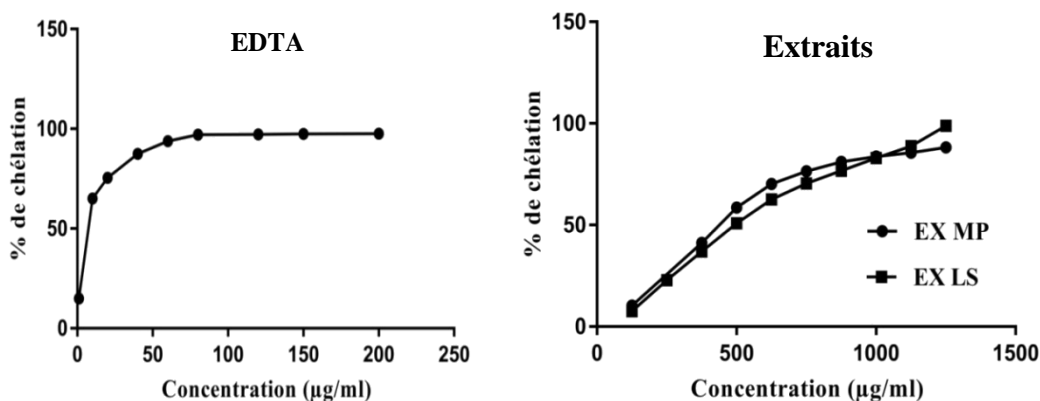


Figure 27. Pouvoir chélateur des extraits méthanoliques de *L. stoechas* (EX LS), *M. pulegium* (EX MP) et l'EDTA vis-à-vis du Fer ferreux. Exprimé en pourcentage de chélation. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD ($n=3$).

À partir des profils de chélation obtenus (Figure 27), il semble que la linéarité des tracés avant la saturation est plus importante dans le cas de l'EDTA, cependant pour les extraits cette linéarité est moins importante. Cela reflète simplement la nature complexe

des extraits contenant un ou plusieurs chélateurs ayant des affinités différentes pour le fer, en concurrence avec la Ferrozine.

Messaoud et al. (2012) ont montré que le pouvoir chélateur de l'EX LS ($EC_{50} = 3500 \pm 900 \mu\text{g/mL}$) est 7 fois inférieur. Egalement, l'extrait EX MP a exprimé une activité chélatrice dépassant de loin celle trouvée par **Benabdallah et al. (2016)** ($EC_{50} = 1000 \pm 0.20 \cdot 10 \mu\text{g/mL}$).

La présente étude montre que les deux extraits étudiés possèdent une activité chélatrice en capturant les ions ferreux avant qu'ils soient complexés avec la ferrozine, selon le principe de la technique. Ceci peut être expliqué par l'interaction des différents flavonoïdes (**Sánchez-Vioque et al., 2013**) et/ou d'autres composés présents dans les extraits avec une structure chimique favorable à la complexation des métaux (**Klaus et al., 2015**). En effet, **Sahreen et al. (2010)** ont montré que les extraits des plantes induisent des effets chélateurs de manière directement liée à la polarité des solvants utilisés. L'activité de chélation des ions métalliques est souvent attribuée aux flavonoïdes et aux acides phénoliques (**Huyut et al., 2017**).

2.7. Activité antioxydante ORAC

Les résultats obtenus montrent que les extraits des deux plantes étudiées, notamment, les EX LS et EX MP et les HE LS et HE MP exercent une capacité d'absorption du radical d'oxygène illustrée dans le tableau 14. La différence entre l'activité de ces extraits et le Trolox comme standard est statistiquement significatives ($p \leq 0,001$).

Tableau 14. Capacité d'absorption du radical d'oxygène (IC_{50}) des huiles essentielles de *L. stoechas* (HE LS), *M. pulegium* (HE MP), des extraits méthanoliques de *L. stoechas* (EX LS), *M. pulegium* (EX MP) et de Trolox.

	Type d'extrait	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
<i>L. stoechas</i>	EX LS	$0.87 \pm 0.05^{***}$
	HE LS	$14.51 \pm 1.65^{***}$
<i>M. pulegium</i>	EX MP	$3.43 \pm 0.96^{***}$
	HE MP	$3.46 \pm 0.13^{***}$
Standard	Trolox	0.52 ± 0.07

Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n = 3). *** : $p \leq 0.001$, comparée avec le contrôle positif Trolox.

Les valeurs d'ORAC obtenues par EX LS et EX MP (0.87 et 3.43 $\mu\text{g/mL}$, respectivement) et obtenues par les huiles essentielles (14.51 et 3.46 $\mu\text{g/mL}$, respectivement), placent ces espèces comme une bonne source antiradicalaire contre l'AAPH. Ce résultat va dans le sens des conclusions de plusieurs auteurs (Liang *et al.*, 2014 ; Smeriglio *et al.*, 2018a ; Smeriglio *et al.*, 2018b).

Le pouvoir antioxydant des extraits méthanoliques est particulièrement dû à la présence d'acides phénoliques notamment l'acide rosmarinique, composé connu avoir la capacité de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène (Ibarra *et al.*, 2010).

2.8. Activité anti-hémolytique

Les érythrocytes constituent un modèle cellulaire très adéquat pour l'étude du stress oxydant. En raison de la richesse de leurs membranes en acides gras polyinsaturés et la concentration cellulaire élevée en oxygène et en l'hémoglobine, ces cellules sont extrêmement susceptibles aux endommagements oxydatifs (Çimen, 2008).

L'activité anti-hémolytique des extraits a été évaluée selon le protocole décrit par Aman *et al.* (2013), et mesurée comme la capacité des globules rouges pour résister à la lyse induite par les radicaux libres.

Les EX LS et EX MP ont donné une activité anti-hémolytique vis-à-vis le radical AAPH d'une manière dose dépendante (Figure 28).

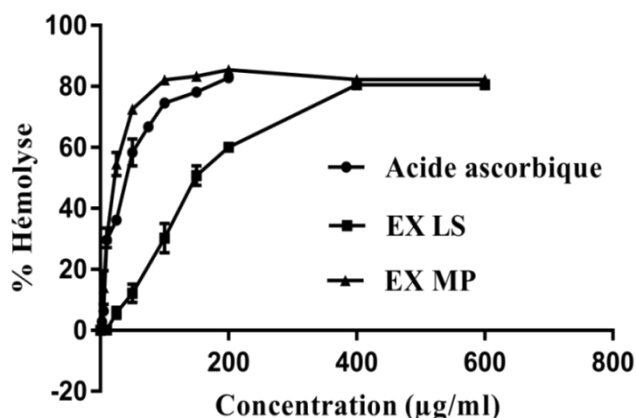


Figure 28. Pourcentage d'hémolyse des érythrocytes induite par l'AAPH en présence des extraits méthanoliques de *L. stoechas* (EX LS), de *M. pulegium* (EX MP) et de l'acide ascorbique. Chaque point représente la moyenne \pm SD. (n = 3).

Les résultats de l'activité anti-hémolytique des différents extraits méthanoliques sont exprimés par les concentrations effectrices EC₅₀ qu'elles sont indiquées dans le tableau 15.

Tableau 15. EC₅₀ de l'activité anti-hémolytique des huiles essentielles de *L. stoechas* (HE LS), *M. pulegium* (HE MP), des extraits méthanoliques de *L. stoechas* (EX LS), *M. pulegium* (EX MP) et d'acide ascorbique.

	Type d'extrait	EC ₅₀ (µg/mL)
<i>L. stoechas</i>	EX LS	152,58±8.18 ***
	HE LS	ND
<i>M. pulegium</i>	EX MP	21.41±0.49 *
	HE MP	ND
Standard	Acide ascorbique	37.59±2.59

Chaque valeur représente la moyenne ± SD (n = 3). * : p ≤ 0.05 ; *** : p ≤ 0.001, comparant avec le contrôle positif Acide ascorbique.

ND : non déterminé.

Dans la présente étude, on a jugé d'envisager l'usage des matières extraites des plantes comme des outils pour le ménagement de la génération des ERO engendrés par l'AAPH et ses complications. Les résultats montrent que l'incubation des érythrocytes en présence de l'AAPH conduit à une hémolyse remarquable.

L'EX MP a montré une forte activité anti-hémolytique (IC₅₀= 21.41±0.49 µg/mL), qui est supérieure (p ≤ 0.05) à celle de l'antioxydant de référence, l'acide ascorbique (IC₅₀= 37.59±2.59 µg/mL). D'autre part, l'EX LS présente une bonne activité antioxydante avec un IC₅₀= 152,58±8.18 µg/mL qui est significativement inférieure à celle d'acide ascorbique (p ≤ 0.001).

L'effet protecteur des érythrocytes par les extraits de *L. stoechas* et de *M. pulegium* peut être dû à la forte teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes, ce qui est similaire aux résultats de **Martinez et al. (2014)** ; **Suwalsky et al. (2015)** ; **Anosike et al. (2018)**. De ce fait, les composés phénoliques semblent fonctionner comme de bons donneurs d'électrons et d'atomes d'hydrogène, ils peuvent donc mettre fin à la réaction radicalaire en chaîne en convertissant les radicaux libres et les ROS en produits plus stables (**Huang, 2018**).

3. Activité antibactérienne

Le développement de la résistance bactérienne vis-à-vis les antibiotiques disponibles actuellement nécessite de rechercher de nouveaux agents antibactériens (Fair et Tor, 2014). Certaines études sont axées sur les agents antimicrobiens dérivés de plantes (polyphénols et les huiles essentielles), qui ont été utilisés pendant longtemps en médecine traditionnelle pour surmonter les infections.

L'activité antimicrobienne des extraits de plantes est basée sur la méthode de diffusion en milieu gélosé Mueller Hinton agar. Les résultats obtenus pour les tests antibactériens des huiles essentielles et les extraits méthanoliques de *L. stoechas* et de *M. pulegium* sont représentés dans le tableau 16. De manière générale, des effets antibactériens significatifs et variables ont été obtenus avec les différents extraits, aussi bien sur des bactéries Gram-positives que Gram-négatives.

Tableau 16. Diamètre (mm) des zones d'inhibition des huiles essentielles de *L. stoechas* (HE LS), *M. pulegium* (HE MP), des extraits méthanoliques de *L. stoechas* (EX LS), *M. pulegium* (EX MP) et la Gentamicine.

Souches testées	Zone d'inhibition (mm)				
	HE LS 100 mg/mL	HE MP	EX LS 400 mg/mL	EX MP	Gentamicine 10µg
<i>E. coli</i> ATCC 25 922	13.83±0.29 ***/+	17.00±1.73 */++	0	0	21.00±1.00 +++
<i>P.aeruginosa</i> ATTC27 853	15.67±0.58 ***/++	17.33±1.15 ***/++	0	0	24.33±0.58 +++
<i>S. aureus</i> ATCC 25 923	15.00±1.00 **/++	11.67±0.58 ***/+	13,67±0,58 **/+	7,5±0,57 ***/±	18.67±0.58 ++
<i>B. subtilis</i> ATCC 66 33	18.00±0.00 */++	16.00±0.76 */++	11,75±1,25 ***/+	12±0,81 ***/+	20.00±1.00 +++

Chaque valeur représente la moyenne ± SD (n = 3). * : p ≤ 0.05 ; ** : p ≤ 0.01 ; *** : p ≤ 0.001, comparée avec le contrôle positif (Gentamicine). (p < 0.05, test de Dunnet).

Les symboles (+) et (-) représentent le degré de sensibilité selon Djabou *et al.* (2013) : résistante (0) ; non sensible (-) ; moyennement sensible (+) ; sensible (++) ; extrêmement sensible (+++).

La sensibilité des bactéries envers les différents extraits est classée selon les diamètres des halos d'inhibition. De manière générale, des effets antibactériens significatifs et variables ont été obtenus, aussi bien sur des bactéries Gram-positives que

Gram-négatives. Ainsi, L'analyse des données a montré que 100 mg/mL des HE est active vis-à-vis des bactéries aussi bien sur les Gram-positives que les sur les Gram-négatives. D'autre part, l'EX LS et l'EX MP à 400 mg/mL n'exhibent aucun effet sur *E. coli* et *P. aeruginosa*, ces souches se sont montrées résistantes. Ces résultats concordent avec ceux rapportés par **Bayrak et al. (2017)** et par **Hajlaoui et al. (2009)**, où aucune activité antibactérienne n'a été notée pour l'EX LS et EX MP, respectivement.

Par contre, les deux bactéries Gram-positives se sont montrées sensibles à l'égard des extraits méthanoliques. En effet, toutes les activités antibactériennes enregistrées sont moins marquées mais qui se rapprochent de l'activité du contrôle positif utilisé (gentamicine), particulièrement l'activité des HE LS et HE MP à l'égard de la bactérie *B.subtilis*.

Les valeurs les plus faibles de CMI obtenues en présence des HE LS et HE MP sont respectivement de 0.10±0.01 mg/mL et 0.15±0.01 mg/mL et celles déterminées en présence des EX LS et EX MP sont respectivement de 03.64±0.79 mg/mL et 12.5±0.00 mg/mL à l'égard des bactéries Gram-positif. Ces résultats montrent clairement que les huiles essentielles des deux plantes sont plus actives que les extraits méthanoliques. De même, selon les résultats mentionnés dans le tableau 17, on en déduit que, les bactéries Gram-négatif notamment, *E. coli* et *P. aeruginosa* sont moins sensibles vis-à-vis des huiles essentielles et sont résistantes aux deux extraits méthanoliques.

Tableau 17. CMI des huiles essentielles de *L. stoechas* (HE LS), *M. pulegium* (HE MP), des extraits méthanoliques de *L. stoechas* (EX LS) et *M. pulegium* (EX MP).

Souches testées	CMI (mg/mL)			
	HE LS	HE MP	EX LS	EX MP
<i>E. coli</i> ATCC 25 922	1.56±0.01	0.60±0.01	-	-
<i>P.aeruginosa</i> ATTC27 853	6.25±0.09	1.79±0.01	-	-
<i>S. aureus</i> ATCC 25 923	0.78±0.01	0.15±0.01	07.29±1.47	12.5±0.00
<i>B. subtilis</i> ATCC 66 33	0.10±0.01	0.30±0.01	03.64±0.79	26.78±2.52

Chaque valeur représente la moyenne ± SD (n = 3).
CMI : Concentration minimale inhibitrice

Les résultats de l'étude sur les activités antimicrobiennes des HE de *L. stoechas* sont en accord avec d'autres travaux antérieurs Il a été rapporté que les huiles volatiles de

plantes en provenance de la Tunisie possèdent une activité antibactérienne envers *S. aureus* (**Bouzouita et al. , 2005**). De même, des activités antibactériennes ont été signalées pour les HE de *L. stoechas* sauvage de Turquie (**Gören et al., 2002**). Cela prouve la présence de plusieurs composés connus pour leurs activités antimicrobiennes dans les HE LS de en tant que constituants majoritaires ou minoritaires. L'activité des HE pourrait être attribuée à la teneur élevée en Fenchone, Camphre, 1, 8- Cinéole, Linalool et Acétate de Bornéol (**Sadani et Shakeri, 2016**). En somme, l'activité des HE est probablement due aussi, l'action synergique entre le 1,8-cinéol et le camphre. L'effet antimicrobien observé serait alors attribuable à une ou plusieurs molécules actives, présentes en forte ou en faible proportion dans les HE (**Benabdelkader et al., 2011**). Des études ont montré que la Fenchone a été testée positivement pour l'activité cicatrisante des plaies associée à l'activité antibactérienne (**Keskin et al., 2017**) et le camphre s'est révélé inhibiteur de la croissance des bactéries et des champignons (**Tabanca et al., 2001**).

L'activité antibactérienne de l'HE MP peut être associée au pourcentage élevé de pulégone et de pipéritone et/ou aux effets synergiques entre ces deux composants et/ou avec d'autres composés (**Mahboubi et Haghi, 2008 ; Abdelli et al., 2016**).

Aussi, l'activité antibactérienne des HE riche en pulégone a été rapportée (**Hajlaoui et al., 2009**). **Aycan et al. (2015)** ont montré également que l'HE de *M. pulegium* récoltée en Turquie présentait une activité antibactérienne très élevée.

L'activité antibactérienne des HE est certainement attribuée à leur composition chimique, selon **Teixeira et al. (2012)** les HE riches en monoterpènes oxygénés présentent une activité antibactérienne plus élevée que les HE riches en Monoterpènes hydrocarbonés.

De nombreuses études ont déjà signalé la sensibilité des bactéries Gram+ par rapport aux Gram- (**Koné et al., 2004; Turkmen et al., 2007 ; Shan et al., 2007 ; Falleh et al., 2008 ; Riahi et al., 2013 ; Brahmi et al., 2016**). La résistance des bactéries Gram- négatif peut être attribuée à la présence de la membrane externe entourant la paroi de la cellule, pratiquement imperméable aux composés lipophiles grâce aux charges négatives de surface de son revêtement lipopolysaccharidique. Les bactéries Gram-positif sont moins protégées contre les agents antibactériens, vu que le peptidoglycane n'entrave que la diffusion des molécules supérieures à plus de 50 kDa (**Hogan et Kolter, 2002 ; Riahi et al., 2013**).

4. Etude toxicologique

4.1. Toxicité orale aiguë

Afin de garantir l'innocuité des extraits des deux plantes, l'étude de la toxicité aiguë par voie orale a été menée sur des souris femelles selon le protocole 423 de l'OCDE (2011). La toxicité aiguë se définit par les effets secondaires qui apparaissent à la suite de l'administration orale d'une seule dose.

4.1.1. Mortalité et signes généraux

Le comportement et l'état général des souris ont été sous surveillance pendant 14 jours. Les différentes doses des différents extraits sont bien tolérées, dans le sens où il n'y a aucun cas de mortalité; de même qu'aucun signe d'intoxication dû aux substances n'est observé au cours des 14 jours du test à part une fréquence respiratoire accélérée, contractions abdominales des souris qui ont reçu HE LS 2000 mg/kg. Après 4 heures, les souris survivantes ont retrouvé un comportement normal. D'après le Système de classification Globalement Harmonisé (SGH) de l'OCDE, EX LS, EX MP, HE LS sont classés dans la catégorie 5 avec une DL50 > 2000-5000 mg/kg. Selon les lignes 423 de l'OCDE, pour une DL50 supérieure ou égale à 2000 mg/kg, la substance peut être considérée comme étant légèrement toxique. Selon ces résultats, il est possible que ces extraits pourraient être considérés comme un bon matériel pharmacologiques.

Concernant les souris traitées par l'HE MP 300 mg/kg, une DL50 orale > 300mg/kg, l'extrait est classé dans la catégorie 4 et considéré comme une substance modérément toxique par voie orale.

4.1.2. Evolution pondérale

L'évolution pondérale des souris soumises à cette étude est l'un des paramètres qui est en relation directe avec la toxicité. En effet l'apparition d'une toxicité s'accompagne souvent d'un amaigrissement. Ainsi, la variation du poids corporel des souris est illustrée dans la figure 29. Au cours des 14 jours d'expérimentation, la variation du poids corporel des souris a été notée tout les 7 jours et à la même heure.

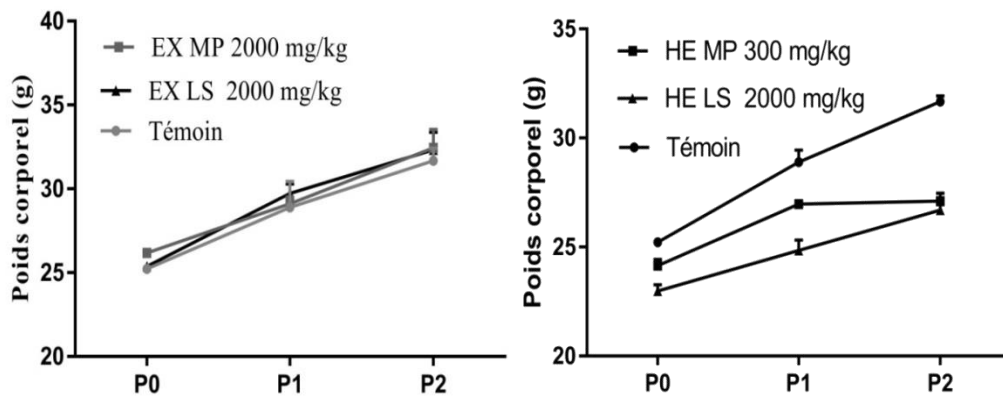


Figure 29. Evolution du poids corporel des souris témoins, traitées par les huiles essentielles de *L. stoechas* (HE LS), *M. pulegium* (HE MP), des extraits méthanoliques de *L. stoechas* (EX LS) et *M. pulegium* (EX MP). Chaque valeur représente la moyenne \pm SEM (n=6).

D'après les résultats, on constate une augmentation croissante du poids corporel des souris durant les 14 jours à l'exception des lots traitées par l'HE MP, dont le poids corporel commencé à diminué après le 7^{ème} jours. De plus, les souris témoins qui ont reçu l'eau physiologique ont montré une croissance régulière tout le long de l'expérimentation. L'ingestion des deux extraits méthanoliques de deux plantes n'a provoqué aucune variation du poids corporel des souris alors que l'administration des huiles essentielles de deux plantes a provoqué une variation significative par rapport aux témoins (Figure 30).

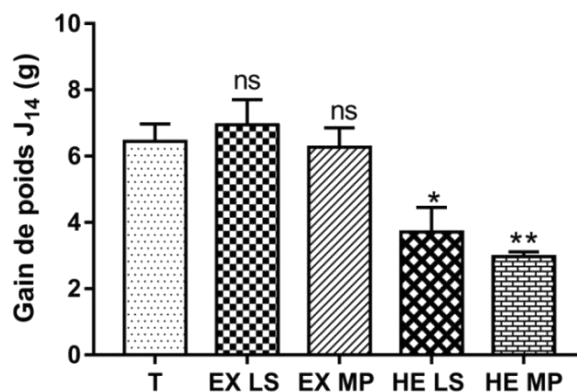


Figure 30. Comparaison du gain de poids entre souris témoins, traitées par les huiles essentielles de *L. stoechas* (HE LS), *M. pulegium* (HE MP), des extraits méthanoliques de *L. stoechas* (EX LS) et *M. pulegium* (EX MP). Chaque valeur représente la moyenne \pm SEM (n=6). ns : non significatif ; * : $p \leq 0.05$; ** : $p \leq 0.01$, comparée avec le group témoin.

4.1.3. Masses relatives des organes

Après sacrifice des animaux, différents organes (reins, foie et cœur) ont été récupérés pour l'examen macroscopique. Il a été observé que leurs tailles et leurs formes sont normales, aucun changement morphologique n'a été observé (Tableau 18).

Tableau 18. Poids relatif des organes (g/kg) des souris témoins, traitées par les huiles essentielles de *L. stoechas* (HE LS), *M. pulegium* (HE MP), des extraits méthanoliques de *L. stoechas* (EX LS) et *M. pulegium* (EX MP).

Groupe	Témoin	EX LS	EX MP	HE LS	HE MP
		2000 mg/kg	2000 mg/kg	2000 mg/kg	300 mg/kg
Foie	50.48±1.98	50.86±3.96ns	44.73±2.04 ns	53.58±2.13 ns	48.05±2.34ns
Reins	11.27±0.40	10.73±0.72 ns	11.32±0.31 ns	11.19±0.51 ns	10.39±0.51ns
Cœur	5.21±0.20	5.22±0.22 ns	5.29±0.56 ns	5.52±0.34 ns	5.24±0.67ns

Chaque valeur représente la moyenne ± SEM (n=6). Les comparaisons ont été effectuées par rapport au group témoin. ns : non significatif (p < 0.05).

L'administration orale de différents extraits n'a provoqué aucun changement significatif du poids relatif des organes dans les différents lots traités par rapport aux souris témoins

4.1.4. Paramètres biochimiques

Pour garantir la non-toxicité des extraits méthanoliques et des huiles essentielles des deux plantes, différents paramètres biochimiques ont été mesurés chez les souris traitées à la fin de l'expérience (J14) et sont comparés à celles du témoin.

Le foie est la première cible de la toxicité, il métabolise les substances étrangères en composés qui peuvent être hépatotoxiques (**Assi et al., 2016**). Certaines enzymes hépatiques ont été testées à savoir, Transaminase Glutamate Oxolo-acétate (TGO), Transaminase Glutamate Pyruvate (TGP) et la phosphatase alcaline (PAL). Dans le présent travail, TGO, TGP et PAL n'ont présenté aucune variation significative chez les femelles traitées par rapport au témoin (p < 0.05) (Figure 33).

La créatinine et l'urée sont considérées comme des biomarqueurs de l'insuffisance rénale (**Lopez-Giacoman et Madero, 2015; Sinkala et al., 2017**). Les valeurs de tous les paramètres liés aux fonctions rénales (urée, créatinine) n'ont pas été modifiées, aucun

changement significatif n'a été observés, par rapport aux souris témoins ($p < 0.05$). (Figure 31).

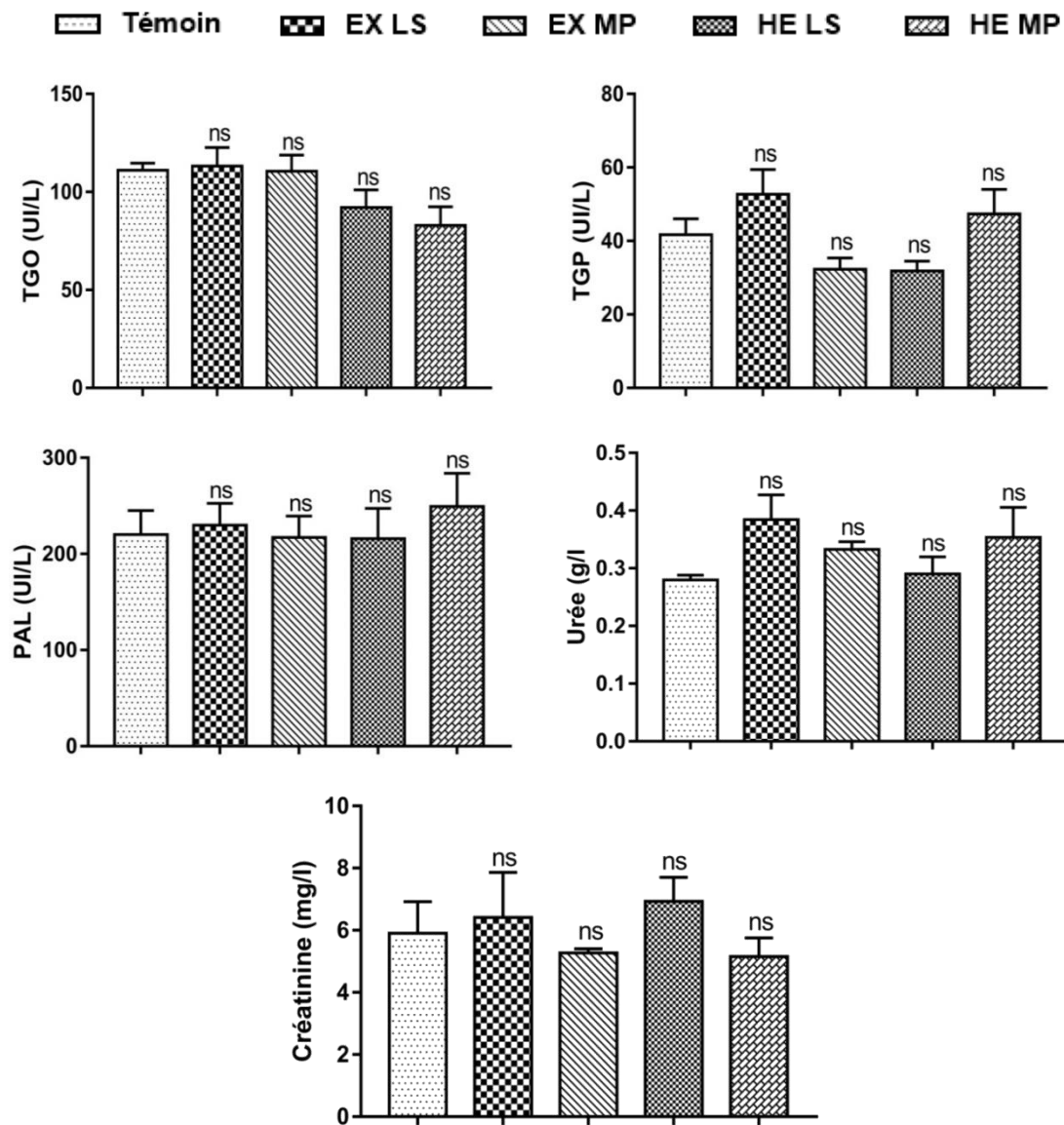


Figure 31. Variation des paramètres biochimiques des souris témoins, traitées par les huiles essentielles de *L. stoechas* (HE LS), *M. pulegium* (HE MP), des extraits méthanoliques de *L. stoechas* (EX LS) et *M. pulegium* (EX MP). Les comparaisons ont été effectuées par rapport au groupe témoin. Chaque valeur représente la moyenne \pm SEM (n=6). ns : non significatif ($p < 0.05$).

4.1.5. Histopathologie

Le foie et les reins constituent les cibles privilégiées lors d'une telle étude. L'observation des coupes histologiques du foie et des reins des souris traitées par rapport aux témoins a permis de constater la conservation de l'architecture cellulaire de ces organes, cependant quelques particularités ont été envisagées.

4.1.5.1. Histopathologie hépatique

D'après les résultats de l'examen histopathologique indiqués dans la figure 32, Le foie des souris femelles témoins présente un aspect normal sans modification hépatique, avec un parenchyme lobé. Même aspect a été observé chez les souris traitées par EX LS et EX MP (2000 mg/kg pc). Par contre le foie des souris traitées par HE LS (2000 mg/kg pc) et HE MP (300 mg/kg pc) présente des congestions hépatiques autour des vaisseaux.

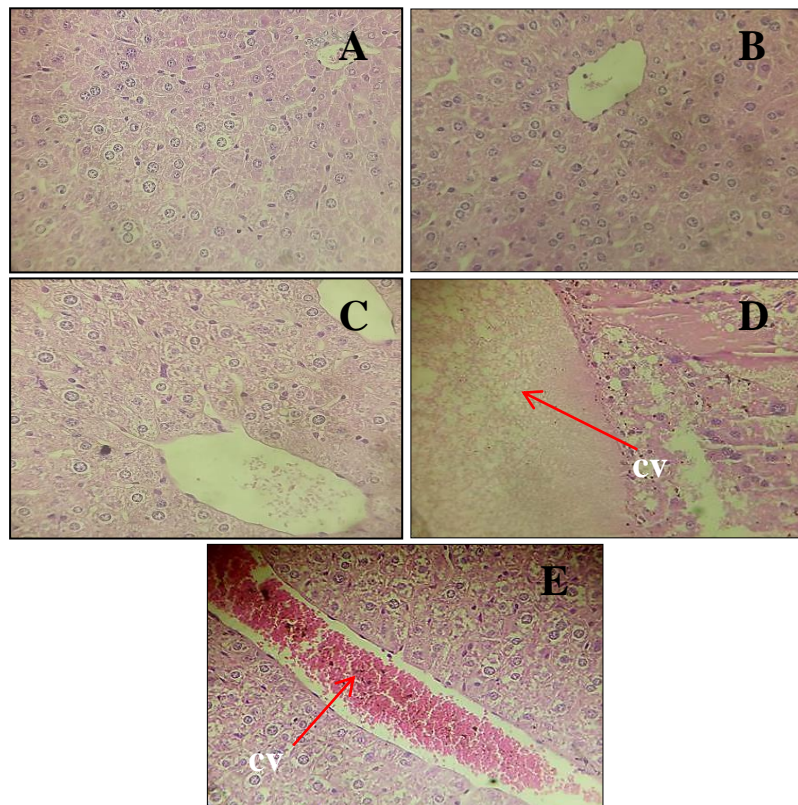


Figure 32. Coupes histologique du parenchyme hépatique (grossissement x40) des souris témoins (A); traités à l'extrait méthanolique de *L. stoechas* 2000 mg/kg (B) ; traités à l'extrait méthanolique de *M. pulegium* 2000 mg/kg (C); huile essentielle de *L. stoechas* 2000 mg/kg(D); huile essentielle de *M. pulegium* 300mg/kg (E).

cv : Congestion vasculaire.

4.1.5.2. Histopathologie rénale

Les coupes histologiques du rein des souris traitées sont représentées par la figure 33. Le rein des souris témoins présentent un aspect normal sans modification rénale avec des glomérules et des tubules normaux, même aspect a été observé chez les souris traitées par EX LS (2000 mg/kg) et HE MP (300 mg/kg). Cependant, chez les souris traitées par EX MP et HE LS (2000 mg/kg) ont démontrés des modifications histopathologies, par un infiltrat inflammatoire et une congestion vasculaire autour des vaisseaux, respectivement.

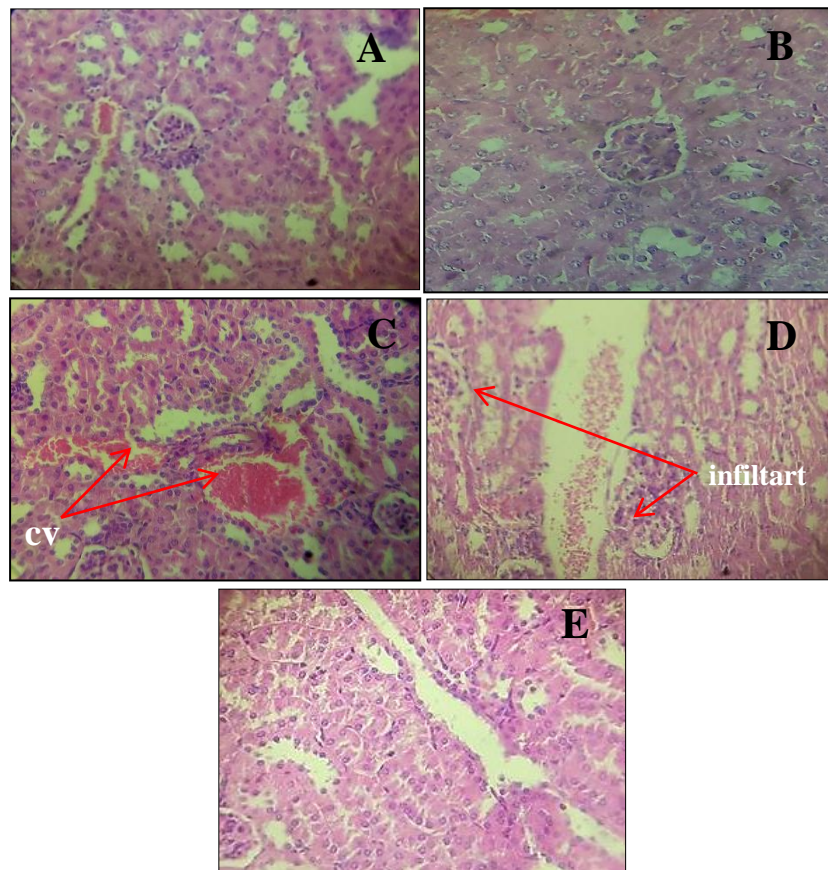


Figure 33. Coupes histologique du parenchyme rénale (grossissement x40) des souris témoins (A); traités à l'extrait méthanolique de *L. stoechas* 2000 mg/kg (B) ; traités à l'extrait méthanolique de *M. pulegium* 2000 mg/kg (C); huile essentielle de *L. stoechas* 2000 mg/kg (D); huile essentielle de *M. pulegium* 300mg/kg (E).
cv : Congestion vasculaire.

Les résultats obtenus démontrent que les EX MP, EX LS, HE MP et HE LS, n'ont provoqué aucune détérioration au niveau des organes vitaux (foie et reins) confirmés précédemment par les paramètres biochimiques.

4.2. Toxicité subaiguë des extraits méthanoliques et évaluation de leurs activités antioxydantes *in vivo*

L'étude de la toxicité subaiguë par voie orale en vue de la recherche de signes cliniques et/ou biologiques d'intoxication, trois doses des extraits méthanoliques ont été utilisées quotidiennement (200, 400 et 800 mg/kg) en une période de 21 jours afin de déterminer les effets toxiques, d'évaluer l'activité antioxydante *in vivo* par le test de DPPH et d'estimer l'activité de CAT, GSH et MDA.

4.2.1. Mortalité et signes généraux

L'évaluation de la toxicité subaiguë de différentes doses de deux extraits méthanoliques, n'a montré aucun signe de toxicité pendant la période d'étude tel que la mortalité ou encore un changement physique (pilosité, peau, état des yeux, des oreilles et de la bouche). Aucune manifestation de tremblements, convulsions, salivation, diarrhée, coma, ou de comportements anormaux tels que l'automutilation ou tremblement de la marche n'a été observé.

4.2.2. Evolution pondérale

L'évolution pondérale des animaux traités et témoins est suivis durant les 21 jours de traitement et notée tout les 7 jours à la même heure. Les résultats illustrés dans la figure 34 montrent une augmentation croissante du poids corporel des souris au cours des 21 jours de l'étude. Aucune différence significative ($p < 0.05$) n'a été notée par comparaison du gain de poids aux témoins (Figure 35).

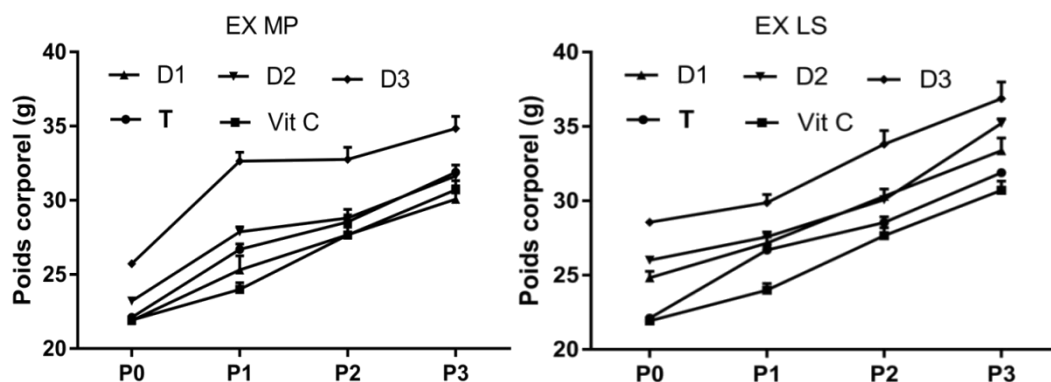


Figure 34. Evolution du poids corporel des souris témoins (T), traitées à l'extrait de *L. stoechas* (EX LS), traité à l'extrait de *M. pulegium* (EX MP) aux dose D1, D2 et D3 (200, 400 et 800 mg/kg) et de Vit C. Chaque valeur représente la moyenne \pm SEM. (n=8).

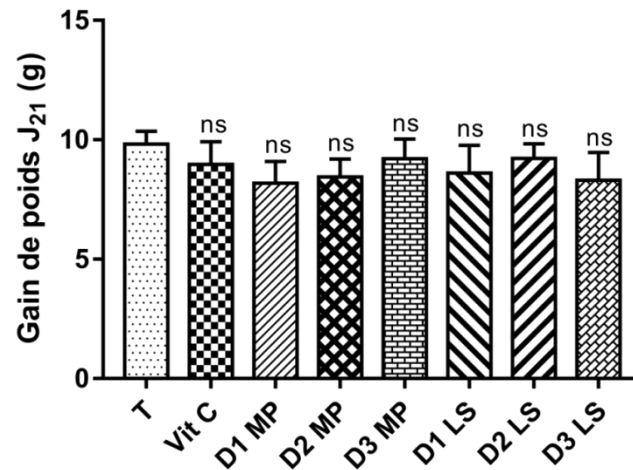


Figure 35. Comparaison du gain de poids entre souris témoins (T), traitées à l'extrait méthanolique de *L. stoechas* (EX LS), traité à l'extrait méthanolique de *M. pulegium* (EX MP) aux dose D1, D2 et D3 (200, 400 et 800 mg/kg) et de Vit C. Chaque valeur représente la moyenne \pm SEM (n=8). ns : non significatif ($p < 0.05$).

4.2.3. Masses relatives des organes

Après l'examen macroscopique du foie et du rein prélevés, aucune modification n'a été observé au niveau de la taille, la forme et le poids. Les valeurs de la masse relatives des organes (foie, reins) ne montrent aucun changement significatif ($p < 0.05$) dans les différents lots traités par rapport aux souris témoins (Tableau 19).

Tableau 19. Poids relatif des organes (g/kg) des souris témoins, traitées à l'extrait méthanolique de *L. stoechas*, *M. pulegium* aux doses 200, 400, 800 mg/kg pc et traitées avec le Vit C.

Groupe	Témoins	Vit C	200 mg/kg	400 mg/kg	800 mg/kg	
<i>L. stoechas</i>	Foie	45.37 \pm 1.38 ^a	44.01 \pm 1.16 ^a	46.59 \pm 3.68 ^a	46.88 \pm 4.41 ^a	45.47 \pm 1.91 ^a
	Reins	12.76 \pm 0.41 ^a	11.36 \pm 0.30 ^a	11.91 \pm 0.58 ^a	11.15 \pm 0.15 ^a	12.74 \pm 0.44 ^a
<i>M. pulegium</i>	Foie	45.37 \pm 1.38 ^a	44.01 \pm 1.16 ^a	46.59 \pm 3.68 ^a	46.88 \pm 4.41 ^a	45.47 \pm 1.91 ^a
	Reins	12.76 \pm 0.41 ^a	11.36 \pm 0.30 ^a	11.91 \pm 0.58 ^a	11.15 \pm 0.15 ^a	12.74 \pm 0.44 ^a

Chaque valeur représente la moyenne \pm SEM. (n=8). Même lettre indiquent une différence non significative ($p < 0.05$, test de Tukey).

4.2.4. Paramètres biochimiques

Afin de s'assurer de la non toxicité réelle des extraits méthanoliques des deux plantes étudiées, différents paramètres biochimiques ont été dosés chez les souris traitées à la fin de l'expérimentation (J21) et sont comparés aux témoins.

Les résultats obtenus sont présentés dans les tableaux 20 et 21. Le profil biochimique TGO et TGP n'ont présenté aucune variation significative chez les souris traitées (EX LS et EX MP) par rapport au témoin. Les études sériques montrent une diminution significative ($p < 0.01$) des taux de PAL chez les souris traitées sauf celles qui sont traitées par EX MP (800mg/Kg).

Le taux de l'urée et la créatinine n'ont présenté aucune variation significative chez les souris traitées par rapport au témoin, sauf Les souris qui ont reçu l'EX LS (800mg/kg) présente une diminution significative de l'urée ($p < 0.05$).

Tableau 20. Variation des paramètres biochimiques des souris témoins, traitées à l'extrait méthanolique de *L. stoechas* aux doses 200, 400, 800 mg/kg pc et traitées avec Vit C.

Marqueurs biochimiques	Dose extrait <i>L. stoechas</i> (mg/kg pc)				
	Témoins	Vit C 100	200	400	800
Urée (g/l)	0.25±0.03 ^a	0.21±0.01 ^{ab}	0.2±0.03 ^{ab}	0.17±0.05 ^{ab}	0.15±0.02 ^b
Créatinine (mg/l)	3.42±0.31 ^a	3.38±0.25 ^a	2.36±0.34 ^a	2.44±0.16 ^a	2.60±0.17 ^a
TGO (UI/l)	94.39±9.35 ^a	92.75±10.18 ^a	84.13±6.54 ^a	86.63±5.24 ^a	93.99±11.11 ^a
TGP (UI/l)	51.52±3.31 ^a	41.89±4.31 ^a	40.58±7.62 ^a	41.13±2.21 ^a	35±3.72 ^a
PAL (UI/l)	140.6±7.08 ^a	90.67±5.45 ^b	115.71±13.07 ^{ab}	94.17±2.01 ^b	88.92±7.06 ^b

Chaque valeur représente la moyenne ± SEM (n=8). Sur la même ligne, les valeurs affectées de lettres différentes sont significativement différentes ($p < 0.05$, test de Tukey).

Tableau 21. Variation des paramètres biochimiques des souris témoins, traitées à l'extrait méthanolique de *M. pulegium* aux doses 200, 400, 800 mg/kg pc et traitées avec Vit C.

Marqueurs biochimiques	Dose extrait <i>M. pulegium</i> (mg/kg pc)				
	Témoins	Vit C 100	200	400	800
Urée	0.25±0.03 ^a	0.21±0.01 ^a	0.21±0.03 ^a	0.19±0.03 ^a	0.18±0.04 ^a
Créatinine	3.42±0.31 ^a	3.38±0.25 ^a	2.82±0.42 ^a	3.58±0.55 ^a	4.34±0.92 ^a
TGO (UI/l)	94.39±9.35 ^a	92.75±10.18 ^a	72.13±6.46 ^a	94.17±3.77 ^a	96.03±5.38 ^a
TGP (UI/l)	51.52±3.31 ^a	41.89±4.31 ^a	50.31±6.01 ^a	43.97±4.41 ^a	44.84±2.73 ^a
PAL (UI/l)	140.6±7.08 ^a	90.67±5.45 ^b	124.6±11.85 ^{ab}	123.7±9.41 ^{ab}	136.8±12.47 ^a

Chaque valeur représente la moyenne ± SEM (n=8). Sur la même ligne, les valeurs affectées de lettres différentes sont significativement différentes ($p < 0.05$, test de Tukey).

4.2.5. Histopathologie

4.2.5.1. Histopathologie hépatique

L'observation des coupes histologiques du foie des souris traitées avec Vit C et EX LS (200 mg/kg) par rapport aux témoins a permis de constater la conservation de l'architecture cellulaire, cependant quelques particularités ont été enregistrées. Une congestion et infiltrat inflammatoire autour de la veine et chez les souris traitées par EX MP (200 mg/kg) et des troubles histologiques du foie de souris traitées par EX LS et EX MP (400 et 800 mg/kg) ont montré une surcharge hépatocyttaire dose-dépendante et significative (Figure 36).

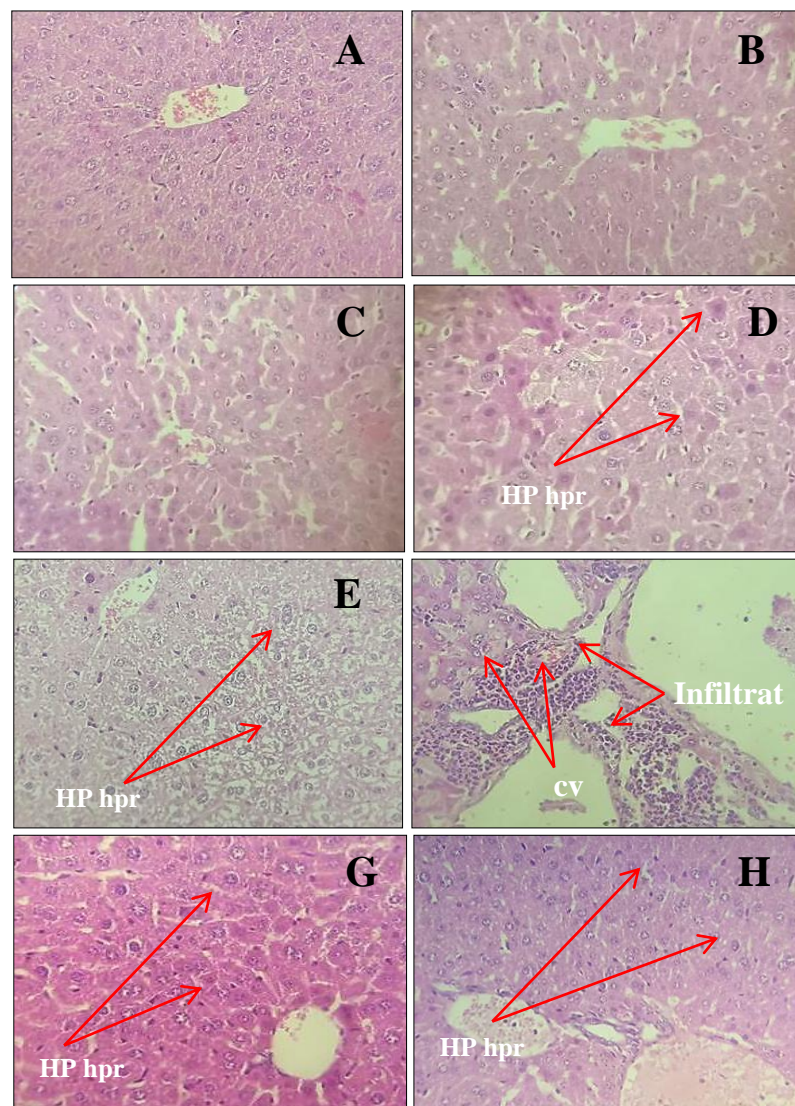


Figure 36. Coupes histologique du parenchyme hépatique (grossissement x40) des souris témoins (A) ; traités à vitamine C (B) ; traités à l'extrait méthanolique de *L. stoechas* aux doses 200 (C), 400 (D), 800 mg/kg (E) ; traités à l'extrait méthanolique de *M. pulegium* 200 (F), 400 (G), 800 (H). HP hpr : Hépatocytes hyperactives, cv : Congestion vasculaire.

4.2.5.2. Histopathologie rénale

Les coupes histologiques du rein des souris traitées sont représentées par la figure 37. L'observation microscopique du tissu rénal des souris du lot témoin (figure 37 A) révèle un aspect normal avec des glomérules et des tubules normaux de même pour les souris traitées par l'extrait EX LS (200 mg/kg). Les souris traitées par EX LS (400 et 800 mg/kg) et celles traitées par EX MP (800 mg/kg) ont révélé une architecture rénale altérée et des congestions vasculaires.

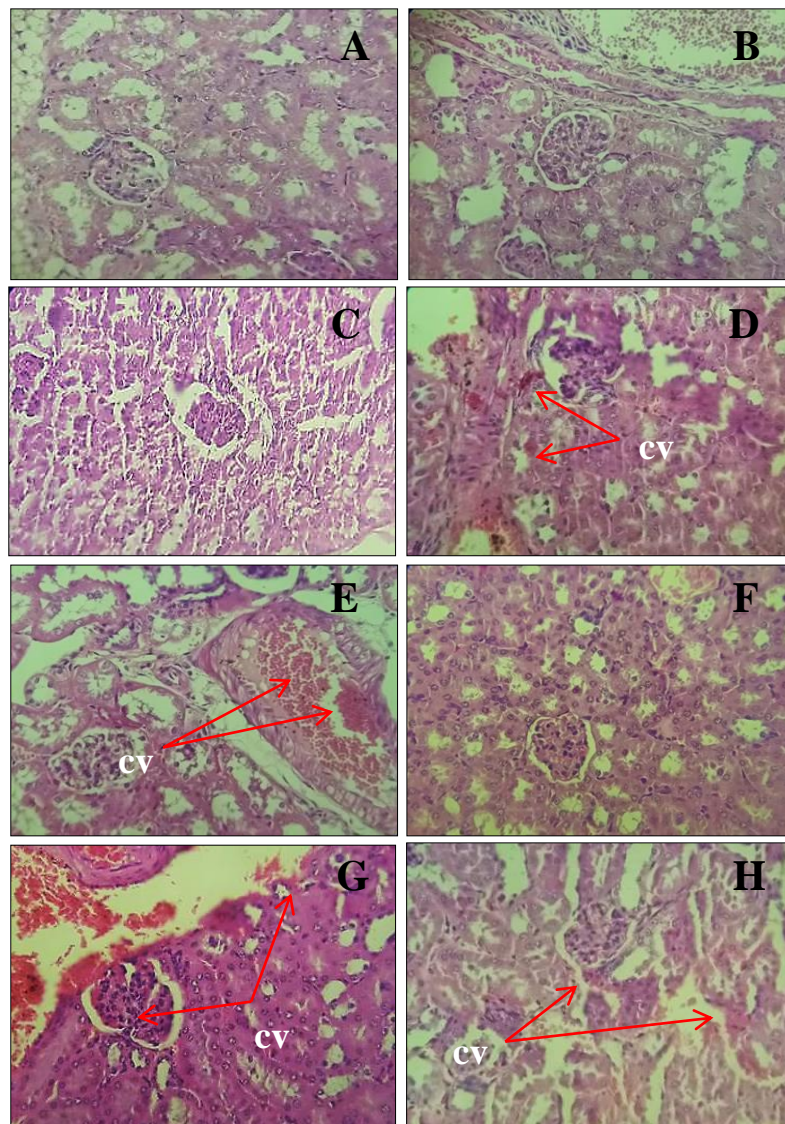


Figure 37. Coupes histologique du parenchyme rénale (grossissement x40) des souris témoins (A) ; traités à vitamine C (B) ; traités à l'extrait méthanolique de *L. stoechas* aux doses 200 (C), 400 (D), 800 mg/kg (E) ; traités à l'extrait méthanolique de *M. pulegium* aux doses 200 (F), 400 (G), 800 (H). cv : Congestion vasculaire.

4.2.6. Capacité antioxydante plasmatique vis-à-vis le radical DPPH

La capacité antioxydante plasmatique (CAP) est l'un des paramètres les plus utilisés pour évaluer l'efficacité d'une supplémentation alimentaire ou d'un traitement antioxydant.

En raison du grand nombre d'antioxydants présents dans le plasma, ce dernier a été récupéré à partir des souris raitées. Les résultats présentés dans le tableau 22 montrent que l'administration des EX LS et EX MP augmente la capacité antioxydante plasmatique.

Tableau 22. Capacité anti-oxydante plasmatique de groupe témoins, des groupes traités par extraits méthanolique de *L. stoechas* et de *M. pulegium* aux doses 200, 400, 800 mg/kg pc et de groupe traité avec Vit C.

Groupe		Dose d'extrait mg/kg pc				
		Témoin	Vit C 100	200	400	800
CAP (%)	<i>L. stoechas</i>	6.05±0.59 ^c	33.85±2.19 ^a	15.35±1.72 ^b	16.92±1.35 ^b	20.08±0.74 ^b
	<i>M. pulegium</i>	6.05±0.59 ^d	33.84±.05 ^a	12.76±0.41 ^c	23.3±1.66 ^b	25.83±1.28 ^b

Chaque valeur représente la moyenne ± SEM (n=8). Sur la même ligne, les valeurs affectées de lettres différentes sont significativement différentes (p <0.05, test de Tukey).

L'administration de deux extrait méthanoliques à trois dose (200, 400 et 800 mg/kg) augmente la CAP d'une manière dose dépendante et significative par rapport au témoin (p <0.05).

Les résultats obtenus de l'évaluation de l'activité antioxydante *in vivo* montrent que la CAP est proportionnel à la dose administrée. Cela montre une corrélation entre le taux en composés phénoliques et la capacité antioxydante plasmatique. On suppose alors, que l'augmentation de cette dernière est attribuée aux antioxydants présents dans les extraits de gavage.

En effet, le plasma contient un réseau d'antioxydants endogènes comme l'albumine, la bilirubine, glutathione réduit et l'acide urique, ainsi que des antioxydants issus d'un apport exogène. Ces antioxydants peuvent agir de manière complémentaire et synergique pour fournir une meilleure protection contre les ERO (Fang *et al.*, 2002). Ainsi l'augmentation de la capacité antioxydante du plasma observée, est sans doute attribuable à des niveaux élevés d'antioxydants exogènes acquise suite à une supplémentation des extraits méthanoliques de *L. stoechas* et de *M. pulegium*. Cet effet est probablement du aux

flavonoïdes et les composés phénoliques contenus dans les extraits méthanoliques dont les propriétés antioxydantes ont été déjà démontrées par l'étude *in vitro*.

4.2.7. Analyse des paramètres du potentiel antioxydant

Le foie étant un organe très sensible qui joue un rôle majeur dans la maintenance et la performance de l'homéostasie de notre corps. C'est le principal organe où les processus importants comme le métabolisme et la désintoxication ont lieu. Ainsi, le foie est l'organe le plus exposé aux dommages en raison de l'exposition chronique à la drogue, les toxiques environnementaux et autres xénobiotiques (Lewis *et al.*, 2004). Les troubles hépatiques sont l'un des problèmes de santé les plus graves, la raison pour laquelle il a été choisi pour ce travail.

Les extraits méthanoliques des parties aériennes de *L. stoechas* et de *M. pulegium* ont été évalués pour son effet sur les paramètres du potentiel antioxydant au niveau du tissu hépatique, ce dernier constitue un site favorable à cette étude. Les résultats de l'estimation de CAT, GSH et MDA sont présentés dans le tableau 23.

Tableau 23. Estimation de l'activité CAT ($\mu\text{mole} / \text{min mg}$ de protéine), GSH (nmole/g de tissu) et MDA (nmole/g de tissu) dans le foie des souris.

Groupe		Dose d'extrait mg/kg pc				
		Témoin	Vit C 100	200	400	800
<i>L. stoechas</i>	CAT	25.18±2.09 ^b	43.03±2.07 ^a	35.41±2.94 ^a	38.46±1.87 ^a	40.58±4.22 ^a
	GSH	28.40±0.57 ^c	40.84±2.61 ^b	39.33±2.77 ^b	44.04±1.31 ^b	57.51±5.04 ^a
	MDA	21.45±1.26 ^b	20.29±2.02 ^b	22.50±1.70 ^b	17.5±0.86 ^b	9.46±1.23 ^a
<i>M. pulegium</i>	CAT	25.18±2.09 ^b	43.03±2.07 ^a	26.55±3.20 ^b	27.47±2.37 ^b	38.56±5.06 ^a
	GSH	28.40±0.57 ^b	40.84±2.61 ^a	30.28±0.77 ^b	33.58±1.43 ^b	44.34±1.88 ^a
	MDA	21.45±1.26 ^b	20.29±2.02 ^b	30.51±4.64 ^c	13.45±1.11 ^{a b}	7.98±0.35 ^a

Chaque valeur représente la moyenne \pm SEM (n=8). Sur la même ligne, les valeurs affectées de lettres différentes sont significativement différentes (p <0.05, test de Tukey).

4.2.7.1. Estimation de l'activité enzymatique de la catalase

La catalase (CAT) est une enzyme indispensable pour la détoxification des ERO pendant les conditions de stress. Elle catalyse la conversion de H₂O₂ en eau et en oxygène (Ighodara *et al.*, 2018).

Selon les résultats obtenus (Tableau 23), une augmentation significative (p <0.05) dose dépendante de l'activité de CAT dans le foie a été observée chez tout les groupes

traités par les trois doses (200, 400 et 800 mg/kg) de l'EX LS et l'EX MP et le groupe de souris qui a reçu la vitamine C.

Nos résultats corroborent avec ceux de beaucoup de travaux réalisés sur des variétés de plantes. Il a été signalé que l'administration de l'extrait de feuilles d'*Aloès vera* provoque l'augmentation des enzymes antioxydants du foie chez les souris (**Singh et al., 2000**). **Ozsoy et ses collaborateurs (2009)** ont prouvé aussi que les extraits de l'*Aloe vera* peut activer les systèmes d'enzymes antioxydants endogènes qui jouent un rôle vital comme améliorateurs du système immunitaire et dans la gestion du stress oxydatif.

Plusieurs études ont montré que l'administration des extraits riche en polyphénols augmentent significativement l'activité des enzymes antioxydantes, la catalase (**Li et al., 2017; Aouchria et al., 2017 ; Quan et al., 2018 ; Guemmaz et al., 2018 ; Righi et al., 2020**).

4.2.7.2. Estimation de GSH

Le GSH est l'un des tripeptides les plus abondants, il est largement distribué au niveau des hépatocytes. Ses fonctions sont principalement concernées par la neutralisation de radicaux libres tels que H₂O₂ et radicaux superoxyde (**Fang et al., 2003 ; Ogeturka et al., 2005**). Le glutathion constitue la première ligne de défense contre les ERO (**Kivrak et al., 2017**) cependant, ces processus de défense ne sont pas complètement efficaces s'ils ne sont pas supplémentés par le pouvoir antioxydant des principes actifs des plantes.

Pour cette raison notre étude sur la capacité antioxydante des extraits méthanoliques de deux plantes s'est étalée à l'étude de l'évaluation des taux de glutathion (GSH) hépatique.

D'après les résultats montrés dans le tableau 23, on constate que l'administration, de l'EM LS et l'EM MP (200, 400 et 800 mg/kg) et la vitamine C (100 mg/kg) a provoqué une augmentation significative ($p < 0.05$) dose dépendante du taux de GSH dans le par rapport au groupe témoin.

Nos résultats corroborent avec ceux de beaucoup de travaux réalisés sur des variétés de plantes (**Ozsoy et al., 2009 ; Guemmaz et al., 2018 ; Benslama et al., 2020 ; Boudjelal et al., 2020, Righi et al., 2020**). Il est certains que la supplémentation de

l'alimentation ou l'administration orale d'extraits végétaux riches en polyphénols et en flavonoïdes améliorent avec succès la teneur en GSH. Les composés phytochimiques présents dans les plantes peuvent augmenter la biosynthèse des antioxydants cellulaires, en particulier le GSH (Goodla *et al.*, 2019).

4.2.7.3. Estimation de MDA

La peroxydation lipidique étant l'effet le plus anciennement connu des radicaux libres et le plus simple à mesurer, les dérivés de l'oxydation lipidique sont les composés les plus souvent étudiés lorsque l'on recherche un stress oxydant (Baranauskaite *et al.*, 2020). Le stress oxydant est caractérisé par les ERO qui induisent la peroxydation lipidique, Le MDA, qui est un produit final de la peroxydation lipidique, est également l'un des biomarqueurs les plus fréquemment utilisés pour évaluer l'activité antioxydante *In vivo* (Reddy *et al.*, 2017).

Les résultats illustrés dans le tableau 23 montrent que l'administration de EX LS et EX MP (200, 400 et 800 mg/kg) aux souris a provoqué une diminution significative ($p < 0.05$) dose dépendante du taux du MDA par rapport au groupe témoin, contrairement au groupe de souris qui a reçu la vitamine C, aucun changement significatif n'a été observé.

Suite aux résultats obtenus, on en déduit que, la diminution des niveaux de peroxydation lipidique peut être liée à la capacité des deux extraits méthanolique à éliminer les ERO, donc empêchant d'autres dommages des lipides membranaires (Pradeep *et al.*, 2007). Un point important à signaler, la corrélation positive entre le test de blanchiment au β -carotène (déterminé *in vitro*) et le taux de MDA (déterminé *in vivo*).

Dans la présente étude la capacité des extraits méthanolique de *L. stoechas* et de *M. pulegium* à réduire le taux de MDA peut être attribuée à sa richesse en polyphénols à savoir les acides phénoliques, l'acide rosmarinique et ses dérivés, les flavonoïdes dont les flavones (Okaiyeto *et al.*, 2018) les flavonols, les anthocyanines (Benhammou *et al.*, 2008), et les tannins (Maddi *et al.*, 2012). Ces composés sont connus pour leur activité scavenger des ERO, agissant ainsi comme des antioxydants et interrompant la réaction en chaîne de la peroxydation lipidique (Moyo *et al.*, 2012).

5. Evaluation de l'activité cicatrisante *in vivo*

5.1. Test d'irritation cutané

Aucun signe d'inflammation (érythème ou œdème) n'a été observé sur le dos des rats après l'application des différents onguents. Selon l'OCDE n° 404 (OCDE, 2015), l'indice d'irritation primaire cutanée obtenu permet de considérer les extraits méthanoliques et les huiles essentielles des deux plantes comme non irritant.

5.2. Variations du poids des animaux

Durant toute l'expérimentation, la variation du poids corporel des rats a été notée tout les 3 jours ce qui permet de suivre l'effet du traitement.

Les résultats mentionnés sur les figures 38 et 39 révèlent une augmentation non significative du poids corporel des rats traités par les différentes préparations (CIC, VAS et les différents onguents). L'évolution du poids n'a pas été affectée durant toute l'expérimentation pour tous les lots traités, avec au contraire un gain du poids. Ceci implique que l'application des onguents de la lavande et de menthe par voie topique n'a pas affectée la croissance des rats.

On observe une diminution du poids chez les rats du lot non traité au 6^{ème} et au 15^{ème} jour, elle est probablement liée à l'effet direct du traumatisme lésionnaire et d'autres facteurs physiopathologique du processus de cicatrisation, telle que la phase inflammatoire et synthèse du collagène.

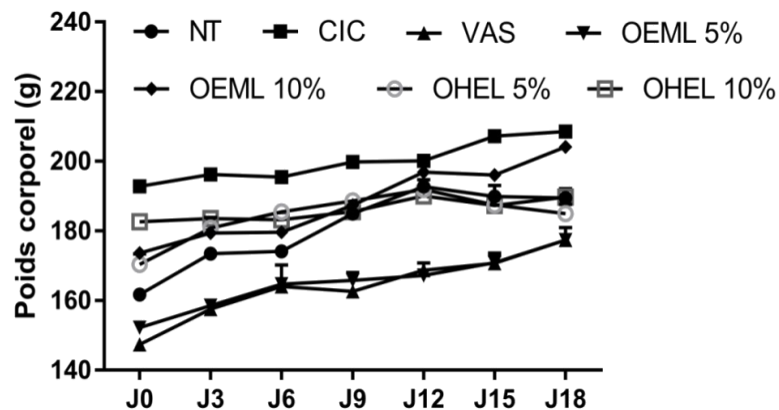


Figure 38. Evolution du poids corporel des rats non traités (NT), traités par Cicatryl (CIC), vaseline (VAS), les onguants des extraits méthanoliques (OEML 5 et 10%) et par les onguants des huiles essentielles (OHEL 5 et 10%) de *L. stoechas*. Chaque valeur représente la moyenne \pm SEM (n=5).

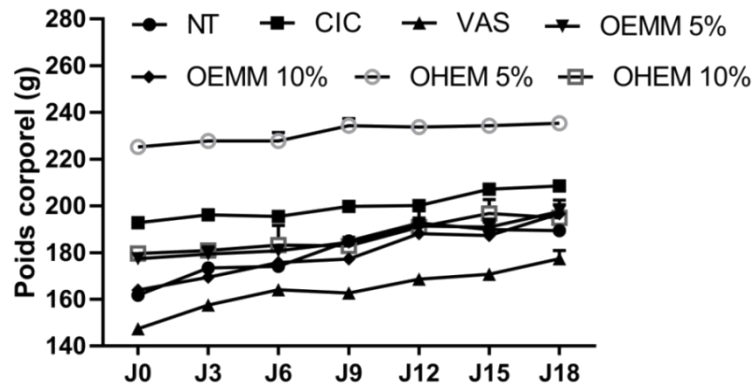


Figure 39. Evolution du poids corporel des rats non traités (NT), traités par Cicatryl (CIC), vaseline (VAS), les onguants des extraits méthanoliques (OEMM 5 et 10%) et par les onguants des huiles essentielles (OHEM 5 et 10%) de *M. pulegium*. Chaque valeur représente la moyenne \pm SEM (n=5).

5.3. Evolution du processus cicatriciel des plaies (évaluation macroscopique)

Au cours de la période d'expérimentation, aucune mortalité ni autre signe de maladie (diarrhée, manque d'appétit.) n'a été observée chez les rats. Les observations visuelles quotidiennes (Figure 40 et 41) indiquent la présence des signes d'inflammation (rougeur et fièvre) autour de la plaie chez les rats des différents groupes les premiers jours qui suivent l'excision de la peau. Ces signes disparaissent rapidement pour les lots traités par CIC, OEML 5% et 10% OHEL 5% et 10% et persistent quelques jours pour le reste des groupes (NT et VAS).

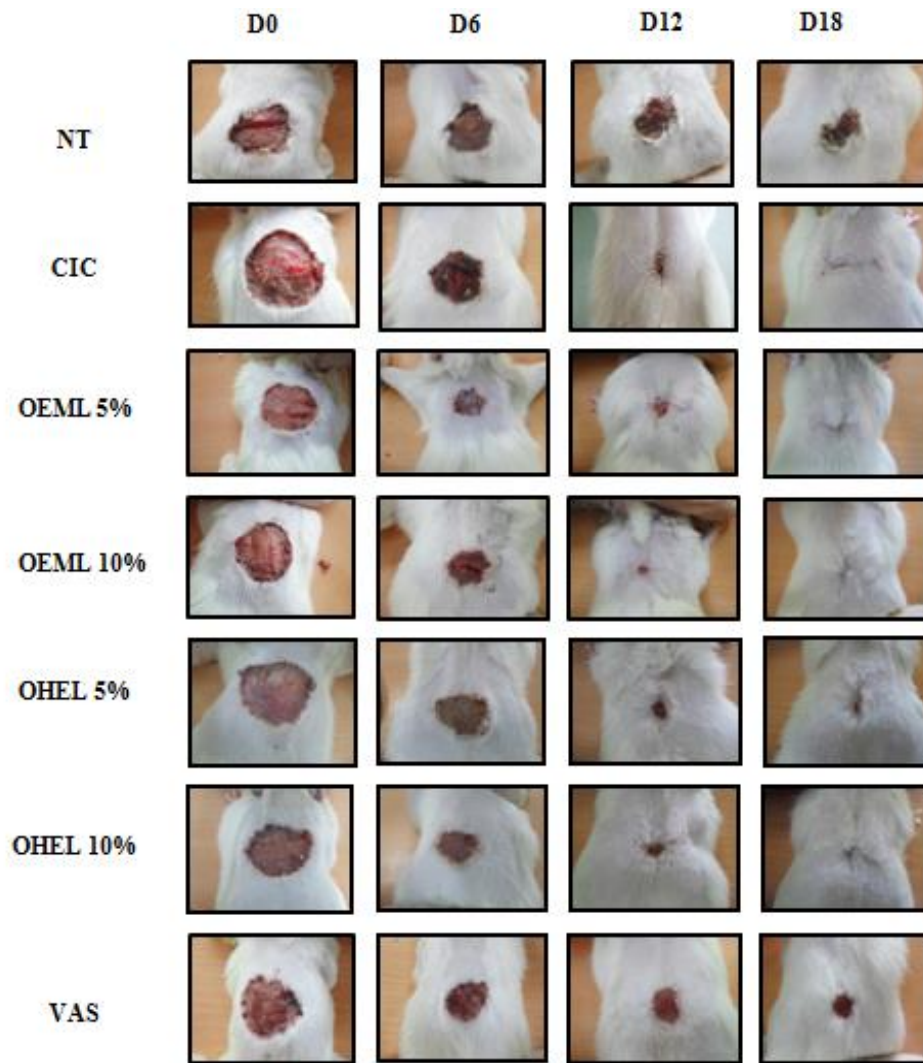


Figure 40. Chronologie de la cicatrisation des plaies d'excision chez le groupe non traités (NT), traitées par Cicatryl (CIC), vaseline (VAS), les onguants des extraits méthanoliques (OEML 5 et 10%) et par les onguants des huiles essentielles (OHEL 5 et 10%) de *L. stoechas*.

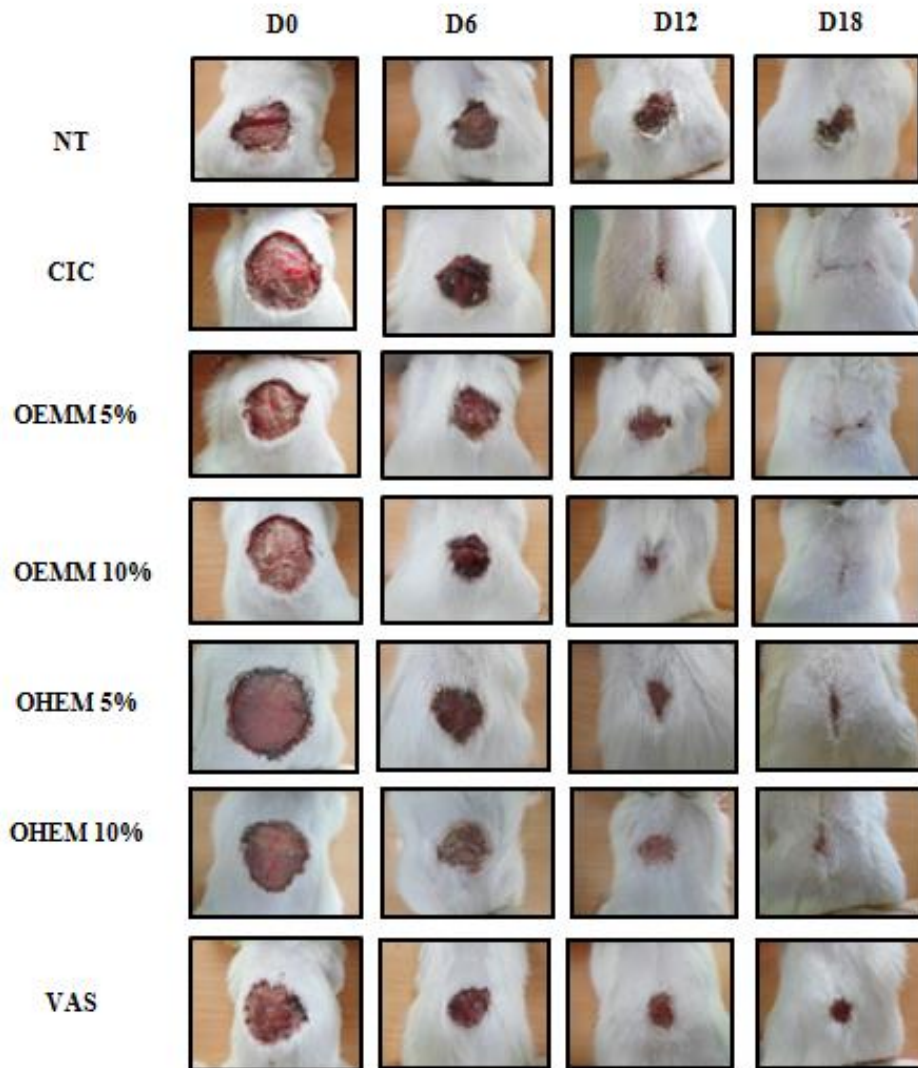


Figure 41. Chronologie de la cicatrisation des plaies d’excision chez le groupe non traités (NT), traitées par Cicatryl (CIC), vaseline (VAS), les onguants des extraits méthanoliques (OEMM 5 et 10%) et par les onguants des huiles essentielles (OHEM 5 et 10%) de *M. pulegium*.

Selon un intervalle de temps précis, les plaies ont été régulièrement mesurées et photographiées. L’évaluation de la surface de chaque plaie d’excision est réalisée sur les animaux traités et non traités. L’activité cicatrisante est exprimée en fonction de pourcentage de contraction de la plaie.

Les résultats obtenus (Tableau 24) montrent l’évolution de la contraction (%) des plaies non traités et traités par VAS, CIC, *L. stoechas* (OEML 5% et 10%, OHEM 5% et 10%).

Tableau 24. Evolution de la contraction (%) des plaies non traités (NT), traitées par Cicatryl (CIC), vaseline (VAS), les onguants des extraits méthanoliques (OEML 5 et 10%) et par les onguants des huiles essentielles (OHEL 5 et 10%) de *L. stoechas*.

Groupes	Pourcentage des plaies (%) ^a					
	Nombre de jours					
	3	6	9	12	15	18
NT	8.34±0.83	21.86±0.49	26.77±1.59	30.83±3.61	35.48±1.79	40.95±2.65
CIC	13.02±0.96 **	33.34±1.65 ***	51.51±0.65 ***	70.53±1.19 ***	75.87±1.12 ***	84.52±0.60 ***
OEML 5%	9.67±1.78	41.06±4.31 **	56.72±4.72 ***	67.52±3.70 ***	79.64±3.12 ***	93.1±2.88 ***
OEML 10%	16.02±5.6	49.35±5.72 *** §	62.43±1.04 ***	72.34±1.79 ***	85.39±3.37 ***	97.19±1.06 *** §§§
OHEL 5%	9.95±2.04	24.60±4.88	36.53±4.70 §§	51.21±5.91 *** §§	64.11±4.83 ***	82.12±1.50 ***
OHEL 10%	16.47±4.64	36.26±3.01	51.83±2.41 ***	64.95±2.10 ***	76.72±2.71 ***	90.43±4.11 ***
VAS	9.87±1.08	27.45±1.84	37.48±1.80 §	44.86±1.19 * §§§	53.22±2.06 ** §§§	62.31±2.45 *** §§§

^aLes valeurs sont exprimés en moyenne ± SEM (n=5)

*p≤0.05, **p≤ 0.01 et ***p≤ 0.001 : lorsque les groupes traités sont comparés au groupe NT

§p≤ 0.05, §§p≤ 0.01 et §§§p≤ 0.001 : lorsque les groupes traités sont comparés au groupe CIC.

L'évolution du processus cicatriciel des plaies est observée à partir du 3^{ème} jour et s'accélère jusqu'au 18^{ème} jour. Les résultats ont montré que le CIC, les onguants (OEML 5% et 10% et OHEL 5% et 10%) utilisés, stimulent une augmentation très hautement significative (p ≤0.001) dose dépendante de la contraction de la plaie au 12^{ème} jusqu'au 18^{ème} jour par rapport au lot NT. Le pourcentage de contraction est légèrement significatif (p ≤0.05) pour les groupes traités par VAS au 12^{ème} jour par rapport au groupe non traité (NT).

Le pourcentage de contraction des lots traités par OEML 5%, OEML 10%, OHEL 10% ne montre aucune différence significative du 9^{ème} jusqu'au 18^{ème} jours par rapport au lot traité par CIC. Le pourcentage de contraction, pour le lot traité par VAS est significativement différent (p ≤0.05) au 9^{ème} jours et hautement significative au 12^{ème} jours jusqu'au 18^{ème} jours (p ≤0.001) par rapport au lot traité par CIC.

Il est clairement net que l'onguent cicatrisant préparée à base de de l'extrait OEML 10% semble être plus efficace que la pommade commercialisée Cicatryl bio® ($p \leq 0.001$) au 18^{ème} jours.

Les résultats du tableau 25 montrent l'évolution de la contraction (%) des plaies non traités et traité par CIC, VAS, *M. pulegium* (OEMM 5% et 10%, OHEM 5% et 10%).

Tableau 25. Evolution de la contraction (%) des plaies non traités (NT), traitées par Cicatryl (CIC), vaseline (VAS), les onguants des extraits méthanoliques (OEML 5 et 10%) et par les onguants des huiles essentielles (OHEM 5 et 10%) de *M. pulegium*.

Groupes	Pourcentage des plaies (%) ^a					
	Nombre de jours					
	3	6	9	12	15	18
NT	8.34±0.83	21.86±0.49	26.77±1.59	30.83±3.61	35.48±1.79	40.95±2.65
CIC	13.02±0.96 **	33.34±1.65 ***	51.51±0.65 ***	70.53±1.19 ***	75.87±1.12 ***	84.52±0.60 ***
OEMM 5%	11.65±3.11	30.16±4.26	40.83±2.45 *** §	47.66±2.59 *** §§§	59.36±2.91 *** §	73.16±4.49 ***
OEMM 10%	9.80±0.59	37.46±2.61 ***	54.86±1.67 ***	65.5±7.31 ***	73.86±7.06 ***	85.65±3.91 ***
OHEM 5%	15.20±2.26	34.01±1.56 **	45.64±1.29 ***	57.40±3.33 ***	64.487±1.56 ***	70.9±2.13 ***
OHEM 10%	13.29±1.40	27.79±2.65	37.93±1.56 ** §§	48.89±2.04 ** §§	58.32±2.94 ** §§	69.36±2.83 *** §§
VAS	9.87±1.108	27.45±1.84	37.48±1.80 ** §§§	44.86±1.19 ** §§§	53.22±2.06 ** §§§	62.31±2.45 *** §§§

^aLes valeurs sont exprimés en moyenne ± SEM (n=5)

* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$ et *** $p \leq 0.001$: lorsque les groupes traités sont comparés au groupe NT

§ $p \leq 0.05$, §§ $p \leq 0.01$ et §§§ $p \leq 0.001$: lorsque les groupes traités sont comparés au groupe CIC.

Les résultats de notre étude montrent qu'aucune modification significative du pourcentage de contraction des plaies n'est observée durant les trois premiers jours qui suivent l'excision. L'évolution du processus cicatriciel des plaies est observée à partir du 6^{ème} jour et s'accélère jusqu'au 18^{ème} jour. Les résultats indiquent clairement que l'évolution de la contraction (%) des plaies est significativement ($p < 0,05$) potentialisée

dans les groupes traités par CIC, OEMM 5% et 10%, OHEM 5% sont très hautement significative ($p \leq 0,001$), l'OHEM 10% est hautement significative ($p \leq 0,01$) par rapport au lot NT du 9^{ème} jusqu'au 18^{ème} jours. Aucune différence significative n'est constatée entre les groupes OEMM 10%, OHEM 5% et le groupe traité par CIC.

Le lot VAS montre une différence hautement significative ($p \leq 0,01$) par rapport au lot NT. En effet, lors du processus de cicatrisation, la vaseline est capable d'inhiber l'évaporation d'eau de la plaie. La formation d'un environnement physiologique humide dans la plaie favorise la réparation de la peau et la régénération des tissus endommagés (Djerrou, 2011).

5.4. Examen histologique

La coloration à l'Hématoxyline permet de visualiser l'organisation structurale cutanée. La figure 42 indique le résultat de l'étude des coupes histologiques des lots traités par CIC et VAS et le lot non traité.

L'analyse des coupes histologiques de la peau du lot NT a révélé la présence d'un bourgeon charnu inflammatoire avec l'apparition de nouveau capillaire, La présence des cellules désorganisées sous forme d'amas constitue un épithélium immature, indique que la réépithélisation est incomplète (Figure 42A).

Le rats traités avec de la VAS ont montré une infiltration cutanée inflammatoire, un infiltrant épidermique avec un tissu de granulation mal formé et une distribution dispersée de fibres de collagène et de fibroblastes. Malgré les résultats du diamètre et le pourcentage de contraction du lot traité par la vaseline (62.31 ± 2.45), l'examen des coupes histologiques indiquent une réépithélialisation incomplète. (Figure 42B).

Les coupes histologiques des rats traités avec le médicament de référence CIC, ont montré un tissu de granulation plus élaboré. Ce dernier, est constitué de néo vaisseaux de type capillaires d'éléments fibroblastiques élaborant du collagène et de cellules mononuclées, indiquant que la réépithélisation est complète. (Figure 42C).

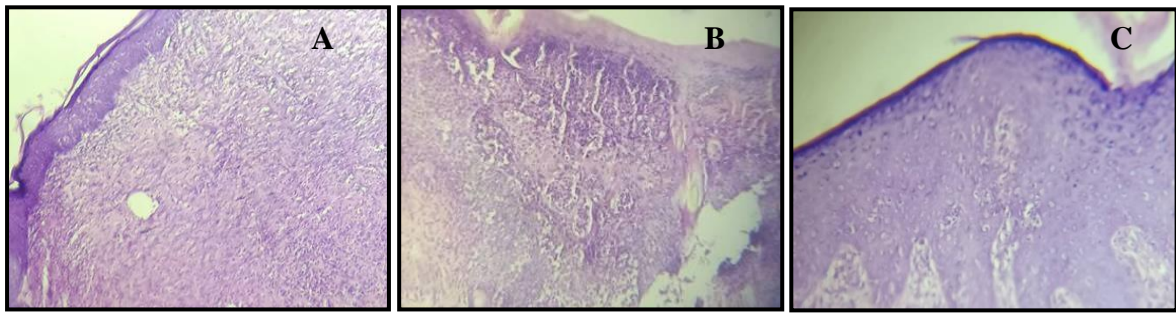


Figure 42. Coupe histologique de la peau des rats non traité (NT), traités par vaseline (VAS) et Cicatryl (CIC) (Coloration éosine Hématoxyline / grossissement X 20). (A : NT, B : VAS, C : CIC).

Les rats traités par voie topique de l'onguent de l'extrait méthanolique de *L. stoechas* (OEML 5% et 10%) ont montré une meilleure réépithélisation que les plaies témoins après 18 jours (82.12% et 97.19% respectivement) où ils ont développé une formation de tissu de granulation abondante avec une teneur en collagène plus élevée (Figure 43A, 43B).

Le lot traité avec l'onguent d'HE LS (OHEL 5%) a montré une persistance d'ulcère mais pas d'infiltrat inflammatoire. Une réépithélialisation est observable (Figure 43C). Le lot traité par l'onguent à l'huile essentielle (OHEL 10%) montre une réépithélialisation complète. La maturation de l'épiderme est plus importante et on note la présence d'une couche granulaire bien différenciée (Figure 43D).

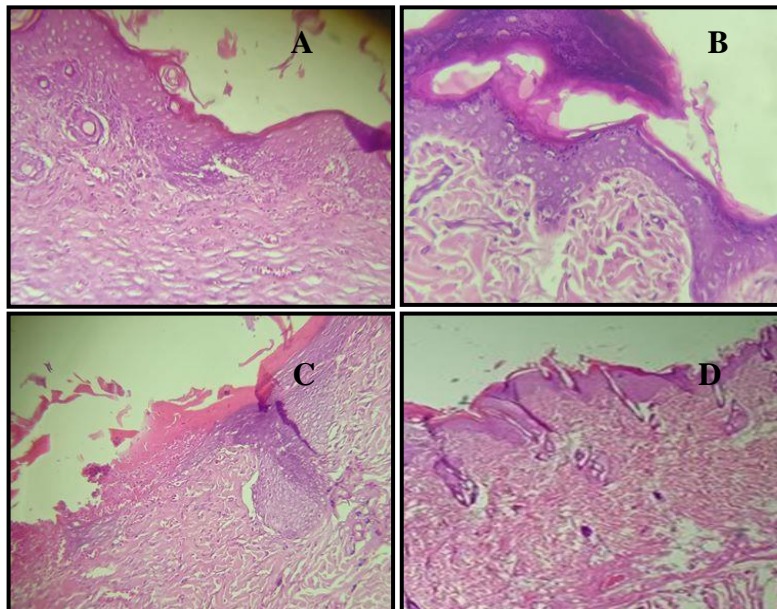


Figure 43. Coupe histologique de la peau des rats traités par les onguents des extraits méthanoliques 5 et 10% (OEML 5 et 10%) et traités par les onguents des huiles essentielles (OHEL 5 et 10%) de *L. stoechas*. (A : OEML 5%, B : OEML 10%, C : OHEL 5%, D : OHEL 10%) (Coloration éosine Hématoxyline / grossissement X 20).

Les coupes histologiques des rats traités avec les onguents de l'extrait méthanolique de *M. pulegium* (OEMM 5%) ont montré une régénération épithéliale incomplète se manifestant par la persistance d'une inflammation intra-cutanée différenciée (Figure 44A). L'étude histologique du lot traité par OEMM 10% et OHEM 5% a présenté une néovascularisation du tissu de granulation plus marquée par rapport au lot NT avec la formation du teneur en collagène plus élevé, indique que la réépithélisation est complète. (Figure 44B, 44C). Les coupes histologiques des rats traités par OHEM 10% a montré une ulcération mais pas d'infiltrat inflammatoire. Une réépithélialisation est observé (Figure 44D).

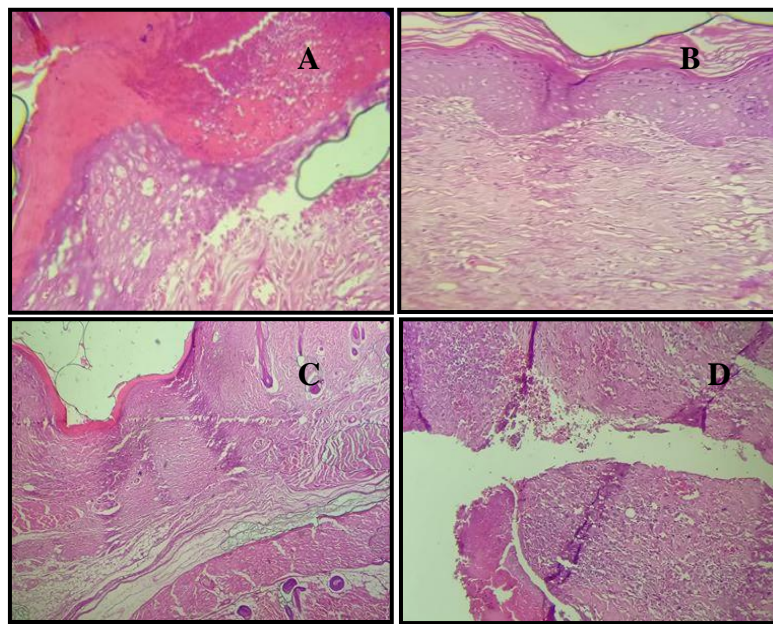


Figure 44. Coupe histologique de la peau des rats traités par les onguents des extraits méthanoliques 5 et 10% (OEMM 5 et 10%) et traités par les onguents des huiles essentielles (OHEM 5 et 10%) de *M. pulegium* (A : OEMM 5%, B : OEMM 10%, C : OHEM 5%, D : OHEM 10%) (Coloration éosine Hématoxyline / grossissement X 20).

L'onguent à base des EX LS, EX MP, HE LS et HE MP se sont montrés efficace que vis-à-vis du processus cicatriciel dont la contraction des plaies d'excision est comparable à celle obtenue avec Cicatryl, médicament de référence. En effet, de nombreux travaux ont démontré que les plantes utilisées traditionnellement comme cicatrisant possèdent des propriétés d'activation du système immunitaire; cette activation serait due à la présence des polyphénols responsables de la guérison des plaies externes (Azame *et al.*, 2020).

Une étude réalisée par **Ansari et al. (2009)** sur des brûlures suggèrent que les extraits de plante sont capable de moduler la réponse inflammatoire à des degrés variables de sévérité tels que la formation d'œdème, la perméabilité vasculaire et la dégranulation. **Azame et al. (2020)** rapportent aussi que l'accélération du processus cicatriciel peut être liée au pouvoir anti-inflammatoire par la formation de complexes neutralisant de nombreux agents irritants. La réponse inflammatoire étant fortement stimulée par la présence de bactéries, virus ou des champignons (**White et Cutting, 2008**), il est probable que l'activité anti-bactérienne de *L. stoechas* et *M. pulegium* contribue à son activité anti-inflammatoire.

Compte tenu de ce qui est décrit dans la littérature et précisément en ce qui concerne les composés phénoliques, l'efficacité pharmacologique de l'onguent à base des extraits méthanoliques de *L. stoechas* et *M. pulegium* sur le processus cicatrisant serait probablement attribuable à la présence des polyphénols. En effet, ces composés sont connus pour avoir des propriétés cicatrisantes liées à leur effet astringent (**Djoko et al., 2019**).

Les extraits méthanoliques de *L. stoechas* et *M. pulegium* accélèrent la cicatrisation grâce à leur forte activité antioxydante en détruisant les radicaux libres au sein de la plaie. Cette haute activité antioxydante est liée aux différentes composantes principalement les flavonoïdes tels que les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque, l'acide caféique et l'acide férulique (**Mehrabani et al., 2009**).

Les résultats phytochimiques effectués sur les HE de *L. stoechas* et *M. pulegium* ont permis de mettre en évidence la présence des monoterpènes oxygénés (87.21% et 96.26% respectivement), notamment le Fenchone, Camphre et le Pulegone. Ces substances sont douées d'activités antiradicalaire, antimicrobienne, anti inflammatoire et cicatrisante (**Tran et al., 2015 ; Cheraghali et al., 2017 ; Keskin et al., 2017 ; Lobstein et al., 2018**).

Des études antérieures ont démontré que les composés naturels à base de plantes qui peuvent stimuler la migration des fibroblastes favorisent la cicatrisation des plaies en aidant à développer un protocole thérapeutique (**Girija et al., 2017 ; Benkhaled et al., 2020**).

**CONCLUSION
ET
PERSPECTIVES**

Conclusion et perspectives

Ce travail de thèse s'inscrit dans le cadre de rechercher de nouvelles molécules à intérêt thérapeutique nous nous sommes intéressés à valoriser les vertus de plantes aromatiques médicinales : *L. stoechas* et de *M. pulegium* par une caractérisation phytochimique, l'étude de leurs toxicité et l'évaluation de leurs propriétés antioxydantes, antibactériennes et cicatrisante. Le choix de ses deux plantes est justifié par leurs abondances dans les régions de Bouira et M'sila respectivement et pour leurs utilisations en médecine traditionnelle par la population locale.

Les rendements d'extraction des polyphénols à partir des parties aériennes de *L.stoechas* et *M. pulegium* sont $22,72\pm 1,65$ % et $13,79\pm 0,38\%$, cependant, leurs rendements en huiles essentielles sont de $1,46 \pm 0,06\%$ et $3,96 \pm 0,12\%$ respectivement.

Les analyses chimiques de HE LS par GC/FID et GC/MS ont permis d'identifier environ 93.51 % de produits volatiles totaux dont le fenchone (50.29%), le camphre (14.02%), l'acétate de bornyle (5.60%) et l'acétate de myrtenyle (4.99%), sont les composés majoritaires des 68 composés identifiés. En ce qui concerne HE MP, l'analyse a révélée 27 constituants représentant 98.06 % des produits volatiles totaux dont les composés majeurs de sont le pulegone (81.04%), pipériténone (13.60%) et trans-p mentha-8-en-3-one (1.35%).

L'estimation quantitative des polyphénols totaux contenus dans les extraits méthanoliques EX LS et EX MP a montré que ces derniers sont relativement riches en polyphénols totaux ($289,67\pm 1,06$ mg EAG/g Ex et $168,52\pm 2,85$ mg EAG/g Ex, respectivement). Les résultats de cette étude ont montré également que les même extraits EX LS et EX MP renferment chacun une teneur intéressantes en flavonoïde ($50,47\pm 1,17$ et $43,86\pm 0,41$ mg EQ/g Ex), en flavones et flavonols ($78,52\pm 2,01$ et $58,31\pm 2,03$ mg ER /g Ex) et en tanins totaux ($42,02\pm 0,58$ et $53,02\pm 1,39$ mg EAT/g Ex), respectivement. La caractérisation chimique des extraits méthanoliques de *L. stoechas* et de *M. pulegium* réalisée par RP-LC-DAD-ESI-MS/MS nous a permis de démontrer leurs richesse en acides phénoliques (6 composés parmi les 12 identifiés) pour *M. pulegium* et (2 composés parmi les 9 identifiés) pour *L. stoechas* dont la dominance de l'acide rosmarinique dans les deux extraits de plantes. Le reste des composés appartiennent aux classes des flavones et des flavanols.

Le criblage préliminaire *in vitro* réalisé par les sept tests (TAC, DPPH, ABTS, FRAP, ORAC, Chélation du Fer et β -carotène) a montré que l'EX LS et l'EX MP ont exhibé un potentiel antioxydant important, alors que les HE LS et HE MP se sont montrés moins efficaces.

Un test complémentaire, le test d'activité anti-hémolytique qui reflète au mieux les mécanismes d'action des biomolécules au niveau du système complexe de défenses antioxydantes a été également envisagé. Les résultats obtenus ont montré que l'EX LS et l'EX MP se sont révélés très actifs (IC_{50} de $152,58 \pm 8.18 \mu\text{g/mL}$ et $21.41 \pm 0.49 \mu\text{g/mL}$, respectivement).

La détermination de l'activité antibactérienne a été déterminée par la méthode de diffusion de disque et la microdilution en milieu liquide. Les résultats indiquent que les HE LS et HE MP possèdent une activité antibactérienne sur toutes les souches testées et notamment contre *S. aureus* (CMI = 0.78 et 0.15 mg/mL, respectivement) et *B. subtilis* (CMI = 0.10 et 0.30 mg/mL, respectivement). Par ailleurs, l'EX LS et l'EX MP ont montré une activité faible à l'encontre de *S. aureus* et *B. subtilis*, alors que l'*E. coli* et *P. aeruginosa* ont manifesté une résistance importante. Ces résultats montrent la sensibilité des bactéries Gram⁺ par rapport aux Gram⁻.

Afin de garantir l'innocuité des huiles essentielles et des extraits méthanoliques, nous avons tenté une étude toxicologique aiguë *in vivo* par voie orale au dose 2000 mg/kg pour les l'EX LS et l'EX MP et HE LS et à la dose de 300 mg/kg pour HE MP. Après administration orale des différents extraits, aucune mortalité, ni signes toxiques particuliers n'ont été constatés. La DL 50 peut être alors estimée supérieure à 2000 mg/kg pour EX LS, EX MP et HE LS. Pour HE MP, la DL50 est supérieure à 300 mg/kg. Les extraits peuvent être considérés comme étant non toxiques, il en déduit, qu'ils soient considérés comme de bon matériel pour les études pharmacologiques. Les paramètres biochimiques et histologiques ont été également discutés.

L'étude de la toxicité subaiguë des EX LS et EX MP a révélé après administration orale de trois doses différentes (200, 400 et 800 mg/kg/jours) pendant 21 jours, aucun signe de toxicité sur le comportement, l'évolution du poids total, le poids des organes des souris traitées (cœur, reins), ni les paramètres biochimiques, de même pour l'histologie hépatique à la dose 200 mg / kg, cependant son altération a été observée à 400 et à 800 mg/kg .

Afin d'appuyer les résultats de l'activité antioxydante décelés *in vitro*, une approche *in vivo* a donc été réalisée. L'analyse des paramètres du potentiel antioxydant a révélé une augmentation significative du niveau de la CAT et le GSH et la diminution du taux de MDA dans le foie.

Pour mieux évaluer le pouvoir antioxydant des extraits, on a adopté une approche plus approfondie par l'intermédiaire de différentes stratégies de mesure afin de déceler l'effet cicatrisant des *L. stoechas* et de *M. pulegium*. L'effet irritant/corrosif aigu sur la peau nous a permis de classer les huiles essentielles et les extraits méthanoliques comme non irritants. Le pouvoir cicatrisant des OEML 5 et 10% et de OHEL 10% s'est montré supérieur (93.1 %, 97.19 % et 90.43 %) à celui de la crème cicatrisante commerciale (84.52 %) (Cicatryl®). L'examen histologique a révélé une augmentation de la quantité des fibroblastes au sein des plaies des lots traités avec OEML 5% et 10%, OHEL 10% et OEMM 10%, l'augmentation des fibroblastes producteurs de collagène sont en faveur d'une cicatrisation de bonne qualité.

Le présent travail rapporte donc une contribution à la connaissance des deux espèces et il ouvre de nombreuses perspectives.

Des études complémentaires approfondies sont envisagées pour mieux cerner les molécules impliquées dans chacune des activités observées et les mécanismes par lesquels ces composés agissent.

Ces investigations peuvent être résumées comme suite:

- ✓ Evaluation d'autres activités pharmacologiques telle que l'activité anticancéreuse et l'activité anti-inflammatoire.
- ✓ Isolement, caractérisation et identification des composés actifs présents dans les extraits de *L. stoechas* et *M. pulegium*, étude de leurs toxicités et évaluation de leurs activités biologiques *in vitro* et *in vivo*.
- ✓ l'étude relation structure-activité permettra de corrélérer les résultats des tests biologiques avec des structures bien précises responsables de l'activité, ce qui permettra la synthèse des molécules potentiellement actives.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- Abdelli, M., Moghrani, H., Aboun, A., & Maachi, R. (2016). Algerian *Mentha pulegium* L. leaves essential oil: chemical composition, antimicrobial, insecticidal and antioxidant activities. *Industrial Crops and Products*, *94*, 197-205.
- Abolaji, A. O., Ojo, M., Afolabi, T. T., Arowoogun, M. D., Nwawolor, D., & Farombi, E. O. (2017). Protective properties of 6-gingerol-rich fraction from *Zingiber officinale* (Ginger) on chlorpyrifos-induced oxidative damage and inflammation in the brain, ovary and uterus of rats. *Chemico-Biological Interactions*, *270*, 15-23.
- Adomako-Bonsu, A. G., Chan, S. L., Pratten, M., & Fry, J. R. (2017). Antioxidant activity of rosmarinic acid and its principal metabolites in chemical and cellular systems: Importance of physico-chemical characteristics. *Toxicology in vitro*, *40*, 248-255.
- Agnihotri, V. K., Agarwal, S. G., Dhar, P. L., Thappa, R. K., Kapahi, B. K., Saxena, R. K., & Qazi, G. N. (2005). Essential oil composition of *Mentha pulegium* L. growing wild in the north-western Himalayas India. *Flavour and Fragrance Journal*, *20*(6), 607-610.
- Ahmadi, F., Kadivar, M., & Shahedi, M. (2007). Antioxidant activity of *Kelussia odoratissima* Mozaff. in model and food systems. *Food chemistry*, *105*(1), 57-64.
- Ahmadinejad, F., Geir Møller, S., Hashemzadeh-Chaleshtori, M., Bidkhorri, G., & Jami, M. S. (2017). Molecular mechanisms behind free radical scavengers function against oxidative stress. *Antioxidants*, *6*(3), 51.
- Ahmed, I. A., Mikail, M. A., Bin Ibrahim, M., Bin Hazali, N., Rasad, M. S. B. A., Ghani, R. A., ... & Yahya, M. N. A. (2015). Antioxidant activity and phenolic profile of various morphological parts of underutilised *Baccaurea angulata* fruit. *Food chemistry*, *172*, 778-787.
- Ahsan, H., Ali, A., & Ali, R. (2003). Oxygen free radicals and systemic autoimmunity. *Clinical & Experimental Immunology*, *131*(3), 398-404.
- Ait-Ouazzou, A., Lorán, S., Arakrak, A., Laglaoui, A., Rota, C., Herrera, A., ... & Conchello, P. (2012). Evaluation of the chemical composition and antimicrobial activity of *Mentha pulegium*, *Juniperus phoenicea*, and *Cyperus longus* essential oils from Morocco. *Food research international*, *45*(1), 313-319.
- Akar, Z., Küçük, M., & Doğan, H. (2017). A new colorimetric DPPH• scavenging activity method with no need for a spectrophotometer applied on synthetic and natural antioxidants and medicinal herbs. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, *32*(1), 640-647.
- Akroum S. (2010). Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels. Thèse de Doctorat : Université Mentouri de Constantine-Algerie
- Alam, M. N., Bristi, N. J., & Rafiqzaman, M. (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi pharmaceutical journal*, *21*(2), 143-152.
- Algieri, F., Rodriguez-Nogales, A., Vezza, T., Garrido-Mesa, J., Garrido-Mesa, N., Utrilla, M.P., González-Tejero, M.R., Manuel Casares-Porcelb, Molero-Mesa, J., Contreras, M.d.M., Segura-Carretero, A., Pérez-Palacio, J., Diaz, C., Vergara, N., Vicente, F., Rodriguez-Cabezas, M.E., Galvez, J. (2016). Anti-inflammatory activity of hydroalcoholic extracts of *Lavandula dentata* L. and *Lavandula stoechas* L. *Journal of Ethnopharmacology*, *190*, 142-158.

- Alonso-Castro, A. J., Domínguez, F., & García-Carrancá, A. (2013). Rutin exerts antitumor effects on nude mice bearing SW480 tumor. *Archives of medical research*, 44(5), 346-351.
- Alvarez Costa, A., Naspi, C. V., Lucia, A., & Masuh, H. M. (2017). Repellent and larvicidal activity of the essential oil from *Eucalyptus nitens* against *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 54(3), 670-676.
- Alvarez-Suarez, J. M., Dekanski, D., Ristić, S., Radonjić, N. V., Petronijević, N. D., Giampieri, F., ... & Quiles, J. L. (2011). Strawberry polyphenols attenuate ethanol-induced gastric lesions in rats by activation of antioxidant enzymes and attenuation of MDA increase. *PLoS One*, 6(10), 258-278.
- Aman, S., Moin, S., Owais, M., & Siddiqui, M. U. (2013). Antioxidant activity of thymol: protective role in AAPH-induced hemolysis in diabetic erythrocytes. *IJPSI*, 2(3), 55-60.
- Amarowicz, R., Pegg, R. B., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B., & Weil, J. A. (2004). Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food chemistry*, 84(4), 551-562.
- Amorati, R., Foti, M.C and Valgimigli, L. (2013). Antioxidant Activity of Essential Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61 (46), 10835–10847.
- Angioni, A., Barra, A., Coroneo, V., Dessi, S., & Cabras, P. (2006). Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(12), 4364-4370.
- Anosike, C.A., Igboegwu, O.N. & Nwodo O.F.C. (2018). Antioxidant properties and membrane stabilization effects of methanol extract of *Mucuna pruriens* leaves on normal and sickle erythrocytes. *J Tradit Complement Med*. 9(4): 278–284.
- Ansari, M., Alizadeh, A. M., Paknejad, M., Khaniki, M., & Naeimi, S. M. (2009). Effects of *teucrium polium* honey on burn wound healing process. *Journal of Babol University of Medical Sciences*, 11(3), 7-12.
- Antman, E. M. (2017). Evaluating the cardiovascular safety of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Circulation*, 135(21), 2062-2072.
- Anzai, T., Yoshikawa, T., Kaneko, H., Maekawa, Y., Iwanaga, S., Asakura, Y., & Ogawa, S. (2004). Association between serum C-reactive protein elevation and left ventricular thrombus formation after first anterior myocardial infarction. *Chest*, 125(2), 384-389.
- Aouachria, S., Boumerfeg, S., Benslama, A., Benbacha, F., Guemmez, T., Khenouf, S., Arrar, L., Baghiani, A., 2017. Acute, sub-acute toxicity and antioxidant activities (in vitro and in vivo) of *Reichardia picroide* crude extract. *Journal of Ethnopharmacology* 208, 105-116.
- Arina, A. N., & Azrina, A. (2016). Comparison of phenolic content and antioxidant activity of fresh and fried local fruits. *International Food Research Journal*, 23(4), 1717.
- Arora, A., Sairam, R. K., & Srivastava, G. C. (2002). Oxidative stress and antioxidative system in plants. *Current science*, 1227-1238.
- Arvy M.P. & Gallouin F. (2003). Epices, aromates et condiments. Ed. Belin, Paris. 412 p.
- Asgarpanah, J., & Roohi, E. (2012). Phytochemistry and pharmacological properties of *Equisetum arvense* L. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(21), 3689-3693.

- Aslan, A., Güllüce, M., Sökmen, M., Adıgüzel, A., Sahin, F., & Özkan, H. (2006). Antioxidant and Antimicrobial Properties of the Lichens *Cladonia foliacea.*, *Dermatocarpon miniatum.*, *Everinia divaricata.*, *Evernia prunastri.*, and *Neofuscella pulla.* *Pharmaceutical biology*, 44(4), 247-252.
- Assi, M. A., Hezmee, M. N. M., Abd Wahid Haron, M. Y. M., & Sabri, M. A. R. (2016). The detrimental effects of lead on human and animal health. *Veterinary world*, 9(6), 660.
- Athamena, S., Chalghem, I., Kassah-Laouar, A., Laroui, S., & Khebri, S. (2010). Activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum cyminum* L. *Lebanese science journal*, 11(1), 69-81.
- Auger, C., & Schini-Kerth, V. B. (2014). Potentiel des polyphénols à améliorer la protection vasculaire en stimulant la fonction endothéliale. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 49(4), 160-172.
- Aycan, M., Yildiz, M., Darcin, S., Tunc, K., Hos, A., & Dundar, E. (2015). Antibacterial activity of *Mentha pulegium* L. from Turkey. *American Journal of Life Sciences*, 3(6), 383-386.
- Azame, T. L., Fokunang, E. T., Nono, B. N., Ngoupayo, J., & Fokunang, C. N. (2019). Screening Phytochimique, Activité Cicatrisante et Toxicité Aigüe de la Sève des Racines de *Musanga cecropioides* et de l'Extrait Aqueux de la Plante Entière *Acmella caulirhiza* sur des Rats de la Souche Wistar. *HEALTH SCIENCES AND DISEASE*, 21(1).
- Aziz, E. E., & Abbass, M. H. (2010). Chemical composition and efficiency of five essential oils against the pulse beetle *Callosobruchus maculatus* (F.) on *Vigna radiata* seeds. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science*, 8(4), 411-419.
- Baali, F., Boumerfeg, S., Napoli, E., Boudjelal, A., Righi, N., Deghima, A., ... & Ruberto, G. (2019). Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oils from Two Wild Algerian Medicinal Plants: *Mentha pulegium* L. and *Lavandula stoechas* L. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 22(3), 821-837.
- Baali, F., Boumerfeg, S., Boudjelal, A., Denaro, M., Ginestra, G., Baghiani, A., ... & Trombetta, D. (2021). Wound-healing activity of Algerian *Lavandula stoechas* and *Mentha pulegium* extracts: from traditional use to scientific validation. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 1-20.
- Baba Aissa F. Encyclopédie des plantes utiles, librairie moderne, Rouïba; 2000: 368.
- Bachiri, L., Echchegadda, G., Ibjibijen, J., & Nassiri, L. (2016). Etude Phytochimique Et Activité Antibactérienne De Deux Espèces De Lavande Autochtones Au Maroc:«*Lavandula stoechas* L. et *Lavandula dentata* L.»». *European Scientific Journal*, 12(30), 313-333.
- Baghiani, A., Boumerfeg, S., Adjadj, M., Ameni, D., Djermouni, M., Khelifi-Touhami, F., ... & Arrar, L. (2011). Antioxidants, Free Radicals Scavenging and Xanthine Oxidase Inhibitory Potentials of *Ajuga iva* L. Extracts. *Free Radicals and Antioxidants*, 1(4), 21-30.
- Baghiani, A., Boussoualim, N., Trabsa, H., Aouachria, S., & Arrar, L. (2013). In vivo free radical scavenging, antihemolytic activity and antibacterial effects of *Anchusa azurea* extracts. *International journal of medicine and medical sciences*, 46(1), 1113-1118.
- Baghiani, A., Djarmouni, M., Boumerfeg, S., Trabsa, H., Charef, N., Khennouf, S., & Arrar, L. (2012). Xanthine oxidase inhibition and antioxidant effects of *Peaganum harmala* seed extracts. *European Journal of Medicinal Plants*, 42-56.
- Baldovini, N., Muselli, A., Ristocelli, D., Tomi, F., & Casanova, J. (1998). Chemical variability of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* from Corsica. *RiV. Italiana EPPOS*, 773-780.

- Baranauskaite, J., Kubiliene, A., Marksa, M., Petrikaite, V., Vitkevičius, K., Baranauskas, A and Bernatoniene, J.(2017). The Influence of Different Oregano Species on the Antioxidant Activity Determined Using HPLC Postcolumn DPPH Method and Anticancer Activity of Carvacrol and Rosmarinic Acid. *BioMed Research International*, p 7.
- Baranauskaite, J., Sadauskiene, I., Liekis, A., Kasauskas, A., Lazauskas, R., Zlabiene, U., & Bernatoniene, J. (2020). Natural Compounds Rosmarinic Acid and Carvacrol Counteract Aluminium-Induced Oxidative Stress. *Molecules*, 25(8), 1807.
- Barchan, A., Bakkali, M., Arakrak, A., & Laglaoui, A. (2016). Effet antibactérien et anti-biofilm de trois espèces de *Mentha*: *Mentha spicata*, *Mentha pulegium* et *Mentha piperita*. *Phytothérapie*, 14(2), 88-96.
- Barclay, L.R.C., Xi, F and Norris, J.Q. (2006). Antioxidant Properties of Phenolic Lignin Model Compounds. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 17 (1- 2), 73-90.
- Barreca, D., Laganà, G., Leuzzi, U., Smeriglio, A., Trombetta, D., & Bellocco, E. (2016). Evaluation of the nutraceutical, antioxidant and cytoprotective properties of ripe pistachio (*Pistacia vera* L., variety Bronte) hulls. *Food chemistry*, 196, 493-502.
- Bartosz, G. (2003). Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on toxicology*, 9(1), 5-21.
- Bayrak, D., Okmen, G., & Arslan, A. (2017). The biological activities of *Lavandula stoechas* L. Against food pathogens. *International Journal of Secondary Metabolite*, 4(3), 270-279.
- Baytop T. 1999: Therapy with medicinal plants in Turkey (Past and Present). Istanbul: Publications of the Istanbul University. No. 3255 (2nd ed., pp. 244–245).
- Beghidja, N., Bouslimani, N., Benayache, F., Benayache, S., & Chalchat, J. C. (2007). Composition of the oils from *Mentha pulegium* grown in different areas of the East of Algeria. *Chemistry of Natural Compounds*, 43(4), 481-483.
- Benabdallah, A., Rahmoune, C., Boumendjel, M., Aissi, O., & Messaoud, C. (2016). Total phenolic content and antioxidant activity of six wild *Mentha* species (Lamiaceae) from northeast of Algeria. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 6(9), 760-766.
- Benabdelkader T., 2012. Biodiversité, bioactivité et biosynthèse de composés terpéniques volatiles des lavandes ailées, *Lavandula stoechas* Sensu Lato, un complexe d'espèces Méditerranéennes d'intérêt pharmacologique. Thèse de Doctorat, ENS Koubaen Algérie et Université Jean-Monnet de Saint-Etienne. France. 204 p
- Benabdelkader, T., Zitouni, A., Guitton, Y., Jullien, F., Maitre, D., Casabianca, H., ... & Kameli, A. (2011). Essential oils from wild populations of Algerian *Lavandula stoechas* L.: composition, chemical variability, and in vitro biological properties. *Chemistry & biodiversity*, 8(5), 937-953.
- Benbelaid, F., Bendahou, M., Khadir, A., Abdoune, M. A., Bellahsene, C., Zenati, F., & Abdelouahid, D. E. (2012). Antimicrobial activity of essential Oil of *Lavandula multifida* L. *J Microbiol Biotech Res*, 2, 244-7.
- Bencheikh, D. (2018). Polyphenols and antioxidant properties of extracts from *Mentha pulegium* L. and *Matricaria camomilla* L (Doctoral dissertation).
- Benhammou, N., Bekkara, F. A., & Panovska, T. K. (2008). Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2(2), 022-028.

- Benkhaled, A., Boudjelal, A., Napoli, E., Baali, F., & Ruberto, G. (2020). Phytochemical profile, antioxidant activity and wound healing properties of *Artemisia absinthium* essential oil. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 10(11), 496.
- Bennick, A. (2002). Interaction of plant polyphenols with salivary proteins. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 13(2), 184-196.
- Benslama, A., Boumerfeg, S., Aouachria, S., Guemmaz, T., Arrar, L., Khenouf, S., & Baghiani, A. (2020). Xanthine Oxidase Inhibition, In Vitro Antioxidant Activity and Antibacterial Effect of the Aerial Part Extracts of *Thymus pallidus* Coss. *Current Nutrition & Food Science*, 16(4), 607-615.
- Bernstein, P. S., Li, B., Vachali, P. P., Gorusupudi, A., Shyam, R., Henriksen, B. S., & Nolan, J. M. (2016). Lutein, zeaxanthin, and meso-zeaxanthin: The basic and clinical science underlying carotenoid-based nutritional interventions against ocular disease. *Progress in retinal and eye research*, 50, 34-66.
- Beta, T., Nam, S., Dexter, J. E., & Sapirstein, H. D. (2005). Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller-milled fractions. *Cereal chemistry*, 82(4), 390-393.
- Bonnefont-Rousselot, D., Peynet, J., Beaudeau, J. L., Théron, P., Legrand, A., & Delattre, J. (2002). Stress oxydant, fonctions vasculaires et athérosclérose. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16(4), 260-267.
- Bordt, E. A., & Polster, B. M. (2014). NADPH oxidase-and mitochondria-derived reactive oxygen species in proinflammatory microglial activation: a bipartisan affair?. *Free Radical Biology and Medicine*, 76, 34-46.
- Boudjelal, A., Henchiri, C., Sari, M., Sarri, D., Hendel, N., Benkhaled, A., & Ruberto, G. (2013). Herbalists and wild medicinal plants in M'Sila (North Algeria): An ethnopharmacology survey. *Journal of ethnopharmacology*, 148(2), 395-402.
- Boudjelal, A., Smeriglio, A., Ginestra, G., Denaro, M., & Trombetta, D. (2020). Phytochemical Profile, Safety Assessment and Wound Healing Activity of *Artemisia absinthium* L. *Plants*, 9(12), 1744.
- Bouhaddouda N., 2016: Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local : *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium* these, Université Badji Mokhtar-Annaba, 205p.
- Boukenna M et Bouzidi M (2007). Extraction et analyse de l'huile essentielle de *Mentha viridis* L (menthe verte) et de la *Mentha pulegium* (menthe pouliot). Thèse d'Ingénieur en Agronomie UMMTO.
- Boumerfeg, S., Baghiani, A., Djarmouni, M., Ameni, D., Adjadj, M., Belkhiri, F., ... & Arrar, L. (2018). Inhibitory activity on xanthine oxidase and antioxidant properties of *Teucrium polium* L. extracts.
- Boumerfeg, S., Baghiani, A., Djarmouni, M., Ameni, D., Adjadj, M., Belkhiri, F., ... & Arrar, L. (2018). Inhibitory activity on xanthine oxidase and antioxidant properties of *Teucrium polium* L. extracts.
- Boumerfeg, S., Baghiani, A., Djarmouni, M., Ameni, D., Adjadj, M., Belkhiri, F., ... & Arrar, L. (2018). Inhibitory activity on xanthine oxidase and antioxidant properties of *Teucrium polium* L. extracts. *Chin. Med.* 3, 30-34.
- Bourgou, S., Ksouri, R., Bellila, A., Skandrani, I., Falleh, H., & Marzouk, B. (2008). Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. shoots and roots. *Comptes Rendus Biologies*, 331(1), 48-55.
- Bouyahya, A., Dakka, N., Talbaoui, A., Et-Touys, A., El-Boury, H., Abrini, J., & Bakri, Y. (2017). Correlation between phenological changes, chemical composition and biological activities of the essential oil from

- Moroccan endemic Oregano (*Origanum compactum* Benth). *Industrial Crops and Products*, 108, 729-737.
- Bouyahya, A., Et-Touys, A., Bakri, Y., Talbaoui, A., Fellah, H., Abrini, J., & Dakka, N. (2017). Chemical composition of *Mentha pulegium* and *Rosmarinus officinalis* essential oils and their antileishmanial, antibacterial and antioxidant activities. *Microbial pathogenesis*, 111, 41-49.
- Bouzouita, N., Kachouri, F., Hamdi, M., Chaabouni, M. M., Aissa, R. B., Zgoulli, S., ... & Lognay, G. C. (2005). Volatile constituents and antimicrobial activity of *Lavandula stoechas* L. oil from Tunisia. *Journal of essential oil research*, 17(5), 584-586.
- Bouzouita, N., Kachouri, F., Hamdi, M., Chaabouni, M. M., Aissa, R. B., Zgoulli, S., ... & Lognay, G. C. (2005). Volatile constituents and antimicrobial activity of *Lavandula stoechas* L. oil from Tunisia. *Journal of essential oil research*, 17(5), 584-586.
- Brahmi, F., Abdenour, A., Bruno, M., Silvia, P., Alessandra, P., Danilo, F., ... & Mohamed, C. (2016). Chemical composition and in vitro antimicrobial, insecticidal and antioxidant activities of the essential oils of *Mentha pulegium* L. and *Mentha rotundifolia* (L.) Huds growing in Algeria. *Industrial Crops and Products*, 88, 96-105.
- Brahmi, F., Hauchard, D., Guendouze, N., Madani, K., Kiendrebeogo, M., Kamagaju, L., Stévigny, C., Chibane, M., Duez, P. (2015). Phenolic composition, in vitro antioxidant effects and tyrosinase inhibitory activity of three Algerian *Mentha* species: *M. spicata* (L.), *M. pulegium* (L.) and *M. Rotundifolia* (L.) Huds (Lamiaceae). *Industrial Crops and Products*. 74, 722–730.
- Brühlmann, C., Marston, A., Hostettmann, K., Carrupt, P. A., & Testa, B. (2004). Screening of non-alkaloidal natural compounds as acetylcholinesterase inhibitors. *Chemistry & biodiversity*, 1(6), 819-829.
- Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 4ème éd. Ed. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.
- Cakilcioglu, U., & Turkoglu, I. (2010). An ethnobotanical survey of medicinal plants in Sivrice (Elazığ-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 132(1), 165-175.
- Çakir, A., Mavi, A., Kazaz, C., Yildirim, A., & KÜFREYİOĞLU, Ö. İ. (2006). Antioxidant activities of the extracts and components of *Teucrium orientale* L. var. orientale. *Turkish Journal of Chemistry*, 30(4), 483-494.
- Călinoiu, L. F., & Vodnar, D. C. (2018). Whole grains and phenolic acids: A review on bioactivity, functionality, health benefits and bioavailability. *Nutrients*, 10(11), 1615.
- Calsamiglia, S., Busquet, M., Cardozo, P. W., Castillejos, L., & Ferret, A. (2007). Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of dairy science*, 90(6), 2580-2595.
- Carocho, M., & CFR Ferreira, I. (2013). The role of phenolic compounds in the fight against cancer—a review. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*, 13(8), 1236-1258.
- Castillo, R. M., Stashenko, E., & Duque, J. E. (2017). Insecticidal and repellent activity of several plant-derived essential oils against *Aedes aegypti*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 33(1), 25-35.
- Catarino, M. D., Talhi, O., Rabahi, A., Silva, A. M. S., & Cardoso, S. M. (2016). The antiinflammatory potential of flavonoids: Mechanistic aspects. In *Studies in Natural Products Chemistry*, 48, 65-99.
- Catier, O., Roux, D. (2007). Botanique pharmacognosie phytothérapie. Édit.3.

- Celep, E., Akyüz, S., İnan, Y., & Yesilada, E. (2018). Assessment of potential bioavailability of major phenolic compounds in *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas*. *Industrial Crops and Products*, 118, 111-117.
- Khameneh, B., Iranshahy, M., Soheili, V., & Bazzaz, B. S. F. (2019). Review on plant antimicrobials: A mechanistic viewpoint. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 8(1), 1-28.
- Ceylan, Y., Usta, K., Usta, A., Maltas, E., & Yildiz, S. (2015). Evaluation of antioxidant activity, phytochemicals and ESR analysis of *Lavandula stoechas*. *Acta Phys Pol A*, 128, 483-487.
- Chaabi, M., Benayache, S., Benayache, F., N'Gom, S., Koné, M., Anton, R., ... & Lobstein, A. (2008). Triterpenes and polyphenols from *Anogeissus leiocarpus* (Combretaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 36(1), 59-62.
- Chalchat, J. C., Gorunovic, M. S., Maksimovic, Z. A., & Petrovic, S. D. (2000). Essential oil of wild growing *Mentha pulegium* L. from Yugoslavia. *Journal of Essential Oil Research*, 12(5), 598-600.
- Chandrasekaran, A., Idelchik, M. D. P. S., & Melendez, J. A. (2017). Redox control of senescence and age-related disease. *Redox biology*, 11, 91-102.
- Chen, L., Deng, H., Cui, H., Fang, J., Zuo, Z., Deng, J., ... & Zhao, L. (2018). Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*, 9(6), 7204.
- Chen, L., Deng, H., Cui, H., Fang, J., Zuo, Z., Deng, J., ... & Zhao, L. (2018). Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*, 9(6), 7204.
- Cheraghali, Z., Mohammadi, R., & Jalilzadeh-Amin, G. (2017). Planimetric and biomechanical study of local effect of pulegone on full thickness wound healing in rat. *The Malaysian journal of medical sciences: MJMS*, 24(5), 52.
- Cherrat, L. (2013). Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles de 5 plantes aromatiques et médicinales du Maroc et évaluation de leurs effets combinés avec des méthodes de conservation alimentaire. Université Abdelmalek Essaadi. Faculté des sciences et techniques- Tanger.
- Cherrat, L., Espina, L., Bakkali, M., Pagán, R., & Laglaoui, A. (2014). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of *Mentha pulegium*, *Lavandula stoechas* and *Satureja calamintha* Scheele essential oils and an evaluation of their bactericidal effect in combined processes. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 22, 221-229.
- Christensen, S.B., Kjoeller, L.I., Rasmussen, U., Christophersen, C. (1982). Thapsigargin and thapsigarginin, two histamine liberating sesquiterpene lactones from *Thapsia garganica*. X-ray analysis of the 7,11-epoxide of thapsigargin. *Journal of Organic Chemistry*, 47, 649-652.
- Chrysargyris, A., Panayiota, X., Botsaris, G and Tzortzakis, N. (2017). Antioxidant and antibacterial activities, mineral and essential oil composition of spearmint (*Mentha spicata* L.) affected by the potassium levels. *Industrial Crops and Products*, 103, 202-212.
- Chung, W. J. (2014). Management of portal hypertensive gastropathy and other bleeding. *Clinical and molecular hepatology*, 20(1), 1.
- Çimen, M. B. (2008). Free radical metabolism in human erythrocytes. *Clinica chimica acta*, 390(1-2), 1-11.
- Collard J (2014). Les marqueurs biologiques du stress oxydant. labolink.Belgique.page 1.
- Colucci R., Dragoni F. & Moretti S. (2015). Oxidative stress and immune system in vitiligo and thyroid diseases. *Oxid. Med. Cell Longev*. 2015: 631927

- Cotticelli, M. G., Crabbe, A. M., Wilson, R. B., & Shchepinov, M. S. (2013). Insights into the role of oxidative stress in the pathology of *Friedreich ataxia* using peroxidation resistant polyunsaturated fatty acids. *Redox biology*, 1(1), 398-404.
- Dadalioğlu, I., & Evrendilek, G. A. (2004). Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish oregano (*Origanum minutiflorum*), bay laurel (*Laurus nobilis*), Spanish lavender (*Lavandula stoechas* L.), and fennel (*Foeniculum vulgare*) on common foodborne pathogens. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(26), 8255-8260.
- Darabi, K., & Khajehali, J. (2017). Bioactivity of essential oils of *Mentha* species and *Cuminum cyminum* L. on *Anarta trifolii* (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 20(4), 1097-1106.
- De Medina, F., Sanchez, F., Posadas, O., Lopez, R., Romero-Calvo, C., Mascaraque, G., Daddaoua, A., Perez, R., Gonzalez Herrera, M.M., Gonzalez, G.H., Martinez-Plata, E., Ortega, M., Suarez Zarzuelo, A. and Martinez-Augustin, O. (2009). The intestinal anti-inflammatory activity of the flavonoid rutin requires oral administration and may involve effects on mucosal lymphocytes. *Clinical Nutrition Supplements*: 49.
- Dellille L. (2007) : les plantes médicinales d'algérie. Berti editions, Alger, 240.
- Demirci, B., Yusufoglu, H. S., Tabanca, N., Temel, H. E., Bernier, U. R., Agramonte, N. M., ... & Demirci, F. (2017). *Rhanterium epapposum* Oliv. Essential oil: Chemical composition and antimicrobial, insect-repellent and anticholinesterase activities. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 25(5), 703-708.
- Densiov, E.T., Afanas'ev, I.B. (2005) IN: Oxidation and antioxidants in organic chemistry and biology. Eds: Taylor & Francis Group (U.S.A), Pp: 703-861.
- Derwich, E., Benziane, Z., & Taouil, R. (2010). GC/MS analysis of volatile compounds of the essential oil of the leaves of *Mentha pulegium* growing in Morocco. *Chem Bull POLITEHNICA Univ*, 55(69), 103-106.
- Díaz-Maroto, M. C., Castillo, N., Castro-Vázquez, L., Ángel González-Viñas, M., & Pérez-Coello, M. S. (2007). Volatile composition and olfactory profile of pennyroyal (*Mentha pulegium* L.) plants. *Flavour and Fragrance Journal*, 22(2), 114-118.
- Djabou, N., Lorenzi, V., Guinoiseau, E., Andreani, S., Giuliani, M. C., Desjobert, J. M., ... & Muselli, A. (2013). Phytochemical composition of Corsican *Teucrium* essential oils and antibacterial activity against foodborne or toxi-infectious pathogens. *Food Control*, 30(1), 354-363.
- Djahra, A. B., Bordjiba, O., & Benkherara, S. (2015). Activité antibactérienne des flavonoïdes d'une plante médicinale spontanée *Marrubium vulgare* L. de la région d'El Tarf (Nord-Est Algérien). *Synthèse: Revue des Sciences et de la Technologie*, 24, 29-37.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Brunel, J. M. & Stocker, P. (2010). Isolation and characterization of a new steroid derivative as a powerful antioxidant from *Cleome arabica* in screening the *in vitro* antioxidant capacity of 18 Algerian medicinal plants. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 2599-2606.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry*, 97(4), 654-660.
- Djerrou, Z. (2011). Effets de quelques molécules naturelles en médecine: Activité cicatrisante et innocuité de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus* L (Doctoral dissertation, thèse Doct: pharmacologie toxicologie).

- Djoko, E., Foutse, Y., Magne, K.S., Dimo, T. (2019). Activité cicatrisante d'une pommade à base des feuilles de *Kalanchoe crenata* (Andr.) Haw chez le rat. (Wound scarring of a kalanchoe crenata leaves ointment). *International Journal of Research and Analytical Reviews* 6(4).
- Donaghy, L., Hong, H. K., Jauzein, C., & Choi, K. S. (2015). The known and unknown sources of reactive oxygen and nitrogen species in haemocytes of marine bivalve molluscs. *Fish & shellfish immunology*, 42(1), 91-97.
- Dorman, H. D., Koşar, M., Kahlos, K., Holm, Y., & Hiltunen, R. (2003). Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species, hybrids, varieties, and cultivars. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(16), 4563-4569.
- Dorward, D. A., Lucas, C. D., Rossi, A. G., Haslett, C., & Dhaliwal, K. (2012). Imaging inflammation: molecular strategies to visualize key components of the inflammatory cascade, from initiation to resolution. *Pharmacology & therapeutics*, 135(2), 182-199.
- Dröge, W. (2003). Oxidative stress and aging. In *Hypoxia* (pp. 191-200). Springer, Boston, MA.
- Duthie, G. G., Duthie, S. J., & Kyle, J. A. (2000). Plant polyphenols in cancer and heart disease: implications as nutritional antioxidants. *Nutrition research reviews*, 13(1), 79-106.
- Echazú, M.I.A., Olivetti, C.E., Anesini, C., Perez, C.J., Alvarez, G.S and Desimone, MF. (2017). Development and evaluation of thymol-chitosan hydrogels with REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 122 antimicrobial-antioxidant activity for oral local delivery. *Materials Science and Engineering*, 81, 588-596.
- El Gharras, H. (2009). Polyphenols: food sources, properties and applications—a review. *International journal of food science & technology*, 44(12), 2512-2518.
- Eslahi, H., Fahimi, N., & Sardarian, A. R. (2017). Chemical composition of essential oils. *Essential oils in food processing: chemistry, safety and applications*, 119-71.
- European Pharmacopoeia 8.0. (2008). Determination of Essential Oils in Herbal Drugs, 2.8.12: 251-252.
- Exarchou, V., Nenadis, N., Tsimidou, M., Gerothanassis, I. P., Troganis, A., & Boskou, D. (2002). Antioxidant activities and phenolic composition of extracts from Greek oregano, Greek sage, and summer savory. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(19), 5294-5299.
- Ezzat, S. M., Ezzat, M. I., Okba, M. M., Menze, E. T., & Abdel-Naim, A. B. (2018). The hidden mechanism beyond ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) potent *in vivo* and *in vitro* anti-inflammatory activity. *Journal of ethnopharmacology*, 214, 113-123.
- Fair, R. J., & Tor, Y. (2014). Antibiotics and bacterial resistance in the 21st century. *Perspectives in medicinal chemistry*, 6, 25-64.
- Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bourouai, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331(5), 372-379.
- Fancello, F., Zara, S., Petretto, G. L., Chessa, M., Addis, R., Rourke, J. P., & Pintore, G. (2017). Essential oils from three species of *Mentha* harvested in Sardinia: chemical characterization and evaluation of their biological activity. *International journal of food properties*, 20(sup2), 1751-1761.
- Fang, Y. Z., Yang, S., & Wu, G. (2002). Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 18(10), 872-879.

- Fantini, M., Benvenuto, M., Masuelli, L., Frajese, G. V., Tresoldi, I., Modesti, A., & Bei, R. (2015). *In vitro* and *in vivo* antitumoral effects of combinations of polyphenols, or polyphenols and anticancer drugs: perspectives on cancer treatment. *International journal of molecular sciences*, 16(5), 9236-9282.
- Favier, A. (2003). Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actualité chimique*, (11/12), 108-117.
- Fidelis, Q. C., Faraone, I., Russo, D., Aragão Catunda-Jr, F. E., Vignola, L., de Carvalho, M. G., ... & Milella, L. (2019). Chemical and Biological insights of *Ouratea hexasperma* (A. St.-Hil.) Baill: A source of bioactive compounds with multifunctional properties. *Natural product research*, 33(10), 1500-1503.
- Firestein, G. S., & McInnes, I. B. (2017). Immunopathogenesis of rheumatoid arthritis. *Immunity*, 46(2), 183-196.
- Fleuriet A., Jay-Allemand C., Macheix J.J., 2005. Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. *Presses polytechniques et universitaires romandes* pp 121-216.
- Fokou, J. B. H., Dongmo, P. M. J., & Boyom, F. F. (2020). Essential Oil's Chemical Composition and Pharmacological Properties. In *Essential Oils-Oils of Nature*. IntechOpen.
- Gabrieli, C., & Kokkalou, E. (2003). A new acetylated glucoside of luteolin and two flavone glucosides from *Lavandula stoechas* ssp. *stoechas*. *Die Pharmazie*, 58(6), 426-427.
- Ganesan, K., Kumar, K. S., & Rao, P. S. (2011). Comparative assessment of antioxidant activity in three edible species of green seaweed, *Enteromorpha* from Okha, Northwest coast of India. *Innovative food science & emerging technologies*, 12(1), 73-78.
- Gao, L. P., Wei, H. L., Zhao, H. S., Xiao, S. Y., & Zheng, R. L. (2005). Antiapoptotic and antioxidant effects of rosmarinic acid in astrocytes. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 60(1), 62-65.
- Garcia-Vallejo, M. I. (1992). Aceites esenciales de las *Lavandulas ibéricas*: ensayo de la quimiotaxonomía. Departamento de biología vegetal I. Madrid, Universidad Complutense de Madrid. PhD: 498p.
- Ghazghazia, H., Chediab, A., Abderrazakb, M., & Brahima, H. (2013). Comparaison des contenus en polyphénols et de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de quatre plantes collectées du nord de Tunisie. *Microbiol Hyg Alim*, 25(73), 37-41.
- Giordano, D., Locatelli, M., Travaglia, F., Bordiga, M., Reyneri, A., Coisson, J. D., & Blandino, M. (2017). Bioactive compound and antioxidant activity distribution in roller-milled and pearled fractions of conventional and pigmented wheat varieties. *Food chemistry*, 233, 483-491.
- Giray, E. S., Kırıcı, S., Kaya, D. A., Türk, M., Sönmez, Ö., & Inan, M. (2008). Comparing the effect of sub-critical water extraction with conventional extraction methods on the chemical composition of *Lavandula stoechas*. *Talanta*, 74(4), 930-935.
- Girija, D. M., Kalachaveedu, M., Subbarayan, R., Jenifer, P., & Rao, S. R. (2017). *Aristolochia bracteolata* enhances wound healing *in vitro* through anti-inflammatory and proliferative effect on human dermal fibroblasts and keratinocytes. *Pharmacognosy Journal*, 9(6s).
- Gonçalves, S., Moreira, E., Grosso, C., Andrade, P. B., Valentão, P., & Romano, A. (2017). Phenolic profile, antioxidant activity and enzyme inhibitory activities of extracts from aromatic plants used in Mediterranean diet. *Journal of food science and technology*, 54(1), 219-227.

- Gonzalez-Paramas, A.M., Santos-Buelga, C., Duenas, M., & Gonzalez-Manzano, S. (2011). Analysis of flavonoids in foods and biological samples. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 11(14), 1239-1255.
- Goodla, L., Manubolu, M., Pathakoti, K., Jayakumar, T., Sheu, J. R., Fraker, M., ... & Poondamalli, P. R. (2019). Protective effects of *ammannia baccifera* against CCl₄-induced oxidative stress in rats. *International journal of environmental research and public health*, 16(8), 1440.
- Gören, A. C., Topçu, G., Bilsel, G., Bilsel, M., Aydoğmuş, Z., & Pezzuto, J. M. (2002). The chemical constituents and biological activity of essential oil of *Lavandula stoechas* ssp. *stoechas*. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 57(9-10), 797-800.
- Goto, S., & Radak, Z. (2013). Implications of oxidative damage to proteins and DNA in aging and its intervention by caloric restriction and exercise. *Journal of Sport and Health Science*, 2(2), 75-80.
- Govindarajan, M., Kadaikunnan, S., Alharbi, N. S., & Benelli, G. (2016). Acute toxicity and repellent activity of the *Origanum scabrum* Boiss. & Heldr. (Lamiaceae) essential oil against four mosquito vectors of public health importance and its biosafety on non-target aquatic organisms. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(22), 23228-23238.
- Grosser, T., Theken, K. N., & FitzGerald, G. A. (2017). Cyclooxygenase inhibition: pain, inflammation, and the cardiovascular system. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 102(4), 611-622.
- Guemmaz, T., Zerargui, F., Boumerfeg, S., Arrar, L., Aouachria, S., Khenouf, S., ... & Baghiani, A. (2018). Anti-hemolytic, Anti-lipid Peroxidation, Antioxidant Properties and Acute Toxicity of *Xanthium strumarium* Leaves Extracts. *Annual Research & Review in Biology*, 1-12.
- Guignard, J.L., Dupont, F. (2004). Botanique: Systématique moléculaire. 13^{ème} éd. Masson, pp : 237.
- Gülçin, İ., Şat, İ. G., Beydemir, Ş., Elmastaş, M., & Küfrevioğlu, Ö. İ. (2004). Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb) buds and lavender (*Lavandula stoechas* L.). *Food chemistry*, 87(3), 393-400.
- Guy G (2005). Les plantes aromatiques et huile essentielle a graisse, édition l'Harmattan.
- Haddouchi F., Zerhouni Kh., Sidi-Yekhelef A., Chaouche Tarik Mohammed. (2016). Évaluation de l'activité antimicrobienne de différents extraits d'*Helichrysum stoechas* subsp. *rupestre*. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège. 85: 152-159. URL
- Hadian, M., Rajaei, A., Mohsenifar, A and Tabatabaei, M. (2017). Encapsulation of *Rosmarinus officinalis* essential oils in chitosan-benzoic acid nanogel with enhanced antibacterial activity in beef cutlet against *Salmonella typhimurium* during refrigerated storage. *LWT Food Science and Technology*, 84, 394-401.
- Hagerman, A. E., & Butler, L. G. (1978). Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 26(4), 809-812.
- Hajlaoui, H., Mighri, H., Hamdaui G. & Aouni M. (2015). Antioxidant activities and RPHPLC identification of polyphenols in the methanolic extract of *Mentha* genus. *Tunisian J. Med. Plants Nat. Pro*, 14, 1-11.
- Hajlaoui, H., Trabelsi, N., Noumi, E., Snoussi, M., Fallah, H., Ksouri, R., & Bakhrouf, A. (2009). Biological activities of the essential oils and methanol extract of two cultivated mint species (*Mentha longifolia* and *Mentha pulegium*) used in the Tunisian folkloric medicine. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(12), 2227-2238.
- Hajlaoui, H., Trabelsi, N., Noumi, E., Snoussi, M., Fallah, H., Ksouri, R., & Bakhrouf, A. (2009). Biological activities of the essential oils and methanol extract of two cultivated mint species (*Mentha longifolia* and

- Mentha pulegium*) used in the Tunisian folkloric medicine. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(12), 2227-2238.
- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10), 628-38.
- Halliwell, B., & Whiteman, M. (2004). Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean?. *British journal of pharmacology*, 142(2), 231-255.
- Harrison, D., Griendling, K. K., Landmesser, U., Hornig, B., & Drexler, H. (2003). Role of oxidative stress in atherosclerosis. *The American journal of cardiology*, 91(3), 7-11.
- Hashem, M. Y., Ahmed, S. S., El-Mohandes, M. A., & Gharib, M. A. (2012). Susceptibility of different life stages of saw-toothed grain beetle *Oryzaephilus surinamensis* (L.)(*Coleoptera: Silvanidae*) to modified atmospheres enriched with carbon dioxide. *Journal of stored products research*, 48, 46-51.
- Hassanpouraghdam, M. B., Akhgari, A. B., Aazami, M. A., & Emarat-Pardaz, J. (2011). New menthone type of *Mentha pulegium* L. volatile oil from Northwest Iran. *Czech Journal of Food Sciences*, 29(3), 285-290.
- Hassiotis, C. N. (2010). Chemical compounds and essential oil release through decomposition process from *Lavandula stoechas* in Mediterranean region. *Biochemical Systematics and Ecology*, 38(4), 493-501.
- Heamalatha, S., Swarnalatha, S., Divya, M., Gandhi Lakshmi, R., Ganga Devi, A., & Gomathi, E. (2011). Pharmacognostical, pharmacological, investigation on *Anethum graveolens* Linn: A review. *Res J Pharm Biol Chem Sci*, 2, 564-575.
- Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., & Bobilya, D. J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of nutritional biochemistry*, 13(10), 572-584.
- Hendel, N., Larous, L., Sari, M., Boudjelal, A., & Sarri, D. (2012). Place of Labiates in folk medicine of the area of M'sila (Algeria). *Global Journal of Research on Medicinal Plants & Indigenous Medicine*, 1(8), 315.
- Hernández-Rodríguez, P., Baquero, L. P., & Larrota, H. R. (2019). Flavonoids: Potential Therapeutic Agents by Their Antioxidant Capacity. In *Bioactive Compounds* (pp. 265-288). Woodhead Publishing.
- Hogan, D., & Kolter, R. (2002). Why are bacteria refractory to antimicrobials?. *Current opinion in microbiology*, 5(5), 472-477.
- Homayounia, H., Kavooosi, G and Nassiri, S.M. (2017). Physicochemical, antioxidant and antibacterial properties of dispersion made from tapioca and gelatinized tapioca starch incorporated with carvacrol. *Food Science and Technology*, 77, 503-509.
- Howcroft, T. K., Campisi, J., Louis, G. B., Smith, M. T., Wise, B., Wyss-Coray, T., ... & Sierra, F. (2013). The role of inflammation in age-related disease. *Aging (Albany NY)*, 5(1), 84.
- Huang D. 2018. Dietary antioxidants and health promotion *Antioxidants*, 7(1): 1-9.
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(6), 1841-1856.
- Hussein, H. S., Salem, M. Z., & Soliman, A. M. (2017). Repellent, attractive, and insecticidal effects of essential oils from *Schinus terebinthifolius* fruits and *Corymbia citriodora* leaves on two whitefly species, *Bemisia tabaci*, and *Trialeurodes ricini*. *Scientia Horticulturae*, 216, 111-119.

- Huyut, Z., Beydemir, Ş., & Gülçin, İ. (2017). Antioxidant and antiradical properties of selected flavonoids and phenolic compounds. *Biochem Res Intern*, 35-45..
- Hyltdgaard, M., Mygind, T., & Meyer, R. L. (2012). Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in microbiology*, 3, 12.
- Ibarra, A., Cases, J., Bily, A., He, K., Bai, N., Roller, M., ... & Ripoll, C. (2010). Importance of extract standardization and in vitro/ex vivo assay selection for the evaluation of antioxidant activity of botanicals: a case study on three *Rosmarinus officinalis* L. extracts. *Journal of medicinal food*, 13(5), 1167-1175.
- Ibrahim, N. I., Wong, S. K., Mohamed, I. N., Mohamed, N., Chin, K. Y., Ima-Nirwana, S., & Shuid, A. N. (2018). Wound healing properties of selected natural products. *International journal of environmental research and public health*, 15(11), 2360.
- Ighodaro, O. M., & Akinloye, O. A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria journal of medicine*, 54(4), 287-293.
- Iloki-Assanga, S. B., Lewis-Luján, L. M., Lara-Espinoza, C. L., Gil-Salido, A. A., Fernandez-Angulo, D., Rubio-Pino, J. L., & Haines, D. D. (2015). Solvent effects on phytochemical constituent profiles and antioxidant activities, using four different extraction formulations for analysis of *Bucida buceras* L. and *Phoradendron californicum*. *BMC research notes*, 8(1), 396.
- Insawang, S., Pripdeevech, P., Tanapichatsakul, C., Khruengsai, S., Monggoot, S., Nakham, T., ... & Panuwet, P. (2019). Essential Oil Compositions and Antibacterial and Antioxidant Activities of Five *Lavandula stoechas* Cultivars Grown in Thailand. *Chemistry & biodiversity*, 16(10), e1900371..
- Jabir, N. R., Khan, F. R., & Tabrez, S. (2018). Cholinesterase targeting by polyphenols: A therapeutic approach for the treatment of Alzheimer's disease. *CNS neuroscience & therapeutics*, 24(9), 753-762.
- Jafari, S.A., Nezhad, H.P., Bolouri, P. (2019). Identification of chemical composition of essential oil and evaluation of antimicrobial effects of ethanolic extract of *Mentha pulegium* on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Health Biotechnology and Biopharma*. 3(1), 29-38..
- Josse E. M., 2003. Caractérisation d'une oxydase terminale plastidiale impliquée dans la biosynthèse des caroténoïdes et dans la réponse au stress. Thèse de Doctorat. Université Joseph Fourier: 29-31.
- Kamkar, A., Javan, A. J., Asadi, F., & Kamalinejad, M. (2010). The antioxidative effect of Iranian *Mentha pulegium* extracts and essential oil in sunflower oil. *Food and Chemical Toxicology*, 48(7), 1796-1800..
- Karaca, N., Demirci, B., & Demirci, F. (2018). Evaluation of *Lavandula stoechas* L. subsp. *stoechas* L., *Mentha spicata* L. subsp. *spicata* L. essential oils and their main components against sinusitis pathogens. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 73(9-10), 353-360.
- Karan, T. (2018). Metabolic profile and biological activities of *Lavandula stoechas* L. *Cellular and Molecular Biology*, 64(14), 1-7.
- Kardeh, S., Ashkani-Esfahani, S., & Alizadeh, A. M. (2014). Paradoxical action of reactive oxygen species in creation and therapy of cancer. *European journal of pharmacology*, 735, 150-168.
- Kardeh, S., Ashkani-Esfahani, S., & Alizadeh, A. M. (2014). Paradoxical action of reactive oxygen species in creation and therapy of cancer. *European journal of pharmacology*, 735, 150-168.

- Kasimi H. (2016). Extraction et dosage de polyphénols et de flavonoïdes des extraits des plantes: *Marrubium vulgare*, *Satureja calamintha*, *Mentha pulegium* et *Salvia officinalis*; univ Tlemcen.
- Kasote, D. M., Jayaprakasha, G. K., & Patil, B. S. (2019). Leaf disc assays for rapid measurement of antioxidant activity. *Scientific reports*, 9(1), 1-10.
- Kasprzak, M. M., Erxleben, A., & Ochocki, J. (2015). Properties and applications of flavonoid metal complexes. *Rsc Advances*, 5(57), 45853-45877.
- Keskin, I., Gunal, Y., Ayla, S., Kolbasi, B., Sakul, A., Kilic, U., ... & Ozbek, H. (2017). Effects of *Foeniculum vulgare* essential oil compounds, fenchone and limonene, on experimental wound healing. *Biotechnic & Histochemistry*, 92(4), 274-282.
- Kessel, L., Tendal, B., Jørgensen, K. J., Erngaard, D., Flesner, P., Andresen, J. L., & Hjortdal, J. (2014). Post-cataract prevention of inflammation and macular edema by steroid and nonsteroidal anti-inflammatory eye drops: a systematic review. *Ophthalmology*, 121(10), 1915-1924.
- Khadhri, A., El Mokni, R., & Smiti, S. (2013). Composés phénoliques et activités antioxydantes de deux extraits de chardon à glu: *Atractylis gummifera*. *Revue Soc Sci Nat de Tunisie*, 39, 44-52.
- Khaled-Khodja, N., Boulekbache-Makhlouf, L., & Madani, K. (2014). Phytochemical screening of antioxidant and antibacterial activities of methanolic extracts of some Lamiaceae. *Industrial crops and products*, 61, 41-48.
- Khameneh, B., Iranshahy, M., Soheili, V., & Bazzaz, B. S. F. (2019). Review on plant antimicrobials: A mechanistic viewpoint. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 8(1), 1-28.
- Khia, A., Ghanmi, M., Satrani, B., Aafi, A., Aberchane, M., Quaboul, B., Chaouch, A., Amusant, N and Charrouf, Z (2014). Effet de la provenance sur la qualité chimique et microbiologique des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. du Maroc. *Phytothérapie*, 12 (6), 341-347.
- Kim, Y., Keogh, J. B., & Clifton, P. M. (2016). Polyphenols and glycemic control. *Nutrients*, 8(1), 17.
- Kıvrak, E. G., Yurt, K. K., Kaplan, A. A., Alkan, I., & Altun, G. (2017). Effects of electromagnetic fields exposure on the antioxidant defense system. *Journal of microscopy and ultrastructure*, 5(4), 167-176.
- Klaus, A., Kozarski, M., Vunduk, J., Todorovic, N., Jakovljevic, D., Zizak, Z., ... & Van Griensven, L. J. (2015). Biological potential of extracts of the wild edible Basidiomycete mushroom *Grifola frondosa*. *Food Research International*, 67, 272-283.
- Kone, W. M., Atindehou, K. K., Terreaux, C., Hostettmann, K., Traore, D., & Dosso, M. (2004). Traditional medicine in North Côte-d'Ivoire: screening of 50 medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of ethnopharmacology*, 93(1), 43-49.
- Kosalec, I., Bakmaz, M., Pepeljnjak, S., & Vladimir-Knezevic, S. A. N. D. A. (2004). Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia. *ACTA Pharmaceutica-zagreb*-, 54(1), 65-72.
- Kosar, M., Bozan, B., Temelli, F., & Baser, K. H. C. (2007). Antioxidant activity and phenolic composition of sumac (*Rhus coriaria* L.) extracts. *Food chemistry*, 103(3), 952-959.
- Kpodekon, T.M., Boko, C.K., Mainil, G.J., Farougou, S., Sessou, P., Yehouenou, B., Gbenou, J., Duprez, J.N., Bardiau, M. (2013). Composition chimique et test d'efficacité *in vitro* des huiles essentielles extraites de feuilles fraîches du basilic commun (*Ocimum basilicum*) et du basilic tropical (*Ocimum gratissimum*) sur *Salmonella enterica* sérotype Oakland et *Salmonella enterica* sérotype legon. *J. Soc. Ouest-Africane Chimie*. 35, 41-48.

- Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The scientific world journal*.
- La Bella, S., Tuttolomondo, T., Dugo, G., Ruberto, G., Leto, C., Napoli, E. M., ... & D'Anna, E. (2015). Composition and variability of the essential oil of the flowers of *Lavandula stoechas* from various geographical sources. *Natural Product Communications*, 10(11), 1934578X1501001150.
- Lakhdar, L. (2015). Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: Etude in vitro (Doctoral dissertation).
- Lamy, E., Rawel, H., Schweigert, F. J., Capela e Silva, F., Ferreira, A., Costa, A. R., ... & Sales-Baptista, E. (2011). The effect of tannins on Mediterranean ruminant ingestive behavior: the role of the oral cavity. *Molecules*, 16(4), 2766-2784.
- Larsen, B. H., Soelberg, J., & Jäger, A. K. (2015). COX-1 inhibitory effect of medicinal plants of Ghana. *South African Journal of Botany*, 99, 129-131..
- Le, K., Chiu, F., & Ng, K. (2007). Identification and quantification of antioxidants in *Fructus lycii*. *Food Chemistry*, 105(1), 353-363.
- Legrand, G. (2015). Contribution à la caractérisation du métabolisme des acides chlorogéniques chez la chicorée: approches biochimique et moléculaire (Doctoral dissertation, Université de Lille).
- Lewis, J. M., Ewart, K. V., & Driedzic, W. R. (2004). Freeze resistance in rainbow smelt (*Osmerus mordax*): seasonal pattern of glycerol and antifreeze protein levels and liver enzyme activity associated with glycerol production. *Physiological and Biochemical Zoology*, 77(3), 415-422.
- Li, A. N., Li, S., Zhang, Y. J., Xu, X. R., Chen, Y. M., & Li, H. B. (2014). Resources and biological activities of natural polyphenols. *Nutrients*, 6(12), 6020-6047.
- Li, H. B., Cheng, K. W., Wong, C. C., Fan, K. W., Chen, F., & Jiang, Y. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food chemistry*, 102(3), 771-776.
- Li, H. Y., Hao, Z. B., Wang, X. L., Huang, L., & Li, J. P. (2009). Antioxidant activities of extracts and fractions from *Lysimachia foenum-graecum* Hance. *Bioresource technology*, 100(2), 970-974.
- Li, L., Zhou, Y. F., Li, Y. L., Wang, L. L., Arai, H., & Xu, Y. (2017). In vitro and in vivo antioxidative and hepatoprotective activity of aqueous extract of *Cortex Dictamni*. *World journal of gastroenterology*, 23(16), 2912.
- Li, Q., Dong, D. D., Huang, Q. P., Li, J., Du, Y. Y., Li, B., ... & Huyan, T. (2017). The anti-inflammatory effect of *Sonchus oleraceus* aqueous extract on lipopolysaccharide stimulated RAW 264.7 cells and mice. *Pharmaceutical biology*, 55(1), 799-809.
- Liang, Z., Cheng, L., Zhong, G. Y., & Liu, R. H. (2014). Antioxidant and antiproliferative activities of twenty-four *Vitis vinifera* grapes. *PloS one*, 9(8), e105146.
- Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., ... & Abete, P. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical interventions in aging*, 13, 757.
- Lim, T. K. (2014). Edible medicinal and non-medicinal plants (Vol. 1, pp. 656-687). Springer.
- Litvinenko, V. I., Popova, T. P., Simonjan, A. V., Zoz, I. G., & Sokolov, V. S. (1975). „Gerbstoffe“ und *Oxyzimtsäure* in Labiaten. *Planta medica*, 27(04), 372-380.

- Lloyd, M. M., Grima, M. A., Rayner, B. S., Hadfield, K. A., Davies, M. J., & Hawkins, C. L. (2013). Comparative reactivity of the myeloperoxidase-derived oxidants hypochlorous acid and hypothiocyanous acid with human coronary artery endothelial cells. *Free Radical Biology and Medicine*, 65, 1352-1362.
- Lobstein, A., Couic-Marinier, F., & Koziol, N. (2018). Huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*. *Actualités Pharmaceutiques*, 57(573), 59-61.
- Lopez-Giacoman, S., & Madero, M. (2015). Biomarkers in chronic kidney disease, from kidney function to kidney damage. *World journal of nephrology*, 4(1), 57.
- Losada-Barreiro, S., & Bravo-Diaz, C. (2017). Free radicals and polyphenols: The redox chemistry of neurodegenerative diseases. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 133, 379-402.
- Loukhaoukha, R., Saidi, F., Jullien, F., & Benabdelkader, T. (2018). Chemical Composition and Antibacterial Activity of *Lavandula stoechas* Essential Oil and its Main Components against *Erwinia amylovora* and *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*. *Phytothérapie*, 16(3), 149-157.
- Luna, A, Lema-Alba, R.C., Dambolena, J.S., Zygadlo, J.A., Labaque, M.C and Marin, R.H. (2017). Thymol as natural antioxidant additive for poultry feed: oxidative stability improvement. *Poultry Science*, 96 (9), 3214–3220.
- Madamanchi, N. R., Vendrov, A., & Runge, M. S. (2005). Oxidative stress and vascular disease. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 25(1), 29-38.
- Maddi, K., Ouali, N., & Atmani, D. E. (2012). Evaluation de l'activité antioxydante d'un extrait d'une plante médicinale locale, *Pistacia lentiscus*, sur un modèle animal.
- Mahboubi, M., & Haghi, G. (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil. *Journal of ethnopharmacology*, 119(2), 325-327.
- Majdalawieh, A. F., & Fayyad, M. W. (2015). Immunomodulatory and anti-inflammatory action of *Nigella sativa* and thymoquinone: A comprehensive review. *International immunopharmacology*, 28(1), 295-304.
- Malešev, D., & Kuntić, V. (2007). Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *Journal of the Serbian chemical society*, 72(10), 921-939.
- Malik, B., Sharma, N. R., & Soni, G. (2013). Influence of agro-climatic conditions on antioxidant potential of *Mentha* species. *Journal of pharmacy research*, 7(5), 427-432.
- Malle M, Gogny M. (2014). Anti-inflammatoires en médecine vétérinaire. J EMC Vet, 1-12.
- Marc, F., Davin, A., Deglène-Benbrahim, L., Ferrand, C., Baccaunaud, M., & Fritsch, P. (2004). Studies of several analytical methods for antioxidant potential evaluation in food. *Medecine Sciences: M/S*, 20(4), 458-463.
- Marque, V., 2010. Manuel de techniques d'anatomo-cytopathologique. First ed., Elsevier Masson..
- Martinez V., Mitjans M. and Vinardell M.P. (2014). Cytoprotective effects of polyphenols against oxidative damage. In Watson R.S., Preedy V.R. and Zibadi S. Polyphenols in human health and disease. First edition, Elsevier: Amsterdam. 275-288.
- Mashreghi, M., Bazaz, M. R., Shahri, N. M., Asoodeh, A., Mashreghi, M., Rassouli, M. B., & Golmohammadzadeh, S. (2013). Topical effects of frog "*Rana ridibunda*" skin secretions on wound healing and reduction of wound microbial load. *Journal of ethnopharmacology*, 145(3), 793-797.

- Matyushchenko, N. V., & Stepanova, T. A. (2003). Quantitative determination of the total content of flavonoids in the new phytopreparation Elima. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 37(5), 261-263.
- Meddour A., Yahia I M., Benkiki N., Ayachi A., 2013 : Étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur du *Capparis spinosa* L. *Lebanese Science Journal*, 14, No. 1.
- Medjekal S., Saker I., Ghadbane M., Benderradji L., Bousseboua H., 2016: Etude phytochimique et activités biologiques d'une plante médicinale de la région de m'sila *Mentha pulegium* L. *Revue des Régions Arides* n°43 (3/2017).
- Medzhitov, R. (2008). Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, 454(7203), 428-435.
- Meeran, M.F.N., Javed, H., Al Tae, H., Azimullah, S and Shreesh, K.O (2017). Pharmacological Properties and Molecular Mechanisms of Thymol: Prospects for Its Therapeutic Potential and Pharmaceutical Development. *Front. Pharmacol*, 8,380.
- Megha.J., Sharma, V., Ganesh, N. (2012) ; Antioxidant and wound healing potential of *Pistia stratiotes* L. *Asian Pac J Trop Dis*, 579: S584
- Mehrabani, D., Rezaee, A., Azarpira, N., Fattahi, M. R., Amini, M., Tanideh, N., ... & Saberi-Firouzi, M. (2009). The healing effects of *Teucrium polium* in the repair of indomethacin-induced gastric ulcer in rats. *Saudi Med J*, 30(4), 494-9.
- Menaceur, F., Hazzit, M. (2014). Comparative study of chemical composition and antioxidant activity of ethanolic extracts from Algerian *Lavandula stoechas* L. and *Rosmarinus tournefortii* de Noé. *International Journal of Agricultural*.4(6), 139-146.
- Messaoud, C., Chograni, H., & Boussaid, M. (2012). Chemical composition and antioxidant activities of essential oils and methanol extracts of three wild *Lavandula* L. species. *Natural product research*, 26(21), 1976-1984.
- Michels da Silva, D., Langer, H., & Graf, T. (2019). Inflammatory and molecular pathways in heart failure— ischemia, HFpEF and transthyretin cardiac amyloidosis. *International journal of molecular sciences*, 20(9), 2322.
- Middleton, E., Kandaswami, C., & Theoharides, T. C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological reviews*, 52(4), 673-751.
- Millet, D. F. (2015). *Le grand guide des huiles essentielles*, Marabout.
- Minooeianhaghighi, M. H., Sepehrian, L., & Shokri, H. (2017). Antifungal effects of *Lavandula binaludensis* and *Cuminum cyminum* essential oils against *Candida albicans* strains isolated from patients with recurrent vulvovaginal candidiasis. *Journal de mycologie medicale*, 27(1), 65-71.
- Moghaddam, R. H., Samimi, Z., Moradi, S. Z., Little, P. J., Xu, S., & Farzaei, M. H. (2020). Naringenin and naringin in cardiovascular disease prevention: A preclinical review. *European Journal of Pharmacology*, 173535.
- Mohammedi Zohra. (2006). Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen, Algérie. Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen. Thèse de Magistère En Biologie. Option : Produits Naturels, Activités biologiques et Synthèse.
- Moldovan, Z., Buleandră, M., Oprea, E., & Mînea, Z. (2017). Studies on chemical composition and antioxidant activity of *Rudbeckia triloba*. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2017.

- Moniczewski, A., Gawlik, M., Smaga, I., Niedzielska, E., Krzek, J., Przegaliński, E., ... & Filip, M. (2015). Oxidative stress as an etiological factor and a potential treatment target of psychiatric disorders. Part 1. Chemical aspects and biological sources of oxidative stress in the brain. *Pharmacological Reports*, 67(3), 560-568.
- Moyo, B., Oyedemi, S., Masika, P. J., & Muchenje, V. (2012). Polyphenolic content and antioxidant properties of Moringa oleifera leaf extracts and enzymatic activity of liver from goats supplemented with Moringa oleifera leaves/sunflower seed cake. *Meat science*, 91(4), 441-447.
- Mukwehwo, E., Ferreira, Z., & Ayeleso, A. (2014). Potential role of sulfur-containing antioxidant systems in highly oxidative environments. *Molecules*, 19(12), 19376-19389.
- Munné-Bosch, S., PintóMarijuan, M. (2017). Free radicals, oxidative stress and antioxidants. *Encyclopedia of Applied Plant Sciences*, 2, 16 19.
- Muñoz, M., Sánchez, A., Martínez, M. P., Benedito, S., López-Oliva, M. E., García-Sacristán, A., ... & Prieto, D. (2015). COX-2 is involved in vascular oxidative stress and endothelial dysfunction of renal interlobar arteries from obese Zucker rats. *Free Radical Biology and Medicine*, 84, 77-90.
- Mushtaq, A., Anwar, R., & Ahmad, M. (2018). *Lavandula stoechas* (L) a very potent antioxidant attenuates dementia in scopolamine induced memory deficit mice. *Frontiers in pharmacology*, 9, 1375.
- Nabet, N., Boudries, H., Loupassaki, S., Souagui, S., Madani, K., & Carbonell-Barrachina, Á. A. (2017). Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Thymus fontanesii* Boiss. et Reut. and *Origanum glandulosum* Desf. essential oils. *International Food Research Journal*, 24(6), 2518-2525.
- Naghibi, F., Mosaddegh, M., Motamed, S.M., Ghorbani, A. (2005). Labiatae Family in folk Medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2, 63-79.
- Nair, P. C., McKinnon, R. A., & Miners, J. O. (2016). Cytochrome P450 structure–function: insights from molecular dynamics simulations. *Drug metabolism reviews*, 48(3), 434-452.
- Nève, J. (2002). Optimisation of dietary intake of anti-oxidants. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16(4), 292-300.
- Nichols, H. B., Anderson, C., White, A. J., Milne, G. L., & Sandler, D. P. (2017). Oxidative stress and breast cancer risk in premenopausal women. *Epidemiology (Cambridge, Mass.)*, 28(5), 667.
- Nickavar, B., & Jabbarah, F. (2018). Analysis of the Essential Oil from *Mentha pulegium* and Identification of its Antioxidant Constituents. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 21(1), 223-229.
- Noack, M., Kolopp-Sarda, MN. (2018). Cytokines et inflammation: physiologie, physiopathologie et utilisation thérapeutique. *Rev Fr Lab*, 489 (3), 28- 37.
- Nordberg J., Arnér E.S.J. (2001). Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Rad Biol Med*, 31, 1287-1312.
- Noureddine, A., Gherib, A., Bakchiche, B., Barrachina, A.A.C., Lamadrid, M.C., Artiaga, L.N. (2019). Chemical composition, mineral content and antioxidant capacity of phenolic extracts and essential oils of *Lavandula stoechas* L. *Chemistry & Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry*, 20 (3), 423-437.
- O'Mahony, J. A., Fox, P. F., & Kelly, A. L. (2013). Indigenous enzymes of milk. In *Advanced dairy chemistry* (pp. 337-385). Springer, Boston, MA.

- Oboh, G., Ademosun, A. O., Olumuyiwa, T. A., Olasehinde, T. A., Ademiluyi, A. O., & Adeyemo, A. C. (2017). Insecticidal activity of essential oil from orange peels (*Citrus sinensis*) against *Tribolium confusum*, *Callosobruchus maculatus* and *Sitophilus oryzae* and its inhibitory effects on acetylcholinesterase and Na⁺/K⁺-ATPase activities. *Phytoparasitica*, 45(4), 501-508.
- OCDE. (2001). Ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques. Toxicité orale aiguë - Méthode par classe de toxicité aiguë 423 adoptée le 17 décembre 2001.
- OCDE. (2015). Test No. 404: Acute Dermal Irritation/Corrosion. Guideline for testing of chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris.
- Ogata, M., Hoshi, M., Urano, S and Endo, T. (2000). Antioxidant Activity of Eugenol and Related Monomeric and Dimeric Compounds. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 48 (10): 1467-1469.
- Ogeturk, M., Kus, I., Colakoglu, N., Zararsiz, I., Ilhan, N., & Sarsilmaz, M. (2005). Caffeic acid phenethyl ester protects kidneys against carbon tetrachloride toxicity in rats. *Journal of ethnopharmacology*, 97(2), 273-280.
- Okaiyeto, K., Nwodo, U., Mabinya, L., & Okoh, A. (2018). A review on some medicinal plants with hepatoprotective effects. *Pharmacognosy Reviews*, 12(24), 186-199.
- Okuda, T., & Ito, H. (2011). Tannins of constant structure in medicinal and food plants—hydrolyzable tannins and polyphenols related to tannins. *Molecules*, 16(3), 2191-2217.
- Oliveira, G. K., Tormin, T. F., Sousa, R. M., de Oliveira, A., de Morais, S. A., Richter, E. M., & Munoz, R. A. (2016). Batch-injection analysis with amperometric detection of the DPPH radical for evaluation of antioxidant capacity. *Food chemistry*, 192, 691-697.
- Oroian, M., & Escriche, I. (2015). Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Research International*, 74, 10-36.
- Ortega, N., Doña, I., Moreno, E., Audicana, M. T., Barasona, M. J., Berges-Gimeno, M. P., ... & Torres, M. J. (2014). Practical guidelines for diagnosing hypersensitivity reactions to nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *J Investig Allergol Clin Immunol*, 24(5), 308-323.
- Ouakouak, H., Chohra, M., & Denane, M. (2015). Chemical composition, antioxidant activities of the essential oil of *Mentha pulegium* L, South East of Algeria. *International Letters of Natural Sciences*, 39.
- Ouedrhiri, W., Mounyr, B., Harki, E. H., Moja, S., & Greche, H. (2017). Synergistic antimicrobial activity of two binary combinations of marjoram, lavender, and wild thyme essential oils. *International journal of food properties*, 20(12), 3149-3158.
- Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction. *The Japanese journal of nutrition and dietetics*, 44(6), 307-315.
- Özcan, M. M., Starovic, M., Aleksic, G., Figueredo, G., Juhaimi, F. A., & Chalchat, J. C. (2018). Chemical Composition and Antifungal Activity of Lavender (*Lavandula stoechas*) Oil. *Natural Product Communications*, 13(7), 1934578X1801300728.
- Özkan, O.E., Güney, K., Gür, M., Pattabanoğlu, ES., Babat, E and Khalifa, M.M. (2017). Essential oils of *Origanum compactum* and *Thymus vulgaris* exert a protective effect against the phytopathogen *Allorhizobium vitis*. *Environmental Science and Pollution Research*, 51 (3), 1–10.

- Ozsoy, N., Candoken, E., & Akev, N. (2009). Implications for degenerative disorders: Antioxidative activity, total phenols, flavonoids, ascorbic acid, β -carotene and β -tocopherol in Aloe vera. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2(2), 99-106.
- Padrini, F. et Lucheroni, M.T. (1996). Le grand livre des Huiles Essentielles- guide pratique pour retrouver vitalité, bien être et beauté avec les essences et l'aromassage. Energétiques avec plus de 100 photographies. Ed de Vecchi, Paris.
- Pan, H. C., Jiang, Q., Yu, Y., Mei, J. P., Cui, Y. K., & Zhao, W. J. (2015). Quercetin promotes cell apoptosis and inhibits the expression of MMP-9 and fibronectin via the AKT and ERK signalling pathways in human glioma cells. *Neurochemistry international*, 80, 60-71.
- Pandey, G., Khatoon, S., Pandey, M. M., & Rawat, A. K. S. (2018). Altitudinal variation of berberine, total phenolics and flavonoid content in *Thalictrum foliolosum* and their correlation with antimicrobial and antioxidant activities. *Journal of Ayurveda and integrative medicine*, 9(3), 169-176.
- Papa, L., Manfredi, G., & Germain, D. (2014). SOD1, an unexpected novel target for cancer therapy. *Genes & cancer*, 5(1-2), 15.
- Papuc, C., Goran, G. V., Predescu, C. N., Nicorescu, V., & Stefan, G. (2017). Plant polyphenols as antioxidant and antibacterial agents for shelf-life extension of meat and meat products: Classification, structures, sources, and action mechanisms. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(6), 1243-1268.
- Park, H. H., Lee, S., Son, H. Y., Park, S. B., Kim, M. S., Choi, E. J., ... & Hyun, M. C. (2008). Flavonoids inhibit histamine release and expression of proinflammatory cytokines in mast cells. *Archives of pharmacal research*, 31(10), 1303.
- Park, M. H., Kim, D. H., Lee, E. K., Kim, N. D., Im, D. S., Lee, J., ... & Chung, H. Y. (2014). Age-related inflammation and insulin resistance: a review of their intricate interdependency. *Archives of pharmacal research*, 37(12), 1507-1514.
- Pavan, B., Capuzzo, A., & Forlani, G. (2015). Quercetin and quercetin-3-O-glucoside interact with different components of the cAMP signaling cascade in human retinal pigment epithelial cells. *Life sciences*, 121, 166-173.
- Pavela, R. (2015). Essential oils for the development of eco-friendly mosquito larvicides: a review. *Industrial crops and products*, 76, 174-187.
- Payne, D. N. R., & Adcock, I. M. (2001). Molecular mechanisms of corticosteroid actions. *Paediatric respiratory reviews*, 2(2), 145-150.
- Peña-Bautista, C., Baquero, M., Vento, M., & Cháfer-Pericás, C. (2019). Free radicals in Alzheimer's disease: Lipid peroxidation biomarkers. *Clinica Chimica Acta*, 491, 85-90.
- Peng, C., Wang, X., Chen, J., Jiao, R., Wang, L., L, Y.M., Zuo, Y., Liu, Y., Lei, L., Ma, K.Y., Huang, Y. and Chen, Z.Y. (2014) Antioxidants biology of ageing and role of dietary. *BioMed Research International*, ID 831841; 1-13.
- Penna, C., Mancardi, D., Rastaldo, R., & Pagliaro, P. (2009). Cardioprotection: a radical view: free radicals in pre and postconditioning. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1787(7), 781-793..
- Perron, N. R., & Brumaghim, J. L. (2009). A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. *Cell biochemistry and biophysics*, 53(2), 75-100.

- Pilarski, R., Zieliński, H., Ciesiołka, D., & Gulewicz, K. (2006). Antioxidant activity of ethanolic and aqueous extracts of *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. *Journal of ethnopharmacology*, 104(1-2), 18-23.
- Pipelzadeh, M. H., Pipelzadeh, M. R., & Husseinzadeh, P. (2003). A Study on the Effects of Modulation of Intracellular Calcium on Excisional Wound Healing in Rabbit. *Iranian Biomedical Journal*, 7(4), 161-166.
- Pisoschi, A. M., & Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European journal of medicinal chemistry*, 97, 55-74.
- Pisoschi, A. M., & Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European journal of medicinal chemistry*, 97, 55-74.
- Pizzale, L., Bortolomeazzi, R., Vichi, S., Überegger, E., & Conte, L. S. (2002). Antioxidant activity of sage (*Salvia officinalis* and *S fruticosa*) and oregano (*Origanum onites* and *O indercedens*) extracts related to their phenolic compound content. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(14), 1645-1651.
- Pokorný, J., Yanishlieva, N., & Gordon, M. (Eds.). (2001). *Antioxidants in food: practical applications*, p. 108-109.
- Politeo, O., Bektašević, M., Carev, I., Jurin, M., & Roje, M. (2018). Phytochemical Composition, Antioxidant Potential and Cholinesterase Inhibition Potential of Extracts from *Mentha pulegium* L. *Chemistry & biodiversity*, 15(12), e1800374.
- Poljsak, B., Šuput, D., Milisav, I. (2013). Achieving the balance between ROS and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 1-11.
- Pourmortazavi, S. M., & Hajimirsadeghi, S. S. (2007). Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis. *Journal of chromatography A*, 1163(1), 2-24.
- Pradeep, K., Mohan, C. V. R., Gobianand, K., & Karthikeyan, S. (2007). Effect of *Cassia fistula* Linn. leaf extract on diethylnitrosamine induced hepatic injury in rats. *Chemico-Biological Interactions*, 167(1), 12-18.
- Prieto, P., Pineda, M., & Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical biochemistry*, 269(2), 337-341.
- Quan, M., Li, Q., Zhao, P., & Tian, C. (2018). Chemical composition and hepatoprotective effect of free phenolic extract from barley during malting process. *Scientific reports*, 8(1), 1-9.
- Quezel P., & Santa S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Ed. CNRS, Paris.
- Quiñones, M., Miguel, M., & Aleixandre, A. (2013). Beneficial effects of polyphenols on cardiovascular disease. *Pharmacological research*, 68(1), 125-131.
- Rabiei, Z., & Rafieian-Kopaei, M. (2014). Neuroprotective effect of pretreatment with *Lavandula officinalis* ethanolic extract on blood-brain barrier permeability in a rat stroke model. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 7, S421-S426.
- Rady, I., Mohamed, H., Rady, M., Siddiqui, I. A., & Mukhtar, H. (2018). Cancer preventive and therapeutic effects of EGCG, the major polyphenol in green tea. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5(1), 1-23.

- Raedschelders, K., Ansley, D. M., & Chen, D. D. (2012). The cellular and molecular origin of reactive oxygen species generation during myocardial ischemia and reperfusion. *Pharmacology & therapeutics*, 133(2), 230-255.
- Rahal A., Kumar A., Singh V., Yadav B., Tiwari R., Chakraborty S. and Dhama K. (2014) Oxidative stress, prooxidants and antioxidants: the interplay. *BioMed Research International*, 2014, 1-14.
- Rahal, S. (2004). Chimie des produits naturels et des êtres vivants. Ed. O.P.U. p: 162.
- Ramdan, B., El Malki, F., Eddarrajji, K., Greche, H and Nhiri, M. (2017). Composition and Antibacterial Activity of Hydro-Alcohol and Aqueous Extracts Obtained from the Lamiaceae Family. *Pharmacognosy Journal* , 10 (1), 81-91.
- Rathinam, V. A., & Fitzgerald, K. A. (2016). Inflammasome complexes: emerging mechanisms and effector functions. *Cell*, 165(4), 792-800.
- Rathinam, V. A., & Fitzgerald, K. A. (2016). Inflammasome complexes: emerging mechanisms and effector functions. *Cell*, 165(4), 792-800.
- Raynaud, J. (2016). Prescription et conseil en aromathérapie, Tec & Doc Lavoisier.
- Razavi, S.M., Nesrollahi, P and Alireza, y. (2017). Antioxidant potential of lettuce treated by Thymol as an allochemical. *Peertechz. Journal of Biological Research and Development*, 2 (1), 012-015.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- Rebbas, K., Bounar, R., Gharzouli, R., Ramdani, M., Djellouli, Y., & Alatou, D. (2012). Plantes d'intérêt médicinale et écologique dans la région d'Ouanougha (M'sila, Algérie). *Phytothérapie*, 10(2), 131-142.
- Reddy, U. A., Prabhakar, P. V., & Mahboob, M. (2017). Biomarkers of oxidative stress for in vivo assessment of toxicological effects of iron oxide nanoparticles. *Saudi journal of biological sciences*, 24(6), 1172-1180.
- Redondo, L. M., Chacana, P. A., Dominguez, J. E., & Fernandez Miyakawa, M. E. D. (2014). Perspectives in the use of tannins as alternative to antimicrobial growth promoter factors in poultry. *Frontiers in Microbiology*, 5(118), 1-7.
- Riahi, L., Chograni, H., Elferchichi, M., Zaouali, Y., Zoghlami, N., & MLiki, A. (2013). Variations in Tunisian wormwood essential oil profiles and phenolic contents between leaves and flowers and their effects on antioxidant activities. *Industrial Crops and Products*, 46, 290-296.
- Righi, N., Boumerfeg, S., Fernandes, P. A., Deghima, A., Baali, F., Coelho, E., ... & Baghiani, A. (2020). *Thymus algeriensis* Bioss & Reut: Relationship of phenolic compounds composition with in vitro/in vivo antioxidant and antibacterial activity. *Food Research International*, 136, 109500.
- Rondanelli, M., Riva, A., Morazzoni, P., Allegrini, P., Faliva, M. A., Naso, M., ... & Perna, S. (2017). The effect and safety of highly standardized Ginger (*Zingiber officinale*) and *Echinacea* (*Echinacea angustifolia*) extract supplementation on inflammation and chronic pain in NSAIDs poor responders. A pilot study in subjects with knee arthrosis. *Natural product research*, 31(11), 1309-1313.
- Rossi, T., Melegari, M., Bianchi, A., Albasini, A., & Vampa, G. (1988). Sedative, anti-inflammatory and anti-diuretic effects induced in rats by essential oils of varieties of *Anthemis nobilis*: a comparative study. *Pharmacological research communications*, 20, 71-74.

- Ryley C. 1998: Roman gardens and their plants. Sussex Archaeological Society, Lewes England. 56 pp.
- Sadani, S., & Shakeri, A. (2016). Antimicrobial activity of the essential oils of *Lavandula stoechas* flowers extracted by microwave. *Journal of Medicinal Plants*, 4(3), 224-228.
- Sahreen, S., Khan, M. R. and Khan, R. A. (2010). Evaluation of antioxidant activities of various solvent extracts of *Carissa opaca*fruits. *Food chemistry*, 122(4), 1205-1211.
- Said, H. M. (1996). Medicinal Herbs, Vol. 1. Bait al-Hikmah, Madinat al-Hikmah: Pakistan
- Saify, K., Saadat, I., & Saadat, M. (2016). Influence of A-21T and C-262T genetic polymorphisms at the promoter region of the catalase (CAT) on gene expression. *Environmental health and preventive medicine*, 21(5), 382-386.
- Saija, A., Speciale, A., Trombetta, D., Leto, C., Tuttolomondo, T., La Bella, S., ... & Napoli, E. (2016). Phytochemical, ecological and antioxidant evaluation of wild Sicilian thyme: *Thymbra capitata* (L.) Cav. *Chemistry & biodiversity*, 13(12), 1641-1655.
- Salhi, A., Bouyanzer, A., Chetouani, A., El Ouariachi, E., Zarrouk, A., Hammouti, B., ... & Costa, J. (2017). Chemical composition, antioxidant and anticorrosion activities of *Mentha suaveolens*. *Journal of Materials and Environmental Sciences, JMES*, 8(5), 1718-1728.
- Salminen, J. P. (2003). Effects of sample drying and storage, and choice of extraction solvent and analysis method on the yield of birch leaf hydrolyzable tannins. *Journal of chemical ecology*, 29(6), 1289-1305.
- Sánchez-Vioque, R., Polissiou, M., Astraka, K., De Los Mozos-Pascual, M., Tarantilis, P., Herraiz-Peñalver, D., & Santana-Méridas, O. (2013). Polyphenol composition and antioxidant and metal chelating activities of the solid residues from the essential oil industry. *Industrial Crops and Products*, 49, 150-159.
- Santos-Sánchez, N. F., Salas-Coronado, R., Villanueva-Cañongo, C., & Hernández-Carlos, B. (2019). Antioxidant compounds and their antioxidant mechanism. In *Antioxidants*. IntechOpen.
- Sarikurkcu, C., Eryigit, F., Cengiz, M., Tepe, B., Cakir, A., & Mete, E. (2012). Screening of the antioxidant activity of the essential oil and methanol extract of *Mentha pulegium* L. from Turkey. *Spectroscopy Letters*, 45(5), 352-358.
- Sbayou, H., Boumaza, A., Hilali, A., & Amghar, S. (2016). Antioxidant properties of *Artemisia herba-alba* Asso., *Mentha pulegium* L. and *Origanum compactum* Benth. essential oils. *J. Mater. Environ. Sci*, 7, 2908-2912.
- Schulz, H., Özkan, G., Baranska, M., Krüger, H., & Özcan, M. (2005). Characterisation of essential oil plants from Turkey by IR and Raman spectroscopy. *Vibrational Spectroscopy*, 39(2), 249-256.
- Scimeca, D. (2007). Les plantes du bonheur, Ed. Alpen, p.12-17.
- Seddik, K., Dalila, B., Saliha, D., Saliha, D., Smain, A., Noureddine, C., ... & Lekhmici, A. (2013). Polyphenols and antioxidant properties of extracts from *Mentha pulegium* L. and *Matricaria chamomilla* L. *Pharmacognosy Communications*, 3(2), 35.
- Seidel, V. (2012). Initial and bulk extraction of natural products isolation. In *Natural products isolation* (pp. 27-41). Humana Press.
- Serhan, C. N. (2010). Novel lipid mediators and resolution mechanisms in acute inflammation: to resolve or not?. *The American journal of pathology*, 177(4), 1576-1591.

- Serino, A., & Salazar, G. (2019). Protective role of polyphenols against vascular inflammation, aging and cardiovascular disease. *Nutrients*, *11*(1), 53.
- Shahidi, F., & Yeo, J. (2018). Bioactivities of phenolics by focusing on suppression of chronic diseases: A review. *International journal of molecular sciences*, *19*(6), 1573.
- Shan, B., Cai, Y. Z., Brooks, J. D., & Corke, H. (2007). The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International Journal of food microbiology*, *117*(1), 112-119.
- Sharififar, F., Dehghn-Nudeh, G., & Mirtajaldini, M. (2009). Major flavonoids with antioxidant activity from *Teucrium polium* L. *Food chemistry*, *112*(4), 885-888.
- Sharma, S., Sheehy, T., Kolahdooz, F., & Barasi, M. (2015). Nutrition at a Glance. Second Edition Wiley Backwell, p 162.
- Sharma, U. K., Sharma, K., Sharma, N., Sharma, A., Singh, H. P., & Sinha, A. K. (2008). Microwave-assisted efficient extraction of different parts of *Hippophae rhamnoides* for the comparative evaluation of antioxidant activity and quantification of its phenolic constituents by reverse-phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC). *Journal of agricultural and food chemistry*, *56*(2), 374-379.
- Simonpoli, P. (1993). In Arburi, Arbigliule, Savoires populaires sur les plantes de corse . Parc Naturel Regional de la Corse, Ajaccio, Corsica.
- Singh, A., Kukreti, R., Saso, L., & Kukreti, S. (2019). Oxidative stress: a key modulator in neurodegenerative diseases. *Molecules*, *24*(8), 1583.
- Singh, R. P., Dhanalakshmi, S., & Rao, A. R. (2000). Chemomodulatory action of Aloe vera on the profiles of enzymes associated with carcinogen metabolism and antioxidant status regulation in mice. *Phytomedicine*, *7*(3), 209-219.
- Sinkala, M., Zulu, M., Kaile, T., Simakando, M., Chileshe, C., Kafita, D., & Nkhoma, P. (2017). Performance characteristics of kidney injury molecule-1 in relation to creatinine, urea, and microalbuminuria in the diagnosis of kidney disease. *International Journal of Applied and Basic Medical Research*, *7*(2), 94.
- Skoula, M., Abidi, C., & Kokkalou, E. (1996). Essential oil variation of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* growing wild in Crete (Greece). *Biochemical Systematics and Ecology*, *24*(3), 255-260.
- Smaga, I., Niedzielska, E., Gawlik, M., Moniczewski, A., Krzek, J., Przegaliński, E., ... & Filip, M. (2015). Oxidative stress as an etiological factor and a potential treatment target of psychiatric disorders. Part 2. Depression, anxiety, schizophrenia and autism. *Pharmacological Reports*, *67*(3), 569-580.
- Smeriglio, A., Alloisio, S., Raimondo, F. M., Denaro, M., Xiao, J., Cornara, L., & Trombetta, D. (2018a). Essential oil of *Citrus lumia* Risso: Phytochemical profile, antioxidant properties and activity on the central nervous system. *Food and Chemical Toxicology*, *119*, 407-416.
- Smeriglio, A., Denaro, M., Barreca, D., D'Angelo, V., Germanò, M. P., & Trombetta, D. (2018b). Polyphenolic profile and biological activities of black carrot crude extract (*Daucus carota* L. ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef.). *Fitoterapia*, *124*, 49-57.
- Smirnoff, N. (2018). Ascorbic acid metabolism and functions: A comparison of plants and mammals. *Free Radical Biology and Medicine*, *122*, 116-129.
- Soares, I.H., Loreto, E.S., Rossato, L., Mario, D.N., Venturini, T.P, Baldissera, F., Santurio, J.M and Alves, S.H. (2017). In vitro activity of essential oils extracted from condiments against fluconazole-resistant and

- sensitive *Candida glabrata* L'activité in vitro des huiles essentielles extraites de condiments contre *Candida glabrata* résistant ou sensible au fluconazol. *Journal de Mycologie Médicale*, 25 (3), 213-217.
- Stagos, D., Portesis, N., Spanou, C., Mossialos, D., Aligiannis, N., Chaita, E., ... & Kouretas, D. (2012). Correlation of total polyphenolic content with antioxidant and antibacterial activity of 24 extracts from Greek domestic Lamiaceae species. *Food and Chemical Toxicology*, 50(11), 4115-4124.
- Stagos, D., Portesis, N., Spanou, C., Mossialos, D., Aligiannis, N., Chaita, E., ... & Kouretas, D. (2012). Correlation of total polyphenolic content with antioxidant and antibacterial activity of 24 extracts from Greek domestic *Lamiaceae* species. *Food and Chemical Toxicology*, 50(11), 4115-4124.
- Subedi, L., Timalseña, S., Duwadi, P., Thapa, R., Paudel, A., & Parajuli, K. (2014). Antioxidant activity and phenol and flavonoid contents of eight medicinal plants from Western Nepal. *Journal of Traditional Chinese Medicine*, 34(5), 584-590.
- Sung C.C., Hsu Y.C., Chen C.C., Lin Y.F., Wu C.C. (2013). Oxidative stress and nucleic acid oxidation in patients with chronic kidney disease. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 1-15.
- Sung, S., Kwon, D., Um, E., & Kim, B. (2019). Could polyphenols help in the control of rheumatoid arthritis?. *Molecules*, 24(8), 1589.
- Suwalsky, M., Villena, F., & Gallardo, M. J. (2015). *In vitro* protective effects of resveratrol against oxidative damage in human erythrocytes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1848(1), 76-82.
- Taalbi A., 2016 : Variabilité chimique et intérêt économique des huiles essentielles de deux menthes sauvages : *Mentha pulegium* (Fliou) et *Mentha rotundifolia* (Domrane) de l'ouest algérien. univ : Tlemcen .
- Taamalli, A., Arráez-Román, D., Abaza, L., Iswaldi, I., Fernández-Gutiérrez, A., Zarrouk, M., & Segura-Carretero, A. (2015). LC-MS-based metabolite profiling of methanolic extracts from the medicinal and aromatic species *Mentha pulegium* and *Origanum majorana*. *Phytochemical Analysis*, 26(5), 320-330.
- Taamalli, A., Arráez-Román, D., Abaza, L., Iswaldi, I., Fernández-Gutiérrez, A., Zarrouk, M., & Segura-Carretero, A. (2015). LC-MS-based metabolite profiling of methanolic extracts from the medicinal and aromatic species *Mentha pulegium* and *Origanum majorana*. *Phytochemical Analysis*, 26(5), 320-330.
- Tabanca, N., Kirimer, N. E., & Başer, K. H. C. (2001). The composition of essential oils from two varieties of *Sideritis erythrantha* var. *erythrantha* and var. *cedretorum*. *Turkish Journal of Chemistry*, 25(2), 201-208.
- Tamri, P., Hemmati, A., & Boroujerdnia, M. G. (2014). Wound healing properties of quince seed mucilage: In vivo evaluation in rabbit full-thickness wound model. *International Journal of Surgery*, 12(8), 843-847.
- Tanase, C., Coșarță, S., & Muntean, D. L. (2019). A critical review of phenolic compounds extracted from the bark of woody vascular plants and their potential biological activity. *Molecules*, 24(6), 1182.
- Taofiq, O., Calhelha, R. C., Heleno, S., Barros, L., Martins, A., Santos-Buelga, C., ... & Ferreira, I. C. (2015). The contribution of phenolic acids to the anti-inflammatory activity of mushrooms: Screening in phenolic extracts, individual parent molecules and synthesized glucuronated and methylated derivatives. *Food Research International*, 76, 821-827.
- Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Batista, I., Serrano, C., Matos, O., ... & Nunes, M. L. (2012). European pennyroyal (*Mentha pulegium*) from Portugal: Chemical composition of essential oil and antioxidant and antimicrobial properties of extracts and essential oil. *Industrial Crops and Products*, 36(1), 81-87.
- Terao, J. (2009). Dietary flavonoids as antioxidants. In *Food factors for health promotion* (Vol. Karger, 61, 87-9.

- Terkmane, S., Gali, L., Bourrebaba, L., Shoji, K., Legembre, P., Konstantia, G., ... & Bedjou, F. (2018). Chemical Composition, Antioxidant, and Anticancer Effect of *Ruta chalepensis*'s Extracts against Human Leukemic Cells. *Phytothérapie*, 16(S1), S225-S236.
- Thangavel, P., & Vaiyapuri, M. (2013). Antiproliferative and apoptotic effects of naringin on diethylnitrosamine induced hepatocellular carcinoma in rats. *Biomedicine & Aging Pathology*, 3(2), 59-64.
- Tokarz, P., Kaarniranta, K., & Blasiak, J. (2013). Role of antioxidant enzymes and small molecular weight antioxidants in the pathogenesis of age-related macular degeneration (AMD). *Biogerontology*, 14(5), 461-482.
- Torres-Cuevas, I., Parra-Llorca, A., Sánchez-Illana, A., Nuñez-Ramiro, A., Kuligowski, J., Cháfer-Pericás, C., ... & Vento, M. (2017). Oxygen and oxidative stress in the perinatal period. *Redox biology*, 12, 674-681.
- Tran, T. A., Ho, M. T., Song, Y. W., Cho, M., & Cho, S. K. (2015). Camphor induces proliferative and anti-senescence activities in human primary dermal fibroblasts and inhibits UV-induced wrinkle formation in mouse skin. *Phytotherapy Research*, 29(12), 1917-1925.
- Tréchet, P., & Jouzeau, J. Y. (2014). Bases chimiques et pharmacologiques des AINS. *Revue Française d'Allergologie*, 54(3), 212-217.
- TremL, J., & Šmejkal, K. (2016). Flavonoids as potent scavengers of hydroxyl radicals. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 15(4), 720-738.
- Turkmen, N., Velioglu, Y. S., Sari, F., & Polat, G. (2007). Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. *Molecules*, 12(3), 484-496.
- Tuttolomondo, T., Dugo, G., Ruberto, G., Leto, C., Napoli, E. M., Potorti, A. G., ... & Licata, M. (2015). Agronomical evaluation of Sicilian biotypes of *Lavandula stoechas* L. spp. *stoechas* and analysis of the essential oils. *Journal of Essential Oil Research*, 27(2), 115-124.
- Tvrđá, E., Massanyi, P., & Lukáč, N. (2017). Physiological and Pathological Roles of Free Radicals in Male Reproduction. In *Spermatozoa-Facts and Perspectives*. IntechOpen.
- Upson, T. M., Grayer, R. J., Greenham, J. R., Williams, C. A., Al-Ghamdi, F., & Chen, F. H. (2000). Leaf flavonoids as systematic characters in the genera *Lavandula* and *Sabaudia*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 28(10), 991-1007.
- Valenzuela, J. C., Vergara-Salinas, J. R., & Pérez-Correa, J. R. (Eds.). (2016). *Advances in technologies for producing food-relevant polyphenols*. CRC Press, p.335.
- Valenzuela, J. C., Vergara-Salinas, J. R., & Pérez-Correa, J. R. (Eds.). (2016). *Advances in technologies for producing food-relevant polyphenols*. CRC Press.
- Valko, M. M. H. C. M., Morris, H., & Cronin, M. T. D. (2005). Metals, toxicity and oxidative stress. *Current medicinal chemistry*, 12(10), 1161-1208.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39(1), 44-84.
- Valko, M., Rhodes, C., Moncol, J., Izakovic, M. M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 160(1), 1-40.

- Valverde Malaver, C. L., Colmenares Dulcey, A. J., Rial, C., Varela, R. M., Molinillo, J. M., Macías, F. A., & Isaza Martínez, J. H. (2019). Hydrolysable Tannins and Biological Activities of *Meriania hernandoi* and *Meriania nobilis* (Melastomataceae). *Molecules*, 24(4), 746.
- Wages, P. A., Silbajoris, R., Speen, A., Brighton, L., Henriquez, A., Tong, H., ... & Samet, J. M. (2014). Role of H₂O₂ in the oxidative effects of zinc exposure in human airway epithelial cells. *Redox biology*, 3, 47-55.
- Wang, L., & Weller, C. L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, 17(6), 300-312.
- Wang, T. Y., Li, Q., & Bi, K. S. (2018). Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13(1), 12-23.
- Watson, R. R., Preedy, V. R., & Zibadi, S. (Eds.). (2013). Polyphenols in human health and disease. Academic press.
- Weidner, S., Król, A., Karamać, M., & Amarowicz, R. (2018). Phenolic compounds and the antioxidant properties in seeds of green-and yellow-podded bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties. *CyTA-Journal of Food*, 16(1), 373-380.
- Weill B., Batteux F., Dhainaut J., 2003 : Immunopathologie et réactions inflammatoires. Eds, De Boeck Université (Paris), pp: 12-23.
- White, R., & Cutting, K. (2008). Critical colonisation of chronic wounds: microbial mechanisms. *WOUNDS UK*, 4(1), 70.
- Wu, T., McCallum, J. L., Wang, S., Liu, R., Zhu, H., & Tsao, R. (2013). Evaluation of antioxidant activities and chemical characterisation of staghorn sumac fruit (*Rhus hirta* L.). *Food chemistry*, 138(2-3), 1333-1340.
- Xu, D. P., Li, Y., Meng, X., Zhou, T., Zhou, Y., Zheng, J., ... & Li, H. B. (2017). Natural antioxidants in foods and medicinal plants: Extraction, assessment and resources. *International journal of molecular sciences*, 18(1), 96.
- Yoon, J. H., & Baek, S. J. (2005). Molecular targets of dietary polyphenols with anti-inflammatory properties. *Yonsei medical journal*, 46(5), 585-596.
- Yue, Z., Zhang, X., Yu, Q., Liu, L., & Zhou, X. (2018). Cytochrome P450-dependent reactive oxygen species (ROS) production contributes to Mn 3 O 4 nanoparticle-caused liver injury. *RSC advances*, 8(65), 37307-37314.
- Yumrutas, O., & D saygideger, S. (2012). Determination of antioxidant and antimutagenic activities of *Phlomis armeniaca* and *Mentha pulegium* . *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2(1), 36.
- Zacchino, S. A., Butassi, E., Di Liberto, M., Raimondi, M., Postigo, A., & Sortino, M. (2017). Plant phenolics and terpenoids as adjuvants of antibacterial and antifungal drugs. *Phytomedicine*, 37, 27-48.
- Zaidi, F., Voirin, B., Jay, M., & Viricel, M. R. (1998). Free flavonoid aglycones from leaves of *Mentha pulegium* and *Mentha suaveolens* (Labiatae). *Phytochemistry*, 48(6), 991-994.
- Zareiyan, F., Rowshan, W., Bahmanzadegan, A and Hatami, A. (2017). Gontscharovia popovii, a new source of carvacrol, its polyphenolic constituents, essential oil analysis, total phenolic content and antioxidant activity. *Natural Product Research*, 28, 1-4.
- Zbadi, R., Mohti, H., & Moussaoui, F. (2018). Stress oxydatif: évaluation du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales. *Médecine thérapeutique*, 24(2), 134-141.

- Zekri, N., Amalich, S., Boughdad, A., El Belghiti, M. A., & Zair, T. (2013). Phytochemical study and insecticidal activity of *Mentha pulegium* L. oils from Morocco against *Sitophilus Oryzae*. *Mediterranean Journal of Chemistry*, 2(4), 607-619.
- Zhang, H., & Tsao, R. (2016). Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. *Current Opinion in Food Science*, 8, 33-42.
- Zhang, Q. W., Lin, L. G., & Ye, W. C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chinese medicine*, 13(1), 20.
- Zrira, S., & Benjilali, B. (2003). The constituents of the oils of *Lavandula stoechas* L. ssp. atlantica Br.-Bl. and *L. stoechas* ssp. stoechas from Morocco. *Journal of Essential Oil Research*, 15(2), 68-69.
- Zuzarte, M., Gonçalves, M. J., Cavaleiro, C., Cruz, M. T., Benzarti, A., Marongiu, B., ... & Salgueiro, L. (2013). Antifungal and anti-inflammatory potential of *Lavandula stoechas* and *Thymus herba-barona* essential oils. *Industrial Crops and Products*, 44, 97-103.

يهدف هذا العمل إلى دراسة التركيب الكيميائي للزيوت الأساسية ومستخلصات الميثانول للنباتين *L. stoechas* و *M. pulegium* المعروفتين باسم الفليو و الخزامة، اللتان تستخدمان بشكل واسع في الطب الشعبي الجزائري وكذا تقييم سميتهما و دراسة النشاط البيولوجية، منها النشاط المضاد للأكسدة مخبريا وفي الجسم الحي و النشاط المضاد للبكتيريا وقدرتهما على شفاء الجروح. أظهر التحليل بواسطة GC/MS و GC/FID أن المركبات Fenchone (50.29%)، Camphre (14.02%)، Acétate de bornyle (5.60%) هي المكونات الأساسية للزيوت الأساسية للخزامة أما المركبين الغالبين في تركيب الزيوت الأساسية للفليو هما Pulegone (81.04%) و Pipériténone (13.60%). كشف التقدير الكمي والتحليل الكروماتوغرافي لمحتوى المستخلصين من عديدات الفينول، الفلافونيدات، الفلافون و الفلافونول، الدباغ غنى المستخلصين بالمركبات الفينولية، وتميزها بوجود الفلافونيدات بشكل رئيسي من نوع الفلافون والفلافونول وهيمنة الأحماض الفينولية خاصة حمض الروزمارينيك. بينت دراسة النشاط المضاد للأكسدة مخبريا باستعمال العديد من الاختبارات مثل TAC، DPPH، ABTS، FRAP، ORAC، استخلاص الحديد و β -carotene أن مستخلصي الميثانول للنباتين يملكان نشاطا مضادا للأكسدة عالية، من جهة أخرى لوحظ أن مستخلص الميثانول للفليو يملك أعلى تأثير مضاد للتحلل ($IC_{50} = 21.41 \pm 0.49$ ميكروغرام/مل). كما أشارت نتائج دراسة النشاط المضاد للبكتيريا للزيوت الأساسية للخزامة والفليو يملكان نشاطا مضادا للبكتيريا بالنسبة لجميع السلالات التي تم اختبارها خاصة منها *S. aureus* (CMI=0.15-0.78 مل/مغ) و *B. subtilis* (CMI=0.10-0.30 مل/مغ) بينما كانت مستخلصات الميثانول نشطة فقط ضد البكتيريا موجبة الجرام. أظهر تقييم السمية الحادة في الجسم الحي أن الجرعة المميئة DL_{50} أكبر من 2000 مل/كغ بالنسبة لمستخلصي الميثانول للنباتين والزيوت الأساسية للخزامة، بينما كانت DL_{50} للزيوت الأساسية للفليو أكبر من 300 مل/كغ. في حين لم تظهر دراسة السمية شبه الحادة للمستخلصين بجرعات مختلفة أي علامات للسمية أو تغيير في المعطيات البيوكيميائية، باستثناء بعض تغيرات في أنسجة الكبد سببها الجرعات 400 و 800 مل/كغ. أدت المعالجة بمستخلصات الميثانول للنباتين (200 و 400 و 800 مل/كغ) إلى زيادة ملحوظة في مستويات الكاتالاز والغلوتاثيون وانخفاض في مستوى أكسدة الدهون MDA في الكبد، مع زيادة في القدرة المضادة للأكسدة للبالزما، مما يعكس القدرة المضادة للأكسدة لمستخلصات الميثانول للنباتين في الجسم الحي. كما اعتمدنا في هذه الدراسة أيضا على تقييم نشاطية الشفاء لمستخلصات كلتا النباتين باستعمالها كمرام طبيعية لعلاج الجروح، حيث أظهر استخدام مرهم مستخلص الميثانول 5% و 10% و مرهم الزيوت الأساسية 10% للخزامة نشاط شفائي لالتام الجروح (93.1%، 97.19% و 90.43% على التوالي) أعلى من ذلك الخاص بكريم الشفاء التجاري (84.52%) (Cicatryl®). من خلال ما سبق نستنتج أن كل من الخزامة والفليو يملكان قدرة مضادة للأكسدة جد عالية سواء مخبريا أو في الجسم الحي ونشاطية مضادة للبكتيريا و قدرة على التئام الجروح والتي تدعم استخدام هذه النباتات في الطب التقليدي.

الكلمات المفتاحية: *L. stoechas*، *M. pulegium*، الكيمياء النباتية، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للبكتيريا، سمية حادة، سمية فوق الحادة و نشاط التئام الجروح.

Résumé

L. stoechas et *M. pulegium* connus sous le nom de Khûzama et fliyou, respectivement, sont des plantes médicinales largement utilisées dans la médecine traditionnelle Algérienne. La présente étude vise à étudier la composition phytochimique des huiles essentielles (HE) et des extraits méthanoliques (EMs), et à évaluer leurs toxicité et certaines activités biologiques (antioxydant *in vitro* et *in vivo*, antibactérienne et cicatrisante). L'analyse GC/FID et GC/MS a montré que la fenchone (50.29%), le camphre (14.02%), l'acétate de bornyle (5.60%) sont les principaux composés des HE de *L. stoechas*, tandis que les HE de *M. pulegium* sont dominées par la pulegone (81.04%) et pipériténone (13.60%). L'évaluation quantitative et l'analyse chromatographique (RP-LC-DAD-ESI-MS/MS) des EMs en polyphénols totaux, en flavonoïdes, en flavones en flavonols et en tanins totaux, ont révélé, la richesse des EMs en composés phénoliques, de plus ils étaient marqués par la présence des flavonoïdes, principalement des flavones et des flavanols. Des acides phénoliques ont été également identifiés, avec la dominance de l'acide rosmarinique. L'évaluation de l'activité antioxydante à l'aide de plusieurs tests *in vitro* (TAC, DPPH, ABTS, FRAP, ORAC, Chelation du fer et β -carotène) a montré que les EMs des plantes étudiées avaient un pouvoir antioxydant élevé. L'effet anti-hémolytique le plus élevé a été observé chez l'EM de *M. pulegium* ($IC_{50} = 21.41 \pm 0.49$ μ g/mL). Les HE de *L. stoechas* et *M. pulegium* ont montré une bonne activité antibactérienne contre toutes les souches testées, en particulier *S. aureus* (CMI=0.78-0.15 mg/mL) et *B. subtilis* (CMI=0.10-0.30 mg/mL), alors que les EMs étaient actifs seulement contre les bactéries Gram-positives. L'évaluation de la toxicité aiguë *in vivo* a révélé une LD_{50} supérieure à 2000 mg/kg pour les HE de *L. stoechas* et les EMs de deux plantes, alors que la DL_{50} des HE de *M. pulegium* était supérieure à 300 mg/kg. L'étude de toxicité subaiguë des EMs à différentes doses n'a provoqué aucun signe de toxicité ou d'altération des paramètres biochimiques, à l'exception de certaines altérations des tissus hépatiques aux doses 400 et 800 mg/kg. L'administration des EMs (200, 400 et 800 mg/kg) a augmenté de manière significative les niveaux de CAT et de GSH et a diminué le niveau de MDA dans le foie, une augmentation de la capacité antioxydante plasmatique a été observée, ce qui reflète la capacité antioxydante *in vivo* des EMs des deux plantes. Notre étude a porté aussi sur l'évaluation de l'activité cicatrisante des HE et des EMs des plantes pour le traitement des plaies. Le pouvoir cicatrisant des onguents naturels à base d'EM à 5% et 10% et des onguents à base d'HE à 5% de *L. stoechas* est supérieur (93.1%, 97.19% et 90.43% respectivement) de celui de la crème cicatrisante commerciale (84.52%) (Cicatryl®). En conclusion, *L. stoechas* et *M. pulegium* ont des effets antioxydants puissants à la fois *in vitro* et *in vivo*, des effets antimicrobiens et cicatrisants qui soutiennent leur utilisation en médecine traditionnelle.

Mots clés : *L. stoechas*, *M. pulegium*, phytochimie, activité antioxydante, activité antibactérienne, toxicité aiguë, toxicité subaiguë et activité cicatrisante.

Abstract

L. stoechas and *M. pulegium* known as Khûzama and fliyou, respectively, are medicinal plants widely used in traditional Algerian medicine. The present study aims to investigate the phytochemical composition of essential oils (HE) and methanolic extracts (EMs), and to evaluate their toxicity and certain biological activities (antioxidant *in vitro* and *in vivo*, antibacterial and healing activity). GC/FID and GC/MS analysis showed that fenchone (50.29%), camphor (14.02%), bornyl acetate (5.60%) are the main compounds of HE *L. stoechas*, while the HE of *M. pulegium* are dominated by pulegone (81.04%) and piperite (13.60%). Quantitative evaluation and chromatographic analysis (RP-LC-DAD-ESI-MS / MS) of EMs contents in total polyphenols, flavonoids, flavones, flavonols, total tannins, revealed the richness of the extract in these phenolic compounds and the presence of flavonoids, mainly flavones and flavanols. Phenolic acids have also been identified, with the dominance of rosmarinic acid. Evaluation of the antioxidant activity using several *in vitro* assays such as TAC, DPPH, ABTS, FRAP, ORAC, Chelation of iron and β -carotene/linoleic acid showed that the EMs of both plants studied had a powerful antioxidant activity. The highest antihemolytic effect was observed for EM of *M. pulegium* with $IC_{50} = 21.41 \pm 0.49$ μ g/mL. HE of *L. stoechas* and *M. pulegium* showed a good antibacterial effect against all tested strains, in particular *S. aureus* (MIC=0.78-0.15 mg/mL) and *B. subtilis* (MIC=0.10-0.30 mg/mL), while EMs were only active against Gram-positive bacteria. *In vivo* acute toxicity assessment revealed an LD_{50} greater than 2000 mg/kg for *L. stoechas* HE and ME of both plants, while the LD_{50} of *M. pulegium* HE was greater than 300 mg/kg. Subacute toxicity study of EMs at different doses did not cause any sign of toxicity or alteration of biochemical parameters, with the exception of certain alterations in hepatic tissues at 400 and 800 mg/kg doses. Administration of EMs (200, 400 and 800 mg/kg) increased the levels of CAT and GSH and decreased the level of MDA in the liver, an increase in plasma antioxidant capacity was observed, this reflect the antioxidant capacity *in vivo* of EMs of both plants. Our study also focused on the evaluation of the healing activity of EMs and HE for the treatment of wounds. Using 5% and 10% EM, and 5% HE from *L. stoechas* natural ointments leads to a powerful healing (93.1%, 97.19% and 90.43%, respectively) greater than that of commercial healing cream (84.52%) (Cicatryl®). In conclusion, *L. stoechas* and *M. pulegium* have potent antioxidant effects both *in vitro* and *in vivo*, antimicrobial and healing effects which support their use in traditional medicine.

Key words: *L. stoechas*, *M. pulegium*, Phytochemistry, Antioxidant activity, Antibacterial activity, Acute Toxicity, Subacute Toxicity and healing activity.