



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم والبحث العلمي



MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE UNIVERSITÉ ABDELHAMID BEN BADIS MOSTAGANEM

جامعة عبد الحميد بن باديس - مستغانم

UNIVERSITE ABD ELHAMID IBN BADIS MOSTAGANEM

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE & DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie

Laboratoire de Microbiologie et Biologie Végétale (LMBV)

THESE DE DOCTORAT 3^{ème} Cycle (Doctorat LMD)

Présentée par : Zaoui Somia

Thème

Etude phytochimique et Evaluation de l'activité antimicrobienne, antioxydante, et anti-inflammatoire de *Calamintha nepeta* et *Phlomis herba venti*

Devant le Jury

Président : Pr. Benakriche Ben Mehel

Université de Mostaganem

Directeur de thèse : Pr. Bahri Fouad

Université de Mostaganem

Co-directeur de thèse : Pr. Benhassaini Hachemi

Université de Sidi Bel Abbas

Examineur : Pr. Djibaoui Rachid

Université de Mostaganem

Examineur : Pr. Bekada Ahmed Mohamed Ali

Université de Tissemsilt

Année universitaire : 2024-2025

Remerciement

Avant tout, je tiens à exprimer ma gratitude infinie envers Dieu, le Tout-Puissant et Miséricordieux, pour m'avoir accordé la force et le courage nécessaires à l'achèvement de ce travail.

Je souhaite exprimer ma profonde gratitude à mon directeur de thèse Monsieur **BAHRI Fouad** professeur à l'université de Mostaganem, pour sa guidance et son accompagnement tout au long de ce travail. Je lui suis particulièrement reconnaissante pour la confiance qu'il m'a témoignée, sa patience, ses conseils avisés, ainsi que pour son esprit critique et rigoureux.

Je remercie également mon co-directeur de thèse, Monsieur **BENHASSAINI Hachemi**, professeur à l'université de Sidi Bel Abbes, pour sa confiance, son encadrement et sa précieuse liberté dans mes recherches.

Mes remerciements vont aussi aux membres du jury **Pr. BENAKRICHE Ben Mehel**, **Pr. DJIBAOUI Rachid**, et **Pr. BEKADA Ahmed Mohamed Ali**, pour avoir accepté de présider et d'évaluer ce travail.

C'est un grand honneur de bénéficier de votre expertise, et je vous remercie pour l'attention que vous portez à mon travail. Je vous prie d'accepter l'expression de mon profond respect.

Je tiens à remercier le **Pr. SZUMNY Antoni**, d'avoir réalisé l'analyse chimique des huiles essentielles et des extraits des espèces étudiées (Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Wrocław University of Environmental and Life Sciences, Poland).

Je tiens à remercier aussi le **Pr. FIGIEL Adam**, de m'avoir attribué un stage d'un mois, dans le cadre du projet PROM (Institute of Agricultural Engineering, Faculty of Life Sciences and Technology, Wrocław University of Environmental and Life Sciences, Poland).

Je remercie également **Pr. MEKHALDI Abdelkader** directeur de laboratoire de microbiologie et Biologie végétale. Vous prierais de trouver ici l'expression de ma très haute considération.

Je tiens également à exprimer ma profonde reconnaissance à **Dr. ARABI Abed** pour son aide précieuse et son soutien inestimable tout au long de ce travail.

Enfin, j'adresse mes sincères remerciements aux ingénieurs de laboratoire, **Dr. HAMED Djahira**, **Mmes TAHLAITI Amina** et **MEKRAF Souheyla**, pour leur précieuse aide, leur disponibilité, leur gentillesse, leur patience et leur bienveillance.

Dédicace

Je dédie cette thèse à

*Mes parents, pour leur amour inconditionnel et leur soutien
constant tout au long de mon parcours.*

*Mes frères et sœurs, pour leur présence réconfortante et leur
encouragement.*

Mes amis et collègues

*À toutes les personnes qui m'ont soutenue et qui ont cru en moi,
votre contribution à cette aventure est inestimable.*

SOMIA

الملخص

يندرج هذا العمل في إطار دراسة فيتوكيميائية وتقييم بعض الأنشطة البيولوجية لنوعين من النباتات ينموان بشكل تلقائي في الجزائر، وهما *Calamintha nepeta* و *Phlomis herba-venti*، كشفت التحاليل الكمية للمستخلصات الهيدرو-إيثانولية لـ *C. nepeta* و *P. herba-venti* عن غناها بالبوليفينولات (230.16 ± 3.32 ؛ 4.19 ± 206.33 ملغ/EAG غ من المستخلص)، والفلافونويدات (29.44 ± 0.13 ؛ 0.26 ± 19.31 ملغ/EQ غ من المستخلص)، والتانينات (0.07 ± 0.004 ؛ 0.03 ± 0.14 ملغ/EC غ من المستخلص)، على التوالي.

أظهرت تقنية الكروماتوغرافيا الغازية المقترنة بمطياف الكتلة (GC-MS) أن المركبات الرئيسية في الزيت العطري لـ *C. nepeta* هي: *Pulégone* (58.36%) و *Isobornéol* (10.40%) أما بالنسبة للمستخلص، فقد تضمنت المركبات الرئيسية: *Pulégone* (24.98%)، *Menthofurane* (11.89%) و *Menthone* (8.04%)، بالنسبة لمستخلص *P. herba-venti* كانت المركبات الأساسية بنسبة 98% هي *Acide oléanolique* و *Acide bétulinique*، بالإضافة إلى β -*Sitostérol* (1.21%).

أظهرت دراسة النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات زيت *C. nepeta* العطري باستخدام تقنية اصطياد الجذور الحرة (DPPH) وقدرة الاختزال (FRAP) أن مستخلص *C. nepeta* يتمتع بأفضل نشاط مضاد للجذور الحرة وقدرة اختزالية، حيث بلغت قيمة IC_{50} حوالي 1.26 ± 1.26 ميكروغرام/مل، وقيمة EC_{50} حوالي 28.58 ± 1.39 ميكروغرام/مل. بالإضافة إلى ذلك، أظهر هذا المستخلص أقوى تأثير مضاد للالتهابات *in vitro* وفقاً لاختبار تثبيط تحلل البروتين، حيث بلغت قيمة IC_{50} حوالي 1.2 ± 0.01 ملغ/مل.

كشف النشاط المضاد للميكروبات بالاروماتوغرام عن قوة تثبيطية عالية للزيت العطري لـ *C. nepeta* مقارنةً بالمستخلصات الهيدرو-إيثانولية. كما سمحت طريقة التخفيف الميكروي في الوسط السائل بتحديد التركيز المثبط الأدنى (CMI)، التركيز القاتل الأدنى (CMB)، والتركيز الفطري الأدنى (CMF) للزيت العطري والمستخلصات الخاصة بـ *C. nepeta* و *P. herba-venti*، حيث تراوحت القيم بين (0.937 - 3.75 ميكروغرام/مل) و (0.937 - 15 ميكروغرام/مل)، وبين (0.39 - 6.25 ملغ/مل) و (3.125 - 25 ملغ/مل)، وبين (9.76 - 78.12 ملغ/مل) و (19.52 - 625 ملغ/مل)، على التوالي. بالإضافة إلى ذلك، أظهرت الخصائص المضادة للفيروسات للزيت العطري لـ *C. nepeta* ضد فيروس الهربس البسيط (HSV) والفيروس الغدي من النوع 5 (Ad5) فعالية ملحوظة، عند تركيز 0.5 ملغ/مل.

لم يُظهر إعطاء المستخلصات عن طريق الفم لجرذان Wistar بجرعات متزايدة أي سمية، بينما كان الزيت العطري لـ *C. nepeta* ساماً بشكل معتدل، حيث بلغت قيمة LD_{50} حوالي 2500 ملغ/كغ. كما أظهر اختبار وئمة القدم المستحثة بالكارجينان انخفاضاً ملحوظاً في الالتهاب، حيث كانت أعلى نسبة تثبيط (88.96%) عند جرعة 400 ملغ/كغ من الزيت العطري لـ *C. nepeta* كما كشفت الدراسة *in vivo* للنشاط المضاد للمكورات العنقودية للزيت العطري لـ *C. nepeta* عن استعادة الحالة الفسيولوجية الطبيعية لأنسجة المهبل لدى الجرذان المصابة.

الكلمات المفتاحية: *Calamintha nepeta*، *Phlomis herba-venti*، الزيت العطري، الكروماتوغرافيا، مضاد للميكروبات، مضاد للأكسدة، السمية، مستخلص الهيدروإيثانول، مضاد للالتهابات.

Résumé

Ce travail s'inscrit dans le cadre d'une étude phytochimique et de l'évaluation de certaines activités biologiques de deux espèces végétales poussant à l'état spontané en Algérie à savoir, *Calamintha nepeta* et *Phlomis herba-venti*. L'analyse quantitative des extraits hydro-éthanoliques de *C. nepeta* et *P. herba-venti* a révélé une richesse notable en polyphénols (230.16 ± 3.32 ; 206.33 ± 4.19 mg EAG/g d'extrait), en flavonoïdes (29.44 ± 0.13 ; 19.31 ± 0.26 mg EQ/g d'extrait) et en tanins (0.07 ± 0.004 ; 0.14 ± 0.03 mg EC/g d'extrait), respectivement.

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse (CPG-SM) a démontré que les principaux composés de l'huile essentielle de *C. nepeta* étaient le pulégone (58.36 %) et l'isobornéol (10.40 %). Pour l'extrait, les composés majeurs comprenaient également le pulégone (24.98%), menthofurane (11.89 %), et la menthone (8.04 %). Concernant l'extrait de *P. herba-venti*, les composés principaux à 98 % étaient l'acide oléanolique et l'acide bétulinique, ainsi que le β -sitostérol (1.21 %).

L'étude de l'activité antioxydante des extraits et l'huile essentielle de *C. nepeta* par la technique du piégeage du radical libre (DPPH) et le pouvoir réducteur (FRAP) a montré que l'extrait de *C. nepeta* présente les meilleures activités antiradicalaire et réductrice, avec une IC_{50} de 34.43 ± 1.26 μ g/mL et une EC_{50} de 28.58 ± 1.39 μ g/mL. De plus, cet extrait a montré le plus fort effet anti-inflammatoire *in vitro*, selon le test d'inhibition de la dénaturation des protéines, avec une IC_{50} de 1.2 ± 0.01 mg/mL.

L'évaluation de l'effet antimicrobien par la méthode de diffusion sur disque a révélé un fort pouvoir inhibiteur de l'HE de *C. nepeta* par rapport les extraits hydro-éthanoliques. La méthode de micro dilution en milieu liquide a permis de déterminer les CMI, CMB et CMF de l'HE de et des extraits de *C. nepeta* et *P. herba-venti*, avec des valeurs respectives allant de 0.937 à 3.75 μ L/mL, 0.937 à 15 μ L/ml) ; 0.39 à 6.25 mg/mL, 3.125 à 25mg/mL et 9.76 et 78.12 mg/mL, 19.52 à 625. Par ailleurs, les propriétés antivirales de l'huile essentielle de *C. nepeta* contre le virus de l'herpès simplex (HSV) et l'adénovirus de type 5 (Ad5) ont révélé une efficacité notable, avec une concentration de 0.5 mg/mL.

L'administration orale de l'extrait des deux plantes pour les rats Wistar, à des doses croissantes, n'a révélé aucune toxicité, contrairement l'HE de *C. nepeta* été modérément toxiques, avec une DL_{50} de 2500 mg/kg. Le test de l'œdème plantaire induit par la carragénine a montré une réduction significative de l'inflammation, dont le pourcentage d'inhibition le plus élevé étant observé avec l'HE de *C. nepeta* (88.96 %) à la dose de 400 mg/kg. L'étude de l'activité anti staphylococcique *in vivo* de l'huile essentielle de *C. nepeta*, a montré la restauration de l'état physiologique normal du tissu vaginal des rats infectés.

Mots clés : *Calamintha nepeta*, *Phlomis herba venti*, huile essentielle, chromatographie, antimicrobienne, antioxydante, toxicité, extrait hydro-éthanolique, anti-inflammatoire.

Abstract

This work is part of a phytochemical study and the evaluation of certain biological activities of two plant species growing spontaneously in Algeria, namely *Calamintha nepeta* and *Phlomis herba-venti*. Quantitative analysis of the hydro-ethanolic extracts of *C. nepeta* and *P. herba-venti* revealed a notable richness in polyphenols (230.16 ± 3.32 ; 206.33 ± 4.19 mg EAG/g extract), flavonoids (29.44 ± 0.13 ; 19.31 ± 0.26 mg EQ/g extract) and tannins (0.07 ± 0.004 ; 0.14 ± 0.03 mg EC/g extract), respectively.

Analysis by gas chromatography-mass spectroscopy (GC-MS) showed that the main compounds in *C. nepeta* essential oil were pulegone (58.36%) and isoborneol (10.40%). For the extract, major compounds also included pulegone (24.98%), menthofuran (11.89%), and menthone (8.04%). For *P. herba-venti* extract, the major compounds at 98% were oleanolic acid and betulinic acid, as well as β -sitosterol (1.21%).

Investigation of the antioxidant activity of *C. nepeta* extracts and essential oil using the free radical scavenging (DPPH) and reducing power (FRAP) techniques showed that *C. nepeta* extract exhibited the best free radical scavenging and reducing activities, with an IC_{50} of 34.43 ± 1.26 μ g/mL and an EC_{50} of 28.58 ± 1.39 μ g/mL. Furthermore, this extract showed the strongest anti-inflammatory effect *in vitro*, according to the protein denaturation inhibition assay, with an IC_{50} of 1.2 ± 0.01 mg/mL.

Evaluation of the antimicrobial effect by the disk diffusion method revealed a strong inhibitory power of *C. nepeta* EO compared with hydro-ethanolic extracts. The liquid microdilution method was used to determine the MIC, CMB and CMF of *C. nepeta* and *P. herba-venti* EO and extracts, with respective values ranging from 0.937 to 3.75 μ L/mL, 0.937 to 15 μ L/mL; 0.39 to 6.25 mg/mL, 3.125 to 25mg/mL and 9.76 and 78.12 mg/mL, 19.52 to 625. In addition, the antiviral properties of *C. nepeta* essential oil against herpes simplex virus (HSV) and adenovirus type 5 (Ad5) showed notable efficacy, at a concentration of 0.5 mg/mL.

Oral administration of both plant extracts to Wistar rats, at increasing doses, revealed no toxicity, while *C. nepeta* EO was moderately toxic, with an LD_{50} of 2500 mg/kg. The carrageenan-induced plantar oedema test showed a significant reduction in inflammation, with the highest percentage of inhibition observed with *C. nepeta* EO (88.96%) at a dose of 400 mg/kg. Study of the *in vivo* anti-staphylococcal activity of *C. nepeta* essential oil showed restoration of the normal physiological state of vaginal tissue in infected rats.

Key words: *Calamintha nepeta*, *Phlomis herba venti*, essential oil, chromatography, antimicrobial, antioxidant, toxicity, hydroethanol extract ,anti-inflammatory.

Tables des matières

Remerciement

Dédicace

ملخص

Résumé

Abstract

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction

Chapitre I : Les éléments actifs des plantes médicinales

1. Généralités sur les plantes médicinales.....	3
2. Définition des métabolites secondaires.....	3
2.1. Terpènes.....	4
2.1.1. Les huiles essentielles.....	4
2.1. 1.1. Composition chimique des huiles essentielles.....	5
2.1. 1.2. Rôle écologique et extraction des huiles essentielles.....	8
2.1. 1.3. Facteurs influençant la variabilité des huiles essentielles.....	8
2.1. 1.4. Applications et utilisations des huiles essentielles.....	9
2.2. Les Composés phénoliques.....	9
2.2.1. Classification des composés phénoliques.....	10
2.2.1.1. Les acides phénoliques.....	10
2.2.1.2. Flavonoïdes.....	11
2.2.1.3. Tanins.....	12
2.2.1.4. Lignanes.....	13
2.2.1.5. Stilbènes.....	13
2.3. Les alcaloïdes.....	14

Chapitre II : Activités biologiques des plantes médicinales

1. Activité antimicrobienne.....	15
1. 1. Infections nosocomiales.....	15
1. 1.1. Les types des infections nosocomiales.....	15
1.1.2. Les pathogènes responsables des infections nosocomiales.....	15
1.1.2.1. Les bactéries.....	15
1.1.2.2. Les virus.....	16
1.1.2.3. Les parasites fongiques.....	16
1.1.3. Antibiorésistance des bactéries.....	16
1.1.3.1. Mode d'action des antibiotiques.....	17
1.1.3.2. Les mécanismes de résistance aux antibiotique.....	17
1.2. Activité antimicrobienne des composés phytochimiques.....	18
1.2.1. Activité antimicrobienne des huiles essentielles.....	18
1.2.1.1. Mécanisme d'action des huiles essentielles contre les micro-organismes pathogènes.....	18
1.2.1.1.1. Activité antibactérienne.....	18
1.2.1.1.2. Activité antivirale.....	19
1.2.1.1.3. Activité antifongique.....	20
1.2.2. Activité antimicrobienne des polyphénols.....	20
1.2.2.1. Mécanisme d'action des polyphénols contre les micro-organismes pathogènes	20
2. Activité antioxydante.....	21
2.1. Les espèces réactives de l'oxygène et leurs impacts sur les fonctions cellulaires.....	21
2.1.1. Les radicaux libres.....	22
2. 1.1.1. Radical hydroxyle (-OH).....	22
2.1.1.2. Anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$).....	22
2.2. Les antioxydants.....	23
2.2.1. Les antioxydants enzymatiques.....	23
2.2.2. Les antioxydants non enzymatiques.....	24

2.2.2.1. Systèmes antioxydants endogènes.....	24
2.2.2.2. Systèmes antioxydants exogènes.....	24
2.2.2.2.1. Propriétés antioxydante des polyphénols.....	25
3. Activité anti-inflammatoire.....	25
3.1. Inflammation aiguë.....	26
3.1.1. Phase vasculaire (réaction vasculo-exsudative).....	26
3.1.2. Phase cellulaire.....	27
3.1.3. Phase de réparation.....	27
3.2. Les cellules de l'inflammation.....	27
3.3. Les médiateurs inflammatoires.....	28
3.4. Thérapeutique inflammatoire.....	29
3.4.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).....	29
3.4.2. Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS).....	29
3.4.3. Les anti-inflammatoires naturels.....	30

Chapitre III : Les espèces végétales étudiées

1. Présentation de la famille des <i>Lamiaceae</i>	32
1.1. Le genre <i>Calamintha</i>	33
1.1.1. <i>Calamintha nepeta</i>	33
1.1.1.1. Description botanique.....	33
1.1.1.2. Classification botanique.....	34
1.1.1.3. Répartition géographique.....	35
1.1.1.4. Propriété thérapeutique.....	35
1.2. Le genre <i>Phlomis</i>	36
1.2.1. <i>Phlomis herba venti</i>	36
1.2.1.1. Description botanique.....	36
1.2.1.2. Classification botanique.....	37
1.2.1.3. Distribution géographique.....	37

1.2.1.4. Propriété thérapeutique.....	38
---------------------------------------	----

Matériel et Méthodes

1. Matériel végétal.....	39
2. Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation.....	40
3. Extraction des extraits par macération.....	40
4. Calcul des rendements des extractions.....	41
5. Screening phytochimique.....	41
5.1. Polyphénols.....	41
5.2. Tanin.....	42
5.3. Alcaloïdes.....	42
5.4. Anthraquinones.....	42
5.5. Les flavonoïdes.....	42
5.6. Coumarines.....	42
5.7. Carbohydrates.....	43
5.8. Quinones.....	43
5.9. Terpénoïdes.....	43
6. Quantification des composés phénoliques.....	43
6.1. Dosage des polyphénols totaux.....	43
6.2. Dosage des flavonoïdes totaux.....	44
6.3. Dosage des Tanins condensés.....	44
7. Analyse chimique de l'huile essentielle et des extraits hydro-éthanoliques.....	45
8. Activités biologiques <i>in vitro</i>	46
8.1. Détermination de l'activité antioxydante.....	46
8.1.1. Test de DPPH•.....	46
8.1.2. Test du pouvoir réducteur (FRAP).....	47
8.2. Activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i>	48
8.2.1. Test de dénaturation des protéines.....	48

8.3.Activité antimicrobienne.....	49
8.3.1. Etude de la sensibilité des souches vis-à-vis des agents antimicrobiens standards.....	50
8.3.2. Etude de l'effet antimicrobien de l'huile essentielle et des extraits.....	50
8.3.2.1. Méthode de Vincent (technique de diffusion en milieu gélosé).....	50
8.3.2.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	51
8.3.2.3. Détermination de la concentration minimale bactéricide(CMB) et fongicide (CMF).....	51
8.3.3. Activité antivirale de l'huile essentielle.....	52
9.Activités biologiques <i>in vivo</i>	53
9.1. Activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i>	54
9.2. Activité antibactérienne <i>in vivo</i>	55
9.2.1. Modèle <i>in vivo</i> de colonisation vaginale par le <i>Staphylococcus aureus</i> (vaginite)..	56
9.2.2. Analyse microbiologique des urines.....	56
9.2.3. Sacrifice des animaux.....	57
9.2.4. Etude histopathologie.....	57
10. Etude statistique.....	60

Résultats et Discussion

1.Rendement d'extraction.....	61
2.Screening phytochimique.....	62
3.Quantification des composés phénoliques.....	64
4.Analyse chimique de l'huile essentielle et des extraits hydro-éthanoliques.....	66
5.Activités biologiques <i>in vitro</i>	70
5.1. Détermination de l'activité antioxydante.....	70
5.1.1. Test de DPPH•.....	71
5.1.2. Test du pouvoir réducteur (FRAP).....	74
5.2. Activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i>	76

5.2.1. Test de dénaturation des protéines.....	76
5.3. Activité antimicrobienne.....	77
5.3.1. Étude de la sensibilité des souches aux agents antimicrobiens standards.....	77
5.3.2. Pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle de <i>C. nepeta</i>	82
5.3.3. Pouvoir antimicrobien des extraits.....	85
6.4. Activité antivirale de l'huile essentielle de <i>C. nepeta</i>	90
7. Activités biologiques <i>in vivo</i>	91
7.1. Activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i>	92
7.2. Activité antibactérienne <i>in vivo</i>	100
7.2.1. Résultats de l'examen bactériologique des urines.....	100
7.2.2. Résultats histopathologies du vagin.....	101

Conclusion et perspectives

Conclusion.....	105
-----------------	-----

Références Bibliographiques

Annexes

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification des terpènes.....	6
Tableau 2 : Coordonnées géographiques des sites de récolte des espèces végétales étudiées.....	39
Tableau 3 : Liste des microorganismes testés.....	49
Tableau 4 : rendement d'extraction en (%) de <i>Calamintha nepeta</i> et <i>Phlomis herba venti</i>	60
Tableau 5 : Screening phytochimique des deux plantes <i>Calamintha nepeta</i> et <i>Phlomis herba venti</i>	63
Tableau 6 : Contenus totaux en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins dans les extraits éthanoliques de <i>C. nepeta</i> et de <i>P. herba venti</i>	65
Tableau 7 : Composition chimique de l'huile essentielle de <i>C. nepeta</i>	66
Tableau 8 : Composition chimique de l'extrait hydro-éthanolique de <i>C. nepeta</i>	69
Tableau 9 : Composition chimique de l'extrait hydro-éthanolique de <i>P. herba venti</i>	70
Tableau 10 : Valeurs de la concentration inhibitrice 50 (µg/mL) des espèces étudiées et l'acide ascorbique obtenues par le test DPPH.	71
Tableau 11 : Valeurs de la concentration efficace 50 (µg/mL) des espèces étudiées et l'acide ascorbique obtenues par le test FRAP.	74
Tableau 12 : Valeurs de la concentration inhibitrice 50 (mg/mL) des espèces étudiées et diclofénac obtenues par le test d'inhibition de la dénaturation des protéines.....	76
Tableau 13 : Etude de la sensibilité des souches aux agents antimicrobiens standards..	80
Tableau 14 : Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de <i>C. nepeta</i> (aromatogramme).	83
Tableau 15 : Valeurs de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et Bactéricide (CMB) (µL/mL) de l'huile essentielle de <i>C. nepeta</i>	85
Tableau 16 : Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits en fonction des Souches testées.	85
Tableau 17 : Valeurs de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et Bactéricide (CMB) (mg/mL) de l'extrait de <i>C. nepeta</i> et <i>P. herba venti</i>	88
Tableau 18 : Activité antivirale de l'huile essentielle de <i>C. nepeta</i> contre le virus de l'herpès simplex (HSV) et l'adénovirus de type 5 (Ad5).....	90

Tableau 19 : Effet d'extrait de <i>C. nepeta</i> et <i>P. herba vent</i> sur l'œdème de la patte (mm) induit chez le rat par l'injection de la carragénine.....	92
Tableau 20 : Effet de l'huile essentielle de <i>C. nepeta</i> sur l'œdème de la patte (mm) induit chez le rat par l'injection de la carragénine.....	98

Liste des figures

Figure 1 : Structure chimique de l'unité isoprénique C ₅ H ₈	6
Figure 2 : Exemple de structure des terpènes et des terpénoïdes.....	7
Figure 3 : La structure de certains composés aromatiques.....	8
Figure 4 : Structure chimique des acides phénoliques simples.....	11
Figure 5 : Structure du squelette de base des flavonoïdes et leurs classes.....	12
Figure 6 : structures chimiques des tanins condensés et tanins hydrolysable.....	13
Figure 7 : Les mécanismes de résistance multiple aux antibiotiques chez les bactéries.....	18
Figure 8 : Mécanisme d'action de l'huile essentielle sur les fonctions de la membrane cellulaire bactérienne.....	19
Figure 9 : Génération de ROS via la chaîne de transport des électrons.....	23
Figure 10 : Aspect morphologique de <i>Calamintha nepeta</i>	34
Figure 11 : Aspect morphologique de <i>Phlomis herba venti</i>	37
Figure 12 : Localisation géographique des sites de collecte des plantes étudiées.....	39
Figure 13 : Dispositif d'hydrodistillation de type Clevenger pour l'extraction des huiles essentielles.....	40
Figure 14 : les étapes d'extraction hydro-éthanolique.....	41
Figure 15 : Processus de neutralisation du radical libre DPPH par un agent antioxydant.....	46
Figure 16 : Les étapes de réalisation de l'activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i>	55
Figure 17 : Induction de l'infection urinaire par la <i>Staphylococcus aureus</i> chez les rats femelles.....	57
Figure 18 : Inclusion en paraffine.....	58
Figure 19 : Coupe et formation de rubans à l'aide d'un microtome.....	59
Figure 20 : Pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations variées de l'HE de <i>C.nepeta</i>	71
Figure 21 : Pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations variées de l'extrait de <i>C.nepeta</i>	71
Figure 22 : Pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations variées d'acide ascorbique.....	72
Figure 23 : Pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations variées de l'extrait de <i>P.herba venti</i>	72

Figure 24 : Pouvoir réducteur du fer en fonction des concentrations variées d'acide ascorbique.....	74
Figure 25: Pouvoir réducteur du fer en fonction des concentrations variées de l'extrait de <i>C.nepeta</i>	74
Figure 26: Pouvoir réducteur du fer en fonction des concentrations variées de l'HE de <i>C.nepeta</i>	75
Figure 27: Pouvoir réducteur du fer en fonction des concentrations variées de l'extrait de <i>P. herba venti</i>	75
Figure 28 : Pourcentage d'inhibition (%) de l'œdème plantaire par les extrait de <i>C. nepeta</i> et <i>P. herba vent</i> induit par la carragénine chez les rats.....	93
Figure 29 : Pourcentage d'inhibition (%) de l'œdème de la patte par l'huile essentielle de <i>C. nepeta</i> induit par la carragénine chez les rats.....	98
Figure 30 : Caractéristiques macro- et microscopiques de <i>Staphylococcus aureus</i> prélevé à partir des urines des rats.....	100
Figure 31 : Résultats bactériologiques quantitatifs de la culture urinaire.....	101
Figure 32 : Coupes histologiques du tissu vaginal.....	104

Liste d'abréviation

- **AFNOR** : Association Française de Normalisation
- **AINS** : Anti-inflammatoire non stéroïdien
- **AIS** : Anti-inflammatoire stéroïdien
- **ATCC** : American Type Culture Collection
- **BMR** : Bactérie multirésistante
- **CE50** : Concentration Efficace à 50%
- **CMF** : Concentration Minimale Fongicide
- **CMB** : Concentration Minimale Bactéricide
- **CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice
- **COX** : Cyclooxygénase
- **CRP** : C-Reactive Protein
- **DL50** : Dose Létale 50
- **DPPH** : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle
- **EGCG** : Épigallocatechine gallate
- **FRAP** : Ferric Reducing Antioxidant Power
- **GC-MS** : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
- **GPX** : Glutathion peroxydase
- **IL** : Interleukine
- **IAS** : Infections associées aux soins de santé
- **IR** : Indice de Réention
- **ISO** : International Standard Organization
- **LDL** : Low-Density Lipoprotein
- **LOX** : Lipoxygénase
- **MAPKs** : Mitogen-Activated Protein Kinases
- **MDA** : Malondialdéhyde
- **MMP** : Matrice Métalloprotéases
- **NADPH** : Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate, réduit
- **NF-κB** : Nuclear Factor-kappa B
- **Nrf2** : Nuclear factor erythroid 2-related factor 2
- **OECD** : Organization for Economic Co-operation and Development
- **P.c** : Poids corporel

- **PGE₂** : Prostaglandine E₂
- **PI** : Pourcentage d'inhibition
- **PLA₂** : Phospholipase A₂
- **ppm** : Partie par million
- **p/v** : Poids/Volume
- **RNS** : Espèces réactives de l'azote
- **SM** : Spectrométrie de Masse
- **SOD** : Superoxyde dismutase
- **TTC**: 2,3,5,-triphenyltetrazolium chloride
- **TNF**: Tumour Necrosis Factor
- **UFC** : Unité Formant des Colonies
- **UI** : Unité Internationale
- **UV** : Ultraviolet

Introduction

L'émergence de la résistance aux agents antimicrobiens est devenue, au cours des dix dernières années, un problème majeur à l'échelle mondiale, tant pour la santé humaine que pour la santé animale. Ce phénomène met en cause l'efficacité des agents thérapeutiques et peut augmenter le pronostic de diverses maladies infectieuses, entraînant des répercussions socio-économiques importantes (**Urban-Chmiel et al., 2022**). Les bactéries les plus fréquemment impliquées sont *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* (**Angoue, 2020**).

Par ailleurs, l'impact néfaste du stress oxydatif sur la santé humaine est devenu une préoccupation pressante. L'utilisation de composés antioxydants synthétiques fait actuellement l'objet d'un examen minutieux en raison des risques toxicologiques potentiels (**Bammou et al., 2020**). De plus, l'usage routinier d'anti-inflammatoires pour atténuer la douleur liée à l'inflammation peut entraîner des effets graves, tels que des risques de toxicité gastro-intestinale, des accidents cardiovasculaires et des troubles rénaux (**Strate et al., 2011**).

Par conséquent, les recherches actuelles se concentrent sur la découverte de nouveaux antibiotiques, des antioxydants et des anti-inflammatoires, principalement issus de sources naturelles (**Abdelli et al., 2019; Bahri et al., 2016**). Parmi les solutions envisagées, les métabolites secondaires des plantes apparaissent comme des ressources prometteuses, riches en phytomolécules dotées de diverses activités biologique (**Mammeri et al., 2022; Ouguirti et al., 2021**). Les plantes médicinales jouent un rôle crucial dans la recherche pharmacologique. Elles sont non seulement utilisées directement comme agents thérapeutiques, mais servent également de matières premières pour la synthèse de médicaments (**OMS, 1998**). Selon l'OMS, plus de 80 % de la population mondiale se tourne fréquemment vers les médicaments traditionnels, principalement les plantes, qui constituent la principale source de soins de santé (**Jamshidi-Kia et al., 2018**). En Afrique, près de 6 377 espèces de plantes sont utilisées, dont plus de 4 000 sont des plantes médicinales, représentant ainsi 90 % de la médecine traditionnelle sur le continent (**OMS, 2002**).

L'Algérie, en raison de ses diverses conditions climatiques et de sa position géographique stratégique, possède un large éventail d'espèces indigènes qui constituent un patrimoine phytogénétique d'une importance considérable, notamment en ce qui concerne leur distribution spatiale et leur contribution à la stabilité écologique (Snoussi *et al.*, 2003).

Les huiles essentielles et les extraits végétaux sont des sources précieuses de molécules bioactives aux multiples propriétés biologiques. Tandis que les huiles essentielles, riches en composés volatils, sont obtenues principalement par distillation, les extraits végétaux sont élaborés par différentes méthodes telles que la macération, l'infusion ou l'extraction par solvants, permettant d'isoler une grande diversité de métabolites secondaires. Ces produits naturels connaissent un intérêt croissant et sont largement exploités dans divers domaines, notamment la médecine, la pharmacie, la cosmétologie, l'alimentation et l'agriculture. La recherche, en quête de nouvelles solutions thérapeutiques efficaces et mieux tolérées, explore leur potentiel pour répondre à divers enjeux de santé (Abdelli *et al.*, 2019; Amraoui *et al.*, 2022; Boussena *et al.*, 2022).

Face aux divers problèmes liés à l'utilisation des agents synthétiques, l'intérêt pour les sources naturelles est aujourd'hui plus important. Cette étude vise à approfondir les connaissances sur les espèces *Calamintha nepeta* et *Phlomis herba venti*. En évaluant les activités antimicrobiennes, antioxydante et anti-inflammatoires de leurs extraits et huiles essentielles, tout en examinant leur toxicité pour garantir leur innocuité.

Notre travail est structuré en deux parties. La première partie consiste en une synthèse bibliographique organisée en trois chapitres. Le premier chapitre présente les composés actifs des plantes médicinales. Le deuxième chapitre est consacré aux activités biologiques des plantes médicinales, en particulier les activités antimicrobienne, antioxydante et anti-inflammatoire. Enfin, le troisième chapitre se concentre sur la description botanique des deux espèces végétales étudiées. La partie expérimentale se divise en deux chapitres. Le premier détaille le matériel et les méthodes utilisées pour mener à bien ce travail, comprenant :

- Extraction et évaluation des teneurs des extraits en polyphénols, flavonoïdes et en tanins.
- Extraction des huiles essentielles de la partie aérienne de *Calamintha nepeta*
- Evaluation de l'effet antimicrobien des extraits hydro-éthanoliques issues des deux espèces et de l'huile essentielle de *Calamintha nepeta*

- Caractérisation chimique des huiles essentielles et des extraits GC-MS
- Détermination de la toxicité des différents extraits et l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vivo* et *in vitro*.
- Détermination de l'effet virucide de l'huile essentielle de *Calamintha nepeta*.
- Etude de l'effet anti-*staphylococcus* de l'huile essentielle de *Calamintha nepeta* in-vivo

Le second chapitre est consacré à la présentation et à la discussion des résultats obtenus. Le manuscrit se termine par une conclusion générale qui résume l'ensemble de ces résultats.

Synthèse Bibliographique

Chapitre I

Les éléments actifs des plantes médicinales

1. Généralités sur les plantes médicinales

Les êtres humains ont toujours dépendu de la nature pour satisfaire leurs besoins fondamentaux, notamment en tant que sources de médicaments, d'abris, de denrées alimentaires, de parfums, de vêtements, de saveurs, d'engrais et de moyens de transport. La médecine traditionnelle, principalement basée sur les plantes médicinales, continue de jouer un rôle prépondérant dans le système de santé pour une grande partie de la population mondiale, en particulier dans les pays en développement où elle possède une longue histoire d'utilisation ininterrompue (**Dar et al., 2017**). L'Organisation mondiale de la santé (OMS) estime que ces pratiques répondent aux besoins de soins de santé primaires de plus de 80 % de la population mondiale (**WHO, 2009**).

De plus, il existe une large gamme fabriquée à partir de plantes médicinales, depuis les ingrédients de base jusqu'aux produits transformés et emballés, tels que les médicaments, les traitements à base de plantes, les thés, les produits de beauté et les compléments alimentaires. La demande pour ces plantes est en constante augmentation, tant pour des usages domestiques qu'industriels, aux niveaux local, régional, national et international (**Bariotakis et al., 2023; Bvenura et Kambizi, 2023**). Cette demande, qui devrait croître de 10 à 20 % chaque année, entraîne une reconnaissance accrue de leurs bienfaits médicinaux et économiques dans les pays industrialisés et en développement, avec plus de 70 % des plantes étant récoltées à l'état sauvage (**Saeed et Samad, 2017**).

Les plantes médicinales sont utilisées comme matières premières pour produire des médicaments efficaces, offrant ainsi des solutions de santé accessibles. De plus, toutes les plantes synthétisent des phytochimiques bénéfiques pour la santé humaine, ces substances étant indispensables car elles ne peuvent pas être synthétisées dans le corps humain. En outre, les plantes constituent des sources alimentaires riches en biomolécules, vitamines et minéraux essentiels à la santé globale du corps (**Rasool Hassan, 2012**). De nombreuses plantes sont connues pour leurs effets pharmacologiques dus à la présence de métabolites, des composés organiques végétaux classés en métabolites primaires et métabolites secondaires (**Jamshidi-Kia et al., 2018**).

2. Définition des métabolites secondaires

Les plantes produisent des métabolites secondaires, de petites molécules organiques qui ne sont pas nécessaires à leur croissance ou développement normal, mais qui sont cruciales pour

leur reproduction et leurs mécanismes de défense contre les bactéries, champignons, virus, vertébrés, etc (**Crozier et al., 2006**). Ces substances ont un potentiel considérable en tant que médicaments. De nombreux métabolites secondaires participent à des relations antagonistes entre les plantes et d'autres organismes, ainsi qu'à des relations mutualistes (par exemple, plantes/pollinisateurs, plantes/distributeurs de graines, plantes fixatrices d'azote/microorganismes, etc.). Ces métabolites forment un groupe hétérogène de composés naturels utilisés pour traiter diverses maladies (**Anand et al., 2019**).

La biochimie des médicaments basés sur des produits naturels traditionnels a largement contribué aux soins de santé publique et a favorisé le développement de médicaments abordables à l'échelle mondiale. Les métabolites secondaires sont étudiés depuis les années 1850. Leur classification peut se baser sur la composition chimique (présence ou absence d'azote), la structure chimique (par exemple, présence de cycles, contenu en sucre), la voie biosynthétique (comme les phénylpropanoïdes, qui produisent des tannins) ou leur solubilité. Ils se divisent en trois grandes catégories : les alcaloïdes, les terpènes et les composés phénoliques. La majorité des composés dérivés des plantes sont des phytochimiques et des métabolites secondaires, jouant un rôle majeur en tant qu'antimicrobiens et antiviraux (**Anand et al., 2019; Singh, 2015**).

2.1. Terpènes

2.1.1. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des composés naturels volatils et complexes, caractérisés par une odeur forte et formés par les plantes aromatiques en tant que métabolites secondaires. Elles sont généralement obtenues par distillation à la vapeur ou à l'eau. Connues pour leurs propriétés antiseptiques (bactéricide, virucide et fongicide), médicinales et leur fragrance, elles sont utilisées dans l'embaumement, la conservation des aliments et comme remèdes antimicrobiens, analgésiques, sédatifs, anti-inflammatoires, spasmolytiques et anesthésiques locaux (**Bakkali et al., 2008; Raut et Karuppayil, 2014**). Selon la Pharmacopée européenne, les huiles essentielles sont décrites comme "Les produits odorants, possédant une composition complexe, sont obtenus à partir d'extraits de plantes brutes par extraction à la vapeur d'eau, distillation sèche ou une méthode mécanique appropriée sans chauffage. En général, une méthode physique est utilisée pour séparer l'huile essentielle de la phase aqueuse sans altérer significativement sa composition chimique" (**AFNOR, 2000**).

2.1. 1.1. Composition chimique des huiles essentielles

Il existe plus de 200 composants présents dans les huiles essentielles pures, qui sont généralement des mélanges de terpènes et de dérivés du phénylpropanoïde, avec des différences chimiques et structurelles minimales entre les composés. Les constituants des huiles essentielles peuvent être classés en fractions volatiles et non volatiles. La fraction volatile des huiles aromatiques comprend des mono- et sesquiterpènes, plusieurs dérivés oxygénés, ainsi que des alcools, des aldéhydes aliphatiques et des esters. En revanche, 1 à 10 % en poids de l'huile essentielle isolée contient des caroténoïdes, des acides gras, des flavonoïdes et des cires, classés comme résidus non volatils (**Aziz et al., 2018; Hussain et al., 2008**).

Les huiles essentielles sont caractérisées par deux ou trois composants majeurs à des concentrations assez élevées (20-70%) par rapport aux autres composants présents à l'état de traces. Par exemple, le carvacrol (30%) et le thymol (27%) sont les principaux composants de l'huile essentielle d'*Origanum compactum*, le linalol (68%) de l'huile essentielle de *Coriandrum sativum*, l'alpha- et bêta-thuyone (57%) et le camphre (24%) de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* (**Betts, 2001; Bowles, 2003; Pichersky et al., 2006; Rodney et al., 2000**).

Généralement, la méthode de chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) est utilisée pour déterminer les constituants présents dans les huiles essentielles. Cette méthode est simple, permet des réponses rapides, est efficace et largement utilisée comme technique analytique pour la détermination des constituants des huiles essentielles. Un rapport GC-MS est l'empreinte digitale de chaque lot particulier d'huile essentielle. Les propriétés uniques des huiles peuvent être déduites de leur composition chimique, et la GC-MS est capable d'indiquer la pureté des huiles essentielles dans la plupart des cas (**Aziz et al., 2018**). Les composants des huiles essentielles sont décrits ci-dessous :

- **Composés terpéniques**

Les terpènes et les terpénoïdes sont une classe de métabolites secondaires qui proviennent d'unités d'isoprène composées de cinq atomes de carbone, qui peuvent être combinées de différentes manières. Ils sont responsables de la fragrance, du goût et des pigments des plantes, et représentent les principaux composants des huiles essentielles. L'isoprène (C₅H₈) (Figure n°1) constitue une unité fondamentale pour de nombreux terpènes et autres hydrocarbures que l'on trouve dans les huiles essentielles. Les terpènes sont essentiellement des hydrocarbures, tandis que les terpénoïdes (également appelés isoprénoïdes) sont des terpènes modifiés biochimiquement avec des molécules d'oxygène ajoutées ou des

groupes méthyle enlevés ou déplacés. Les principales classes de terpènes présentes dans les huiles essentielles sont les monoterpènes et les sesquiterpènes. Les monoterpènes sont les plus abondants, représentant environ 90 % de la composition des huiles essentielles (Bakkali *et al.*, 2008a; Cox-Georgian *et al.*, 2019; Crozier *et al.*, 2006; Espina *et al.*, 2011; Mosquera *et al.*, 2021).

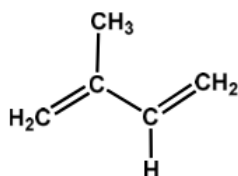


Figure 1 : Structure chimique de l'unité isoprénique C₅H₈ (Crozier *et al.*, 2006).

Les terpènes peuvent être classés en différentes classes en fonction de la quantité d'unités isoprène (n) présentes dans la molécule : hémiterpènes (C₅H₈), monoterpènes (C₁₀H₁₆), sesquiterpènes (C₁₅H₂₄), diterpènes (C₂₀H₃₂), triterpènes (C₃₀H₄₈), tétraterpènes (C₄₀H₆₄), et polyterpènes (C₅H₈)_n (tableau n°1) (Mabou & Nzeuwa Yossa, 2021).

Tableau 1 : Classification des terpènes.

Nombre d'atomes de carbone	Valeur de n	Classe
5	1	Hémiterpènes (C ₅ H ₈)
10	2	Monoterpènes (C ₁₀ H ₁₆)
15	3	Sesquiterpènes (C ₁₅ H ₂₄)
20	4	Diterpènes (C ₂₀ H ₃₂)
25	5	Sesterpènes (C ₃₀ H ₄₈)
30	6	Triterpènes (C ₃₀ H ₄₈)
40	8	Tétraterpènes (C ₄₀ H ₆₄)
>40	>8	Polyterpènes (C ₄₀ H ₆₄) _n

Les différents types de terpènes et de terpénoïdes présents dans les huiles essentielles peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques, tels que le myrcène, l'ocumène, les terpinènes, les phellandrènes, le sabinène, les pinènes, etc (figure n°2). Ils peuvent également être des alcools monocycliques ou bicycliques, des aldéhydes acycliques, des cétones monocycliques ou bicycliques, des esters monocycliques ou bicycliques, des éthers, des phénols ou des peroxydes. Ces différents composés se trouvent dans différentes plantes et peuvent exister sous différentes formes énantiomériques. Par exemple, le (-) linalol se trouve

dans la coriandre tandis que le (+) linalol est présent dans les camphriers. De même, le (+) citronellol est courant dans les huiles essentielles d'eucalyptus citriodora, tandis que la forme (-) est commune aux huiles essentielles de rose et de géranium. Cependant, pour certains composés, une forme racémique est plus fréquente que l'autre, comme le (+) citronellol (Kar *et al.*, 2018).

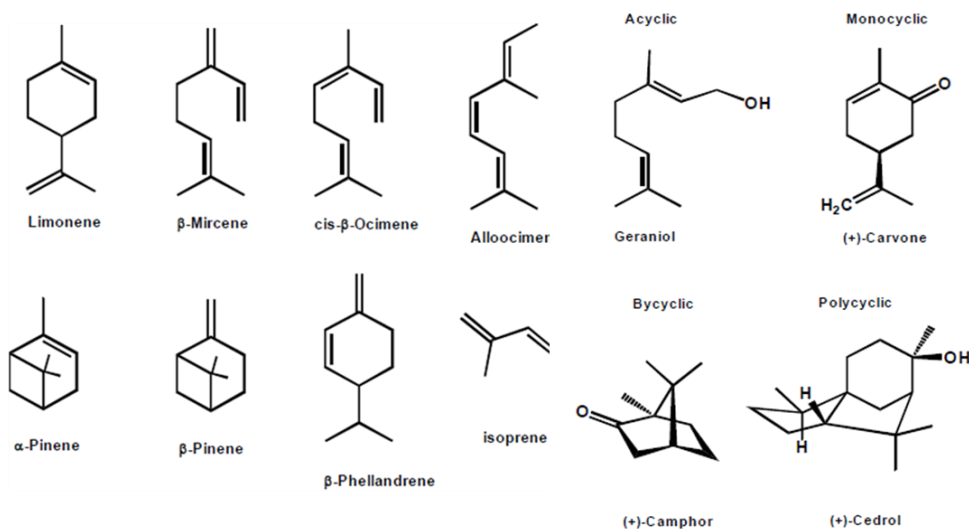


Figure 2: Exemple de structure des terpènes et des terpénoïdes (Mosquera *et al.*, 2021).

- **Composés aromatiques**

Composés aromatiques sont présents dans diverses sources végétales telles que l'anis, la noix de muscade, le clou de girofle, le persil, le fenouil, l'anis étoilé et d'autres groupes botaniques. Bien qu'ils soient moins courants que les terpènes, ils sont utilisés à des fins similaires. Les approches biosynthétiques des terpènes et des dérivés phénylpropaniques sont généralement séparées dans les plantes, mais il peut y avoir des cas où elles coexistent. Les composés aromatiques comprennent des alcools, des aldéhydes, des phénols, des composés méthoxy et des dérivés méthylène dioxy. Ces composés ont diverses applications dans l'industrie, tels que l'alcool cinnamique, le cynamaldéhyde, le chavicol, l'eugénol, le méthyleugénol, l'élémicine, l'estragole, l'anéthole, le safrol, la myristine et l'apiole (figure n°3) (Eslahi *et al.*, 2017).

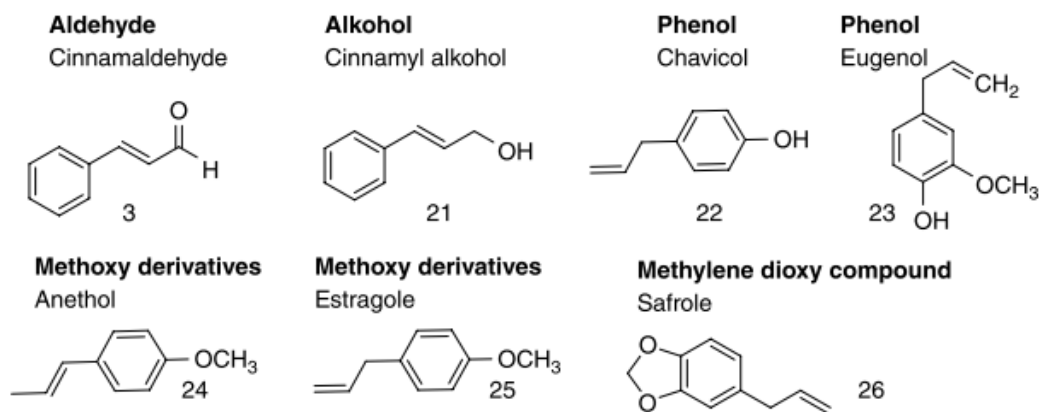


Figure 3 : La structure de certains composés aromatiques.

2.1. 1.2. Rôle écologique et extraction des huiles essentielles

Dans la nature, les huiles essentielles jouent un rôle important dans la protection des plantes contre les bactéries, les virus, les champignons, les insectes et les herbivores. Elles peuvent également attirer certains insectes pour favoriser la dispersion des pollens et des graines. Les huiles essentielles sont extraites de diverses plantes aromatiques, généralement localisées dans des pays tempérés à chauds comme les pays méditerranéens et tropicaux, où elles représentent une part importante de la pharmacopée traditionnelle. Elles sont liquides, volatiles, limpides et rarement colorées, solubles dans les lipides et les solvants organiques avec une densité généralement inférieure à celle de l'eau. Elles peuvent être synthétisées par tous les organes des plantes, c'est-à-dire les bourgeons, les fleurs, les feuilles, les tiges, les rameaux, les graines, les fruits, les racines, le bois ou l'écorce, et sont stockées dans les cellules sécrétoires, les cavités, les canaux, les cellules épidermiques ou les trichomes glandulaires (**Angioni *et al.*, 2006; Masotti *et al.*, 2003**).

2.1. 1.3. Facteurs influençant la variabilité des huiles essentielles

La composition des huiles essentielles présente une grande variabilité, tant qualitative que quantitative. Cette variabilité est influencée par deux principaux types de facteurs : les facteurs intrinsèques, liés à la plante et à son interaction avec l'environnement (type de sol, climat, stade de maturité, constitution génétique, etc.), et les facteurs extrinsèques, associés au procédé d'extraction et aux conditions environnementales. Parmi ces éléments figurent également les variations saisonnières, la partie de la plante utilisée et la localisation géographique (**Dhifi *et al.*, 2016**).

2.1. 1.4. Applications et utilisations des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont été largement employées pour leurs propriétés déjà observées dans la nature, notamment leurs activités antibactériennes, antifongiques et insecticides. Actuellement, environ 3000 huiles essentielles sont connues, dont 300 sont commercialement importantes, notamment pour les industries pharmaceutiques, agronomiques, alimentaires, sanitaires, cosmétiques et de la parfumerie. Les huiles essentielles ou certains de leurs composants sont utilisés dans les parfums et produits de maquillage, les produits sanitaires, en dentisterie, en agriculture, comme conservateurs et additifs alimentaires, et comme remèdes naturels. Par exemple, le d-limonène, l'acétate de géranyle ou le d-carvone sont employés dans les parfums, crèmes, savons, comme additifs aromatiques pour les aliments, comme fragrances pour les produits de nettoyage ménager et comme solvants industriels. De plus, les huiles essentielles sont utilisées en massage, mélangées avec des huiles végétales, ou dans les bains, mais le plus souvent en aromathérapie (**Hajhashemi et al., 2003; Jeane et al., 2003; Perry et al., 2003**).

2.2. Les Composés phénoliques

Les composés phénoliques (ou polyphénols) sont des molécules phytochimiques présentes dans les tissus végétaux tels que les feuilles, les tiges, les racines, les fruits et les graines. Ils sont généralement impliqués dans l'attraction des pollinisateurs, l'exécution de fonctions structurales, la défense contre les rayons ultraviolets (UV) et la protection des plantes contre l'invasion microbienne et les herbivores. Ces métabolites secondaires constituent un groupe vaste et diversifié de plus de 8000 molécules, ce qui complique leur définition simple (**Boudet, 2007; Cutrim et Cortez, 2018; de la Rosa et al., 2019**). Ils sont répartis en une dizaine de classes chimiques, en fonction de leurs caractéristiques structurales, qui présentent toutes un point commun : la présence d'au moins un cycle aromatique à six carbones (benzénique) et un nombre variable de groupes hydroxyles (OH) (**Hennebelle et al., 2004**). La diversité de ces molécules repose sur la complexité du squelette initial, allant des molécules simples comme les acides phénoliques (noyau C6) aux structures plus polymérisées telles que les tanins condensés [(C6-C3-C6) n] et les lignines [(C6-C3) n]. Cette diversité est également influencée par le degré de modification du squelette (méthylation, hydroxylation, oxydation) et la nature des métabolites associés (protéines, lipides, glucides) (**Macheix et al., 2005; Spencer et al., 2008**).

2.2.1. Classification des composés phénoliques

2.2.1.1. Les acides phénoliques

Le terme "acides phénoliques" désigne généralement les composés phénoliques possédant un groupe carboxylique. Les acides phénoliques ou phénolcarboxyliques (un type de phytochimique appelé polyphénol) constituent l'une des principales classes de composés phénoliques des plantes. On les trouve dans divers aliments d'origine végétale, tels que les graines, les peaux de fruits et les feuilles de légumes, où ils sont présents en plus grande concentration. Typiquement, ils se trouvent sous forme liée, comme des amides, esters ou glycosides, et rarement sous forme libre (**Pereira et al., 2009**). Les acides phénoliques sont principalement divisés en deux sous-groupes :

- **Acides hydroxycinnamiques**

Les acides hydroxycinnamiques possèdent une structure commune C6-C3 (figure n°4) et sont dérivés de l'acide cinnamique, sont souvent présents dans les aliments sous forme d'esters simples avec l'acide quinique ou le glucose. L'acide chlorogénique, une forme combinée des acides caféique et quinique, est l'acide hydroxycinnamique soluble le plus abondant. Les quatre acides hydroxycinnamiques les plus courants sont l'acide férulique, l'acide caféique, l'acide p-coumarique et l'acide sinapique.

- **Acides hydroxybenzoïques**

Les acides hydroxybenzoïques possèdent une structure commune C6-C1 et sont dérivés de l'acide benzoïque (figure n°4). On les trouve sous forme soluble et liés aux fractions de la paroi cellulaire comme la lignine. Par rapport aux acides hydroxycinnamiques, les acides hydroxybenzoïques sont généralement présents en faible concentration dans les fruits rouges, les oignons et le radis noir. Les quatre acides hydroxybenzoïques les plus courants sont l'acide p-hydroxybenzoïque, l'acide protocatéchique, l'acide vanillique et l'acide syringique (**Khoddami et al., 2013; Kumar et Goel, 2019**).

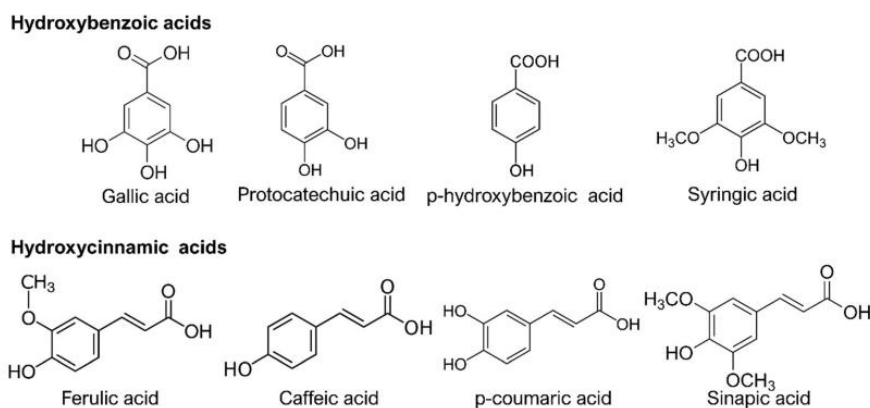


Figure 4: Structure chimique des acides phénoliques simples (da Silva *et al.*, 2023).

2.2.1.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent le groupe le plus important de composés phénoliques et sont caractérisés par un squelette de 15 carbones, disposés en C6-C3-C6 avec différentes substitutions et degrés d'insaturation. Actuellement, il existe environ 6000 flavonoïdes qui contribuent aux pigments colorés des fruits, des herbes, des légumes et des plantes médicinales. Ils sont classés en différentes sous-classes en fonction du carbone du cycle C auquel le cycle B est attaché et du degré d'insaturation et d'oxydation du cycle C (Figure n°5). Les flavonoïdes dont le cycle B est lié en position 3 du cycle C sont appelés isoflavones, ceux liés en position 4 sont appelés néoflavonoïdes, tandis que ceux liés en position 2 peuvent être subdivisés en plusieurs sous-groupes, notamment les flavones, flavonols, flavanones, flavanonols, flavanols (ou catéchines), anthocyanines et chalcones (Bešlo *et al.*, 2023; Lafay et Gil-Izquierdo, 2008; Panche *et al.*, 2016).

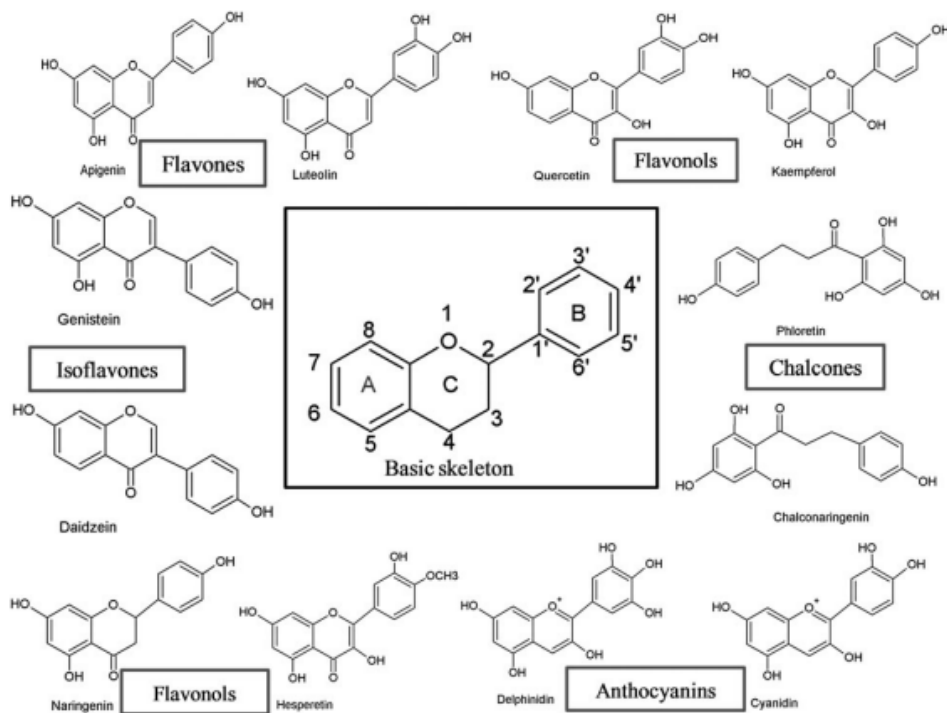


Figure 5: Structure du squelette de base des flavonoïdes et leurs classes (**Panche *et al.*, 2016**).

2.2.1.3. Tanins

Les tanins sont des composés phénoliques de poids moléculaire élevé, variant de 500 Da à plus de 3000 Da, présents dans les feuilles, l'écorce, les fruits, le bois et les racines des plantes, principalement localisés dans les vacuoles des tissus. À l'exception de certaines structures de poids moléculaire plus élevé, les tanins sont solubles dans l'eau (20-35°C). Les composés oligomériques avec des unités structurales multiples et des groupes phénoliques libres peuvent se complexer avec des protéines, de l'amidon, de la cellulose et des minéraux (**Hassanpour *et al.*, 2011**). Il existe deux catégories de tanins distinguées sur la base de leur structure et de leur origine biogénique : les tanins condensés et les tanins hydrolysables.

- **Tanins condensé**

Les tanins condensés (proanthocyanidines), se trouvent dans l'écorce, les racines et les feuilles de la plupart des espèces végétales, ainsi que dans les fruits et les graines. Ils se présentent sous forme de dimères, d'oligomères ou de polymères de flavonoïdes, en particulier les flavan-3-ols (figure n°6).

- **Tanins hydrolysable**

Les tanins hydrolysables ont une distribution taxonomique plus restreinte, se trouvant principalement dans les arbres et les plantes dicotylédones herbacées. Ils sont principalement dérivés d'acides phénoliques, comme l'acide gallique ou l'acide ellagique (figure 6), ce qui permet de les subdiviser en gallotanins ou tanins galliques et en ellagitannins ou tanins ellagiques. Associé au D-glucose, l'acide gallique forme un ester, le pentagalloylglucose, qui est un précurseur des tanins hydrolysables (**Brillouet et al., 2013**).

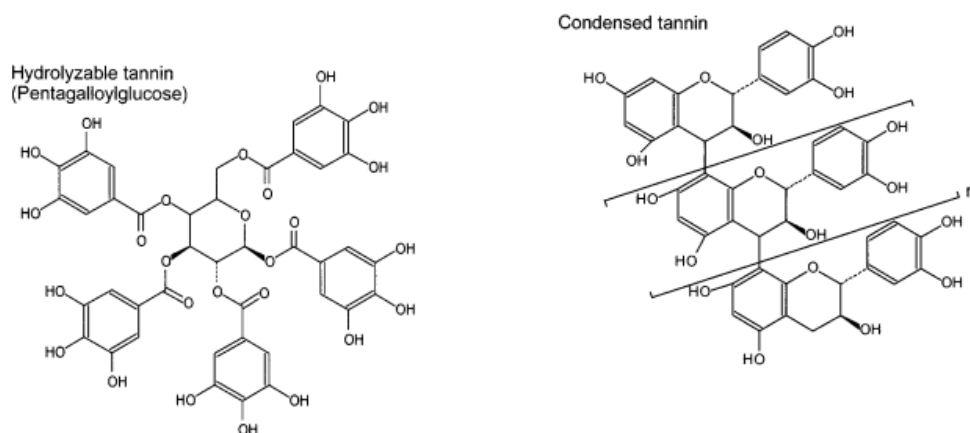


Figure 6 : structures chimiques des tanins condensés et tanins hydrolysable.

2.2.1.4. Lignanes

Les lignanes (C6-C3) n sont des polymères de dimères de phénylpropanoïdes où les unités phénylpropanes sont liées par le carbone huit. Elles jouent un rôle dans les mécanismes de défense des plantes et peuvent protéger contre le développement de certains cancers hormono-dépendants chez les mammifères (**Lamblin et al., 2008**).

2.2.1.5. Stilbènes

Les stilbènes sont une classe de métabolites secondaires phénoliques de structure chimique C6-C2-C6, phénoliques dérivés des plantes caractérisés par la présence d'un noyau 1,2-diphényléthylène. Ils présentent un grand intérêt en raison de leurs propriétés curatives, et de leur rôle important dans la protection des plantes contre les ravageurs et les agents pathogènes. Le resvératrol et ses dérivés, tels que le pterostilbene, l'oxyresveratrol ou les viniferins, sont les stilbènes les plus connus en raison de leurs nombreuses activités biologiques et médicales puissantes (**Dubrovina et Kiselev, 2017; Richard et al., 2014**).

2.3. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés hétérocycliques contenant de l'azote, Principalement dérivés des plantes. Ils représentent l'un des types de produits naturels les plus importants en raison de leur grand nombre ainsi que de leur diversité et complexité structurales. En fonction de leur structure chimique de base, les alcaloïdes sont classés en isoquinoléines, quinoléines, indoles, alcaloïdes pipéridiniques, etc (**Yan et al., 2021**). Ils peuvent être classés selon leur structure chimique, leur activité biologique, la voie de leur biosynthèse et leur occurrence en alcaloïdes hétérocycliques et non hétérocycliques. Ces derniers sont parfois appelés protoalcaloïdes ou amines biologiques (**Kukula-Koch et Widelski, 2017**).

Les alcaloïdes présentent une gamme variée d'effets pharmacologiques, incluant des activités anticancéreuses, antivirales, anti-inflammatoires et antibactériennes. En raison de cette diversité d'activités pharmacologiques, plusieurs médicaments à base d'alcaloïdes ont été développés, tels que la morphine, utilisée comme analgésique narcotique, la codéine, employée dans les traitements contre la toux, la vinblastine, un médicament anticancéreux, et le chlorhydrate de berbérine, un agent antibactérien. Ces médicaments sont largement utilisés en pratique clinique (**Yan et al., 2021**).

Chapitre II

**Activités biologiques des plantes
médicinales**

1. Activité antimicrobienne

1. 1. Infections nosocomiales

Les infections nosocomiales représentent un enjeu majeur pour la sécurité sanitaire à l'échelle mondiale, affectant à la fois les patients et les professionnels de santé. Aussi appelées infections associées aux soins de santé (IAS), elles se développent au cours du processus de soins médicaux et ne sont pas présentes au moment de l'admission du patient. Ces infections, qui ne sont ni ne présentes ni en incubation à l'admission, apparaissent généralement 48 heures après l'hospitalisation. Elles peuvent survenir dans divers contextes de soins, tels que les hôpitaux, les établissements de soins prolongés ou les structures de soins ambulatoires. Bien qu'elles ne soient pas liées à la pathologie principale ayant motivé l'admission, elles peuvent se manifester même après la sortie du patient de l'hôpital. Les IAS comprennent également les infections professionnelles, pouvant affecter le personnel soignant (**Chkhaidze et al., 2024; Sharma et Shabir, 2017**).

1. 1.1. Les types des infections nosocomiales

Selon le Réseau national de sécurité des soins de santé du Centre pour le Contrôle et la Prévention des Maladies (CDC), les infections nosocomiales sont classées en 13 catégories en fonction du site d'infection, sur la base de critères cliniques et biologiques précis (**Nimer, 2022**). Parmi les infections nosocomiales les plus courantes figurent les infections du site chirurgical, les infections respiratoires, les infections sanguines, les infections fongiques nosocomiales, les infections urinaires, les infections du système nerveux central, ainsi que la pneumonie nosocomiale, incluant les pneumonies bactériennes et virales, la tuberculose à *Mycobacterium tuberculosis*, et l'aspergillose pulmonaire associée à la légionellose (**Nimer, 2022**).

1.1.2. Les pathogènes responsables des infections nosocomiales

Les infections nosocomiales sont généralement causées par des bactéries, des champignons, des virus et des parasites.

1.1.2.1. Les bactéries

Les infections nosocomiales sont principalement causées par des bactéries, qui représentent les agents pathogènes les plus fréquents. Certaines d'entre elles font partie de la flore naturelle du patient et ne provoquent une infection qu'en cas d'affaiblissement de son

système immunitaire. Parmi les bactéries responsables, *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) se transmet par contact direct, par des plaies ouvertes ou par des mains contaminées. En outre, les entérocoques résistants à la vancomycine (ERV) et les bactéries multirésistantes à Gram négatif, telles que *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* et *Acinetobacter baumannii*, représentent des menaces majeures pour les établissements de santé (**Khan et al., 2017**; **Krzowska-Firych et al., 2014**).

1.1.2.2. Les virus

Les virus représentent également une cause majeure d'infections nosocomiales. D'après les données de surveillance, environ 5 % de ces infections sont dues à des virus (**Aitken et Jeffries, 2001**; **Martinez et Pumarola, 2013**). Ils se transmettent principalement par contact main-bouche, par voie respiratoire ou fécale-orale (**Ducel, 2002**). Parmi les maladies virales, l'hépatite, qui est chronique, est particulièrement préoccupante. Dans les milieux de soins de santé, les virus de l'hépatite peuvent être transmis aussi bien aux patients qu'au personnel médical. Les hépatites B et C se propagent fréquemment à la suite de pratiques d'injection non sécurisées (**Riaz et al., 2022**). D'autres virus impliqués incluent la grippe, le VIH, le rotavirus et le virus de l'herpès simplex (**Ducel, 2002**).

1.1.2.3. Les parasites fongiques

Les parasites fongiques agissent en tant que pathogènes opportunistes, provoquant des infections nosocomiales principalement chez les patients immunodéprimés. *Aspergillus* spp. Peut être responsable de ces infections par contamination de l'environnement. *Candida albicans* et *Cryptococcus neoformans* sont également des agents pathogènes courants pendant l'hospitalisation. Les infections à *Candida* proviennent de la flore microbienne endogène du patient, tandis que les infections à *Aspergillus* sont généralement dues à l'inhalation de spores fongiques présentes dans l'air contaminé (**Khan et al., 2017**).

1.1.3. Antibiorésistance des bactéries

La résistance aux antibiotiques (RAM) représente une menace majeure pour la santé mondiale, car elle réduit l'efficacité des traitements contre les infections bactériennes. Ce phénomène résulte principalement de la surconsommation et de l'utilisation inappropriée des antibiotiques en médecine humaine, en agriculture et en élevage, favorisant l'apparition de souches bactériennes résistantes (**Azad, 2024**; **Kaur et al., 2024**).

1.1.3.1. Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques, caractérisés par des mécanismes d'action variés, ciblent des processus essentiels à la survie des bactéries. Ils peuvent perturber la synthèse du peptidoglycane, et par conséquent la formation de la paroi cellulaire, comme c'est le cas des β -lactamines, des glycopeptides et de la fosfomycine, qui bloquent différentes étapes de ce processus. Certaines molécules, telles que les polymyxines, désorganisent les membranes bactériennes.

D'autres antibiotiques, comme les macrolides, les aminosides, les phénicolés, les tétracyclines, les lincosamides et les streptogramines, ciblent la synthèse des protéines en se fixant sur le ribosome bactérien, inhibant ainsi diverses étapes de ce processus. La synthèse des acides nucléiques (ADN et ARN) peut également être altérée par des antibiotiques tels que les quinolones, les rifamycines et les nitroimidazoles. Enfin, certains antibiotiques, comme les sulfamides et le triméthoprime, agissent en perturbant le métabolisme intermédiaire des bactéries (Allison et Lambert, 2024; Baran *et al.*, 2023; Keller et Dörr, 2023).

1.1.3.2. Les mécanismes de résistance aux antibiotique

La résistance bactérienne aux antibiotiques se divise en deux grandes catégories : la résistance intrinsèque (innée) et la résistance acquise. La résistance intrinsèque est une caractéristique inhérente à une espèce bactérienne particulière et dépend de ses propriétés biologiques. Par exemple, *Escherichia coli* présente une résistance intrinsèque à la vancomycine en raison de la structure de sa membrane externe. En revanche, la résistance acquise résulte de mécanismes évolutifs qui permettent à une bactérie initialement sensible de devenir résistante. Ces mécanismes incluent : l'acquisition de gènes de résistance par transfert horizontal, des mutations dans l'ADN chromosomique, une combinaison des deux processus. En outre, les gènes régulateurs impliqués dans la multi-résistance et la formation de biofilms bactériens jouent un rôle central dans le développement de la résistance antibactérienne (Khameneh *et al.*, 2016). Parmi les exemples de résistance bactérienne (figure 7), on trouve : l'activation des pompes d'efflux des antibiotiques, qui éliminent activement les antibiotiques des cellules bactériennes (comme dans le cas de la résistance aux fluoroquinolones et au triméthoprime chez *Pseudomonas aeruginosa*). L'inactivation des enzymes de dégradation des antibiotiques, responsables de la destruction des antibiotiques (par exemple, les β -lactamases dans les *Enterobacteriaceae*). L'activation des enzymes modifiant la structure des antibiotiques, ce qui altère leur efficacité (telles que les résistances au chloramphénicol ou à la fosfomycine

dans *P. aeruginosa*). Enfin, la réduction de la perméabilité des antibiotiques, par une diminution de la perméabilité de la paroi cellulaire bactérienne (comme observé dans la résistance aux carbapénèmes chez *Serratia marcescens*) (**Khameneh et al., 2016**).

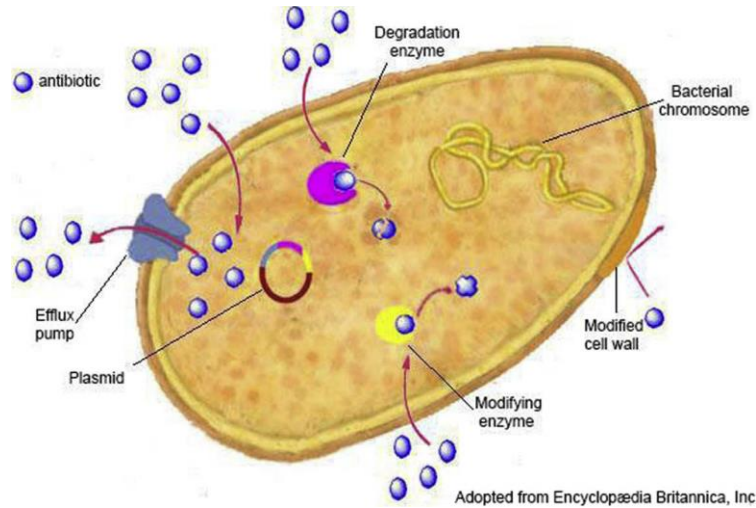


Figure 7 : Les mécanismes de résistance multiple aux antibiotiques chez les bactéries (**Khameneh et al., 2016**).

1.2. Activité antimicrobienne des composés phytochimiques

1.2.1. Activité antimicrobienne des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont reconnues pour leurs puissantes propriétés médicinales, notamment leurs actions bactéricides, virucides et fongicides, qui leur confèrent une efficacité notable contre un large éventail de micro-organismes pathogènes (**Akthar et al., 2014**).

1.2.1.1. Mécanisme d'action des huiles essentielles contre les micro-organismes pathogènes

1.2.1.1.1 Activité antibactérienne

Les huiles essentielles peuvent montrer à la fois un effet bactériostatique et bactéricide de diverses manières. L'activité antimicrobienne des HE dépend de la quantité et de la qualité des constituants chimiques présents (**Mittal et al., 2018**). L'interaction entre la lipophilicité et l'hydrophobicité des huiles essentielles et la membrane cellulaire bactérienne permet leur perméabilité et leur pénétration à travers cette membrane (**Benchaar et al., 2008**). D'après **Tariq et al., (2019)**, la perturbation de l'organisation et des fonctions cellulaires de la paroi bactérienne constitue un mécanisme central de l'activité antibactérienne des huiles essentielles

(Figure 8). Les membranes externe et interne des bactéries sont endommagées, entraînant l'inhibition du quorum sensing, la perturbation des voies métaboliques, l'inhibition des enzymes de l'ATP synthase, la dénaturation des protéines membranaires, ainsi que l'échappement des composants cellulaires, ce qui conduit finalement à la mort des cellules (Lopez-Romero *et al.*, 2015; Mittal *et al.*, 2018; Yang *et al.*, 2018). Par ailleurs, les huiles essentielles déstabilisent l'organisation structurale de la cellule bactérienne, provoquant un désordre des bicouches phospholipidiques, des polysaccharides, des acides gras et des structures protéiques (Akthar *et al.*, 2014). Ce processus endommage également l'ADN, probablement en raison de ruptures dans la séquence des acides aminés des protéines bactériennes, entraînant une déformation de la structure de l'ADN.

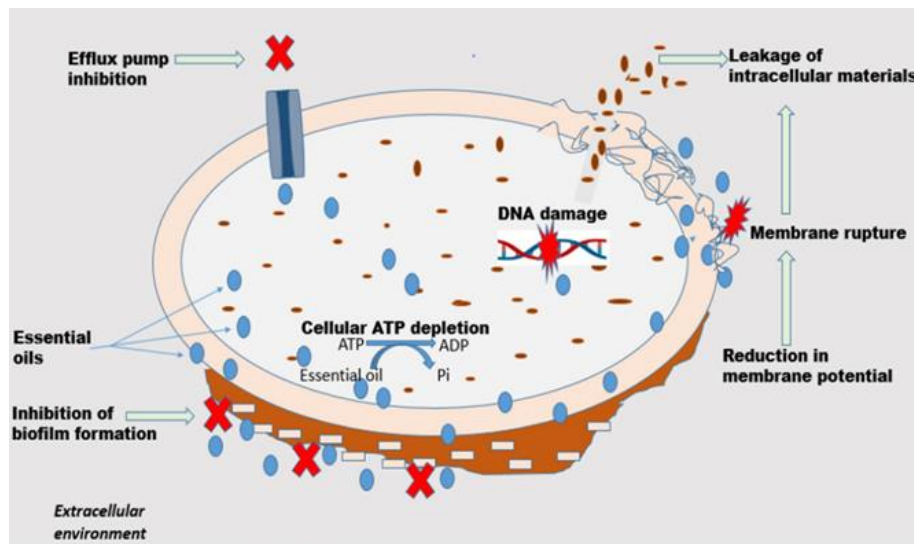


Figure 8 : Mécanisme d'action de l'huile essentielle sur les fonctions de la membrane cellulaire bactérienne (Lawani *et al.*, 2024).

1.2.1.1.2. Activité antivirale

Les huiles essentielles possèdent un fort potentiel en tant qu'agents antiviraux et sont fréquemment utilisées pour traiter diverses infections virales humaines (Koch *et al.*, 2008). L'activité antivirale des huiles essentielles a été évaluée contre une large gamme de virus à ARN et à ADN, qu'ils soient enveloppés ou non. Parmi les virus testés figurent les virus de l'herpès simplex de type 1 et 2, le virus de la dengue de type 2 et le virus de la grippe. De plus, les huiles essentielles d'origan et de clou de girofle ont montré une activité contre des virus non enveloppés tels que l'adénovirus de type 3, le poliovirus et le coxsackie virus B1 (Wagstaff *et al.*, 1994). Allahverdiyev *et al.*, (2004) ont démontré que les huiles essentielles de *Melissa*

officinalis inhibaient la réplication du HSV-2, principalement en raison de la présence de composés actifs tels que le citral et le citronellal. Par ailleurs, une étude menée par **Sinico et al., (2005)** a révélé que les huiles essentielles extraites de *Artemisia arborescens* entraînaient une inhibition significative du virus de l'herpès simplex de type 1.

1.2.1.1.3. Activité antifongique

Les huiles essentielles possèdent la capacité de pénétrer et de perturber la paroi cellulaire des champignons ainsi que leurs membranes cytoplasmiques, les rendant perméables, ce qui conduit finalement à l'altération des membranes mitochondriales. Les modifications du flux d'électrons à travers le système de transport d'électrons des mitochondries endommagent les lipides, les protéines et les acides nucléiques des cellules fongiques (**Arnal-Schnebelen et al., 2004**). De plus, les huiles essentielles peuvent perturber la dépolarisation des membranes mitochondriales, réduisant ainsi le potentiel membranaire, affectant les canaux ioniques comme ceux du Ca²⁺, modifiant le pH et altérant la pompe à protons ainsi que le pool d'ATP. Ce changement de fluidité membranaire entraîne la fuite de radicaux, de cytochrome C, d'ions calcium et de protéines. En conséquence, la perméabilisation des membranes mitochondriales internes et externes conduit à la mort cellulaire par apoptose et nécrose (**Yoon et al., 2000**).

1.2.2. Activité antimicrobienne des polyphénols

L'activité antimicrobienne des polyphénols présents dans les aliments végétaux et les plantes médicinales a été largement explorée contre divers microorganismes. Parmi ces polyphénols, les flavan-3-ols, flavonols et tanins ont suscité un intérêt particulier en raison de leur large spectre d'action et de leur efficacité antimicrobienne supérieure par rapport à d'autres polyphénols. De plus, la majorité d'entre eux sont capables de supprimer plusieurs facteurs de virulence microbienne, tels que l'inhibition de la formation de biofilm, la réduction de l'adhésion des ligands de l'hôte et la neutralisation des toxines bactériennes, tout en montrant une synergie avec les antibiotiques (**Daglia, 2012**).

1.2.2.1. Mécanisme d'action des polyphénols contre les micro-organismes pathogènes

L'activité antimicrobienne des polyphénols repose probablement sur plusieurs mécanismes, dont l'augmentation de leur caractère lipophile, ce qui favorise leurs interactions avec les membranes cellulaires et entraîne des dommages irréversibles affectant à la fois la membrane et les enzymes intracellulaires (**Bouarab Chibane et al., 2019**). De plus, des études

ont montré que cette activité est liée à la présence et à la position d'un groupe hydroxyle libre attaché à un cycle aromatique, ce qui facilite la délocalisation des électrons et modifie l'intégrité des membranes des cellules microbiennes. Ce groupe hydroxyle joue également un rôle crucial dans l'inactivation d'enzymes microbiennes telles que l'ATPase, l'histidine décarboxylase, l'amylase et la protéase ; l'inhibition de l'ATPase perturbe la respiration cellulaire, provoquant ainsi la lyse cellulaire (Aguilar-Veloz *et al.*, 2020; J. Rao *et al.*, 2019). Par exemple, il a été démontré que la quercétine, un polyphénol majeur du vin, inhibe l'ADN gyrase d'*E. coli*, augmente la perméabilité membranaire et réduit son potentiel, entravant ainsi la synthèse d'ATP dans cette bactérie (Gutiérrez-del-Río *et al.*, 2018). Les polyphénols peuvent aussi interférer avec la synthèse des acides aminés essentiels en modulant des réactions clés comme celles du phosphoenolpyruvate, de l'erythrose-4-phosphate et de l'acide shikimique. Cette interférence favorise la production de tryptophane tout en diminuant celle de la phénylalanine et de la tyrosine, modifiant ainsi la structure de protéines cruciales pour la formation de l'appressorium fongique. Par ailleurs, les tanins bloquent l'activité de la catalase, provoquant des effets létaux sur certains pathogènes. Ils inhibent également les enzymes impliquées dans la synthèse de l'ergostérol, le principal composant de la membrane fongique, réduisant ainsi sa concentration intracellulaire (Campoy et Adrio, 2017; Pagnussatt *et al.*, 2013).

2. Activité antioxydante

2.1. Les espèces réactives de l'oxygène et leurs impacts sur les fonctions cellulaires

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont des molécules hautement réactives produites au cours du métabolisme de l'oxygène. Elles comprennent les formes réduites de l'oxygène ainsi que leurs produits de réaction avec d'autres molécules et se divisent en radicaux libres et composés non radicaux (Nunes-Silva et Freitas-Lima, 2015). Les ROS sont généralement très réactives en raison de l'électron non apparié présent dans leur couche externe, et leur durée de vie est de l'ordre de la milliseconde (Wang, 2016). Parmi les ROS les plus connus figurent l'anion superoxyde ($\bullet\text{O}_2^-$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et les radicaux hydroxyles ($\bullet\text{OH}$). Les espèces réactives de l'azote (RNS) constituent une sous-catégorie des ROS, caractérisée par la présence de composés azotés (Doshi *et al.*, 2012). À des concentrations physiologiques, les ROS et les RNS jouent un rôle essentiel dans les fonctions cellulaires normales, notamment en participant à la défense contre les infections, à la régulation de divers processus de signalisation intercellulaire et à la facilitation de la maturation et de la fécondation dans les systèmes reproductifs (Dutta *et al.*, 2024; Shlapakova *et al.*, 2020; Zarkovic,

2020). Cependant, lorsque les ROS sont produits en excès, dépassant les capacités du système de défense antioxydant, ils provoquent un stress oxydatif. Ce déséquilibre peut entraîner un dysfonctionnement cellulaire en induisant la peroxydation des lipides, ainsi que des dommages aux protéines et à l'ADN. En raison de ces effets délétères, le stress oxydatif est associé à de nombreuses pathologies telles que le SIDA, le vieillissement, l'arthrite, l'asthme, les maladies auto-immunes, la cancérogenèse, les dysfonctionnements cardiovasculaires, la cataracte, le diabète, la maladie d'Alzheimer, les maladies neurodégénératives et la démence de Parkinson (Afzal *et al.*, 2023; Jomova *et al.*, 2024; Sindhi *et al.*, 2013; Yiran *et al.*, 2024).

2.1.1. Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des molécules caractérisées par la présence d'au moins un électron de valence non apparié, ce qui les rend extrêmement réactives et généralement instables. Parmi tous les radicaux libres, le radical hydroxyle ($\bullet\text{OH}$) et l'anion superoxyde ($\bullet\text{O}_2^-$) sont les exemples les plus connus. Ces deux radicaux, issus de l'oxygène moléculaire sous des conditions réductrices. Cependant, en raison de leur forte réactivité, les radicaux libres peuvent causer des dommages aux fonctions cellulaires normales lorsqu'ils sont présents en concentrations élevées (Nunes-Silva et Freitas-Lima, 2015). D'autres exemples notables de radicaux libres incluent le monoxyde d'azote ($\bullet\text{NO}$), le peroxyde lipidique ($\bullet\text{LOO}^\cdot$) et le radical thiyle ($\bullet\text{RS}$) (Agarwal *et al.*, 2014).

2. 1.1.1. Radical hydroxyle ($\bullet\text{OH}$)

La formation du radical hydroxyle ($\bullet\text{OH}$) résulte principalement de la réaction de Fenton, qui se produit lorsque le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) interagit avec des métaux de transition réduits comme le fer ou le cuivre. De plus, l'exposition des molécules d'eau aux radiations ionisantes peut également générer des radicaux hydroxyles (Attaran *et al.*, 2000; Aziz *et al.*, 2004; Nunes-Silva et Freitas-Lima, 2015; Zhao, 2023).

2.1.1.2. Anion superoxyde (O_2^\cdot)

L'anion superoxyde (O_2^\cdot) se forme lors de la réduction univalente de l'oxygène. Ce processus peut avoir lieu au sein de la chaîne de transport des électrons mitochondriale (ETC) où une fuite d'électrons lors des réactions d'oxydoréduction entraîne sa production sans nécessiter d'activité enzymatique, grâce à des intermédiaires réactifs d'oxydoréduction tels que le semi-ubiquinone (figure n°9). De plus, des enzymes telles que les NADPH oxydases et la

xanthine oxydase (XO) peuvent également catalyser cette réaction (Ferree et Shirihai, 2012; Jarmuszkiewicz *et al.*, 2023; Valdez *et al.*, 2000).

Les neutrophiles et les macrophages libèrent souvent de grandes quantités d'anions superoxydes sous l'effet des différentes isoformes de la NADPH oxydase. Ces anions peuvent ensuite être transformés en espèces non radicalaires, telles que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et l'oxygène singulet (1O_2), soit par des mécanismes enzymatiques impliquant des enzymes comme la superoxyde dismutase (SOD), soit par des voies non enzymatiques (Canton *et al.*, 2021; Fang *et al.*, 2022).

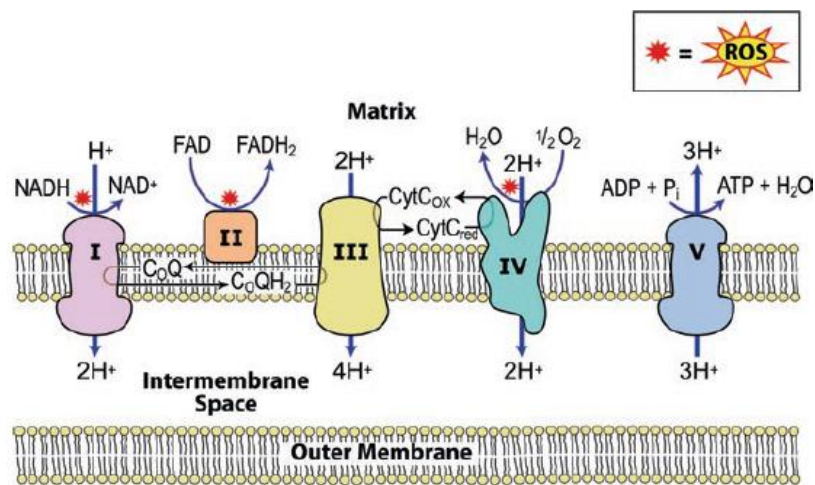


Figure 9: Génération de ROS via la chaîne de transport des électrons (Ahmad *et al.*, 2017).

2.2. Les antioxydants

Le terme « antioxydant » désigne de manière générale toute substance présente à faible concentration, capable de retarder, prévenir ou inhiber de façon significative les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme. Les antioxydants agissent en réduisant ou dismutant ces espèces, en les capturant pour former des composés stables, en séquestrant le fer libre ou en favorisant la production de glutathion. Dans des conditions normales, un équilibre existe entre les activités physiologiques et les niveaux intracellulaires de ces antioxydants. Ils peuvent être classés en deux grandes catégories (Favier, 2003; Halliwell et Gutteridge, 2015; Sindhi *et al.*, 2013; Jomova *et al.*, 2024) :

2.2.1. Les antioxydants enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques sont des composants essentiels du système de défense de l'organisme contre le stress oxydatif en neutralisant les espèces réactives de l'oxygène. Les principaux antioxydants enzymatiques la glutathion peroxydase (GPX), la superoxyde

dismutase (SOD) et la catalase (CAT). Ces enzymes agissent de manière synergique pour neutraliser les radicaux libres et protéger les cellules des dommages oxydatifs (**He et al., 2017; Jeeva et al., 2015; Jomova et al., 2024; Rajput et al., 2021**).

2.2.2. Les antioxydants non enzymatiques

Les antioxydants non enzymatiques se classent en deux grandes catégories : les antioxydants endogènes, synthétisés par l'organisme, et les antioxydants exogènes, fournis par l'alimentation.

2.2.2.1. Systèmes antioxydants endogènes

Le glutathion (GSH) est l'un des antioxydants les plus importants. En plus de jouer un rôle de cofacteur pour diverses enzymes de détoxification impliquées dans la lutte contre le stress oxydatif, comme les glutathion peroxydases (GPx) et la glutathion transférase, le GSH contribue au transport des acides aminés à travers la membrane plasmique. Il est également capable de restaurer l'activité des principaux antioxydants, les vitamines C et E, en les régénérant sous leurs formes actives. Le glutathion peut réduire directement le radical tocophérol de la vitamine E ou intervenir indirectement en transformant le semi-déhydroascorbate en ascorbate (**Averill-Bates, 2023; Masella et al., 2005**). Un autre antioxydant notable est l'ubiquinone (coenzyme Q10), reconnue pour sa capacité à neutraliser l'anion superoxyde au niveau des membranes cellulaires. Par ailleurs, d'autres antioxydants endogènes non enzymatiques, tels que l'acide lipoïque, l'acide urique, la bilirubine, la mélanine, la mélatonine et certaines hormones sexuelles comme les œstrogènes, jouent également un rôle essentiel dans la défense contre les radicaux libres (**Rudenko et al., 2023; Sharma et al., 2012**).

2.2.2.2. Systèmes antioxydants exogènes

Ces systèmes incluent principalement la vitamine C, la vitamine E, ainsi que les caroténoïdes, en particulier le bêta-carotène. Leur action repose sur la capture des radicaux libres, en neutralisant l'électron non apparié pour les convertir en molécules ou ions stables. Par ailleurs, la vitamine C, en synergie avec la vitamine E, contribue à régénérer la forme réduite de l' α -tocophérol grâce à une réaction de transfert d'hydrogène. Lors de ce processus, la molécule antioxydante qui piège le radical devient elle-même un radical, mais elle peut être soit éliminée, soit restaurée par un autre mécanisme antioxydant.

En outre, divers composés d'origine végétale, issus de plantes médicinales et appartenant à des familles variées, tels que les polyphénols, les alcaloïdes, les huiles essentielles et les flavonoïdes, jouent également un rôle similaire en tant que piègeurs de radicaux libres (**Favier, 2003; Moussa et al., 2020; Pincemail et al., 2002**)

2.2.2.2.1. Propriétés antioxydante des polyphénols

L'activité antioxydante des polyphénols est étroitement liée à leur structure chimique, avec une corrélation marquée entre celle-ci et l'arrangement spatial des substituants. La position des groupes fonctionnels ainsi que le degré d'hydroxylation influencent significativement cette propriété (**González et al., 2020; Heim et al., 2002**). En raison de leur diversité structurale, les polyphénols se distinguent par leur efficacité en tant qu'antioxydants (**Boussena et al., 2022**). Ils interviennent via plusieurs mécanismes au cours des réactions radicalaires, notamment en neutralisant les radicaux libres, en complexant les ions métalliques de transition, en inhibant les enzymes responsables de la génération d'espèces réactives de l'oxygène, en stimulant les enzymes antioxydantes endogènes et en prévenant la peroxydation lipidique (**Dini et Grumetto, 2022; Szymanowska et Baraniak, 2019**).

- **Chélation des ions métalliques**

Les polyphénols jouent un rôle essentiel dans l'inhibition de la formation des radicaux libres et dans l'arrêt de leurs réactions de propagation, notamment par leur capacité à complexer les ions métalliques de transition, tels que le fer (Fe^{2+}) et le cuivre (Cu^{2+}) (**Nowak et al., 2022**).

- **Piégeage des espèces réactives de l'oxygène**

Les polyphénols sont de puissants antioxydants capables non seulement de neutraliser les radicaux libres, mais aussi de limiter leur formation. Ils réduisent ainsi le taux d'oxydation en inhibant la production ou en désactivant les espèces actives et les précurseurs de radicaux libres. Leur mécanisme d'action le plus courant consiste à agir comme des piègeurs directs dans les réactions en chaîne de peroxydation lipidique. En cédant un électron aux radicaux libres, les polyphénols les neutralisent grâce à leur pouvoir réducteur, tout en se transformant eux-mêmes en radicaux stables, moins réactifs, ce qui interrompt les réactions en chaîne (**González et al., 2020**).

3. Activité anti-inflammatoire

L'inflammation est une réponse cellulaire et humorale du système immunitaire, dans laquelle le corps essaye de restaurer le tissu à son état initial avant la lésion et lutter contre les agents pathogènes (Ashley *et al.*, 2012). L'inflammation, lorsqu'elle est régulée de manière adéquate, peut s'adapter aux besoins de l'organisme. Cependant, quelquefois, la réaction inflammatoire s'exagère et persiste sur une longue période, elle peut provoquer des effets délétères, mais cela pour préserver l'intégrité de l'organisme (Medzhitov, 2008).

Une réponse inflammatoire bien contrôlée est généralement bénéfique en offrant une protection contre les infections, mais elle peut devenir nuisible si elle devient dérégulée ou insuffisante, entraînant des dommages irréversibles. Cela augmente ainsi la morbidité et la mortalité dans des pathologies telles que la goutte, l'arthrite rhumatoïde, la maladie de Crohn ou le diabète de type 2 (Furie, 2014). Une mauvaise régulation de l'inflammation entraîne une diffusion de ce dernier à travers le corps via la circulation sanguine, provoquant des lésions tissulaires irréversibles, locales ou généralisées, telles que le choc septique, et même le décès (Barton, 2012; Nathan, 2006). C'est ce qu'on appelle l'inflammation chronique qui n'est pas seulement causé par les infections ou les blessures mais aussi par le dysfonctionnement tissulaire qui n'est pas lié ni à la défense contre un pathogène, ni à la réparation tissulaire (Medzhitov, 2008). En outre, l'inflammation peut être causé par les infections (bactériennes, virales ou parasitaires), un traumatisme ou effet d'un agent chimique (toxines, acides, venins) (Silbemagi et Lang, 2000), d'ailleurs la réponse immunitaire en cas d'inflammation fait intervenir l'immunité innée et l'immunité adaptative qui possèdent des récepteurs peuvent détecter les infections et les blessure et déclencher une réponse inflammatoire (Gattorno et Martini, 2016) qui se déroule en quatre étapes : identification des agent nocifs, mobilisation des cellules immunitaires, élimination du pathogènes, remettre l'homéostasie tissulaire (Soehnlein et Lindbom, 2010), si l'un de ces étapes persistent ou n'achèvent pas son but, l'inflammation continue et devienne chronique (Drayton *et al.*, 2006).

3.1. Inflammation aigue

C'est une réaction rapide et immédiate qui se produisent dès les premières heures après la blessure (Serhan *et al.*, 2010) et peut être répartie en trois phases :

3.1.1. Phase vasculaire (réaction vasculo-exsudative)

Cliniquement elle se manifeste par 4 phénomènes typiques, signes cardinaux de Celsius décrites par **Weill et Batteux, (2003)** qui sont le gonflement (Oedème), la douleur, la chaleur et l'érythème. Cette phase a pour but de mobiliser les cellules immunitaires, en faisant modifier la circulation sanguine par :

- Une congestion active : c'est une très courte vasoconstriction suivit par une vasodilatation des artérioles puis des capillaire, incitant, localement, un érythème avec diffusion de chaleur (**Weill et Batteux, 2003**).
- Œdème inflammatoire : du a l'accumulation de l'exsudat (eau et protéines plasmatiques) dans le tissu conjonctif (**Weill et Batteux, 2003**).
- Diapédèse leucocytaire : c'est une migration trans-endothéliale des leucocytes, cela lorsque le débit sanguin se réduit, les leucocytes s'adhèrent à la surface ces cellules endothéliales exprimant les facteurs d'adhésion leucocytaire (capture), se roulent pour renforcer l'adhésion, se glissent à travers le capillaire et migrent vers le site de l'inflammation (**Muller, 2013**).

3.1.2. Phase cellulaire

Les neutrophiles arrivent les premiers dans le site de l'inflammation suivit par les monocytes et les macrophages qui possèdent la capacité de phagocyter l'agent pathogène (**Horvat et al., 2010**).

3.1.3. Phase de réparation

Après la phagocytose, les macrophages secrètent des cytokines qui stimule la cicatrisation tissulaire, réparation de l'endothélium, angiogenèse par les cellules endothéliales, la régénération de tissu et matrice extracellulaire par les fibroblastes (**Horvat et al., 2010**).

3.2. Les cellules de l'inflammation

Plusieurs cellules sont impliquées dans la réponse inflammatoire tell que :

- Les polynucléaires neutrophiles, ce sont eux qui arrivent les première sur site d'inflammation, pour activer les cellules présentatrices d'antigène, module les fonctions des monocytes, des cellules dendritiques et des macrophages (**Sherwood et al., 2004**)

- Les mastocytes jouent un rôle majeur dans l'homéostasie, leur dégranulation libère l'histamine, les cytokines, l'héparine et d'autres médiateurs (**Frenzel & Hermine, 2013**).
- Les monocytes et macrophages activé par la rencontre avec les agents pathogènes, la dégradation tissulaire, les anticorps, la thrombine, la fibrine et les cytokines (**Galask & Larsen, 2012**)
- Les plaquettes sanguines sont majoritairement responsables de l'hémostase, et la réparation tissulaire (**Arman et al., 2015**).
- Les basophiles, ce sont des régulateurs de l'inflammation, car elles secrètent des médiateurs tel que l'histamine, les protéoglycanes intervenant dans l'inflammation chronique (**Voehringer, 2013**).
- Les polynucléaires éosinophiles ce sont des immunomodulateurs, libèrent des effecteurs pour contrôler la fonction des autres cellules immunitaire, maintiennent la réponse inflammatoire, antiviral, intervient aussi dans le renouvellement tissulaire (**Isobe et al., 2012**).
- Les fibroblastes peuvent se différencier en différent type de cellule de tissu conjonctif, intervient dans l'inflammation et la cicatrisation, et le remodelage de la matrice extracellulaire (**Naguib et al., 2014**).
- Les lymphocytes, elles jouent un rôle dans la mémoire immunitaire, secrètent les cytokines pour moduler les fonctions des macrophages (**Chaplin & immunology, 2010**).
- Les cellules endothéliales amplifient la réponse inflammatoire, et permettent le passage des cellules immunitaire vers le site d'inflammation, elles ont aussi u rôle important dans le renouvellement tissulaire (**Mittal et al., 2014**).

3.3. Les médiateurs inflammatoires

Les médiateurs inflammatoires sont libérés en réponse au signaux inflammatoires soit par les cellules immunitaires, les cellules endothéliales, les plaquettes ou les hépatocytes (**Medzhitov, 2008**).

- Les amines vasoactives : ce sont l'histamine et la sérotonine secrétés par les mastocytes et les plaquettes, et qui provoquent la vasodilatation et augmentent la perméabilité vasculaire (**Medzhitov, 2008**).

- Les peptides vasoactifs : comme la thrombine et la plasmine qui induisent la vasodilatation, bradykinine qui stimule la douleur (**Medzhitov, 2008**).
- Les anaphylotoxines : comme le system du complément, ils ont un rôle dans la chimiotaxie leucocytaires, stimule l'agrégation des neutrophiles et des plaquettes (**Peng et al., 2009**).
- Les médiateurs lipidiques : les prostaglandines, les leucotriènes et les thromboxanes, jouent plusieurs rôles dans l'inflammations tel que : la vasodilatation, stimule l'agrégation plaquettaire, chimiotaxie leucocytaire (**Serhan, 2014**).
- Les cytokines et les chimiokine : les cytokines peuvent êtres des pro-inflammatoires comme le TNF α (tumeur necrosis factor) ou des anti-inflammatoires comme l'IL-10 (interleukine 10) secrétés par les macrophages et les mastocytes. Par ailleurs, les chimiokines régulent la migration et la chimiotaxie leucocytaire (**Wieseler-Frank et al., 2004**).
- Les enzymes protéolytiques : comme l'élastase, les cathepsines, les métalloprotéinases matricielles (MMP) interviennent dans le remodelage de la matrice extracellulaire et la cicatrisation du tissu (**Medzhitov, 2008**).

3.4. Thérapeutique inflammatoire

Le traitement des maladies inflammatoires chroniques repose sur deux grandes classes de médicaments : les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS).

3.4.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Les AINS figurent parmi les médicaments les plus couramment utilisés, aussi bien en automédication que sur prescription (**Jouzeau et al., 2004**). Ils inhibent la biosynthèse des prostaglandines en agissant sur l'enzyme cyclooxygénase (COX) (**Ambriz-Pérez et al., 2016**). L'inhibition de ce dernier est à l'origine des effets secondaire nocifs des AINS, tel que les irritations gastriques, les ulcères gastro-intestinaux, et la toxicité rénale (**Sandilands & Bateman, 2016**).

3.4.2. Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)

Les AIS, dérivés du cortisol (glucocorticoïdes), sont des agents anti-inflammatoires et immun modulateurs largement utilisés pour traiter des maladies inflammatoires et auto-immunes (polyarthrite rhumatoïde, maladie intestinale inflammatoire, sclérose en plaques,

psoriasis, etc.), ainsi que dans certains cancers ou pour prévenir le rejet d'organes greffés (Coutinho *et al.*, 2011). Ces glucocorticoïdes inhibent les premières étapes de la réponse inflammatoire, réduisant la vasodilatation, la perméabilité vasculaire et l'émigration des leucocytes vers les sites d'inflammation (Perretti & Ahluwalia, 2000). Leur action repose principalement sur des mécanismes génomiques, en réprimant l'expression de gènes codant pour des cytokines, chimiokines, molécules d'adhésion cellulaire, et enzymes clés impliquées dans l'inflammation (Coutinho *et al.*, 2011).

3. 4.3. Les anti-inflammatoires naturels

Les processus inflammatoires sont impliqués dans de nombreuses pathologies, et les traitements actuels peuvent parfois être inefficaces ou entraîner des effets secondaires indésirables. Cela justifie la recherche constante de nouvelles substances anti-inflammatoires. Les plantes, premières sources de médicaments dans l'histoire de l'humanité, continuent d'enrichir notre arsenal thérapeutique grâce à leurs composés bioactifs, comme la vincristine, la galantamine et l'artémisinine (Fürst & Zündorf, 2014). Les composés phénoliques, issus du métabolisme secondaire des plantes, sont structurés autour d'au moins un cycle aromatique avec des groupes hydroxyles attachés, et se divisent en deux catégories principales : les flavonoïdes et les non flavinoïdes. Les flavonoïdes sont caractérisés par deux cycles aromatiques reliés par un hétérocycle oxygéné. Ils comprennent des sous-classes comme les flavonols, flavones, isoflavones, anthocyanes, flavanols et flavanones. En général, les flavonoïdes se présentent sous forme de glycosides dans la nature. Alors que les non-flavonoïdes inclut des composés comme les acides phénoliques (acides benzoïque et cinnamique), les stilbènes, les tanins et les lignines (Tanigawa *et al.*, 2007).

En fait, les composés phénoliques attirent un intérêt croissant en raison de leurs effets bénéfiques sur la santé, incluant une réduction des risques de maladies chroniques telles que le diabète, les maladies cardiovasculaires, les maladies neurodégénératives (Alzheimer, Parkinson) et l'inflammation (Suhaila Mohamed, 2014). Ils ont des propriétés similaires à celles des AINS car ils agissent comme : des capteurs des radicaux libres, inhibiteurs des enzymes impliquées dans le métabolisme de l'acide arachidonique (cyclooxygénase, lipoxygénase, phospholipase A2), des inhibiteurs des médiateurs pro-inflammatoires et modulateurs de facteurs de transcription tels que NF-kB et Nrf2 (Hussain *et al.*, 2016). Des études récentes, sur les fleurs du thé vert, ont montré que des composés comme la quercétine, l'épigallocatechine gallate (EGCG), et les flavines inhibent les enzymes COX-2 et LOX de

manière dose-dépendante, réduisant l'inflammation (**Ichikawa et al., 2004; Santangelo et al., 2007**). Alors que, le polyphénol du cacao notamment les flavonols et catéchines, diminuent l'inflammation via l'inhibition de l'activation des cellules T et la réduction de cytokines inflammatoires telles que l'IL-6 et le TNF- α (**Andújar Pérez et al., 2012**). En plus, l'oleuropéine, l'hydroxytyrosol et le tyrosol, principaux composés phénoliques de l'huile d'olive extra-vierge, inhibent la production d'eicosanoïdes pro-inflammatoires via l'inhibition de COX-2, LOX et PLA2 (**Santangelo et al., 2007**). Néanmoins, la curcumine composant actif du *Curcuma longa*, elle possède des effets anti-inflammatoires puissants. Des études *in vivo* ont démontré qu'elle réduit les marqueurs d'inflammation tels que le TNF- α , la CRP et l'oxydation des LDL tout en améliorant les paramètres métaboliques (**Aggarwal et al., 2009; Nemmar et al., 2012**). Le kaempférol, encore, un flavonoïde présent dans les pommes, le raisin et le chou, réduit l'inflammation en inhibant la production de prostaglandines E2 (PGE2) (**Liu et al., 2014**). Toutes ces études montrent que les composés phénoliques issus des plantes offrent des perspectives prometteuses pour le développement de nouvelles thérapies anti-inflammatoires naturelles. Leur capacité à moduler les enzymes et voies inflammatoires, combinée à leurs effets antioxydants, en fait des agents précieux pour lutter contre les maladies inflammatoires chroniques.

Chapitre III

Les espèces végétales étudiées

1. Présentation de la famille des *Lamiaceae*

La famille des *Lamiaceae* ou *Labiaceae* est une famille botanique caractérisée par sa vaste distribution mondiale. Elle est principalement composée de plantes herbacées et d'arbustes, les arbres étant peu fréquents. Cette famille de plantes angiospermes dicotylédones comprend environ 230 genres et 7100 espèces herbacées, réparties en sept sous-familles (*Lamioideae*, *Ajugoideae*, *Nepetoideae*, *Scutellarioideae*, *Prostantheroideae*, *Viticoideae* et *Symphorematoideae*) et se classe au 13^{ème} rang mondial en termes de variation des espèces et au 3^{ème} rang en termes de distribution, avec une concentration significative dans les régions tempérées et méditerranéennes (**Bendiksby et al., 2011; Findik & Kaya, 2023; Nurtazina et al., 2016; Rahmouni et al., 2021**). La famille des *Lamiaceae* est abondamment présente dans la flore algérienne, avec un total de 183 taxons, dont 19 endémiques. Elle occupe le quatrième rang, précédée par la famille des *Asteraceae* avec 557 taxons, les *Poaceae* avec 456 taxons et les *Fabaceae* avec 455 taxons (**Dobignard et Chatelain, 2012**). Les caractéristiques typiques de cette famille de plantes comprennent une tige quadrangulaire, des feuilles disposées de manière opposée et décussée, ornées de nombreux points glandulaires. Les fleurs présentent un zygomorphisme prononcé, avec deux lèvres bien définies. Un grand nombre de genres au sein de la famille des *Lamiaceae* sont connus pour leur nature aromatique, attribuée aux huiles essentielles, ce qui leur confère une importance économique et thérapeutique. De plus, ces plantes contiennent des composés tels que des phénols, des tanins, des flavonoïdes, des iridoïdes glycosylés, des quinones, des coumarines, des terpènes, des saponines, des pyridines et des alcaloïdes pyrrolidiniques. Les membres de cette famille sont également largement utilisés dans les domaines culinaire, ornemental, pour leurs propriétés antiseptiques et dans le secteur cosmétique. Elle est l'une des familles de plantes les plus largement utilisées au monde, servant de source importante pour les épices et les extraits puissants aux propriétés antimicrobiennes, antifongiques, anti-inflammatoires et antioxydantes. Parmi eux, les plus mentionnés dans la littérature sont : *Salvia*, *Molucella*, *Satureja*, *Mentha*, *Calamintha*, *Origanum*, *Thymus*, *Rosmarinus*, *Ocimum*, *Phlomis* et *Lavandula* (**Ben Amor et al., 2009; Gherman et al., 2000; Naghibi et al., 2022; Nassar et al., 2013**).

La famille des *Lamiaceae* constitue un réservoir important d'huiles essentielles et de composés actifs, utilisés en aromathérapie et en parfumerie. Malgré la prévalence croissante des fragrances synthétiques remplaçant les essences naturelles, la parfumerie de luxe continue d'employer ces plantes en utilisant des méthodes de distillation pour extraire leurs précieuses fragrances, garantissant ainsi la qualité de leurs produits. De plus, l'industrie cosmétique

exploite les propriétés hydratantes et souvent antiseptiques des Lamiaceae pour diverses formulations de soins de la peau (Lahsissene *et al.*, 2009).

1.1. Le genre *Calamintha*

Le genre *Calamintha* Mill. (Connu sous le nom de Calamint) comprend des plantes odorantes appartenant à la famille des Lamiaceae, une famille bien représentée et largement répandue dans toute la région méditerranéenne. Les espèces de *Calamintha* sont des plantes herbacées vivaces de taille moyenne à grande, développant occasionnellement une base ligneuse. Huit espèces distinctes se trouvent en Europe, dans la région méditerranéenne orientale, en Asie centrale, en Afrique du Nord et en Amérique (Alan et Ocak, 2009; Demirci *et al.*, 2011). Avant la révision taxonomique, ce nombre atteignait 30, laissant de nombreux synonymes dans d'autres genres de Lamiaceae, tels qu'*Acinos* Miller, *Clinopodium* L., *Micromeria* Benth et *Satureja* L. Par conséquent, l'utilisation de marqueurs chimiques taxonomiques est cruciale pour mieux distinguer ces genres (Marin *et al.*, 2001).

Le genre est représenté par cinq espèces polymorphes dans la flore européenne : *C. nepeta*, *C. grandiflora* (L.) Moench, *C. sylvatica* Bromf., *C. incana* (Sibth. & Sm.) Boiss et *C. cretica* (L.) Lam., cette dernière étant une espèce endémique trouvée en Crète (Grèce) (Dodoš *et al.*, 2021). Cependant, d'autres auteurs affirment que la Turquie seule abrite neuf espèces et quatre sous-espèces, dont six taxons endémiques, tandis que la région des Balkans compte six espèces extrêmement polymorphes (Tutin *et al.*, 1980; Alan and Ocak, 2009; Alan *et al.*, 2011; Čavar *et al.*, 2013). En particulier, les membres du genre *Calamintha* ont été identifiés pour leurs impacts psychologiques durables, leur atténuation de l'hystérie, leur atténuation de la mélancolie et leur amélioration de l'humeur. De nombreuses espèces sont traditionnellement utilisées pour le traitement de la jaunisse, de la sciatique, de l'inconfort abdominal, des contusions et des coliques. De plus, ils ont été recommandés pour leurs propriétés toniques et calmantes pour les nerfs, ainsi que pour leurs qualités expectorantes dans les traitements contre la toux et le rhume (Debbabi *et al.*, 2020).

1. 1.1. *Calamintha nepeta*

1. 1.1.1. Description botanique

Calamintha nepeta (L.) (syn. *Clinopodium nepeta* (L.) Kuntze) est une herbe dense et rhizomateuse qui ressemble à la menthe commune tant par son apparence que par son parfum distinctif (figure 10)(Ceker *et al.*, 2013; Pacifico *et al.*, 2015) . C'est une plante vivace, qui

peut être faiblement à densément pubescente, atteignant des hauteurs allant jusqu'à 80 cm, avec des feuilles largement ovées, qui peuvent être obtuses, subentières, ou crénelées-serrées de façon peu profonde à profonde, émettant une forte odeur lorsqu'elles sont écrasées. Chaque feuille possède généralement jusqu'à neuf dents de chaque côté. Poussant typiquement dans des terrains rocheux, des prairies sèches et des zones abandonnées, elle forme un feuillage dense. Ses épis axillaires portent de petites fleurs tubulaires à deux lèvres allant du lilas au blanc, chaque groupe contenant de 5 à 20 fleurs. Le calice mesure $3-7 \times 1-2$ mm de diamètre, avec des surfaces de faiblement à densément pubérulentes ou pubescentes, et des poils saillants à l'intérieur de la bouche ; les dents supérieures mesurent 0,5-1,5 mm de long, étroitement ou largement triangulaires, tandis que les dents inférieures mesurent 1-2 mm, généralement pubérulentes, parfois avec quelques longs cils. La corolle mesure entre 10 et 15 mm (**Božović et Ragno, 2017; Tutin et al., 1980**).



Figure 10 : Aspect morphologique de *Calamintha nepeta*.

1.1.1.2. Classification botanique

Selon **Božović et al., (2017)**, *Calamintha nepeta* appartient à la famille des Lamiaceae, et sa classification est la suivante :

Domaine : Eukaryota

Règne : Plantae

Division : Spermatophyta

Subdivision : Magnoliophytina

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Lamiales

Famille : *Lamiaceae*

Genre : *Calamintha*

Espèce : *Calamintha nepeta* L. Savi (syn. *Clinopodium nepeta* (L.) Kuntze)

Noms vernaculaires : Meuta, Nebta, Lesser Catmint, nepitella (**Araniti, Lupini, Mercati, et al., 2013; Kerbouche et al., 2013**).

1.1.1.3. Répartition géographique

Calamintha nepeta est largement distribuée dans la région méditerranéenne. On peut la trouver dans divers pays d'Afrique du Nord, notamment en Algérie, au Maroc et en Tunisie. Elle est également présente dans certaines parties de l'Europe du Sud, de l'Asie occidentale et de l'Asie centrale, notamment en Espagne, en Italie, en Grèce, en Turquie, et dans les régions allant du sud-est de l'Angleterre jusqu'à la Crimée, le Caucase et l'Anatolie occidentale. De plus, elle s'est naturalisée en Amérique du Nord. Elle pousse dans les prairies arides et peut être trouvée aussi bien dans les sols non cultivés que dans les sols calcaires, s'étendant des plaines basses jusqu'aux montagnes élevées (**Chizzola, 2006; Alan and Ocak, 2009; Conforti et al., 2012; Negro et al., 2013; Labiod, 2016; Debbabi et al., 2020; Benfreha et al., 2022; Brahim et al., 2023**).

1.1.1.4. Propriété thérapeutique

Calamintha nepeta est reconnue pour sa riche histoire d'utilisation traditionnelle, étant un aliment de base pour l'aromatisation des aliments et la médecine populaire. Ses applications polyvalentes comprennent les fonctions d'antiseptique, de spasmolytique, de diurétique et d'antitussif, ainsi que le soulagement d'affections telles que la dépression, les crampes, les convulsions, l'insomnie et divers troubles gastro-entérologiques et respiratoires. Traditionnellement prescrite comme stimulant, tonique, antispasmodique, diaphorétique, expectorant et fébrifuge, elle possède un large éventail de propriétés thérapeutiques. En raison de son odeur agréable de menthe et de sa saveur très spécifique, *C. nepeta* a été largement utilisée dans la préparation des aliments et dans les recettes des fêtes religieuses (**Zeynalova, 2018; Debbabi et al., 2020; Demirci et al., 2011; Marongiu et al., 2010; Negro et al., 2013; Stefanaki & van Andel, 2021**).

Les huiles essentielles (HE) extraites de la *Calamintha nepeta*, sont renommées pour leurs activités biologiques attribuées à la présence de composés naturels bioactifs. Il est notable que les facteurs environnementaux influencent considérablement la composition chimique de

ces huiles, entraînant une variation significative entre les échantillons (Božović & Ragno, 2017). Ces HE présentent une faible toxicité (Arantes *et al.*, 2019; Tu *et al.*, 2018), possèdent des propriétés antioxydantes, antiprolifératives, antifongiques, ainsi qu'un large spectre d'activité antibactérienne. Ces caractéristiques polyvalentes suggèrent des applications potentielles dans divers secteurs, notamment la biotechnologie, l'alimentation et les produits pharmaceutiques (Medjdoub *et al.*, 2022; Negro *et al.*, 2013; Queiroga *et al.*, 2018; Riela *et al.*, 2008).

1.2. Le genre *Phlomis*

Le terme "Phlomis" provient du grec "phlox", qui signifie flamme, en référence à l'utilisation des feuilles de ces plantes pour fabriquer des mèches de bougies (Albaladejo *et al.*, 2005; Moench, 1794). Le genre *Phlomis*, qui appartient à la famille des *Lamiaceae*, englobe une variété d'espèces réparties dans différentes régions où elles rencontrent des conditions écologiques et économiques adéquates. Le genre *Phlomis* comprend notamment un total de 100 espèces de plantes herbacées pérennes présentant des taux d'évolution significatifs. Certaines espèces se caractérisent par l'héritabilité de leur ADN chloroplastique. Ces plantes poussent généralement dans des climats xérophiles et arides, préférant les sols acides ou neutres, et sont souvent cultivées comme sources de nourriture pour les larves de séricidés. En outre, elles ont une importance historique et ont été représentées dans diverses représentations artistiques (Baali *et al.*, 2024; Fernández-Calleja *et al.*, 2023; Mahdi *et al.*, 2023; Nematian *et al.*, 2024). En Algérie, il existe quatre espèces de *Phlomis* : *Phlomis herba-venti*, et trois espèces endémiques, à savoir *Phlomis bovei*, *P. caballeroi*, et *P. crinita* (Khitri *et al.*, 2020).

1. 2.1. *Phlomis herba venti*

1. 2.1.1. Description botanique

Phlomis herba-venti est une plante herbacée vivace, atteint une hauteur de 25 à 60 cm (figure 11) (Kirimer *et al.*, 2018). Les feuilles de *Phlomis herba-venti* sont opposées, simples et de forme largement elliptique. Elles présentent une couleur vert grisâtre et sont densément couvertes de poils doux et laineux appelés indumentum. Cet indumentum agit comme une barrière protectrice, aidant la plante à conserver l'eau et à survivre dans les environnements arides. De plus, les feuilles de *Phlomis herba-venti* présentent des nervures profondes et des bords festonnés, ce qui contribue à leur apparence et à leur texture distincte (Gostin, 2023). La composition florale habituelle comprend des fleurs sans pédoncule groupées en verticillastres

axillaires. Le calice est généralement en forme de tube ou de cloche, présentant 5 ou 10 nervures et généralement 5 dents de taille égale. La corolle, à deux lèvres, apparaît généralement dans des tons jaunes, roses ou blancs, la lèvre supérieure étant souvent comprimée latéralement dans le groupe *Phlomis* (Mathiesen *et al.*, 2011).



Figure 11 : Aspect morphologique de *Phlomis herba-venti*.

1.2.1.2. Classification botanique

Phlomis herba-venti appartient à la famille des *Lamiaceae* selon **Foley *et al.*, (2003)**.

Sa classification est la suivante :

Domaine : Eukaryota

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Classe : Magnoliophyta

Sous-classe : Asteridae

Ordre : Lamiales

Famille : *Lamiaceae*

Genre : *Phlomis*

Espèce : *Phlomis herba-venti*

Noms vernaculaires : Djeda, Pujas, Matagallos (**Fernández-Ocaña *et al.*, 1996**).

1.2.1.3. Distribution géographique

Phlomis herba-venti est distribuée dans les régions méditerranéennes d'Europe, d'Afrique et d'Asie (**Khalilzadeh *et al.*, 2008**). Cette plante est native d'Europe (Albanie,

Bulgarie, France, Grèce, Italie, Portugal, Roumanie, Sicile, Espagne, Ukraine et Yougoslavie), d'Afrique (Algérie, Maroc et Tunisie) et d'Asie (Iran, Irak, Kazakhstan, Crimée, Liban-Syrie, Caucase du Nord, Turquie et Turkménistan) (**POWO, 2024**).

1.2.1.4. Propriété thérapeutique

De nombreuses espèces de *Phlomis* dans le monde présentent une méthode d'utilisation similaire, notamment comme tisane par infusion ou décoction pour traiter les troubles gastriques, abdominaux et intestinaux, les maladies des voies respiratoires et les blessures (**Ben Amor et al., 2009; Khalilzadeh et al., 2008**). *Phlomis herba-venti* est depuis longtemps utilisée dans les pratiques traditionnelles pour la préparation de boissons toniques et digestives (**Ferrante et al., 2019**). Des études récentes indiquent que l'extrait méthanolique de cette espèce présente un potentiel antioxydant et antimicrobien, suggérant des applications possibles dans la médecine et la production alimentaire (**Azad et al., 2015; Morteza-Semnani et al., 2006**). En Espagne, les calices sont utilisés à des fins vétérinaires pour leurs propriétés antidiarrhéiques et pour apaiser les douleurs musculaires (**Fernández-Ocaña et al., 1996**).

Matériel et Méthodes

1. Matériel végétal

L'espèce *Calamintha nepeta* a été récoltée dans la région de Béni-saf à Ain Témouchent en Mai 2021. Alors que l'espèce *Phlomis herba venti* a été collectée dans la région d'El ouricia à sétif (figure 12) en juin 2022. Ces deux plantes ont été identifiées par le Pr Belhaçaini Hachemi (Université de Sidi Bel Abbas, Algérie). Des spécimens de références pour chaque espèce (LBV 032021, LBV/HB/22) ont été déposés au Laboratoire de Microbiologie et Biologie Végétale. Les coordonnées géographiques des zones de collectes sont indiquées dans le tableau n°2. Puis les parties aériennes de deux plantes ont été rincées, puis séchées à l'air libre à température ambiante pendant 15 jours jusqu'à stabilisation de leur masse.

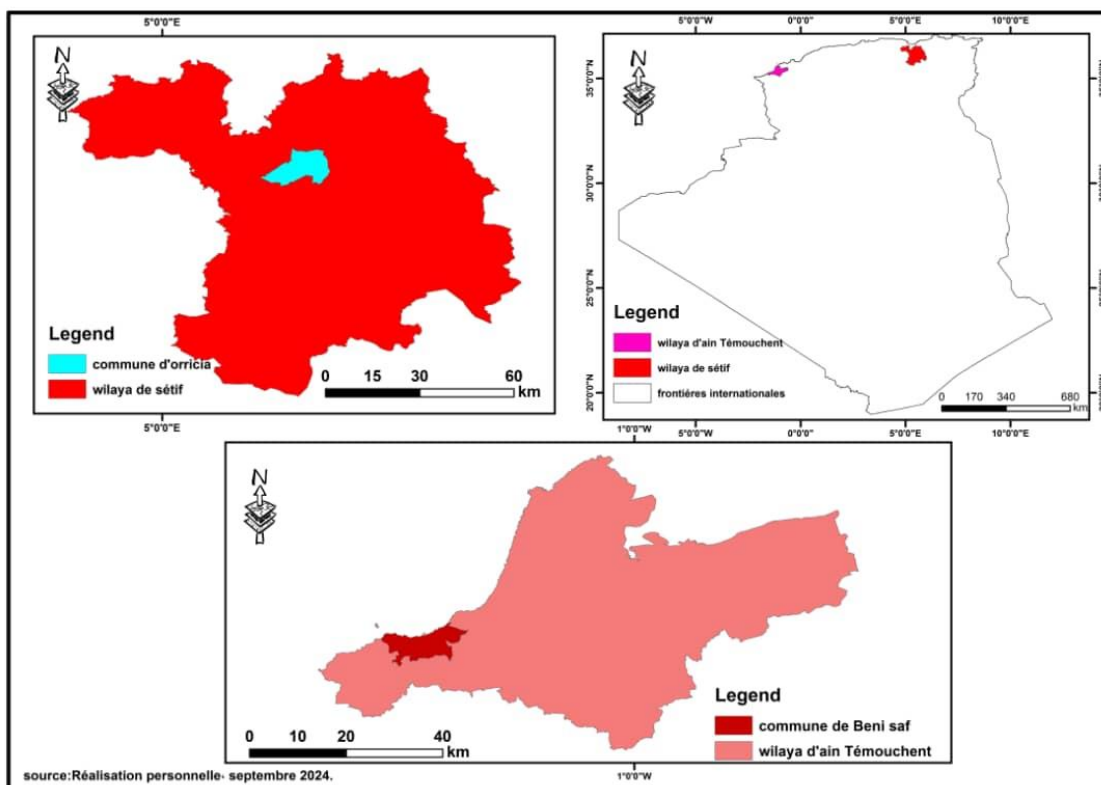


Figure 12 : Localisation géographique des sites de collecte des plantes étudiées.

Tableau 2 : Coordonnées géographiques des sites de récolte des espèces végétales étudiées

Espèce végétale	Région	Coordonnées géographique
<i>Calamintha nepeta</i>	Béni-saf (Ain Témouchent)	Altitude : 25 m, longitude 1°23'1"O et latitude : 35°18'8"N
<i>Phlomis herba venti</i>	El ouricia(Sétif)	Altitude : 1103 m, longitude: 5° 24' 34.43"E et latitude: 36° 17' 1.14"N

2. Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation

Les procédés d'extraction des huiles essentielles de *Calamintha nepeta* (feuilles) ont été réalisés par la méthode de l'hydrodistillation à l'aide d'un hydro distillateur de type Clevenger (figure 13). Cela consiste à introduire 100 grammes de matière végétale dans un ballon de 2 litres rempli d'eau distillée. L'ensemble du mélange est chauffé pendant une durée de 3 heures à l'aide d'un chauffe-ballon. En conséquence, les vapeurs contenant l'huile essentielle traversent un système de refroidissement, puis se condensent et se rassemblent dans une ampoule à décanter. L'huile se sépare de l'eau en raison des différences de densité. L'huile obtenue est conservée dans des tubes en verre fermés hermétiquement à l'obscurité et maintenus à une température de 0°C jusqu'à leur utilisation ultérieure.

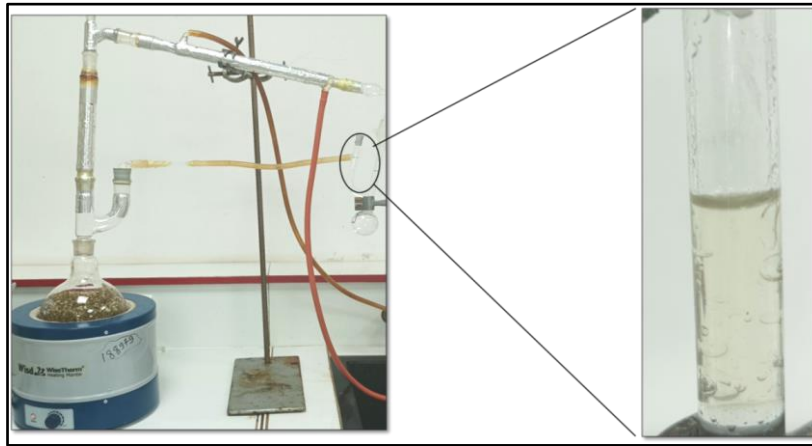


Figure 13 : Dispositif d'hydrodistillation de type Clevenger pour l'extraction des huiles essentielles.

3. Extraction des extraits par macération

La préparation des extraits bruts de la partie aérienne de *C. nepeta* (les feuilles) et de *P. herba venti* (les feuilles avec les fleurs) a été réalisée par macération (Figure14). 10 g de matériel végétale préalablement broyées en poudre ont été mises en contact avec 100 mL de mélange éthanol/eau (80/20). Le mélange a été agité à température ambiante dans l'obscurité pendant 48 heures. Après une double filtration sur papier wattman N°1, les filtrats hydro-éthanolique ont été concentrés à sec sous pression réduite dans un évaporateur rotatif Büchi (Allemagne) à température modérée (45°C). Puis tous les extraits sont et conservés au froid (4 °C) jusqu'à son utilisation (**Fadili et al., 2017**).

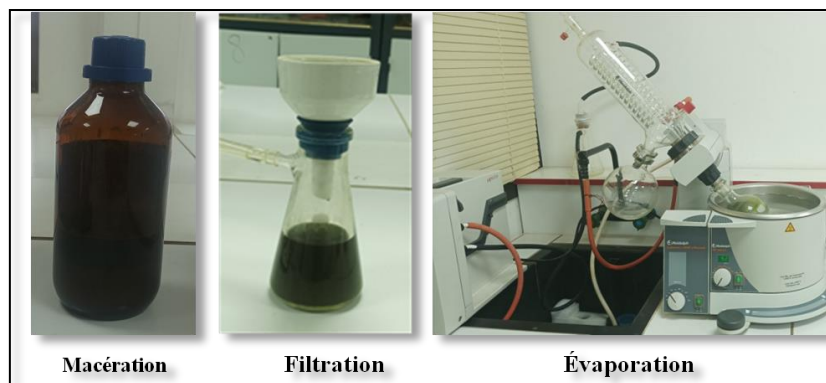


Figure 14 : les étapes d'extraction hydro-éthanolique.

4. Calcul des rendements des extractions

Le rendement d'extraction est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec ou d'huile essentielle (M1) et la masse initiale du matériel végétal traitée (M0). Ce rendement est exprimé en pourcentage et calculé par la formule ci-dessous :

$$R (\%) = (M0/M1) \times 100$$

R : rendement d'extraction en pourcentage.

M0 : masse d'huile essentielle ou de l'extrait sec en gramme.

M1 : masse initiale de la matière végétale en gramme.

5. Screening phytochimique

Le Screening phytochimique joue un rôle essentiel dans l'identification des diverses familles de composés chimiques présentes dans les plantes sous étude. Il implique la réalisation de tests phytochimiques qualitatifs qui reposent soit sur des réactions colorimétriques, soit sur la création de complexes insolubles en utilisant des réactions de précipitation, lesquelles sont spécifiques à chaque catégorie de principes actifs. Le criblage phytochimique a été réalisé sur les extraits hydro-éthanoliques de la partie aérienne de *P. herba venti*, et les feuilles de *Calamintha nepeta* en suivant les tests standards selon décrits par **Békro et al., (2007)**; **Firdouse et Alam, (2011)**; **Rao et al., (2016)**; **Shaikh et Patil, (2020)**.

5.1. Polyphénols

Une seule goutte d'une solution de chlorure ferrique à 2 % est ajoutée à un volume de 5 ml de l'extrait. L'observation d'une coloration bleu-noirâtre ou verte, avec une intensité variable, indique la présence de polyphénols.

5.2. Tanin

5 mL de l'extrait ont été placés dans un tube à essai, puis 2 mL d'une solution de FeCl_3 à 5 % ont été ajoutés. Un précipité noir verdâtre indique la présence de tanins.

5.3. Alcaloïdes

Leur détection est effectuée par les trois tests suivants :

- **Test de Mayer** : 1 mL d'extrait est introduit dans un tube à essai auquel 3 gouttes du réactif de Mayer (**Annexe 1**) sont ajoutées ;
- **Test de Wanger** : 1 mL d'extrait est introduit dans un tube à essai auquel 3 gouttes du réactif de Wagner (**Annexe 1**) sont ajoutées.
- **Test de Dragondroff** : 1 mL d'extrait est introduit dans un tube à essai auquel 3 gouttes du réactif de Dragondroff (**Annexe 1**) sont ajoutées.

La présence d'alcaloïdes est caractérisée par une coloration jaunâtre ou précipité orangée ou brun-rougeâtre.

5.4 . Anthraquinones

La détection des anthraquinones s'effectue en ajoutant quelques gouttes d'acide chlorhydrique à 0.5 mL d'extrait. La formation d'un précipité de couleur rouge indique la présence d'anthraquinones.

5.5 . Les flavonoïdes

La détection des flavonoïdes est réalisée en ajoutant quelque goutte d'acide chlorhydrique et 0.5g de copeaux de magnésium à 1mL d'extrait. La présence des flavonoïdes se traduit par un changement de couleur vers un orange rouge ou un jaune.

5.6. Coumarines

La présence des coumarines est mise en évidence en ajoutant à 1 mL d'extrait 1 mL de d'hydroxyde de sodium à 10 %. La présence de coumarines est indiquée par la formation d'une couleur jaune.

5.7. Carbohydrates

Des quantités égales de solution A et B de Fehling ont été ajoutées à l'extrait puis le mélange a été chauffé dans un bain marie pendant quelque minute, la formation d'une couche de couleur rouge brique indique la présence des carbohydrates.

5.8. Quinones

1 ml de l'extrait a été mélangé avec 1 mL d'HCl concentré. La formation d'une couleur rouge indique la présence de quinones.

5.9. Terpénoïdes

Dans un tube à essai contenant 2 mL de chloroforme, on a ajouté 0.5 mL d'extrait. Ensuite, 3 mL d'acide sulfurique concentré ont été ajoutés. La coloration brune rougeâtre de l'interface indique la présence de terpénoïdes.

6. Quantification des composés phénoliques

La mesure quantitative des composés phénoliques, comprenant les polyphénols totaux (PT), les flavonoïdes totaux (FT) et les tanins condensés (TC), est effectuée par spectrométrie à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible de type Jenway (6715 UV-Vis).

6.1. Dosage des polyphénols totaux

La quantité de polyphénols totaux présents dans les extraits hydroéthanoliques a été évaluée à l'aide du réactif de Folin-Ciocalteu, en suivant le protocole décrit par **Dewanto *et al.*, (2002)**. Ce réactif est une substance acide jaune constituée d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Après oxydation, il est réduit en un mélange d'oxyde de tungstène bleu et de molybdène. La couleur produite est directement proportionnelle à la teneur en composés phénoliques de l'extrait analysé.

➤ Mode opératoire

Un volume de 125 μ L de chaque extrait (1 mg/mL) a été mélangé avec 500 μ L d'eau distillée et 125 μ L de réactif Folin-Ciocalteu dilué 10 fois. Ce mélange a été vigoureusement agité puis laissé en repos pendant 6 minutes. Ensuite, 1250 μ L d'une solution à 7 % de carbonate de sodium (Na_2CO_3) ont été additionnés au mélange et le volume final a été ajusté

à 3 mL en ajoutant de l'eau distillée. Après l'incubation à l'obscurité et à température ambiante pendant 90 minutes. L'absorbance a été mesurée à 760 nm. La quantité totale de polyphénols a été calculée en utilisant l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (100-1000 µg/mL) et est présentée en milligrammes d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g extrait).

6.2. Dosage des flavonoïdes totaux

d'aluminium La quantité totale de flavonoïdes dans les extraits de *C.nepeta* et *P.herba venti* a été mesurée en utilisant la méthode du chlorure telle que décrite par **Ullah et al., (2019)**. La méthode repose sur le principe de l'oxydation des flavonoïdes par le trichlorure d'aluminium (AlCl₃), conduisant à la formation d'un complexe rose absorbant à 430 nm.

➤ Mode opératoire

Un volume de 0.5ml de chlorure d'aluminium à 2% dans l'éthanol a été mélangé avec un volume équivalent de différents extraits (1 mg/mL). Après l'incubation à l'obscurité et à température ambiante pendant 15 minutes. L'absorbance a été mesurée à 430 nm. Une courbe d'étalonnage a été préalablement établie avec la quercétine comme standard (10-90µg /mL). La teneur en flavonoïdes a été exprimée en milligrammes équivalents de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g extrait).

6.3. Dosage des Tanins condensés

Le dosage des tanins condensés a été réalisé par la méthode de vanilline décrite par **Ali-Rachedi et al.,(2018)**. Cette méthode repose sur la réaction de la vanilline avec le groupe terminal flavonoïde des tanins condensés, entraînant la formation de complexes rouges. Cette réaction est attribuée à la capacité des tanins de se convertir en anthocyanidols de couleur rouge lorsqu'ils réagissent avec la vanilline.

➤ Mode opératoire

A 50 µL de chaque extrait, un volume de 1500 µL d'une solution de vanilline (à 4% dans l'éthanol) a été ajouté. Ensuite, 750 µL d'acide chlorhydrique concentré (HCl) ont été additionnés. Le mélange résultant a été laissé réagir à température ambiante pendant 20 minutes. L'absorbance a été mesurée à 550 nm. Une courbe d'étalonnage a été préalablement établie avec

la catéchine comme standard (0-2000 μ g /mL). La teneur en tanins condensés a été exprimée en milligrammes équivalents de catéchine par gramme d'extrait (mg EC/g extrait).

7. Analyse chimique de l'huile essentielle et des extraits hydro-éthanoliques

La méthode de chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS) a été employée pour séparer, identifier et déterminer la structure des composants d'un mélange. Le principe de cette technique repose sur la transformation des molécules séparées par chromatographie en phase gazeuse dans le spectromètre de masse, où elles sont fragmentées en ions de masses différentes. Ces ions sont ensuite séparés en fonction de leur masse, permettant ainsi la détection des fonctions chimiques caractéristiques de chaque famille de molécules.

Les compositions des composés volatils de l'huile essentielle de *C. nepeta*, l'extrait de *C. nepeta* et l'extrait de *P. herba venti* ont été analysées à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse (Shimadzu GC-MS QP 2020, et Shimadzu, Kyoto, Japon). Les extraits ont été solubilisés dans du N-méthyl-N-triméthylsilyl trifluoroacétamide (MSTFA : agent de dérivation) et incubés à 37°C pendant 30 minutes.

La séparation des composés a été réalisée à l'aide d'une colonne capillaire Zebron ZB-5 MSi (Dimensions : 30 m, 0.25 mm, épaisseur du film : 0.25 μ m ; Phenomenex, Torrance, CA, États-Unis). L'analyse GC-MS a été réalisée dans les conditions suivantes : L'hélium a été utilisé comme gaz vecteur à un débit de 1.01 mL/min et un rapport de fractionnement de 1 :20. En outre, le programme de température du four a été augmentée de 45 °C à 150 °C à une vitesse de 2 °C/min, puis chauffée à 270 °C à une vitesse de 15 °C et maintenue pendant 5 minutes, Le volume d'injection a été de 1 μ L l'unité de masse a été réglée à une température de source d'ions de 240 °C et à une tension d'ionisation de 70 Ev.

Les composés volatils ont été identifiés par leurs spectres de masse et leurs indices de rétention (IR) comparés à la base de données de la bibliothèque NIST 20 (National Institute of Standards and Technology) et FFNSC (Mass Spectra of Flavors and Fragrances of Natural and Synthetic Compounds), leurs temps de rétention inconnus avec des étalons authentiques. La quantification des composants identifiés a été réalisée en normalisant les pics par rapport à l'étalon interne ajouté. Le logiciel GCMS Postrun Analysis (Shimadzu, Kyoto, Japon) et AMDIS (v. 2.73) ont été utilisés pour l'analyse des données expérimentales (Adams, 2007). L'identification des composés s'est fondée sur la comparaison des spectres de MS obtenus avec la base de données NIST20, ainsi que sur la comparaison des indices de rétention obtenus avec

cette base de données à l'aide de la solution GCMS version 4.45 (Kwaśnica *et al.*, 2023; Łyczko *et al.*, 2023).

8. Activités biologiques *in vitro*

8.1. Détermination de l'activité antioxydante

Deux méthodes sont employées pour évaluer l'activité antioxydante des composés phénoliques purs ou des extraits, reposant généralement sur des changements de couleur ou de décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel. Dans le cadre de notre étude, nous avons opté pour trois tests chimiques : le test de DPPH, test de FRAP.

8.1.1. Test de DPPH•

➤ Principe

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH•) est un radical organique stable de couleur violette, caractérisé par absorption dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm. Sa stabilité découle de la présence d'un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. En présence d'agents antioxydants agissant comme donneurs d'hydrogène (AH), le composé subit une réduction pour former une forme non radicalaire appelée DPPH-H (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine), induisant ainsi un changement de couleur vers le jaune (figure 15) (Brand-Williams *et al.*, 1995; Habibou *et al.*, 2019).

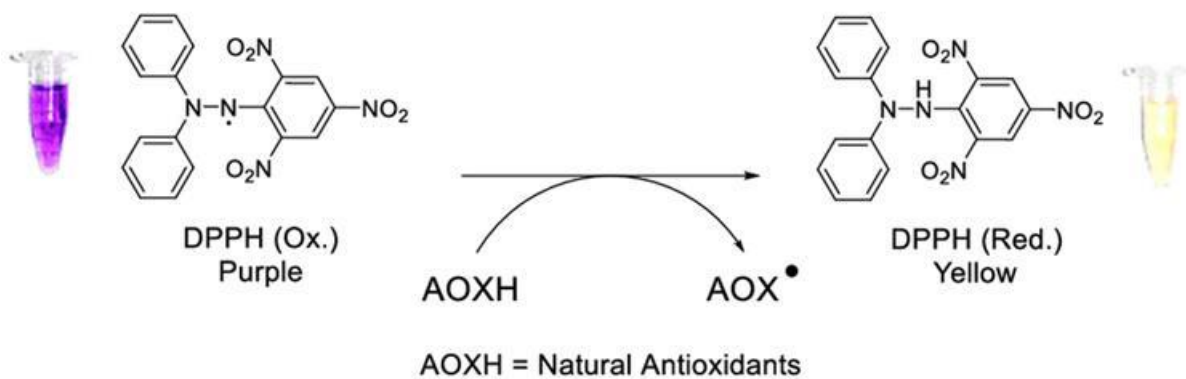


Figure 15 : Processus de neutralisation du radical libre DPPH par un agent antioxydant (Arce-Amezquita *et al.*, 2019).

➤ **Mode opératoire**

L'activité antioxydante des extraits et de l'huile essentielle a été déterminée par la mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH selon le protocole décrite par **Brand-Williams *et al.*, (1995)**. La solution stock a été préparée en dissolvant 24 mg de DPPH dans 100 mL d'éthanol, puis conservée à une température de -20 °C jusqu'à leur utilisation. La préparation de la solution de travail a impliqué l'utilisation d'un spectrophotomètre. Un volume de 10 mL de la solution stock a été mélangé avec 45 mL d'éthanol pour obtenir une lecture d'absorbance dans un intervalle de $[1.1 \pm 0.02]$ à une longueur d'onde de 515 nm.

Un volume de 150 µL de chaque échantillon à différentes concentrations est mélangé avec 2850 µL de solution de DPPH. Après l'incubation à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 min, l'absorbance est mesurée à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Nous suivons une procédure similaire pour l'acide ascorbique (antioxydant de référence). L'évaluation de l'activité de piégeage des radicaux libres a été effectuée en mesurant le pourcentage d'inhibition de l'absorbance du DPPH par les antioxydants. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical DPPH (I%) par la formule suivante :

$$I\% = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A₀ : absorbance de contrôle ;

A₁ : absorbance d'échantillon.

La concentration inhibitrice de 50% des radicaux libres a été graphiquement déterminée en utilisant l'équation de la régression linéaire.

8.1.2. Test du pouvoir réducteur (FRAP)

Une augmentation de l'absorbance correspond à la capacité de réduction des antioxydants/extraits d'antioxydants. Les composés qui possèdent une capacité antioxydante réagissent avec le ferricyanure de potassium ($K_3 [Fe (CN)_6]$), ce qui entraîne la formation de ferrocyanure de potassium ($K_4 [Fe (CN)_6]$). Ce dernier réagit ensuite avec le trichlorure ferrique, conduisant à la production de ferrocyanure ferrique, un complexe de couleur bleue, dont l'absorbance maximale est de 700 nm.

➤ **Mode opératoire**

1mL de l'huile essentielle ou des extraits à différentes concentrations a été mélangé avec 2.5 mL de solution tampon phosphate (0.2 M, pH 6.6) et de 2.5 ml de ferrocyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ à une concentration de 1 %. Le mélange obtenu a ensuite été incubé à une température de 50 °C dans un bain-marie pendant 20 minutes. Ensuite, le mélange a été refroidi à température ambiante et 2.5 mL d'acide trichloracétique à 10 % ont été ajoutés pour arrêter la réaction. Puis, le mélange a été centrifugé pendant 10 minutes à une vitesse de 3000 tours/minute. Ensuite, 2.5 mL du surnageant ont été combinés avec 2.5 ml d'eau distillée et 0.5 mL d'une solution de $FeCl_3$ à 0.1 %. Après une période d'incubation de 10 minutes, l'absorbance des solutions a été mesurée à une longueur d'onde de 700 nm. Un témoin positif a été utilisé constitué d'une solution d'acide ascorbique préparée dans les mêmes conditions à différentes concentrations.

La concentration effective (CE_{50}) de l'extrait ou de l'huile essentielle qui a entraîné une absorbance de 0.5 % a été déterminée par interpolation à l'aide de l'équation de régression linéaire (Gheffour *et al.*, 2015).

8.2. Activité anti-inflammatoire *in vitro*

8.2.1. Test de dénaturation des protéines

La stabilisation thermique de l'albumine sérique bovine (BSA) par des produits naturels est une caractéristique importante pour la sélection de molécules ayant un intérêt thérapeutique en tant qu'agents anti-inflammatoires. Williams *et al.*, (2008) ont mis au point un test visant à évaluer la capacité de protection de la BSA contre la dénaturation due à une exposition à des températures élevées. Cette stabilisation thermique de la BSA implique que la protéine conserve sa structure et, par conséquent, sa fonction, tout en étant incapable d'exprimer les antigènes pathogènes (Williams, 2009).

➤ **Mode opératoire**

Le test de dénaturation des protéines a été effectué en suivant le protocole décrit par Chandra *et al.*, (2012). Un mélange réactionnel de 5 mL a été préparé, comprenant 200 μ L de BSA, 2800 μ L de tampon phosphate salin pH 6.4 et 2000 μ L d'échantillon à différentes concentrations. Le mélange a été incubé à 37°C pendant 20 minutes, puis chauffé à 70°C pendant 5 minutes. Après refroidissement, l'absorbance a été mesurée à 660 nm. Le diclofénac

sodique a été utilisé comme médicament de référence et traité de manière similaire pour la détermination de l'absorbance, le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de la BSA a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Inhibition de la dénaturation (\%)} = 100 \times (1 - A_2/A_1)$$

A₁ = Absorbance du contrôle ; A₂ = Absorbance de l'échantillon.

8.3. Activité antimicrobienne

➤ Les microorganismes testés

Dans cette étude, un total de dix souches microbiennes (Tableau 3), ont été évaluées afin de déterminer leur sensibilité aux composés antimicrobiens classiques (les antibiotiques et les antifongiques), ainsi qu'aux agents naturels (les huiles essentielles et les extraits de plantes). Il s'agit de neuf souches bactériennes (quatre Gram négatives et cinq Gram positive) et une levure.

Tableau 3 : Liste des microorganismes testés.

Souche	Code	Gram	Source
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC25923	positive	Institut pasteur d'Alger
<i>Enterococcus fecalis</i>	ATTC29212	positive	
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC6633	positive	
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC10876	positive	
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC11778	positive	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC27853	négative	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC700603	négative	
<i>Escherichia coli</i>	ATCC25922	négative	
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC35659	négative	
<i>Candida albicans</i>	ATCC10231	/	

ATCC: American Type Culture Collection.

➤ Préparation de l'inoculum

Pour notre étude, nous avons préparé l'inoculum en utilisant une culture jeune de 18 heures sur bouillon nutritif pour les bactéries et de 48 heures sur bouillon Sabouraud pour les levures. Les cultures ont été diluées dans de l'eau physiologique, et la turbidité de chaque suspension a été ajustée à 0.5 sur l'échelle de MacFarland, ce qui correspond à une concentration de (1-2)

$\times 10^8$ UFC/mL pour les bactéries et de $(1-5) \times 10^6$ UFC/mL pour les levures (**Abdelli et al., 2019; Ouguirti et al., 2021**).

8.3.1. Etude de la sensibilité des souches vis-à-vis des agents antimicrobiens standards

La sensibilité aux antibiotiques et antifongiques a été évaluée conformément aux recommandations du comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie en utilisant la méthode de diffusion de disque sur milieu gélosé (**CLSI, 2012**). Les boîtes de Pétri contenant les milieux Mueller Hinton et Gélose Sabouraud ont été ensemencées par étalement de 100 μ L d'inoculum bactérien ou fongique, et des disques d'antibiotiques et des disques imprégnés de 15 μ L d'une solution d'antifongique (100 μ g/mL) ont été déposés sur les boîtes inoculées des souches à tester à l'aide d'une pince stérile. Les boîtes de Pétri ont été laissées diffuser à température ambiante pendant 1 heure avant d'être incubées à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et pendant 48 heures pour les levures. Les expériences ont été effectuées en trois répétitions.

8.3.2. Etude de l'effet antimicrobien de l'huile essentielle et des extraits

8.3.2.1. Méthode de Vincent (technique de diffusion en milieu gélosé)

Nous avons utilisé la méthode de l'antibiogramme (**CLSI, 2012**) pour évaluer l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et des extraits. Cette méthode est fiable et reproductible, et est souvent utilisée comme étape préliminaire à des études plus approfondies (**Balouiri et al., 2016**). Pour ce faire, nous avons ensemencé des milieux coulés en boîte de Pétri avec 100 μ L de suspension microbienne ajustée à 0.5 MacFarland. Nous avons ensuite déposé des disques de papier Wattman stériles de 6 mm de diamètre contenant 15 μ L d'huile essentielle ou d'extraits hydro-éthanoliques de *C. nepeta* et *P. herba venti* de à une concentration de 100 mg/mL et 625 mg/mL, respectivement. Des boîtes témoins ont également été utilisées comme contrôle négatif pour vérifier la croissance des différentes souches. Les boîtes de Pétri ont été laissées diffuser à température ambiante pendant 1 heure avant d'être incubées à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et pendant 48 heures pour les levures. Les expériences ont été effectuées en trois répétitions. La détermination de l'efficacité antimicrobienne de l'huile essentielle ou des extraits est réalisée par la mesure du diamètre de la zone inhibitrice entourant chaque disque (**Boutabia et al., 2016**).

8.3.2.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La concentration minimale inhibitrice est définie comme la plus faible concentration d'huile essentielle ou d'extrait nécessaire pour inhiber la croissance de 90% de la population microbienne (**Ouguirti et al., 2021; Zhang et al., 2016**). La détermination des CMI contre les souches microbiennes est réalisée par la méthode de microdilution en milieu liquide décrite par **Sharma et al., (2020)**. Les solutions mères des différents extraits et de l'huile essentielle ont été préparées en les dissolvant dans de l'eau distillé stérile et du diméthylsulfoxyde (DMSO à 10%), respectivement. Dans les microplaques de 96 puits des dilutions successives par progression géométrique à base de 2 de chaque solution mère obtenue sont réalisées à l'aide d'un bouillon Mueller Hinton (MHB) ou bouillon de dextrose Sabouraud (BDS), de façon à obtenir les dilutions suivantes : 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256 et 1/512. Les concentrations finales des extraits sont comprises entre 100mg/mL à 0.19 mg/mL pour l'extrait de *C. nepeta* et l'extrait de *P. herba venti* entre 625 mg/mL et 1.22 mg/L et entre 15 et 0.029 µL/mL pour l'huile essentielle de *C. nepeta*.

Chaque puits de microplaque contenant un volume de 100µL de dilution des échantillons testés est complété par 10 µL de suspension microbienne (10^6 UFC/mL pour les bactéries et 10^7 UFC/mL pour *C. albicans*) et de 90 µL de MHB ou BDS pour obtenir un volume final de 200 µL. Le dernier puits de chaque ligne dans la microplaque, qui contenait le bouillon et l'inoculum, a servi de témoin positif, tandis que le 11^{ème} puits serve pour le témoin négatif contenant uniquement de bouillon. Après l'inoculation, les microplaques ont été incubées à 37 °C pendant 24 h pour les bactéries et 48 h pour les levures.

Après incubation, 40 µL d'une solution de 0.4 mg/mL de chlorure de triphényltétrazolium (TTC) ont été ajoutés à chaque puits, et les microplaques ont été ensuite incubées à 37 °C pendant 30 min. Par la suite, les microplaques ont été examinées pour détecter tout changement de couleur. La présence d'une croissance microbienne a été indiquée par l'apparition d'une couleur rose.

8.3.2.3. Détermination de la concentration minimale bactéricide(CMB) et fongicide (CMF)

La concentration bactéricide ou fongicide minimale est définie comme la concentration de l'huile essentielle ou de l'extrait qui entraîne une diminution de 99.9 % de l'inoculum microbien initial (**Sharma et al., 2020**). 10 µL du bouillon ont été prélevés à partir de chaque puits dans lesquels aucune croissance microbienne n'a été observée etensemencée sur des boîtes de petri contenant gélose MH ou Sabouraud, suivies d'une incubation de 24 h à 37 °C

pour les bactéries et 48 pour les levures. Les boîtes de petri ont ensuite été examinées pour détecter la croissance microbienne.

En se basant sur le rapport entre (CMB /CMI) ou (CMF /CMI), l'effet antimicrobien peut être évalué de la manière suivante (**Pankey & Sabath, 2004**) :

- Rapport (CMB/CMI) ou (CMF/CMI) <4 : effet bactéricide ou fongicide.
- Rapport (CMB/CMI) ou (CMF/CMI) >4 : effet bactériostatique ou fongistatique.

8.3.3. Activité antivirale de l'huile essentielle

➤ **Lignées cellulaires ciblées**

Les virus sont des agents pathogènes intracellulaires obligatoires qui nécessitent des cellules hôtes pour leur réplication. Des lignées cellulaires obtenues à partir de l'American Type Culture Collection (ATCC), à savoir les cellules de carcinome du col de l'utérus humain (*HeLa* [CRM-CCL-2]) et les cellules de carcinome épithélial pulmonaire humain (*A549* [ATCC CRM-CCL-185]), ont été utilisées pour tester l'activité antivirale de l'huile essentielle de *Calamintha nepeta*. Après la décongélation des cellules et le premier passage, les cultures cellulaires ont été maintenues dans un milieu EMEM supplémenté avec du FBS (sérum de veau fœtal 10 %), de la gentamicine (5 %), de la L-glutamine (5 %), de la pénicilline/streptomycine (1 %) et de l'amphotéricine (1 %). L'incubation s'est effectuée à 37 °C sous une atmosphère contenant 5 % de CO₂.

➤ **Propagation virale en culture cellulaire**

Pour évaluer l'effet virucide de l'huile essentielle, deux modèles viraux ont été utilisés : le virus de l'herpès simplex humain (HSV, VR-540), un virus enveloppé adapté à la lignée HeLa (CRM-CCL-2), et l'adénovirus humain de type 5 (ATCC VR-1516), un virus non enveloppé adapté à la lignée A549 (ATCC CRM-CCL-185).

Les cellules ont été cultivées dans des flacons adaptés jusqu'à atteindre une confluence de 80 %. Après rinçage avec du PBS, un volume de 700 µL de suspension virale a été ajouté, suivi d'une incubation de deux heures. Ensuite, la suspension virale a été retirée et les cellules ont été rincées avec du PBS afin d'éliminer les virus non fixés. Un milieu de culture enrichi avec 1 % de FBS a été ajouté pour limiter le vieillissement prématuré des cellules. L'incubation s'est poursuivie pendant 3 à 6 jours, jusqu'à l'apparition de l'effet cytopathique. Une fois cet effet observé, le milieu contenant les virus libérés a été récupéré, centrifugé à 3000 tr/min pendant

15 minutes, et le surnageant a été transféré dans un nouveau flacon, obtenant ainsi une suspension virale purifiée.

➤ **Mode opératoire**

L'activité antivirale de l'huile essentielle a été évaluée selon la norme EN 14476 (**Din EN 14476, 2009**). Une solution de 800 µL d'huile essentielle (0.25 et 0.50 mg/mL) a été mélangée à 100 µL de substance interférente (PBS) et 100 µL de suspension virale. Le mélange obtenu a été incubé pendant une heure. Après cette incubation, l'échantillon a été dilué selon le principe de dilution en série (900 µL de milieu pour 100 µL d'échantillon testé), jusqu'à une dilution de 10^{-11} . Ensuite, 50 µL de chaque dilution ont été ajoutés à une plaque de microtitration.

La culture cellulaire, adaptée au virus testé, a été traitée à la trypsine afin de détacher les cellules du fond du flacon de culture. Les cellules détachées ont ensuite été suspendues dans 20 mL de milieu de culture cellulaire (EMEM). Un volume de 50 µL de cette suspension cellulaire a été ajouté à chaque puits de la plaque précédente. Les contrôles négatifs sont des cellules traitées sans agent et les contrôles positifs sont des cellules traitées avec le virus à des dilutions allant de la concentration initiale jusqu'à 10^{-11} . L'incubation a été réalisée pendant 2 à 5 jours, jusqu'à l'observation d'un effet cytopathique dans le témoin positif au microscope inversé.

En parallèle, des tests de cytotoxicité ont été réalisés conformément à la procédure établie dans la norme afin d'évaluer l'effet cytopathique induit par le virus. L'huile essentielle a été testée à des concentrations de 0.25 mg/mL et 0.50 mg/mL. 50 µL de chaque dilution ont été ajoutés à une plaque de microtitration contenant une monocouche confluyente de cellules HeLa ou A549. Les résultats ont été analysés en parallèle avec ceux des tests virucides

9. Activités biologiques *in vivo*

➤ **Matériel animal**

Des rats Wistar, pesant 150 ± 15 g, ont été achetés à l'Institut Pasteur d'Alger. Les animaux ont été mis dans des cages en polypropylène pendant 14 jours avant les expériences pour permettre une acclimatation aux conditions de laboratoire. Les conditions d'hébergement standard sont les suivantes : température de 22 ± 3 °C avec un cycle lumière/obscurité de 12 heures. Les rats ont été alimentés de façon régulière (par granulés secs) avec un accès libre à l'eau.

➤ **Test de Toxicité**

Pour prévenir tout risque potentiel de toxicité lors des essais biologiques, il était essentiel de mener des tests de toxicité. Ce test implique l'administration orale d'une dose unique des échantillons à tester aux animaux et d'observer régulièrement pendant les premières 04 heures puis pendant une période allant de 24 h jusqu'à 14 jours, l'apparition des signes probables de toxicité tels que le changement de comportement, les salivations, le coma et la mort. Cette étude vise à déterminer la dose létale pour 50% des animaux d'expérience (DL_{50}) ainsi que la dose maximale sans effet toxique (DME). La DL_{50} représente la quantité à laquelle la moitié des animaux exposés succombent, tandis que la DME correspond à la dose la plus élevée qui ne produit aucun effet toxique par rapport au groupe témoin.

➤ **Mode opératoire**

Le test de toxicité a été réalisée conformément aux recommandations n°423 de l'Organisation de la Coopération Economique et Développement (**OECD, 2001**). Les rats femelles ont été soumis à une période de jeûne de 16 heures avant le début de l'expérience avec accès libre à l'eau. L'HE de *C. nepeta* a été solubilisé dans 1 % de Tween 80, tandis que les extraits de *C. nepeta* et de *P.herba venti* ont été solubilisé dans l'eau distillée stérile. Les solutions préparées ont été administrée à chaque groupe (n=3) par gavage intragastrique à des doses de 50, 500, 300 et 2000 mg/kg, respectivement. Les groupes témoin n'ont reçu que le véhicule (Gr1 :10 ml/kg de Tween 80 à 1 % ; Gr2 :10 ml/kg d'eau distillée stérile).

Pendant 2 heures, tous les rats ont été surveillés pour détecter tout signe de toxicité, comme des changements au niveau de la peau et des yeux ainsi que des changements au niveau du système respiratoire et du système nerveux central, une diarrhée autonome, une léthargie et de la salivation. Les observations ont été poursuivies pour détecter toute mortalité pendant 48 heures, puis pendant 7 jours. En l'absence de décès dans tous les groupes, ce test a été répété avec des doses plus élevées allant jusqu'à 5000 mg/kg.

9.1. Activité anti-inflammatoire *in vivo*

➤ **Test de l'œdème plantaire induit par carragénine**

L'étude des caractéristiques anti-inflammatoires des échantillons a été menée à l'aide d'un modèle d'œdème plantaire induit chez des rats (mâles et femelles pesant entre 150 et 200 g) par l'injection de 100 μ L d'une solution de carragénine à 1 % (p/v) dans la voûte plantaire du

pied droit (Figure 16) selon la méthode décrite par **Winter *et al.*, (1962)**. Pour ce faire, les rats ont été répartis en 5 groupes de 6 rats :

- Groupe (1) : les rats ont été traités avec 1 % de Tween 80 à une dose de 10 mL/kg (véhicule) comme contrôle positif pour l'huile essentielle et l'eau distille pour les extraits.
- Groupe (2) : les rats ont été traités avec le diclofénac à une dose de 10 mg/kg comme médicament de référence (standard).
- Groupe (3-7) : les rats ont été traités avec l'huile essentielle à des doses de 100, 200 ,400 mg/kg; pour les groupes de HE ou des extraits à des doses de 200 et 400mg/kg pour les groupes des extraits.

Une heure après le gavage intragastrique, chaque groupe d'animaux a été soumise à une injection sous-plantaire de 100 µL de carragénine à 1 % (p/v) dans la patte droite.

L'épaisseur de la patte (mm) a été mesurée à l'aide d'un pied à coulisse numérique une heure avant l'injection (V_0) de carragénine et toutes les 60 minutes pendant 6 h (V_t) après l'injection de l'agent phlogistique. Le pourcentage d'inhibition de l'œdème (INH %) a été calculé selon la formule suivante :

$$INH \% = [(V_t - V_0) \text{ témoin} - (V_t - V_0) \text{ traité}] \times 100 / (V_t - V_0) \text{ témoin}$$

Où V_t représente le volume de la patte au temps T après l'injection de carragénine, et V_0 représente le volume de la patte au temps T_0 avant l'injection de carragénine.

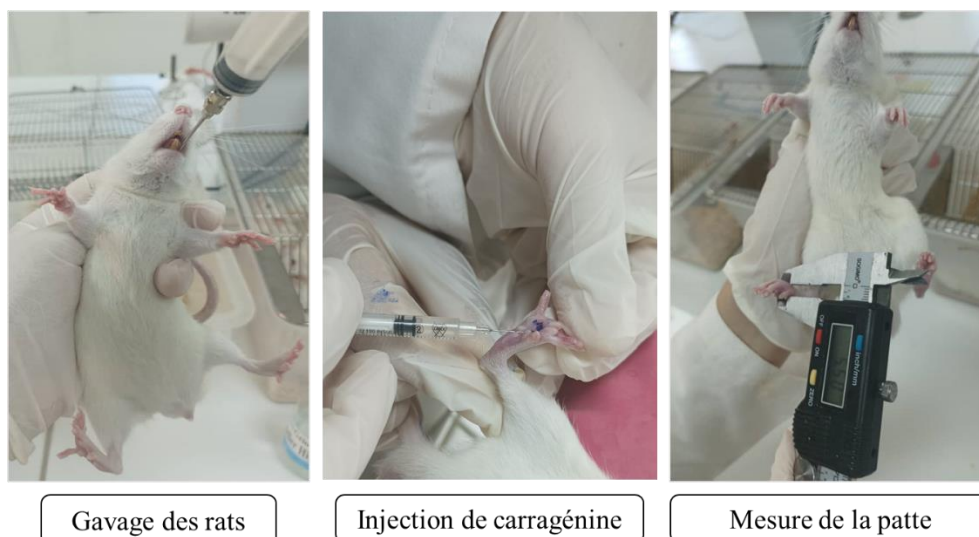


Figure 16 : Les étapes de réalisation de l'activité anti-inflammatoire *in vivo*.

9.2. Activité antibactérienne in vivo

Afin d'élaborer de nouvelles stratégies de traitement efficaces, il est nécessaire de disposer de données actualisées sur la prévalence de la colonisation par des bactéries résistantes aux antimicrobiens. Dans notre étude, Une comparaison a été faite entre l'efficacité thérapeutique de notre huile essentielle à différentes doses et celle de l'antibiotique généralement prescrit pour cette pathologie particulière. Le modèle animal présentait une pathologie à la suite de l'introduction de bactéries pathogènes, en particulier le *Staphylococcus aureus*, un pathogène opportuniste, affecte de plus en plus les patients hospitalisés, en particulier les femmes enceintes et les femmes en post-partum, Ce pathogène peut coloniser le tractus vaginal féminin et provoquer une dysbiose vaginale ou une vaginite aérobie. La vaginose bactérienne peut entraîner des fausses couches, un travail prématuré, un accouchement prématuré, une endométrite post-partum ou un syndrome de choc toxique menstruel (Creech *et al.*, 2010; Dancer et Noble, 1991; Deng *et al.*, 2019; Souli *et al.*, 2019)

➤ **Répartition des animaux**

Les rats, dont la moyenne de poids 120g, ont été répartis au hasard en cinq groupes (n = 6) comme suivant :

- Groupe 01 : (témoin négative : rats non infectés et non traités) a reçu de Tween 80 à 1% par voie orale, le véhicule utilisé pour dissoudre l'huile essentielle.
- Groupe 02 : (témoin positive : rats infectés et non traités) a reçu de Tween 80 à 1% par voie orale
- Groupe 03 : (Standard : rats infectés et traités) a reçu de céfalexine, 2.5 mg / kg par gavage.
- Groupe 04 : (Expérimentale : rats infectés et traités) a reçu HE de *C. nepeta* à la dose de 25 mg/kg par gavage.
- Groupe 05 : (Expérimentale : rats infectés et traités) a reçu HE de *C. nepeta* à la dose de 50 mg/kg par gavage.

9.2.1. Modèle in vivo de colonisation vaginale par le *Staphylococcus aureus* (vaginite)

Après l'administration d'une anesthésie par voie intramusculaire de Zoltil 100 à la dose de 10 mg/kg, les rats femelles sont été inoculés par voie intra vaginale à l'aide d'un tube en plastique souple (tube de perfusion) de 0.4 mL de long relié à une seringue de 1 cc pré-remplie

de *Staphylococcus aureus* (10^8 CFU/mL) en suspension dans une solution saline tamponnée au phosphate (PBS)(figure17) (Juita *et al.*, 2022).

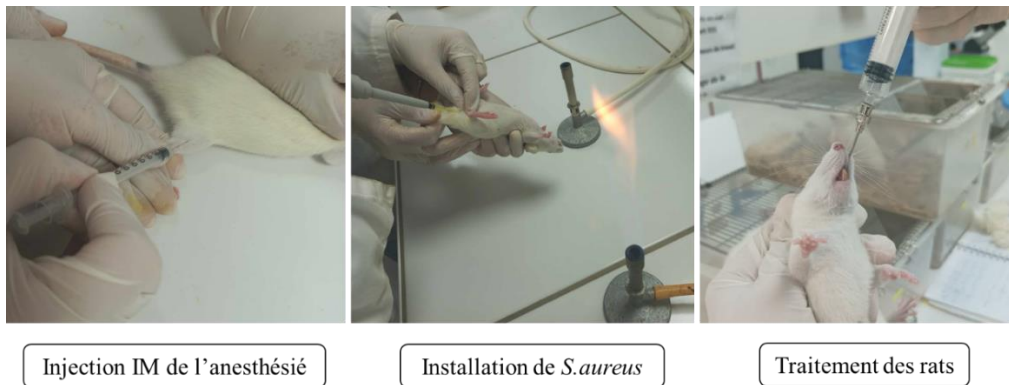


Figure 17 : Induction de l'infection urinaire par la *Staphylococcus aureus* chez les rats femelles.

9.2.2. Analyse microbiologique des urines

➤ Uroculture

Un volume de 50 μ L de l'échantillon d'urine a été mélangé à 450 μ L d'eau physiologique stérile. Par la suite, une série de dilutions a été effectuée (10^{-1} , 10^{-2} , ..., 10^{-12}). A l'aide d'une micropipette, 3 spots de 10 μ L de chaque dilution a été déposé dans un boîte contenant de la gélose au sang. Après 24 heures d'incubation à 37°C, les colonies sont dénombrées (Guiraud, 2003). Le résultat est exprimé en unités formant colonies (UFC) par mL, selon la formule suivante :

$$N = \Sigma n \text{ colonies. } 1000 \mu\text{L} / 30 \mu\text{L}$$

N : unité formant Colonies (UFC).

9.2.3. Sacrifice des animaux

Après un traitement de 15 jours, les rats ont été sacrifiés après un jeûne pendant une nuit par injection intramusculaire de la Zoltil 100 à la dose de 10 mg/kg. Des prélèvements d'urine ont été effectués pour chaque rat dans des conditions aseptiques. Les échantillons d'urine recueillis ont ensuite été soumis à une uroculture pour dénombrer les bactéries. Et enfin, le vagin de chaque rat a été prélevé et fixé dans le formol pour l'étude histologique.

9.2.4. Etude histopathologie

Le traitement des prélèvements histologiques a été réalisé au niveau du laboratoire d'anatomo-pathologie de l'hôpital Mekour Hamou de Ain Defla. Les échantillons prélevés ont été soumis aux différentes étapes classiques de l'histologie selon la méthode de **(Hould, 1984)** à savoir : fixation, déshydratation, inclusion, coupe et coloration.

➤ Fixation

La fixation a pour but de stoppé toute les réactions enzymatiques afin d'évité la destruction tissulaire et préservé les structures biologiques. Les échantillons prélevés ont été immédiatement rincés avec du NaCl à 0.9 % puis fixées pendant plus de 24 heures dans une solution de formaldéhyde à 10 %, les échantillons ont été placés dans les cassettes pour la déshydratation.

➤ Déshydratation

Cette étape vise à éliminer l'eau intracellulaire et intratissulaire et la remplacer à la fin parla paraffine. Les cassettes ont immergé dans quatre bains d'éthanol de concentration croissante : 50°, 70°, 90° et 100° pendant 45 minutes dans chaque une. Les échantillons ont été clarifiés dans trois bains successive de xylène ou toluène (1heure dans chaque bain), et enfin ce dernier ont été remplacé par la paraffine en plongeant les pièces dans trois bains de paraffine fondue à 56°C (1h dans les deux premiers bains et 10 h dans le dernier bain).

➤ Inclusion

L'inclusion en paraffine consiste à enrober les fragments imprégnés pour les préparer à la coupe. Les échantillons histologiques ont été déposés dans des moules métalliques, puis recouverts de paraffine fondue et positionnés de manière à faciliter les coupes ultérieures. Les moules ont ensuite été placés au congélateur pour solidifier la paraffine (figure 18).



Figure 18 : Inclusion en paraffine.

➤ **Coupe et étalement**

La coupe facilite la production d'échantillons de tissus précis allant de 2 à 5 μm d'épaisseur, conçus pour être examinés au microscope optique (**Figure 19**). À l'aide d'un microtome de type Lab-Kite, les blocs de paraffine ont été découpés pour créer des rubans de 3 μm d'épaisseur. Ces rubans, composés de 2 à 3 couches, ont été apposés sur des lames de verre préalablement traitées avec une solution d'albumine à 2%. Les échantillons ont ensuite été disposés sur une plaque chauffante réglée à 40°C pour étaler les coupes, et ensuite, les lames ont été laissées sécher à température ambiante.



Figure 19 : Coupe et formation de rubans à l'aide d'un microtome.

➤ **Coloration**

La coloration permet de différencier les différentes structures cellulaires et tissulaires en mettant en évidence les divers composants du tissu grâce à l'application de colorants spécifiques. Étant donné que les colorants sont hydrophiles, les coupes doivent d'abord subir une étape de déparaffinage et de réhydratation avant la coloration. Cette étape consiste à plonger les lames étalées et séchées dans des bains de solvants (comme le xylène ou le toluène) pour éliminer la paraffine, suivie par une série de bains d'alcool à concentrations décroissantes (96°, 70°, et 50°) afin de réhydrater les tissus. Enfin, les lames sont rincées à l'eau courante pour assurer une réhydratation complète.

Après la réhydratation, les lames histologiques ont été placés dans deux bains contiennent de l'hématoxyline de Harris, un colorant basique qui colore les structures acides en bleu-violet, durant 2 minutes. L'excès de colorant a été rincé pendant 2 minutes dans un bain d'eau. Les coupes ont été ensuite immergées dans deux bains d'éosine alcoolique à 2%, un colorant acide,

teinte les structures basiques en rose, pendant 02 min dans chaque bain. Après le rinçage de l'excès de colorant, les coupes ont été soumises à une déshydratation dans des bains l'éthanol à concentrations croissantes, chaque bain étant utilisé pendant 2 minutes. Et ensuite ils ont été clarifiés en passant par trois bains successifs de xylène ou de toluène, chaque bain durant 10 minutes.

À la fin du processus, une goutte de milieu de montage Eukitt a été déposée sur la coupe, puis une lamelle a été soigneusement appliquée pour éviter la formation de bulles d'air entre les deux. Les lames ont ensuite été laissées sécher à l'air libre et tous les changements histologiques ont été observés à l'aide d'un microscope optique intégré à une caméra numérique optikam B2.

10. Etude statistique

Pour les comparaisons entre les groupes, l'analyse statistique de nos résultats a été réalisée à l'aide du test ANOVA à un facteur, suivie d'un test de Tukey, en utilisant le logiciel Past3. Les données ont été exprimées en moyenne \pm écart type. Une valeur de p inférieure à 0,05 a été considérée comme indiquant une différence significative.

Résultats et Discussion

1. Rendement d'extraction

Le rendement moyen en huile essentielle de *C. nepeta*, ainsi que le rendement moyen des extraits de la partie aérienne de *C. nepeta* et de *P. herba-venti*, sont présentés dans le tableau n°4. Ces rendements sont calculés en fonction de la masse du matériel végétal sec traité et exprimés en pourcentage.

Tableau 4 : rendement d'extraction en (%) de *Calamintha nepeta* et *Phlomis herba venti*.

Echantillon	HE de <i>C.nepeta</i>	Extrait de <i>C.nepeta</i>	Extrait de <i>P.herba venti</i>
Rendement (%)	2.32 ± 0.06	12.33 ± 0.31	17.51 ± 0.52

Les résultats montrent que l'hydro-distillation de *C. nepeta* a permis d'obtenir un rendement de de l'huile essentielle (2.32 ± 0.06 %). Ce rendement est supérieur à ceux rapportés dans les études antérieures menées en Algérie. En effet, **Kerbouche et al., (2013)** ont mesuré un rendement de 1.4 % pour des échantillons récoltés à El-Affroun (Blida, à 50 km au sud d'Alger), tandis que **Bouziid et al., (2018)** ont enregistré un rendement de 1.3 % pour la région de Bouhanifia, située dans l'ouest de l'Algérie. De plus, l'extraction de la partie aérienne de *C. nepeta*, récoltée à Béjaïa, a donné un rendement en HE de 1.18 % (**Khodja et al., 2018**). Les parties aériennes de *C. nepeta* collectées à Jijel, dans le nord-est de l'Algérie, ont produit un rendement de 1.48 % d'huile essentielle par distillation à la vapeur d'eau (**Labioud et al., 2015**).

En comparaison avec les études réalisées en dehors de l'Algérie, les résultats sont également révélateurs. Une étude effectuée au Maroc sur *C.nepeta*, sauvage et cultivée, dans la région de Taza, a révélé des rendements comparables aux nôtres, avec des taux de 2.80 % et 1.95 %, respectivement (**Brahimi et al., 2023**).

En revanche, une étude menée en Italie sur *C. nepeta* a rapporté un rendement d'extraction relativement faible de 0.1 % (**Bava et al., 2024**). De plus, une autre recherche a montré un rendement moyen d'huile essentielle de 1.26 % pour les parties aériennes de *C.nepeta* (**Ambrico et al., 2019**). *C. nepeta* récoltée en Turquie a donné un rendement en huile essentielle de 0.8 % (**Akgül et al., 1991**). Ces variabilités de rendement sont dues à plusieurs facteurs tels que les conditions environnementales (facteurs climatiques et édaphiques liés à la situation géographique), les variations physiologiques, le temps et la saison de la récolte. Le facteur génétique joue également un rôle essentiel dans le rendement des HEs, qui varient en fonction

de l'âge, du cycle végétatif, de l'organe de la plante utilisé pour l'extraction et de la méthode d'extraction (Mehalaine et Chenchouni, 2021).

La préparation des extraits de la partie aérienne de *C. nepeta* et de *P. herba-venti* a été réalisée par macération dans de l'éthanol à 80 %. Cette méthode a permis d'obtenir un rendement de 17.51 % pour *P. herba-venti* et de 12.33 % pour *C. nepeta*.

Hayani *et al.*, (2020) ont rapporté un rendement beaucoup plus élevé de 34.4 % pour *C. nepeta* extrait par macération dans de l'éthanol à 80%. En revanche, des travaux de Bougandoura et Bendimerad (2013), dans la région de Tlemcen, ont observé des rendements de 22.19 % et 8.58 % pour les extraits aqueux et méthanolique respectivement. Par ailleurs, l'étude de Khodja *et al.*, (2018), menée à Bejaia, a montré aussi des rendements de 28 % et 27 % pour l'extrait par décoction et infusion des parties aériennes de *C. nepeta*, simultanément.

Concernant l'extrait de *P. herba-venti*, le rendement de 17.51 % que nous avons obtenu est nettement supérieur aux valeurs rapportées dans la littérature. En effet, en Iran Azad *et al.*, (2015) ont signalé des rendements de 8.34 % pour les extraits méthanoliques, ainsi que seulement 1.34 % pour les extraits obtenus avec l'acétate d'éthyle et le dichlorométhane. De plus, Morteza-Semnani *et al.*, (2006) ont observé un rendement de 10.1 % pour les extraits méthanoliques de *P. herba-venti*.

Les différences observées dans les pourcentages de rendement peuvent être attribuées à divers facteurs, tels que la saison, la période, le lieu et les conditions de récolte des plantes. Tout ça influencent la quantité et la qualité des composés phénoliques présents dans les plantes. En outre, le processus d'extraction est également affecté par des variables telles que le type de solvant, la taille des particules du matériel végétal, ainsi que la température, le pH et la durée de l'extraction (Alba *et al.*, 2021 ; Chew *et al.*, 2011).

2.Screening phytochimique

Le criblage phytochimique a permis d'identifier les métabolites secondaires présents dans le matériel végétal examiné. La détection de ces composés repose sur des tests de solubilité, des réactions de précipitation et de turbidité, ainsi que sur des changements de couleur spécifiques. Les résultats des tests de caractérisation phytochimique effectués sur les différents extraits sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 5 : Screening phytochimique des deux plantes *Calamintha nepeta* et *Phlomis herba venti*.

Métabolites secondaires	<i>Calamintha nepeta</i>	<i>Phlomis herba venti</i>
Polyphénols	+	+
Tanins	+	+
Alcaloïdes	Réactif de Wanger	+
	Réactif de Dragondroff	+
	Réactif de Mayer	+
Anthraquinones	-	-
flavonoïdes	+	+
Coumarines	+	+
Carbohydrates	-	+
Quinones	+	+
Terpénoïdes	+	+

(+) : présence, (-) : absence.

Le criblage phytochimique effectué sur l'extrait hydro-éthanolique de *C. nepeta* a révélé la présence de polyphénols, de tanins, d'alcaloïdes, de flavonoïde, de coumarine, de quinone et de terpénoïdes. En revanche, nous avons constaté l'absence d'anthraquinones et de carbohydrates. Nos résultats corroborent ceux obtenus par **Bougandoura et Bendimerad,(2013)**, qui ont également observé la présence des flavonoïdes et des polyphénols dans l'extrait *C. nepeta* . Cependant, les résultats de **Hayani et al., (2020)** indiquent l'absence d'alcaloïdes et de coumarines dans les extraits de *C. nepeta*, contrairement à nos analyses qui mettent en évidence leur présence.

Une autre étude réalisée par **Belkacem et al., (2022)** sur l'extrait de *C. nepeta* confirme la présence de tanins, d'alcaloïdes, de flavonoïdes, de quinones et de terpénoïdes, ainsi que l'absence d'anthraquinones. Cependant, elle rapporte également l'absence de coumarines.

Les résultats du criblage phytochimique de l'extrait hydro-éthanolique de *P. herba venti* ont révélé la présence de polyphénols, de tanins, d'alcaloïdes, de flavonoïdes, de carbohydrates, de coumarine, de quinones et de terpénoïdes. En revanche, l'absence d'anthraquinones a été notée. Nos résultats corroborent les travaux de **Gaamoune, (2017) ; Moshari-Nasirkandi et al.,(2023)**. En effet, les extraits de *P.herba-venti* révèlent la présence d'une diversité de

composés phytochimiques, notamment des flavonoïdes, des acides phénoliques, des tanins et des terpènes. Nos données révèlent que les extraits des espèces examinées sont particulièrement riches en métabolites secondaires, tels que les alcaloïdes, flavonoïdes, tanins et polyphénols. La présence de ces divers phyto-constituants pourrait suggérer une nouvelle source potentielle de composés bioactifs pour des applications thérapeutiques.

3. Quantification des composés phénoliques

Le contenu total en polyphénols des extraits éthanoliques des plantes étudiées a été quantifié en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu, avec une courbe d'étalonnage basée sur l'acide gallique comme standard (Annexe n°1). Les résultats sont exprimés en g d'équivalent d'acide gallique par g d'extrait (mg GAeq/g d'extrait) et ont été déterminés à l'aide de l'équation suivante :

$$y = 0.001 x$$

Avec un coefficient de détermination R² de 0.990.

La détermination du contenu en flavonoïdes des extraits éthanoliques a été réalisée en utilisant la méthode au chlorure d'aluminium (AlCl₃), en se référant à une courbe d'étalonnage établie avec la quercétine comme standard (Annexe 3). Les résultats sont exprimés en mg d'équivalent de quercétine par g d'extrait (mg Qeq/g d'extrait) et ont été déterminés à l'aide de l'équation suivante :

$$y = 0.036X$$

Avec un coefficient de détermination R² de 0.976.

La détermination du contenu en tanins des extraits éthanoliques a été réalisée en utilisant la méthode à la vanilline, en se référant à une courbe d'étalonnage établie avec la catéchine comme standard (Annexe 01). Les résultats sont exprimés en mg d'équivalent de catéchine par g d'extrait (mg EC/g d'extrait) à l'aide de l'équation suivante :

$$y = 0.307X$$

Avec un coefficient de détermination R² de 0.993.

Les contenus totaux en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins des extraits éthanoliques de *C. nepeta* et de *P. herba venti* sont présentés dans le tableau 6.

Tableau 6 : Contenus totaux en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins dans les extraits éthanoliques de *C. nepeta* et de *P. herba venti*.

Echantillon	Polyphénols totaux mg EAG/g extrait	Flavonoïdes totaux mg EQ/g extrait	Tanins condensés mg EC/g d'Extrait
<i>C. nepeta</i>	230.16 ± 3.32	29.44 ± 0.13	0.07 ± 0.004
<i>P. herba venti</i>	206.33 ± 4.19	19.31 ± 0.26	0.14 ± 0.03

Le contenu total en polyphénols, flavonoïdes et tanins de l'extrait de *C. nepeta* est respectivement de 230.16 mg GAE/g, 29.44 mg QE/g et 0.07 mg CE/g. Ces valeurs sont significativement plus élevées par rapport à celles rapportées par **Benabed et al., (2023)**, qui ont trouvé des concentrations de polyphénols de 41.81 mg GAE/g pour les extraits aqueux et de 32.92 mg GAE/g pour les extraits méthanoliques. De plus, nos résultats sont également supérieurs à ceux d'**Araniti et al., (2013)**, qui ont mesuré un contenu de 143.52 mg GAE/g dans l'extrait méthanolique de la même espèce en Italie.

Par ailleurs, **Khodja et al., (2018)** ont montré que les extraits des parties aériennes de *C. nepeta*, collectées en mai 2015 à Béjaïa préparés par infusion, révèlent des teneurs plus élevées en polyphénols (368.47 mg/g), et faibles en flavonoïdes (60.7 mg/g) contrairement à ceux obtenus par décoction (336.28 mg/g et 71 mg/g). Comparées à nos résultats, ces valeurs de polyphénols et de flavonoïdes sont considérablement plus élevées. **Medjdoub et al., (2022)** ont analysé l'extrait méthanolique de *C. nepeta* récolté à Skikda, montrant les concentrations suivantes pour les polyphénols totaux, les flavonoïdes et les tanins : 5.37 ± 0.03 mg GAE/g, 3.19 ± 0.01 mg QE/g, et 0.58 ± 0.16 mg TAE/g, respectivement. En comparaison, l'extrait aqueux présente des niveaux plus élevés de polyphénols totaux, de flavonoïdes et de tanins, avec des concentrations de 10.7 ± 0.06 mg GAE/g, 4.11 ± 0.02 mg QE/g, et 2.23 ± 0.27 mg TAE/g, respectivement. Les concentrations de tanins dans ces extraits sont relativement élevées et se rapprochent sensiblement de nos résultats. En outre, **Hayani et al., (2020)** ont démontré que la fraction d'extrait de n-butanol est la plus efficace pour l'extraction des polyphénols et des flavonoïdes, par rapport aux fractions d'extrait aqueux, de chloroforme et d'acétate d'éthyle. Les meilleurs taux observés étaient respectivement de 33.48 ± 0.0235 mg EAG / g et 11.55 ± 0.025 mg QE / g.

Pour *P. herba venti*, les résultats montrent que la teneur totale en polyphénols, flavonoïdes et tanins de l'extrait est respectivement de 206.33 mg EAG/g, 19.31 mg QE/g et 0.14 mg CE/g. Ces valeurs sont relativement élevées par rapport aux résultats rapportés par

Ferrante et al., (2019). En effet, leurs analyses ont révélé que la teneur en polyphénols et en flavonoïdes des extraits de la même espèce, préparés en Italie par extraction avec un Soxhlet, suivie de sonication et utilisant divers solvants (eau distillée, éthanol à 95 %, solution hydroalcoolique), était notablement plus élevée dans l'extrait éthanolique comparativement aux autres extraits. Les valeurs observées étaient de 32.99 ± 0.97 mg EAG/g extrait et 12.08 ± 0.22 mg QE/g extrait, respectivement. Une autre étude menée sur l'extrait méthanolique de la partie aérienne de *P. herba venti*, collectée à Jijel, a rapporté une teneur totale en polyphénols de 116.21 ± 0.15 mg EAG/g, ce qui est inférieur à la valeur observée dans notre étude. En revanche, les teneurs en flavonoïdes et en tanins de cet extrait étaient respectivement de 37.44 ± 0.9 mg QE/g et 87.06 ± 0.45 mg CE/g, des valeurs supérieures à celles que nous avons obtenues (**Derafa, 2023**).

Les concentrations de polyphénols, flavonoïdes et tanins varient en fonction des conditions géographiques et climatiques du lieu de récolte, du type d'extrait utilisé et de la polarité des solvants (**Pacifico et al., 2015**). Cela explique les différences notables entre les valeurs obtenues dans notre étude et celles rapportées dans d'autres recherches sur les espèces étudiées récoltées dans d'autres régions et pays.

4. Analyse chimique de l'huile essentielle et des extraits hydro-éthanoliques

L'analyse chimique de l'huile essentielle de *C. nepeta* ainsi que des extraits hydroalcooliques de *C. nepeta* et de *P. herba-venti*, réalisée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS), a permis d'obtenir les résultats résumés dans les tableaux n° 07, 08 et 09.

Tableau 7: Composition chimique de l'huile essentielle de *C. nepeta*.

Numéro	Composé	RT (min)	Aire (%)
1	α -Pinène	6.704	1.080
2	Camphène	7.114	1.227
3	β -Pinène	7.921	0.637
4	3-Octanol	8.448	1.158
5	Limonène+Eucalyptol	9.530	1.749
6	Inconnu	10.789	0.108
7	Linalol	11.878	0.502

8	Menthone	13.705	8.915
9	Isobornéol	14.105	10.406
10	Pulégone	16.698	58.361
11	Pipériténone	19.984	3.865
12	Caryophyllène	20.791	2.884
13	Inconnu	22.543	1.329
14	Germacrène D	24.448	2.042
15	Bicyclogermacrène	24.917	3.291
16	Spathuléol	27.305	2.446
			Total :98.56

RT : Temps de rétention.

L'analyse chimique de l'huile essentielle de *C. nepeta* a permis d'identifier seize composés, représentant environ 98.56 % de sa composition totale. Cette huile essentielle se distingue par la présence majoritaire de pulegone (58.36 %), d'isoborneol (10.40 %), de menthone (8.91 %), de pipériténone (3.86 %), de bicyclogermacrène (3.29 %) et de caryophyllène (2.88 %). L'analyse GC-MS révèle que les composés chimiques de l'huile essentielle de *C. nepeta* sont principalement dominés par les monoterpènes oxygénés (73.39 %), suivis par les hydrocarbures sesquiterpéniques (8.21%), les hydrocarbures monoterpéniques (4.72 %), les sesquiterpènes oxygénés (2.44 %) et les dérivés non-terpéniques (1.15 %).

D'autres résultats ont révélé l'existence de trois chémotypes distincts d'huile essentielle de *C. nepeta*. Le premier chémotype, provenant de la région de Bouhanifia (Ouest de l'Algérie), est caractérisé par la prédominance de pulegone (73.54 %), isomenthone (7.89 %) et l'oxyde de cis-pipériténone (2.28 %) (**Bouzidi et al., 2018**). Le second chémotype, issu de Jijel (Nord-Est de l'Algérie), se distingue par la prédominance de menthone (26.46 %), l'oxyde de pipériténone (22.26 %) et la pulegone (14.04%) (**Labioud et al., 2015**). Le troisième chémotype, provenant de Blida (à 50 km au sud d'Alger), est caractérisé par une prédominance de pulegone (39.5%), néo-menthol (33%) et isomenthone (19.6 %) (**Kerbouche et al., 2013**). Cette différence en composition est due probablement à l'origine des échantillons.

Plusieurs études menées en Italie ont révélé la présence de divers chémotypes dans l'huile essentielle de *C. nepeta*, avec des composants majeurs tels que le pulegone (44.7 %), la menthone (16.4 %), la pipériténone (13.3 %) et la pipéritone (6.01 %) (**Ambrico et al., 2019**). **Marongiu et al., (2010)** ont mis en évidence le pulegone comme le principal composé (64.4 %), suivi de la pipériténone (6.4 %) et de l'oxyde de pipériténone (2.5 %). Par ailleurs, des études ultérieures ont montré que l'huile essentielle provenant de *C. nepeta* récoltée au cours de différentes années dans la région de l'Alentejo au Portugal présente une forte concentration de monoterpènes oxygénés dont les principaux constituants de cette huile essentielle ont été identifiés comme l'isopulegol, l'isopulegone et le 1,8-cinéole (**Arantes et al., 2017 ; Queiroga et al., 2018**). Une étude complémentaire menée par **Arantes et al., (2019)** a révélé que le constituant prédominant était le 1,8-cinéole, représentant 28 % de la composition, suivi de la menthone (22 %), du menthol (16 %) et du pulegone (5 %).

L'analyse chimique par GC-MS de l'extrait de *C. nepeta* a permis d'identifier 17 composés, représentant 100 % de sa composition totale (voir tableau n°8). Cet extrait est principalement composé de monoterpènes oxygénés (63.78 %), suivis par les monoterpènes hydrocarbonés (19.14 %) et les sesquiterpènes (14.05%). Il est principalement riche en pulégone qui représente le composant majeur avec un taux de 24.98%, suivi de le menthofurane (11.89 %) et la menthone (8.04 %). D'autres composés sont également présents en proportions significatives, notamment le γ -élémane (6.60 %), la pipériténone (6.53 %), le bornéol (6.51 %) et le limonène (5.51 %). Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus pour la même espèce provenant de la région de Calabre, dans le sud de l'Italie a révélé que le pulégone est le principal composant de la fraction n-hexanique, avec une teneur de 35.44 % (**Araniti et al., 2013**). Cependant, les travaux réalisés par **Debbabi et al. (2020)** montrent des différences notables, pour les parties aériennes de *C. nepeta* provenant de Béni-Mtir, au nord-ouest de la Tunisie, les analyses des composés volatils révèlent que les principaux constituants étaient l'oxyde de pipéritone (50.08 %) et la 2-isopropylidène-cyclohexanone (23.17 %), ces résultats diffèrent considérablement à ceux obtenus dans notre étude à cause de la modification des conditions d'extraction (pressions différentes).

Une autre étude réalisée par **Çelik et al., (2021)** sur *C. nepeta* récolté à Antalya-Finike, dans le sud-ouest de la Turquie, a identifié et quantifié un total de 35 composés, Le composant principal était le sabinène (34.2 %), suivi du β -pinène (25.9 %), de l' α -pinène (13.8 %) et de l'oxyde de caryophyllène. En comparaison, notre extrait présente ces composés à des concentrations nettement inférieures.

Tableau 8: Composition chimique de l'extrait hydro-éthanolique de *C. nepeta*.

Numéro	Composé	RT (min)	Aire (%)
1	α -Pinène	7.080	3.700
2	Camphène	7.520	4.295
3	Sabinen	8.250	1.388
4	β -Pinène	8.360	2.578
5	β -Myrcène	8.755	1.669
6	3-Octanol	8.875	3.023
7	Limonène	10.005	5.513
8	Menthone	14.345	8.044
9	Menthofurane	14.725	11.890
10	Bornéol	14.790	6.517
11	Pulégone	17.410	24.989
12	Pipériténone	20.755	6.536
13	Isomintlactone	21.430	3.572
14	(Z)-Jasmone	22.200	2.235
15	Caryophyllène	22.690	2.695
16	Germacrène D	23.915	4.747
17	γ -Élémène	24.205	6.606
			Total : 100 %

RT : Temps de rétention.

Ces résultats indiquent que la composition chimique de l'extrait de *C. nepeta* examinée diffère de celle des autres sources en raison de disparités qualitatives et quantitatives parmi les constituants individuels. Cette diversité dans la composition chimique peut être attribuée à plusieurs facteurs, notamment les parties spécifiques de plantes utilisées pour l'extraction, ainsi que les variations climatiques, géographiques et saisonnières (Božović et Ragno, 2017).

L'analyse chimique par GC-MS de l'extrait de *P. herba venti* (voir tableau n°9) a permis d'identifier cinq composés volatiles, représentant au total 99.95 % de sa composition. Cet extrait

est principalement riche en acide oléanolique et en acide bétulinique, avec un taux combiné de 98 %. Ils sont suivis par le β -sitostérol (1.21 %), le phytol (0.43 %) et le glycérol (0.31 %). Ces résultats montrent des différences considérables, tant qualitativement que quantitativement, par rapport aux compositions chimiques précédemment rapportées pour cette plante. En Iran, des analyses effectuées sur les huiles essentielles de *P. herba venti* ont révélé une prédominance de la népétalactone (45.24 %), du bis (2-éthylhexyle) phtalate (32.72 %) et du germacrène D (5.59 %) (Najjari et Fattahi, 2022). Par ailleurs, une étude réalisée par Khalilzadeh et al.(2008) sur les feuilles et les fleurs séchées de *P. herba-venti* L. subsp. *pungens* et subsp. *lenkoranica*, récoltées dans la province de Mazandaran, au nord de l'Iran, a également révélé une prédominance du germacrène D. La composition chimique de *P. herba-venti* varie en raison de plusieurs facteurs, tels que la variété de la plante, le climat, le sol, les pratiques de culture, le moment de la récolte et la méthode d'extraction (Azad et al., 2015).

Tableau 9: Composition chimique de l'extrait hydro-éthanolique de *P.herba venti*.

Numéro	Composé	RT (min)	Aire (%)
1	Glycérol	12.30	0.31
2	Inconnu	30.32	0.05
3	Phytol	32.10	0.43
4	Acide oléanolique + acide bétulinique	36.40	98.00
5	β -Sitostérol	48.59	1.21
			Total : 99.95%

RT : Temps de rétention.

5. Activités biologiques *in vitro*

5.1. Détermination de l'activité antioxydante

Les effets antioxydants de l'huile essentielle et des extraits de *C. nepeta* et *P. herba venti* sont évalués à l'aide de deux méthodes complémentaires à savoir le piégeage des radicaux libres par la méthode DPPH et la réduction du fer par la méthode FRAP.

5.1.1. Test de DPPH•

Dans ce test, l'évaluation de la capacité des espèces étudiées à piéger le radical libre DPPH a été réalisée en mesurant son absorbance et en suivant la cinétique de décoloration en présence de différentes concentrations d'extraits. Une diminution de l'intensité de la couleur du DPPH indique la présence de molécules anti radicalaires dans le milieu. Pour cette analyse, l'acide ascorbique a été utilisé comme standard de référence. Les résultats sont présentés dans les figures numéro 20, 21, 22 et 23 et les valeurs des IC₅₀ sont indiquées dans le tableau n°10. Il est reconnu qu'une valeur d'IC₅₀ plus faible indique une plus grande efficacité de l'extrait contre les radicaux libres.

Tableau 10 : Valeurs de la concentration inhibitrice 50 (µg/mL) des espèces étudiées et l'acide ascorbique obtenues par le test DPPH.

Echantillon	HE de <i>C.nepeta</i>	Extrait de <i>C.nepeta</i>	Extrait de <i>P.herba venti</i>	Ac. ascorbique
IC ₅₀ (µg/mL)	3772 ± 70	34.43 ± 1.26	36.34 ± 0.93	3.01 ± 0.08

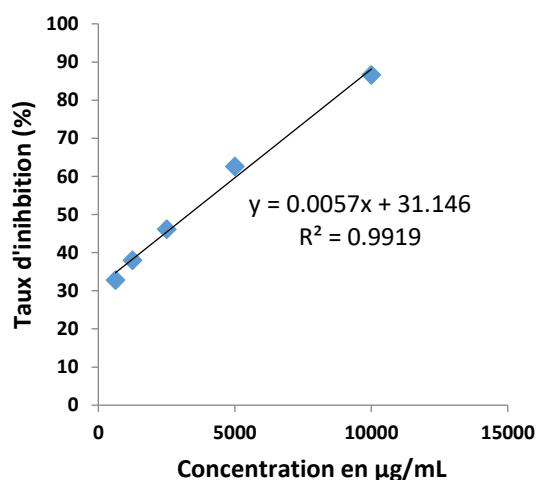


Figure 20 : Pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations variées de l'HE de *C.nepeta*.

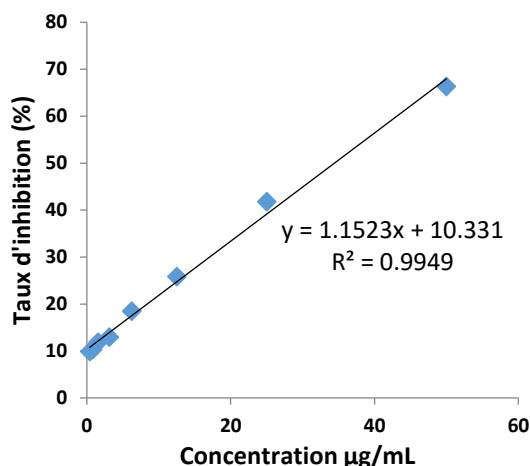


Figure 21: Pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations variées de l'extrait de *C.nepeta*.

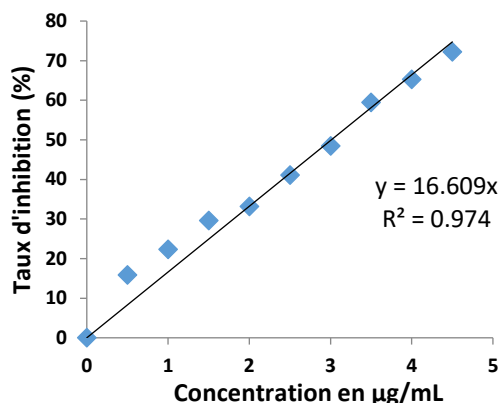


Figure 22: Pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations variées d'acide ascorbique.

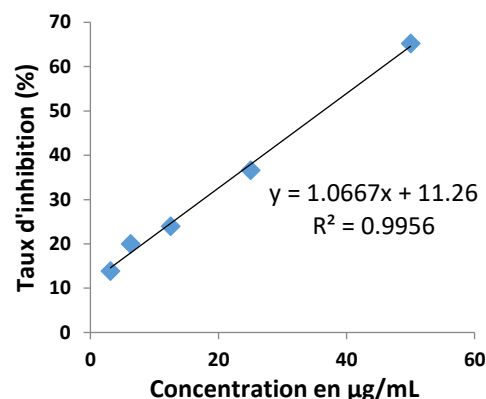


Figure 23: Pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations variées de l'extrait de *P.herba venti*.

La figure 20 illustre l'évolution des pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle de *C. nepeta*. À la concentration la plus faible de 625 µg/mL, l'huile a montré un pourcentage d'inhibition de 32.76 %, atteignant un maximum de 86.61 % à 10000 µg/mL. Ces résultats mettent en évidence l'activité antioxydante modérément faible de l'HE de *C. nepeta*, avec une valeur d'IC₅₀ de 3772 ± 70 µg/mL (tableau 10).

De même, le pouvoir antiradicalaire de l'acide ascorbique, considéré comme un antioxydant standard, a été évalué afin de le comparer à celui des extraits végétaux. Selon la figure 22, la réduction de l'absorbance du DPPH a été significativement plus importante pour l'acide ascorbique que pour les échantillons étudiés. À une concentration seulement de 3.5 µg/mL, le pouvoir inhibiteur (PI) a déjà atteint 50 %. Par ailleurs, une augmentation très prononcée a été observée, conduisant à un PI de 72.22 % avec une concentration 4.5 µg/mL. L'acide ascorbique a donc provoqué une réduction presque complète du DPPH, le transformant en sa forme non radicalaire DPPH-H. La capacité antioxydante de l'acide ascorbique s'est avérée nettement supérieure à celle des deux plantes étudiées dans les essais de piégeage du radical DPPH.

Ces résultats sont meilleurs que ceux estimés pour l'activité antioxydante de l'HE de *C. nepeta* collectée dans la région de Bejaia qui a montré un IC₅₀ de 8330 ± 370 µg/mL pour l'activité de piégeage DPPH (Khodja *et al.*, 2018). Cette différence peut expliquer l'influence des composés majoritaires notamment la pulégone (33.46%) sur la neutralisation et/ou

l'inhibition de la génération d'espaces réactifs de l'oxygène dans l'échantillon étudié dans leur enquête. Plusieurs études réalisées avec l'HE et l'extrait de *C. nepeta* ont confirmé l'efficacité de la pulégone dans sa capacité antioxydante (**Božović & Ragno, 2017**).

Des études récentes rapporté que les huiles essentielles de *C. nepeta* extrait par hydrodistillation, présentaient des valeurs nettement plus fort que celle enregistré dans notre étude avec un valeur de IC_{50} d'environ 23-24 $\mu\text{g/mL}$ par le test DPPH (**Brahimi et al., 2023**). Cela pourrait être dû à des différences dans la méthode d'extraction, l'origine géographique de la plante, les facteurs environnementaux ou les composés présents dans l'huile (**Kerbouche et al., 2013; Khodja et al., 2018**).

Les figures 21 et 23 illustrent l'augmentation des pourcentages d'inhibition de l'absorbance de la solution de DPPH en fonction des concentrations des extraits de *C. nepeta* et *P. herba-venti*. On observe que les extraits testés présentent une capacité antiradicalaire dose-dépendante. À la concentration de 3.125 $\mu\text{g/mL}$, les extraits de *C. nepeta* et *P. herba-venti* ont présenté des pourcentages d'inhibition respectifs de 14.27 % et 13.88 %, atteignant respectivement 66.33 % et 65.21 % à la concentration maximale de 50 $\mu\text{g/mL}$, avec une concentration inhibitrice 50 (IC_{50}) de $34.43 \pm 1.26 \mu\text{g/mL}$ et $36.34 \pm 0.93 \mu\text{g/mL}$.

L'extrait aqueux de *C. nepeta*, récolté de nord du Maroc, préparé par la méthode de macération a démontré modérément un faible piégeage des radicaux DPPH avec des valeurs IC_{50} d'environ $36.8 \pm 0.3 \mu\text{g/mL}$ (**Salhi et al., 2024**). Cette différence est due à la variation de la composition chimique dont plusieurs études ont examiné le potentiel antioxydant de pulégone, Menthofurane, Menthone, Limonène, α -Pinène et β -Pinène, en contribuant à la protection cellulaire contre le stress oxydatif et réduire l'oxydation des lipides et la synergie de ces composés contribue à son potentiel en tant qu'antioxydant naturel (**Alves et al., 2023; Salhi et al., 2024; Xiong et al., 2022**).

Par ailleurs, les extraits de *P. herba-venti* ont démontré leur capacité à réduire les marqueurs de stress oxydatif dans des modèles de côlon de rats isolés, en abaissant efficacement les niveaux de nitrites et de malondialdéhyde (MDA) (**Ferrante et al., 2019**). En outre, la capacité antioxydante de diverses espèces de *Phlomis* est attribuée à leur teneur élevée en composés phénoliques et en flavonoïdes, qui est cruciale pour piéger les radicaux libres. En comparaison avec d'autres espèces de *Phlomis*, les extraits méthanolique de *P.samia* et *P.sieheana* ont démontré des capacités antioxydantes compétitives, affirmant le potentiel plus large du genre *Phlomis* en tant que source d'antioxydants naturels avec IC_{50} de 50.17 ± 0.08

$\mu\text{g/mL}$ et $82.77 \pm 0.04 \mu\text{g/mL}$ respectivement (Eruygur *et al.*, 2022). De plus, les extraits méthanolique et aqueuse de *P. tuberosa* ont des valeurs IC_{50} de 30.14 et $693.15 \mu\text{g/mL}$ respectivement (Güven *et al.*, 2023).

5.1.2. Test du pouvoir réducteur (FRAP)

Dans ce test, la capacité antioxydante de l'huile essentielle et des extraits est mise en évidence par le changement de couleur du milieu, résultant de la réduction du fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}) l'intensité de cette couleur est mesurée et exprimée en densité optique, et elle est proportionnelle au pouvoir antioxydant des différents échantillons testés. Les résultats sont présentés dans les figures 24, 25, 26, et 27 et le tableau 11

Tableau 11 : Valeurs de la concentration efficace 50 ($\mu\text{g/mL}$) des espèces étudiées et l'acide ascorbique obtenues par le test FRAP.

Echantillon	HE de <i>C.nepeta</i>	Extrait de <i>C.nepeta</i>	Extrait de <i>P.herba venti</i>	Ac. ascorbique
EC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	544.6 ± 12	28.58 ± 1.39	29.41 ± 1.15	4 ± 0.18

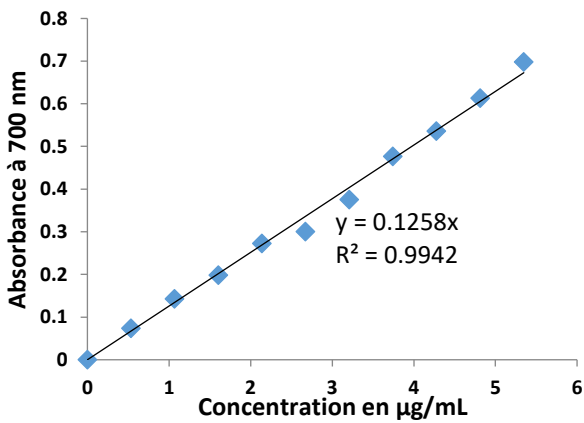


Figure 24 : Pouvoir réducteur du fer en fonction des concentrations variées d'acide ascorbique.

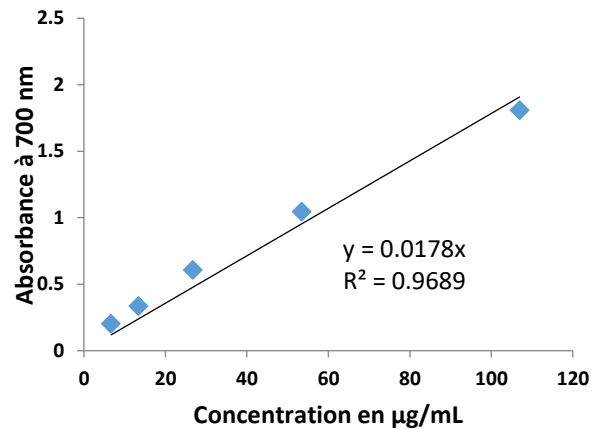


Figure 25: Pouvoir réducteur du fer en fonction des concentrations variées de l'extrait de *C.nepeta*.

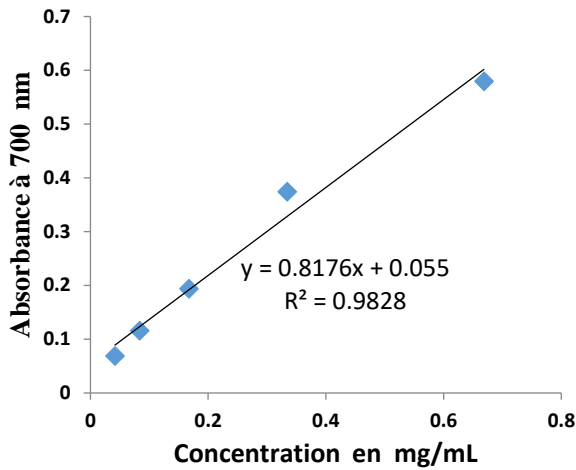


Figure 26: Pouvoir réducteur du fer en fonction des concentrations variées de l'HE de *C.nepeta*.

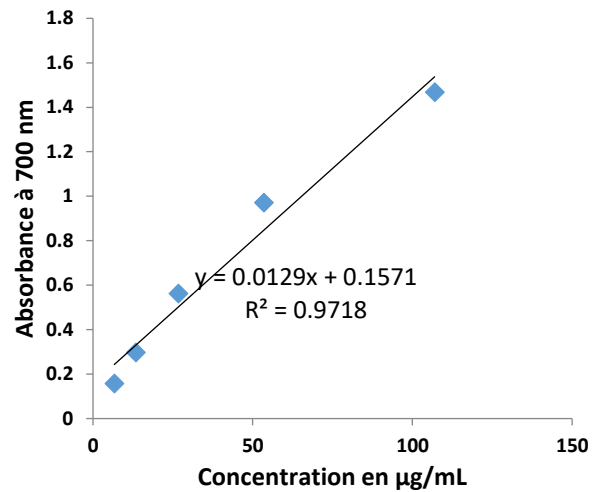


Figure 27: Pouvoir réducteur du fer en fonction des concentrations variées de l'extrait de *P. herba venti*.

La détermination de la concentration efficace (CE_{50}) des extraits, correspondant à une absorbance de 0.5, est essentielle pour évaluer leur potentiel antioxydant. Plus cette concentration est faible, plus l'extrait démontre un pouvoir antioxydant élevé.

La figure 26 illustre le pouvoir réducteur en fonction des différentes concentrations d'huile essentielle de *C. nepeta*. On observe que la DO la plus basse, de 0.06, a été obtenue à une concentration de 41.7 µg/mL, tandis que la DO la plus élevée, de 0.58, correspond à une concentration de 668 µg/mL. Ces résultats indiquent que l'huile essentielle possède un potentiel antioxydant modérément fiable, avec une CE_{50} de 544.6 ± 12 µg/mL.

Selon les figures 25 et 27, nous observons que le pouvoir réducteur des extraits, exprimé en absorbances, augmente proportionnellement avec les concentrations. L'effet antioxydant de l'extrait de *C. nepeta* est supérieur à celui de *P. herba-venti*. À la concentration la plus faible (6.68 µg/mL), l'extrait de *C. nepeta* présente une DO plus élevée que celui de *P. herba-venti*, avec des valeurs respectives de 0.203 et 0.158. À la concentration la plus élevée (106.95 µg/mL), les DO mesurées sont de 1.810 pour l'extrait de *C. nepeta* et de 1.469 pour l'extrait de *P. herba-venti*.

Par ailleurs, d'après les résultats présentés dans le tableau 11, la valeur de CE_{50} de l'acide ascorbique est de 3.01 µg/mL, tandis que celles des extraits de *C. nepeta* et de *P. herba-venti* sont respectivement de 28.58 µg/mL et 29.41 µg/mL. Ces résultats soulignent l'importance du pouvoir antioxydant des extraits hydro-éthanoliques des espèces étudiées.

Selon les résultats de **Salhi et al. (2024)**, la méthode d'extraction influence significativement l'activité antioxydante de la plante. En effet, l'extrait aqueuse de *C. nepeta* obtenus par décoction, infusion et macération, ont démontré un pouvoir de réduction des ions ferriques plus faible à celui de nos extraits avec des valeurs de EC₅₀ de 108.49 ± 2.42 mmol /100 g PS pour la décoction, 55.05 ± 0.65 mmol /100 g PS pour l'infusion et 55.31 ± 0.43 mmol /100 g PS pour la macération. Cela montre que la méthode de décoction permettant d'obtenir une concentration d'antioxydants plus élevée, et donc une meilleure capacité réductrice.

Par ailleurs, les études concernant le pouvoir réducteur de fer de *P. herba venti* sont très limité. En comparaisant avec des espèces de genre *Phlomis*, les extraits aqueuse, méthanolique et éthyle acétique de *P. armeniaca* ont été évalué pour sa capacité à réduire les ions ferriques à des valeurs de EC₅₀ de 96.58 ± 3.79 ; 87.08 ± 1.92 et 59.40 ± 3.79 mg/mL d'extrait, respectivement (**Sarikurkcu et al., 2015**). Ces résultats sont faibles lorsqu'en compare avec les résultats de notre étude.

5.2. Activité anti-inflammatoire *in vitro*

5.2.1. Test de dénaturation des protéines

Dans l'organisme vivant, les protéines dénaturées deviennent "étrangères" pour le système immunitaire déclenchant une réponse inflammatoire. Par exemple, dans certaines maladies auto-immunes, des protéines dénaturées peuvent être prises pour des agents pathogènes, provoquant une inflammation chronique alors qu'il n'y a pas d'infection réelle (**Paladino et al., 2023**).

Les résultats obtenus par le test d'inhibition de la dénaturation des protéines, qui sont présentés dans le tableau n°12, permettent de comparer l'efficacité de l'huile essentielle et des extraits de *C. nepeta*, de *P. herba venti* et du diclofénac. Ce test est couramment utilisé pour évaluer l'activité anti-inflammatoire potentielle des composés.

Tableau 12 : Valeurs de la concentration inhibitrice 50 (mg/mL) des espèces étudiées et Diclofénac obtenues par le test d'inhibition de la dénaturation des protéines.

Echantillon	HE de <i>C.nepeta</i>	Extrait de <i>C.nepeta</i>	Extrait de <i>P.herba venti</i>	diclofénac
IC ₅₀ (mg/mL)	9.82 ± 0.15	1.2 ± 0.01	16.19 ± 0.75	0.32 ± 0.004

Les résultats obtenus montrent que le diclofénac a la plus faible valeur d'IC₅₀, ce qui signifie qu'il est le plus efficace à inhiber la dénaturation des protéines. Cela est attendu puisqu'il est un médicament anti-inflammatoire connu et utilisé en clinique pour inhiber la réponse inflammatoire. Cette efficacité est attribuée à sa capacité à moduler les réponses inflammatoires et à protéger l'intégrité cellulaire.

L'extrait de *C. nepeta* présente une IC₅₀ relativement faible, ce qui montre une bonne efficacité anti-inflammatoire, bien qu'il ne soit pas aussi puissant que le diclofénac. En revanche, L'huile essentielle de *C. nepeta* est moins efficace dont sa valeur d'IC₅₀ est plus élevée, ce qui signifie qu'une concentration plus importante de l'huile est nécessaire pour inhiber la dénaturation des protéines. Cela peut indiquer que certains composants actifs se trouvent en plus grande concentration dans l'extrait que dans l'huile essentielle. Alors que, l'extrait de *P. herba venti* montre une IC₅₀ plus élevée, ce qui indique qu'il est le moins efficace.

Le genre *Phlomis* comprend plusieurs espèces de plantes médicinales qui ont été étudiées pour leurs propriétés anti-inflammatoires, y compris leur capacité à inhiber la dénaturation des protéines. En effet, les potentiels anti-dénaturation de plusieurs fractions de *Phlomis cashmeriana* montrent des valeurs anti-inflammatoires différentes (**Hussain et al., 2024**).

Calamintha vulgaris, a attiré l'attention pour ses propriétés médicinales, en particulier ses effets anti-inflammatoires. Des études *in vitro* ont démontré que les extraits méthanolique de *C. vulgare* inhibent de manière significative la dénaturation des protéines. L'efficacité de ces extraits peut varier en fonction des méthodes d'extraction (**Qureshi et al., 2024**).

5.3. Activité antimicrobienne

5.3.1. Étude de la sensibilité des souches aux agents antimicrobiens standards

Les résultats du tableau n°13 indiquent que les souches bactériennes et fongiques testées présentent des degrés de sensibilité différents aux agents antimicrobiens utilisés.

La classification des souches bactériennes en catégories « Sensible (S) », « Intermédiaire (I) » et « Résistante (R) » est établie par le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) (**CA-SFM, 2024**). Cette classification permet de caractériser le profil de sensibilité des souches étudiées et d'évaluer leur phénotype face aux agents antimicrobiens testés. Le chloramphénicol (C) présente une activité notable contre la majorité

des souches testées, avec des diamètres d'inhibition allant de 16.85 mm à 31.53 mm. Les valeurs les plus élevées sont observées contre *E. coli* (31.53 mm) et *B. subtilis* (26.5 mm), indiquant une forte sensibilité de ces souches. En revanche, des diamètres plus faibles sont enregistrés pour *B. cereus* 1 (18.55 mm) et *B. cereus* 2 (16.85 mm), suggérant une sensibilité modérée.

Les aminosides (Néomycine (N), Gentamicine (CN), Amikacine (AK), Tobramycine (TOB)) affichent une efficacité variable selon les souches. La gentamicine (CN) présente une bonne activité contre *B. subtilis* (29.14 mm), *P. mirabilis* (25.79 mm) et *E. coli* (27.03 mm), suggérant une forte sensibilité. En revanche, son efficacité est limitée contre *E. faecalis* (15.82mm). L'amikacine (AK) montre une efficacité plus faible contre *E. faecalis* (6.76 mm) et *K. pneumoniae* , indiquant une résistance de ces souches.

Les β -lactamines (Ampicilline (AMP), Pipéracilline (PRL), Carboxypénicillines (CAR), Oxacilline (OX)) présentent une efficacité réduite contre plusieurs souches, en particulier *E. faecalis*, *K. pneumoniae* et *E. coli*, avec des diamètres inférieurs à 10 mm, indiquant une résistance. L'ampicilline (AMP) est inefficace contre *E. faecalis* , *K. pneumoniae* et *E. coli* . La pipéracilline (PRL) présente une faible activité, avec des diamètres inférieurs à 10 mm pour plusieurs souches.

Les fluoroquinolones (Acide nalidixique (NAL), Norfloxacin (NOR)) sont globalement actives contre les souches testées, avec des zones d'inhibition élevées pour *E. coli* (33.29 mm pour la norfloxacin), *P. mirabilis* (33.40 mm), *B. subtilis* (28.06 mm) et *S. aureus* (19.39 mm). Cependant, une résistance marquée est observée contre *E. faecalis* pour le norfloxacin et l'acide nalidixique.

La tétracycline (Doxycycline (DOX)) montre une bonne activité contre *S. aureus* (29.30 mm) et *B. cereus* 1 (22.56 mm), suggérant une efficacité notable. En revanche, elle est peu active contre *E. faecalis* (10.72 mm) et *P. mirabilis* (8.68 mm), suggérant une résistance dans ces souches.

La sulfamide (Sulfaméthoxazole-triméthoprime (SXT)) présente une efficacité variable, fortement actif contre *B. subtilis* (26.33 mm), *S. aureus* (22.88 mm) et *E. coli* (25.41 mm). Complètement inefficace contre *E. faecalis* et *K. pneumoniae* .

La polymyxine B est modérément active contre *E. coli* (15.49 mm) et *P. aeruginosa* (16.73 mm), mais inefficace contre *S. aureus* (6.93 mm) et *E. faecalis*, suggérant une résistance intrinsèque de ces souches.

Pour la sensibilité aux macrolides et glycopeptides (Érythromycine (E), Vancomycine (VA)), L'érythromycine montre une efficacité modérée avec des diamètres variant entre 13.4 mm (*B. cereus* 1) et 22.44 mm (*B. subtilis*). La vancomycine présente une activité intéressante contre *E. faecalis* (17.11 mm) et *B. subtilis* (19.87 mm), mais reste peu active contre *B. cereus* 1 et *B. cereus* 2 (14-15 mm).

Concernant les agents antifongiques testés contre *Candida albicans* ATCC 10231, l'éconazole et clotrimazole ont exercés une forte inhibition avec des diamètres de 23.46 mm, et 21 mm successivement.

Les résultats de cette étude montrent que les antibiotiques les plus efficaces contre les bactéries testées sont les fluoroquinolones (norfloxacine, acide nalidixique), les aminosides (gentamicine, amikacine) et certaines β -lactamines (céphalosporines de 3^e génération). En revanche, une forte résistance est observée pour les β -lactamines classiques (ampicilline, pipéracilline, carboxypénicillines) contre plusieurs souches, en particulier *E. faecalis* et *K. pneumoniae*. L'efficacité des antifongiques contre *C. albicans* est confirmée, avec une sensibilité marquée au clotrimazole et à l'éconazole.

Tableau 13 : Etude de la sensibilité des souches aux agents antimicrobiens standards.

ATB	B.s	B.c 1	B.c2	S.a	E.f	K.p	P.m	E.c	P.a	C.a
C	26.5 ± 0.5	18.55 ± 0.78	16.85±0.01	23.92±0.01	21.22±1.18	23.69±0.3	17.55±0.2	31.53±0.83	-	-
	(S)	(I)	(I)	(S)	(S)	(S)	(I)	(S)		
N	22.72±0.15	20.43±0.43	22.19±0.35	20.80±0.22	9.58± 0.41	20.07±0.2	21.45±0.11	23.48±1.23	8.82± 0.1	-
	(S)	(S)	(S)	(S)	(R)	(S)	(S)	(S)	(R)	
PB	11.76±0.21	20.39±0.39	22.19±0.35	6.93±0.18	0	18.20±0.42	14.10±0.47	15.49±0.17	16.73± 0.5	-
	(R)	(S)	(S)	(R)	(R)	(S)	(I)	(I)	(I)	
CN	29.14±1.17	21.23±0.01	23.09±0.56	15.30±0.53	15.82±0.46	-	25.79±0.79	27.03±1.03	13.8± 0.2	-
	(S)	(S)	(S)	(I)	(I)		(S)	(S)	(R)	
CAR	9.47±0.23	-	-	9.79±0.10	0	0	11.18±0.48	0	-	-
	(R)			(R)	(R)	(R)	(I)	(R)		
DOX	19.34±0.12	22.56±0.54	19.21±0.63	29.30±0.05	10.72±0.39	15.44±0.48	8.68±0.38	20.23±0.05	-	-
	(S)	(S)	(S)	(S)	(R)	(I)	(R)	(S)		
SXT	26.33±0.65	0	0	22.88±0.45	26.42±0.90	0	22.14±0.56	25.41±0.99	-	-
	(S)	(R)	(R)	(S)	(S)	(R)	(S)	(S)		
E	22.44±1.13	13.4±1.11	21.9±0.03	18.82±0.20	12.57±0.45	-	-	-	-	-
	(S)	(I)	(S)	(I)	(I)					
OX	0	0	0	12.3±0.03	-	-	-	-	-	-
	(R)	(R)	(R)	(I)						
PRL	8.48±0.21	-	-	7.54±0.01	0	0	20.44±0.31	0	-	-
	(R)			(R)	(R)	(R)	(S)	(R)		

AMP	14.57±0.39 (I)	-	-	10.83±0.53 (R)	0 (R)	0 (R)	13.62±0.46 (I)	0 (R)	-	-
NAL	19.47±0.33 (S)	14±0.19 (I)	15.89±0.24 (I)	10.03±0.2 (R)	-	0 (R)	17.29±0.63 (I)	26.04±0.1 (S)	0 (R)	-
VA	19.87±0.68 (S)	14.02±0.18 (I)	15.61±0.13 (I)	17.12±0.54 (I)	17.11±0.70 (S)	-	-	-	-	-
TOB	24.52±0.50 (S)	15.47±0.365 (I)	13.56±0.2 (I)	18.67±0.58 (I)	12.67±0.07 (I)	0 (R)	20.35±0.38 (S)	21.19±0.21 (S)	20.52± 0.63 (S)	-
NOR	28.06±0.14 (S)	21.4±0.36 (S)	19.89±0.53 (S)	19.39±0.42 (S)	0 (R)	0 (R)	33.40±0.69 (S)	33.29±0.7 (S)	24.29± 0.69 (S)	-
AK	22.94±0.70 (S)	19.34±0.73 (S)	20.56±0.99 (S)	13.25±0.35 (I)	6.76±0.52 (R)	0 (R)	18.98±0.8 (I)	22.09±0.26 (S)	17.05± 0.37 (I)	-
Econ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	23.46± 0.35 (S)
Clo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21± 0.07 (S)
Mico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	18.05± 0.4 (S)

B.s : *Bacillus subtilis* ATCC6633, **B.c1** : *Bacillus cereus* ATCC10876, **B.c2** : *Bacillus cereus* ATCC11778, **S.a** : *Staphylococcus aureus* ATCC25923, **E.f** : *Enterococcus faecalis* ATCC29212 **P.a** : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, **K. p** : *Klebsiella pneumoniae* ATCC700603, **E.c** : *Escherichia coli* ATCC25922, **P.m** : *Proteus mirabilis* ATCC35659 ; **C.a** : *Candida albicans* ATCC10231.

AK : Amikacine (30µg), **CN** : Gentamycine (30µg), **NOR** : Norfloxacin (10µg), **C** : Chloramphénicol (30µg), **DOX** : Doxycycline (30µg), **TOB** : Tobramycine (10µg), **SXT** : Sulfaméthoxazole-Triméthoprim (25µg), **N** : Néomycine (30µg), **E** : Erythromycine (15µg), **PB** (100): Polymyxine B, **NAL** : Acide Nalidixique (30µg), **AMP** : Ampicilline (30µg), **OXA** : Oxacilline (1µg), **PRL** : Pipéracilline (30µg), **VA** : vancomycine (30µg), **CAR** : Carbénicilline (100µg), **Eco** : Econazole (100µg/mL), **Clo** : Clotrimazole (100µg/mL), **Mico** : Miconazole (100µg/mL). - : Non testé

5.3.2. Pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle de *C. nepeta*

➤ Technique de diffusion en milieu gélosé (méthode de Vincent)

Face à l'augmentation des agents pathogènes résistants aux antibiotiques, les extraits de plantes sont considérés comme de précieuses sources pour inhiber la croissance d'un large éventail de micro-organismes résistants.

Selon **Ponce et al., (2003)**, la sensibilité des souches est classée comme suit : non sensible (-) pour des diamètres inférieurs à 8 mm, sensible (+) pour 9 à 14 mm, très sensible (++) pour 15 à 19 mm et extrêmement sensible (+++) pour plus de 20 mm.

L'évaluation de l'effet antimicrobien de l'huile essentielle de *C. nepeta* a été réalisée par la méthode de diffusion sur disque, les résultats ont révélé une efficacité variable contre toutes les souches pathogènes testées (voir tableau 14). Les diamètres des zones d'inhibition de la croissance ont varié entre 10.2 et 37.12 mm. La souche la plus sensible était *Candida albicans* ATCC10231, tandis que les plus sensibles parmi les bactéries étaient *Klebsiella pneumoniae* ATCC700603, *Bacillus cereus* ATCC11778 et *Bacillus subtilis* ATCC6633., avec des diamètres de zones d'inhibition de 37.12 mm, 20.17 mm, 18.62 mm et 18.37 mm, respectivement. L'huile essentielle de *C. nepeta* a montré une activité comparable ou supérieure contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Gormez et al., (2015)**, qui n'ont pas révélé de différence significative de sensibilité entre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif pour l'huile essentielle de *C. nepeta* extraite en Turquie.

Plusieurs études ont révélé l'activité inhibitrice remarquable de diverses espèces de calament, confirmant leur efficacité contre une large gamme de microorganismes. **Kerbouche et al., (2013)** confirment que l'huile essentielle de *C. nepeta* possède un effet antimicrobien puissant contre un large éventail de microorganismes, dont les diamètres des zones d'inhibition obtenus pour *K. pneumoniae* ATCC 4352, *P. aeruginosa* ATCC 9027, *E. coli* ATCC 4157, *S. aureus* ATCC 653, et *C. albicans* ATCC 24433 sont respectivement de 19.66 mm, 10.33 mm, 16.33 mm, 20 mm et 11.3 mm. Ces résultats sont plus ou moins semblables à ceux trouvés dans notre expérimentation à l'exception de *C. albicans* ATCC 24433 semble beaucoup moins sensible par rapport à notre souche. Une autre étude faite par **Kitic et al., (2002)** a montré que *E. coli* (32 mm) et *S. aureus* ATCC 6538 (31 mm) étaient plus sensibles, tandis que *B. subtilis* (24,5 mm) et *P. aeruginosa* (21 mm) étaient légèrement résistants à l'huile essentielle. D'autre

part, un halo d'un diamètre plus grand que ceux obtenus avec notre huile contre *P. mirabilis* ATCC29906 (30.67 mm) et *E. coli* K12 (48.67 mm) a été observé par **Brahimi et al., (2023)**.

Tableau 14 : Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *C. nepeta* (aromatogramme).

Souches	Diamètres (mm)
<i>B. cereus</i> ATCC10876	17.18 ± 0.2
<i>B. cereus</i> ATCC11778	18.62 ± 0.83
<i>B. subtilis</i> ATCC6633	18.37 ± 0.22
<i>S. aureus</i> ATCC25923	17.21 ± 0.63
<i>E. fecalis</i> ATCC29212	12.29 ± 0.54
<i>E. coli</i> ATCC25922	16,45 ± 0.92
<i>P. aeruginosa</i> ATCC27853	10.2 ± 0.54
<i>K. pneumoniae</i> ATCC700603	20.17 ± 0.42
<i>P. mirabilis</i> ATCC35659	17.28 ± 0.54
<i>C. albicans</i> ATCC10231	37.12 ± 0.65

Toutes les valeurs (zone d'inhibition incluant le diamètre du disque de 6 mm) sont exprimées en moyenne de trois essais ± écart type ; ATCC : American Type Culture Collection

➤ **Détermination de la CMI et la CMB /CMF**

Les résultats de la détermination des concentrations minimales inhibitrices et des concentrations minimales bactéricides/fongicides de l'huile essentielle de *C. nepeta* sont exprimés dans le tableau 15. Les données révèlent que *C. nepeta* possède des propriétés antimicrobiennes contre tous les micro-organismes testés, avec une CMI variant de 0.937 à 3.75 µL/mL et une CMB allant de 0.937 à 15 µL/mL. La plus faible concentration a été enregistrée vis-à-vis la souche *C. albicans* ATCC10231, avec des valeurs de CMI et de CMB de 0.937 µL/mL. Par contre la sensibilité été moins importante chez *P. aeruginosa*, avec une CMI (3.75 µL/mL) et une CMB (15 µL/mL) respectivement.

Selon **Sbayou et al., (2014)**, un rapport CMB/CMI inférieur ou égal à 4 indique que l'agent antimicrobien est considéré comme bactéricide ou fongicide. En revanche, un rapport supérieur à 4 suggère un effet bactériostatique ou fongistatique. En se basant sur ce critère, l'huile essentielle de *C. nepeta* est classée comme bactéricide et/ou fongicide contre toutes les souches microbiennes testées. Nos résultats sont en accord avec ceux de travaux antérieurs, qui ont constaté une sensibilité particulière de *C. albicans* à l'huile essentielle de *C. nepeta* récoltée à

différents moments dans la région de Tarquinia en Italie avec des CMI variant de 0.78 à 1.56 mg/ml (**Božovic et al., 2017**). L'huile de *C. nepeta* récoltée au Portugal et en Sardaigne (Italie), a présenté une inhibition importante avec des valeurs de CMI de 2.5 et 1.25 µl/mL, respectivement (**Marongiu et al., 2010**). De plus, **Brahimi et al., (2023)** ont rapporté que l'huile essentielle de *C. nepeta* possède un pouvoir antimicrobien prometteur contre plusieurs souches bactériennes, à savoir *Staphylococcus aureus* ATCC6633, *Escherichia coli* K12, *Bacillus subtilis* DSM6333 et *Proteus mirabilis* ATCC29906, avec des valeurs de CMI variant entre 0.373 et 5.96 µg/mL. Les résultats obtenus par **Bouzidi et Kemieg, (2021)** corroborent les nôtres, indiquant que la souche de *P. aeruginosa* ATCC 27853 présente une sensibilité moindre par rapport aux autres souches testées, à savoir *C. albicans* ATCC 10231 et *S. aureus* ATCC 29273.

L'activité antimicrobienne d'une huile essentielle est étroitement liée à sa composition chimique, à sa configuration structurale et aux groupes fonctionnels des constituants principaux, ainsi qu'aux éventuelles interactions synergétiques entre ces derniers et les composants mineurs. Cela pourrait expliquer les variations observées au sein d'une même espèce provenant de régions différentes (**Dorman et Deans, 2000**). Toutefois, l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *C. nepeta* pourrait être attribuée à sa forte teneur en composés principaux, notamment la pulegone, l'isoborneol et la menthone. De nombreuses études ont démontré que ces composés possédaient des propriétés antimicrobiennes (**Ambrico et al., 2019; S. Arantes et al., 2017; Božović & Ragno, 2017; Marongiu et al., 2010; D. Wang & Shang, 2023**). Cependant, d'autres composants de l'huile pourraient également contribuer de manière synergique à l'effet antimicrobien global (**Garzoli et al., 2015**). Les composés monoterpéniques agissent en perturbant la membrane cytoplasmique microbienne, qui perd ainsi sa grande imperméabilité aux protons et aux ions. Si l'intégrité de la membrane est perturbée, ses fonctions sont compromises, non seulement en tant que barrière, mais aussi en tant que matrice pour les enzymes et en tant que transducteur d'énergie (**Božović et Ragno, 2017**).

Tableau 15: Valeurs de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et Bactéricide (CMB) ($\mu\text{L/mL}$) de l'huile essentielle de *C. nepeta*.

Microorganisme	CMI ($\mu\text{L/mL}$)	CMB ou	CMB ou	Activité
		CMF ($\mu\text{L/mL}$)	CMF/ CMI	
<i>B. cereus</i> ATCC10876	1.875	3.75	2	Bactéricide
<i>B. cereus</i> ATCC11778	1.875	3.75	2	Bactéricide
<i>B. subtilis</i> ATCC6633	0.937	1.875	2	Bactéricide
<i>S. aureus</i> ATCC25923	0.937	1.875	2	Bactéricide
<i>E. fecalis</i> ATCC29212	0.937	3.75	4	Bactéricide
<i>E. coli</i> ATCC25922	0.937	1.875	2	Bactéricide
<i>P. aeruginosa</i> ATCC27853	3.75	15	4	Bactéricide
<i>K. pneumoniae</i> ATCC700603	1.875	3.75	2	Bactéricide
<i>P. mirabilis</i> ATCC35659	1.875	3.75	2	Bactéricide
<i>C. albicans</i> ATCC10231	0.937	0.937	1	Fongicide

5.3.3. Pouvoir antimicrobien des extraits

➤ Technique de diffusion en milieu gélosée (méthode de Vincent)

L'activité antimicrobienne des extraits hydro-éthanoliques de *C. nepeta* et de *P. herba-venti* a été évaluée par la méthode de diffusion sur disque en milieu gélosé. Les résultats sont présentés dans le **tableau n°16** nous constatons qu'il y a une variabilité des diamètres des zones d'inhibition exprimés par les deux extraits vis-à-vis des souches testées.

Tableau 16 : Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits en fonction des souches testées.

Souches	Diamètre (mm)	
	Extrait de <i>C.nepeta</i>	Extrait de <i>P.herba venti</i>
<i>B. cereus</i> ATCC10876	13.34 \pm 0.68	14 \pm 0.68
<i>B. cereus</i> ATCC11778	12.35 \pm 0.63	17 \pm 0.85
<i>B. subtilis</i> ATCC6633	13 \pm 0.34	16 \pm 0.62
<i>S. aureus</i> ATCC25923	11.47 \pm 0.63	14.31 \pm 0.43
<i>K. pneumoniae</i> ATCC700603	9.85 \pm 0.85	12 \pm 0.26

<i>P. mirabilis</i> ATCC35659	15.24 ± 0.36	15 ± 0.46
<i>E. coli</i> ATCC25922	10.62 ± 0.41	10.14 ± 0.05
<i>E. faecalis</i> ATCC29212	10.56 ± 0.37	10 ± 0.07
<i>P. aeruginosa</i> ATCC27853	0	0
<i>C. albicans</i> ATCC10231	18.13 ± 0.25	11 ± 0.32

Toutes les valeurs (zone d'inhibition incluant le diamètre du disque de 6 mm) sont exprimées en moyenne de trois essais ± écart type ; ATCC : American Type Culture Collection.

Les diamètres des zones d'inhibition pour l'extrait de *C. nepeta* à une concentration de 100 mg/mL varient entre 9.85 mm et 18.13 mm. Les plus grandes zones d'inhibition ont été observées contre *C. albicans* ATCC10231 (18.13 mm), suivies de *P. mirabilis* ATCC35659 (15.24 mm), *B. cereus* ATCC10876 (13.34 mm), *B. cereus* ATCC11778 (12.35 mm) et *S. aureus* ATCC25923 (11.47 mm). En revanche, l'extrait a montré aussi une activité relativement faible contre les souches *K. pneumoniae*, *B. subtilis*, *E. coli* et *E. faecalis*, avec des diamètres des halos formés compris entre 9.85 mm et 11 mm.

Concernant l'extrait de *P. herba-venti* à une concentration de 625 mg/mL, les résultats montrent une bonne activité inhibitrice enregistrée contre *B. cereus* ATCC11778 (17 mm), *B. subtilis* ATCC6633 (16 mm), *P. mirabilis* ATCC35659 (15 mm), *B. cereus* ATCC10876 (14 mm), *S. aureus* ATCC25923 (14.31 mm) et *K. pneumoniae* ATCC700603 (12 mm). Cependant, l'effet inhibiteur exercé contre les souches *E. coli* ATCC25922, *E. faecalis* ATCC29212 et *C. albicans* ATCC10231 s'est révélé moins important. Les diamètres des halos formés étaient de 10,14 mm, 10 mm et 11 mm respectivement.

Les deux extraits ont montré une capacité d'inhibition sur milieu gélosé contre toutes les souches testées, à l'exception de *P. aeruginosa*, qui s'est révélée plus résistante. Toutefois, l'extrait de *C. nepeta*, qui a montré une activité significative à une concentration de 100 mg/mL, contrairement à *P. herba-venti*, dont l'activité a été observée à une concentration plus élevée de 625 mg/mL. **Markelova et Semenova (2017)** ont trouvé que les souches multirésistantes, telles que *Pseudomonas aeruginosa*, présentent des sensibilités différentes en fonction de leur constitution génétique.

Des recherches antérieures ont révélé que l'extrait de *C. nepeta* présente une activité antimicrobienne significative contre une large gamme de microorganismes (**Çelik et al., 2021**). D'après les travaux de **Benfreha et al., (2022)**, les extraits méthanolique et hydrométhanolique

de *C. nepeta* montrent une action inhibitrice contre *E. coli*, avec des diamètres d'inhibition allant de 8 à 27 mm pour l'extrait méthanolique et de 2 à 22 mm pour l'extrait hydrométhanolique, en fonction des concentrations testées (25, 50, 100 et 200 mg/mL). Une étude faite par **Labioud, (2016)**, dont les diamètres des zones d'inhibition obtenus lors du test de l'extrait méthanolique de *C. nepeta* sur les isolats de *S. aureus* et *K. pneumoniae* étaient respectivement de 18 mm et 20 mm, alors qu'aucune zone d'inhibition n'a été observée sur l'isolat d'*E. coli* ni sur les souches de référence *E. coli* ATCC25922, *K. pneumoniae* ATCC700603 et *S. aureus* ATCC25923. Une étude menée par **Bougandoura et Bendimerad, (2012)** a montré que l'extrait méthanolique possède une forte activité inhibitrice sur toutes les souches fongiques testées sur milieu gélosé, avec un pourcentage d'inhibition allant de 66.66 % pour *Fusarium oxysporum* à 87.5 % pour *Aspergillus flavus*. Ces résultats confirment nos propres résultats concernant la sensibilité de *Candida albicans*.

Concernant l'extrait de *P. herba-venti*, une investigation menée par **Gaamoune, (2017)** montre que l'activité antimicrobienne de l'extrait indique un faible pouvoir antibactérien contre *Staphylococcus aureus*, avec un halo d'inhibition de 7.67 mm. En revanche, aucune inhibition n'a été observée contre *E. coli*, *B. subtilis* et *C. albicans*. Ces résultats sont plus faibles par rapport aux nôtres. D'autres recherches menées sur le genre *Phlomis* ont révélé les propriétés antimicrobiennes de cette plante. **Sonmez et ses collaborateurs (2020)** ont démontré que l'extrait de *P. rigida* a montré une grande efficacité, présentant une zone d'inhibition de 16.33 mm contre *C. albicans*. Il a aussi démontré une efficacité significative pour empêcher la multiplication de *P. aeruginosa* avec une zone d'inhibition de 11.33 mm. Par contre, les halos détectés pour *E. coli* et *S. aureus* présentaient un diamètre moindre que celui observé dans notre extrait, présentant des zones d'inhibition de 8.33 mm. Une autre étude menée par **Shafiq et al., (2020)** a exhibé que les extraits éthanolique et aqueux de *Phlomis umbrosa* présentent une activité antibactérienne significative contre certains pathogènes cliniques hautement résistants, notamment *B. subtilis*, *S. aureus*, *S. pyogenes* et *S. enterica*, avec des zones d'inhibition variant de 5.9 mm à 22.6 mm pour l'extrait éthanolique et de 4.0 mm à 17.9 mm pour l'extrait aqueux, en fonction des différentes concentrations testées (20, 30, 40 et 50 mg/mL).

De manière générale, il a été constaté que l'inhibition de la croissance microbienne augmentait avec la concentration des extraits, les diamètres des zones d'inhibition variant selon les bactéries et les extraits. Ces variations dans l'activité antimicrobienne des extraits

s'expliquent par les différences dans leur composition chimique (Biyiti *et al.*, 2004; Ponce *et al.*, 2003).

➤ **Détermination de la CMI et la CMB /CMF**

Tableau 17 : Valeurs de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et Bactéricide (CMB) (mg/mL) de l'extrait de *C. nepeta* et *P. herba venti*

Souches	Extrait de <i>C.nepeta</i>				Extrait de <i>P.herba venti</i>			
	CMI	CMB	CMB ou CMF / CMI	Activité	CMI	CMB	CMB ou CMF/ CMI	Activité
<i>B. c1</i>	3.125	25	8	Bactériostatique	19.53	39.06	2	Bactéricide
<i>B. c2</i>	3.125	12.5	4	Bactéricide	9.76	19.52	2	Bactéricide
<i>B. s</i>	1.56	3.125	2	Bactéricide	9.76	39.06	4	Bactéricide
<i>S. a</i>	1.562	12.5	8	Bactériostatique	9.76	19.52	2	Bactéricide
<i>K.p</i>	6.25	25	4	Bactéricide	39.06	312.5	8	Bactériostatique
<i>P. m</i>	0.781	3.125	4	Bactéricide	9.76	39.06	4	Bactéricide
<i>E. c</i>	1.562	3.125	2	Bactéricide	78.12	156.25	2	Bactéricide
<i>E. f</i>	0.39	12.5	32.05	Bactériostatique	78.12	625	8	Bactériostatique
<i>C. a</i>	0.781	3.125	4	Fongicide	78.12	312.5	4	Fongicide

B.s : *Bacillus subtilis* ATCC6633, *B.c1* : *Bacillus cereus* ATCC10876, *B.c2* : *Bacillus cereus* ATCC11778, *S.a* : *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *E.f* : *Enterococcus faecalis* ATCC29212 *P.a* : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *K. p* : *Klebsiella pneumoniae* ATCC700603, *E.c* : *Escherichia coli* ATCC25922, *P.m* : *Proteus mirabilis* ATCC35659 ; *C.a* : *Candida albicans* ATCC10231.

Selon le tableau n° 17, il ressort que les extraits de *C. nepeta* et de *P. herba venti* ont inhibé la croissance de 9 souches testés, avec des concentrations variant entre 0.39 et 6.25 mg/mL et entre 9.76 et 78.12 mg/mL, respectivement . Concernant les valeurs de CMB et de la CMF, celles de l'extrait de *C. nepeta* se situent entre 3.125 et 25 mg/mL, tandis qu'elles varient entre 625 et 19.52 mg/mL pour l'extrait de *P. herba venti*.

Les concentrations minimales inhibitrices les plus faibles pour l'extrait de *C. nepeta* sont de 0.39 mg/mL contre *E. faecalis* et de 0.781 mg/mL contre *P. mirabilis* et *C. albicans*. La valeur de CMI la plus élevée pour cet extrait a été observée contre *K. pneumoniae*, avec 6.25 mg/mL. De même, la CMI la plus faible pour l'extrait de *P. herba-venti* a été observée contre *B. cereus* ATCC11778, *B. subtilis*, *S. aureus* et *P. mirabilis*, à 9.76 mg/mL, tandis que les valeurs les plus élevées ont été enregistrées contre *C. albicans*, *E. faecalis* et *E. coli* (78.12 mg/mL). L'évaluation des CMB et CMF a montré que l'extrait de *C. nepeta* possédait une CMB minimale de 3.125 mg/mL contre *C. albicans*, *E. coli*, *P. mirabilis* et *B. subtilis*. En revanche, l'extrait de *P. herba-venti* présentait une CMB de 19.52 mg/mL contre *B. cereus* ATCC11778 et *S. aureus*.

Les rapports CMB/CMI et CMF/CMI varient en fonction des extraits et des souches testées. Il a été démontré que l'extrait de *C. nepeta* exerce des effets bactéricides contre la majorité des germes testées, à l'exception de *B. cereus* ATCC10876, et *E. faecalis*, contre lesquelles il présente des effets bactériostatiques. L'extrait de *P. herba-venti* exerce des effets bactéricides et fongicide contre toutes les souches, sauf contre *E. faecalis* et *K. pneumoniae*, pour lesquelles il présente des effets bactériostatiques.

Nos résultats confirment les observations d'études précédentes concernant l'extrait de *C. nepeta*, pour lequel un pouvoir inhibiteur a été démontré contre *E. faecalis* ATCC 29212, *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922 et *B. cereus* 702 Roma, avec des CMI variant entre 119 et 955 µg/mL (Çelik *et al.*, 2021). Concernant *P. herba-venti*, Ferrante *et al.*, (2019) ont également démontré un effet inhibiteur contre *S. aureus* ATCC 6538, *E. coli* ATCC 10536, et *C. albicans* YEPGA 6183, avec une valeur de CMI égale à 4.76 mg/mL.

Les résultats obtenus indiquent que les extraits contiennent des substances phytochimiques dotées d'une activité à large spectre contre les souches microbiennes. Selon la caractérisation chimique décrite précédemment, l'activité antimicrobienne de l'extrait de *C. nepeta* peut être attribuée à sa richesse en monoterpènes oxygénés (63,78 %), principalement le pulégone (24,98 %). Plusieurs auteurs ont démontré que le pulégone et la pipériténone (Brandes *et al.*, 2024), le menthofurane, le bornéol et la menthone (Kolesnikova *et al.*, 2024), le γ -élémane (Fikri *et al.*, 2020), le α -pinène et le β -pinène (Bomfim de Barros *et al.*, 2023; Salehi *et al.*, 2019) ainsi que le limonène (Ribeiro *et al.*, 2023) présentent divers degrés d'efficacité contre différents agents pathogènes.

Concernant l'extrait de *P. herba-venti*, il est principalement riche en acide oléanolique et en acide bétulinique, qui représentent les composés majeurs avec un taux combiné de 98 %. **Wei et al., (2024)** ont montré que l'acide oléanolique possède des propriétés antimicrobiennes efficaces, avec des CMI variant entre 1 et 2 µg/mL contre les champignons et les bactéries multirésistantes aux médicaments. Par ailleurs, une autre étude réalisée par **Spivak et al., (2020)** a révélé que l'acide bétulinique inhibait la croissance de diverses souches bactériennes et présentait également une activité bactériostatique élevée contre *S. aureus* résistant à la pénicilline, avec des CMI aussi faibles que 0,25 µg/mL.

5.4. Activité antivirale de l'huile essentielle de *C. nepeta*

Les résultats de l'activité antivirale de l'huile essentielle sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 18 : Activité antivirale de l'huile essentielle de *C. nepeta* contre le virus de l'herpès simplex (HSV) et l'adénovirus de type 5 (Ad5).

Concentration de l'HE	Virus de l'Herpès Simplex	Virus Adénoviral de type 5
0.25 mg/ml	99 % de l'activité virucide	99 % de l'activité virucide
0.50 mg/ml	99.9 % de l'activité virucide	99.9 % de l'activité virucide

Les propriétés antivirales de l'huile essentielle de *C. nepeta* contre le virus de l'herpès simplex (HSV) et l'adénovirus de type 5 (Ad5) révèlent une efficacité notable. À une concentration de 0.5 mg/mL, l'huile essentielle a induit une réduction remarquable de 99.99 % de la réplication virale, tandis qu'à 0.25 mg/mL, une diminution significative de 99 % a été observée. Les tests de cytotoxicité n'ont montré aucun effet indésirable sur les cellules en culture à ces concentrations, ce qui suggère un profil de sécurité favorable. L'efficacité antivirale de l'huile essentielle de *C. nepeta* peut être attribuée à la diversité de ses composés chimiques, dominés par des monoterpènes oxygénés tels que la pulegone, l'isobornéol, la menthone, la pipériténone, le bicyclogermacrène et le caryophyllène. Ces composés ont démontré des activités antivirales dans des études antérieures. Par exemple, il a été prouvé que le bêta-pinène et le limonène bloquaient totalement l'infection par le HSV-1 (**Astani et Schnitzler, 2014**). **Chen et al., (2024)**; **Swamy et al., (2016)** ont révélé que l'isobornéol, un monoterpène, perturbe la glycosylation des protéines virales, tandis que l'oxyde de pipériténone agit sur les stades avancés du cycle de vie du HSV-1. La pulegone, un des principaux composants de l'huile essentielle de *C. nepeta*, a également montré une efficacité antivirale

contre divers virus, y compris le HSV-1, le virus de la pseudorange, le SARS-CoV-2 et le virus de la grippe (Chen *et al.*, 2024).

De plus, d'autres plantes de la famille des Lamiacées, telles que *Mentha suaveolens* et *Satureja thymbra*, ont présenté une activité antivirale contre le HSV-1, principalement due à leurs concentrations élevées en oxyde de pipériténone et en α -pinène, respectivement. Par ailleurs, des extraits aqueux et des huiles essentielles de *Zataria multiflora*, *Thymus daenensis* et *Thymus vulgaris* ont montré leur capacité à inhiber l'infection par les adénovirus dans des cultures cellulaires, suggérant un potentiel antiviral plus large au sein de la famille des Lamiacées (Bekut *et al.*, 2018; Sadari et Abbasi, 2011).

7. Activités biologiques *in vivo*

➤ Test de toxicité aiguë

Le test de toxicité orale aiguë n'a pas révélé de niveau d'effet nocif observé pour l'HE de *C. nepeta* chez les rats Wistar jusqu'à une dose de 5000 mg/kg. Toutefois, cette dose s'est avérée létale après 24 heures d'administration orale, entraînant l'apparition de certains symptômes cliniques, notamment des convulsions, une dyspnée et une salivation. Les résultats indiquent que l'HE de *C. nepeta* est classée dans la catégorie 5 (>2000-5000 mg/kg) avec une DL₅₀ de 2500 mg/kg. Une étude récente menée avec l'HE de *C. nepeta* chez des souris suisses a permis d'observer une dose de toxicité létale par voie orale de 1500 mg/kg (Arantes *et al.*, 2019). Comparé à d'autres espèces, un dépistage toxicologique de l'HE de *Calamintha officinal* a révélé une faible toxicité intrapéritonéale avec une DL₅₀ de 100 mg/kg (Monforte *et al.*, 2011). En effet, la toxicité orale aiguë d'un extrait brut de *Calamintha vulgaris* chez des souris Balb/c s'est avérée sûre jusqu'à une dose de 5 000 mg/kg (Khan *et al.*, 2018).

Au cours d'une période d'observation de 24 heures, aucun signe de toxicité aiguë a été observé lors de l'administration orale d'extraits hydro-éthanolique de *C. nepeta* et *P. herba venti* à des rats Wistar avec les doses de 50, 300, 2000 et jusqu'à 5000 mg/kg, y compris les changements de comportement, la mortalité ou coma.

Ce résultat confirme que les extraits hydro-éthanoliques ont généralement une toxicité plus faible que les huiles essentielles reposent sur les différences connues de composition chimique entre ces deux types d'extraits. Les huiles essentielles sont des composés volatils concentrés, souvent riches en monoterpènes et sesquiterpènes, dont certains sont connus pour être toxiques à fortes doses. Les extraits hydro-éthanoliques, quant à eux, contiennent une plus

large gamme de composés polaires, notamment des flavonoïdes, des composés phénoliques et d'autres composants non volatils, dont la toxicité aiguë est généralement plus faible (**Bakkali et al., 2008b**).

La présence de divers composés bioactifs dans les espèces de *Calamintha* suggère des avantages thérapeutiques potentiels sans toxicité significative (**Araniti, Lupini, Mercati, et al., 2013**). En effet, l'utilisation traditionnelle de *C. nepeta* indique que l'extrait hydro-éthanolique est probablement sans danger pour la consommation à petites doses, car il a été utilisé dans des tisanes ou comme complément (**González et al., 2010**).

Les données sur la toxicité aiguë de l'extrait de *P. herba-venti* sont très limitées. Toutefois, des études sur des espèces apparentées du genre *Phlomis* suggèrent que les extraits de la plante sont probablement sûrs aux doses médicinales traditionnelles. Dans le cadre d'études précliniques, la plupart des espèces de *Phlomis* ne sont pas associées à une toxicité significative lorsqu'elles sont administrées de manière aiguë (**Senol et al., 2018**)

7.1. Activité anti-inflammatoire *in vivo*

Il est important de noter que l'utilisation des plantes est courante dans les pratiques médicales traditionnelles en raison de la vaste gamme de composés bioactifs qu'ils contiennent et qui présentent des opportunités importantes pour la création ou le développement de nouveaux agents thérapeutiques anti-inflammatoires.

Dans ce cadre, la présente étude a permis d'élucider les propriétés anti-inflammatoires de trois échantillons différentes à partir de deux plantes en comparaison avec un anti-inflammatoire de référence, le diclofénac, sur des rats Wistar de laboratoire par le test de l'inflammation induite par la carragénine. Les résultats de cette étude sont présentés dans le tableau et les figures ci-dessous (Tableau 19 et 20 et figure 28 et 29).

Tableau 19 : Effet d'extrait de *C. nepeta* et *P. herba vent* sur l'œdème de la patte (mm) induit chez le rat par l'injection de la carragénine.

Traitement	Épaisseur de la patte (mm)					
	H1	H2	H3	H4	H5	H6
Contrôle	5.3 ± 0.55	5.41 ± 0.65	5.18 ± 0.40	4.79 ± 0.23	4.72 ± 0.19	5.01 ± 0.43

Standard	4.03 ±	3.89 ±	4.08 ±	3.99 ± 0.5*	3.81 ± 0.2*	3.75 ±
10 mg/kg	0.51**	0.29***	0.2***			0.23***
C. nepeta	4.16 ±	3.7±0.34***	3.78 ±	3.63 ±	3.64 ±	3.54 ±
200mg/kg	0.53**		0.29***	0.22***	0.23***	0.38***
C. nepeta	3,82 ±	4.48 ± 0.33*	4 .02 ±	3.38 ±	3.54 ±	3.42 ±
400mg/kg	0.43***		0.37***	0.58***	0.49***	0.33***
P. herba	4.29 ±	4.35 ±	4.00 ±	3.71 ± 0.26*	3.91 ± 0.14*	3.83 ±
200 mg/kg	0.25*	0.25**	0.33***			0.28***
P. herba	3.76 ±	3.8 ±	3.24 ±	3.44 ±	3.48 ±	3.64 ±
400 mg/kg	0.39***	0.46***	0.11***	0.33***	0.48***	0.35***

Les résultats sont exprimés en en moyenne ± écart-type. * p<0,05 différence significatif, ** p<0,01 différence très significatif, *** p<0,001 différence hautement significatif.

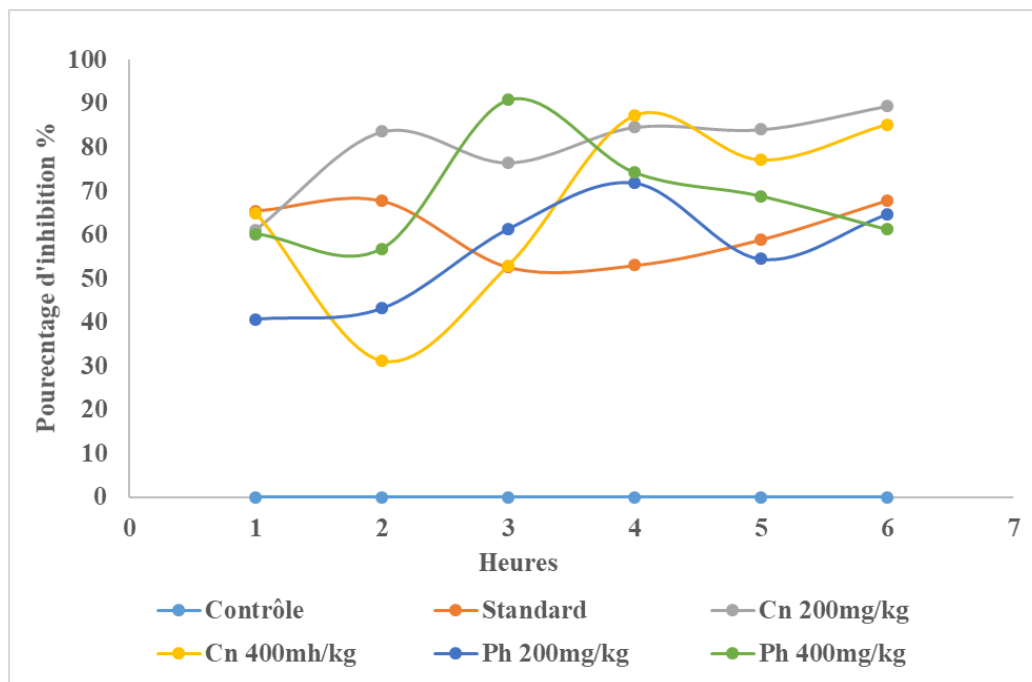


Figure 28 : Pourcentage d'inhibition (%) de l'œdème plantaire par les extrait de *C. nepeta* et *P. herba vent* induit par la carragénine chez les rats.

Les données présentées dans le tableau 19 et la figure 28 élucident l'impact des extraits de deux espèces botaniques sur l'inflammation des pattes induit par la carragénine chez les rats. Suite à l'injection de 1 % de carragénine dans la patte droite du groupe témoin, une augmentation progressive du volume de l'œdème plantaire est observée, atteignant sa valeur maximale (5.41±0.65 mm) après une durée de 2 heures. L'épaisseur de la patte reste relativement constante, avec une légère réduction entre la première heure (H1) et la sixième

heure (H6), mais sans amélioration significative. Cela indique que l'inflammation persiste naturellement avec peu de changement. Ce groupe a démontré une absence totale d'inhibition de l'inflammation pendant toute la durée de l'étude (0 % à tous les intervalles de temps). Le modèle d'œdème des pattes induit par la carragénine chez le rat est largement reconnu comme une méthodologie efficace pour évaluer le potentiel thérapeutique de nouveaux agents anti-inflammatoires et analgésiques (Amraoui *et al.*, 2022; Solanki *et al.*, 2015). De plus, le carragénine est un agent phlogistique couramment utilisé pour examiner les impacts des anti-inflammatoires non stéroïdiens, en raison de sa capacité à provoquer des réponses inflammatoires aiguës, caractérisée par la libération de cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-6 et le TNF α (Vazquez *et al.*, 2015).

En outre, à toutes les heures mesurées (H1 à H6), l'application préventive de diclofénac (10 mg/kg) a montré une réduction significative de l'œdème avec des niveaux de signification statistique variant de $p < 0.05$ à $p < 0.001$ à partir de la première heure dans les rats standard (4.03 ± 0.51 mm) par rapport au rats témoin (5.3 ± 0.55 mm). Ce traitement classique montre un taux d'inhibition initial modéré et constant, compris approximativement entre 50 et 60 %. Il est un peu plus efficace jusqu'à H4 ; mais il reste nettement moins efficace que les autres traitements. Ce résultat s'aligne sur plusieurs études qui soulignent l'efficacité du médicament dans la gestion de l'inflammation et de l'œdème (Özgüney *et al.*, 2006).

L'utilisation de l'extrait obtenus à partir de feuilles de *C. nepeta*, à dose de 200 mg/kg, a révélé une réduction hautement significative ($p < 0.001$) de l'œdème, commençant dès la première heure après l'injection de l'agent inflammatoire et se poursuit jusqu'à atteindre un minimum épaisseur à la sixième heure (de 4.16 ± 0.53 à 3.54 ± 0.38 mm). Les niveaux de signification statistique ($p < 0.01$ à $p < 0.001$) montrent que cet extrait est efficace pour réduire l'inflammation de manière comparable au traitement standard, surtout aux heures tardives (H4 à H6). Par ailleurs, 200 mg/kg de *C. nepeta* provoque une inhibition assez stable, atteignant environ 80 % à partir de H2 et maintenant jusqu'à H6. Cela indique une efficacité anti-inflammatoire satisfaisante dans les premières heures, avec une forte inhibition et relativement stable au fil du temps.

En revanche, à la dose plus élevée de 400 mg/kg de *C. nepeta*, l'effet anti-inflammatoire est moins marqué à la deuxième heure (4.48 ± 0.33 mm), avec une réduction moins efficace qu'à la dose de 200 mg/kg. Cependant, à partir de quatrième heure, la réduction est de nouveau significative avec une amélioration notable à H6 (3.42 ± 0.33 mm). Cela pourrait indiquer une

réponse non linéaire à la dose, où une dose plus faible de 200 mg/kg est plus efficace que la dose plus élevée dans certaines phases de l'inflammation. Le pourcentage d'inhibition est plus varié. Elle commence autour de 60 % à H1, augmente à plus de 80 % à H2, puis s'élargit légèrement pour atteindre 70 % à H6. Cela montre une efficacité initiale forte, mais un peu différent au fil du temps.

Le pouvoir anti-inflammatoire de l'extrait de *C. nepeta* semblent dépendre de la dose, avec une efficacité notable à 200 mg/kg et une diminution de l'effet à 400 mg/kg, ce qui indique que des concentrations plus élevées ne sont pas toujours synonymes d'une plus grande efficacité. Cette observation correspond aux résultats de diverses études sur les extraits de plantes, suggérant qu'un dosage optimal est crucial pour obtenir les résultats thérapeutiques souhaités. Ce phénomène peut être expliqué par divers mécanismes, tels que la saturation des récepteurs, ou des actions opposées sur certaines voies métaboliques. (Ríos *et al.*, 2000). Des études similaires sur d'autres extraits de plantes, comme *Kalanchoe crenata*, indiquent que des doses plus faibles produisent souvent de meilleures réponses anti-inflammatoires, dont l'inhibition maximale étant observée à 300-600 mg/kg (Dimo *et al.*, 2006).

Les effets anti-inflammatoires *C.nepeta* pourraient impliquer l'inhibition de cytokines et la modulation de la synthèse des prostaglandines, à l'instar des effets observés avec la curcumine et l'indométhacine (Buadonpri *et al.*, 2009). En particulier, il a été noté que l'extrait hydro-éthanolique de *C. nepeta* est capable d'inhiber la synthèse de COX-2 de 40.10 %. Cette inhibition est importante étant donné le rôle de la COX-2 dans l'inflammation et le cancer (Pacífico *et al.*, 2015). En plus, Il a été démontré que les acides gras de *Satureja Calamintha nepeta* modulent les réponses inflammatoires dans les macrophages stimulés par le lipopolysaccharide (LPS) en régulant à la baisse l'expression de NOX et de NF-kB (Obeidnejad *et al.*, 2024).

Selon notre analyse chromatographique de cette plante, plusieurs des composés identifiés sont connus pour leurs propriétés anti-inflammatoires. En effet, α -Pinène est connu pour inhiber des enzymes comme la COX-2 et la production de cytokines pro-inflammatoires (comme TNF- α , IL-6). Ces actions conduisent à une réduction des processus inflammatoires dans les tissus affectés (Neves *et al.*, 2010). De plus, le β -pinène inhibe la production de prostaglandines et d'autres médiateurs pro-inflammatoires (Salehi *et al.*, 2019). In addition, le caryophyllène agit principalement via l'activation des récepteurs CB2 du système endocannabinoïde, ce qui permet de réduire les réponses inflammatoires sans causer d'effets

secondaires (**Horváth et al., 2012; Jha et al., 2021; Maticchione et al., 2021**). Ces composés responsables de l'activité anti-inflammatoire observée dans cet extrait. Ils agissent de manière complémentaire pour réduire l'inflammation par divers mécanismes moléculaires, en inhibant la production de cytokines pro-inflammatoires (ex. IL-6, TNF- α), en régulant les enzymes clés de l'inflammation comme la COX-2 et la iNOS, et en activant les récepteurs CB2 pour une réduction systémique de l'inflammation.

À dose de 200 mg/kg, *P. herba venti* montre une réduction progressive de l'épaisseur de la patte, mais avec une réponse un peu moins efficace que *C. nepeta* et le traitement standard. Bien que les valeurs soient statistiquement significatives, l'inflammation reste légèrement plus élevée, surtout aux premières heures (H1 et H2). Cependant, à partir de H3, la réduction devient plus prononcée ($p < 0.001$), indiquant un effet anti-inflammatoire retardé. De plus, le traitement de *P. herba* à 200 mg/kg est plus instable. L'inhibition est forte à H2, mais elle diminue ensuite et change entre 60 % et 80 % pendant le reste de l'expérience. Ce traitement est efficace, mais il y a des effets variables sur l'inflammation.

En outre, l'administration de *P. herba venti* à la dose de 400 mg/kg montre une réduction très significative de l'œdème dès la première heure (H1 : 3.76 ± 0.39 mm) qui atteignant un pic d'inhibition de plus de 90 % à H3, suivi d'une légère diminution, mais il reste dans une plage élevée d'inhibition (entre 70 % et 90 % jusqu'à H6). Ce traitement semble être le plus efficace à toutes les heures mesurées, surtout avec des niveaux de signification $p < 0.001$ pour presque toutes les mesures. Cela suggère qu'à cette dose, *P. herba venti* présente une efficacité anti-inflammatoire très puissante et relativement soutenue dans le temps.

Des études ont montré que les extraits alcooliques de *Phlomis herba-venti* peuvent inhiber les marqueurs pro-inflammatoires tels que les nitrites et le malondialdéhyde (MDA) dans des modèles d'inflammation. Il s'est également avéré efficace contre certaines bactéries et certains champignons, ce qui suggère son rôle potentiel dans le traitement d'affections telles que la colite ulcéreuse en réduisant l'inflammation et le stress oxydatif. Ces résultats soulignent son potentiel en tant qu'agent anti-inflammatoire dans la gestion des troubles gastro-intestinaux (**Ferrante et al., 2019**). En effet, il a été démontré que les thérapies à base de plantes, y compris celles dérivées de *Phlomis*, réduisent l'activité inflammatoire et le stress oxydatif dans des modèles expérimentaux de colite (**Triantafi et al., 2016**).

Des investigations montre que, l'acide oléanolique, le composant majeur dans cette plante, inhibe la Phospholipase A2 sécrétoire (sPLA2), une enzyme cruciale dans les processus

inflammatoires, avec des valeurs IC50 allant de 3,08 à 7,78 μM , démontrant une efficacité concentration-dépendante ainsi son potentiel thérapeutique (**Dharmappa et al., 2009**).

De plus, l'acide bétulinique (BA) présente une activité anti-inflammatoire significative en inhibant les cytokines pro-inflammatoires et en modulant des voies telles que NF- κB et MAPKs, ainsi il réduit la sécrétion d'IL-6 dans les macrophages et présente une cytotoxicité moindre par rapport aux anti-inflammatoires traditionnels tels que la dexaméthone (**Adepoju et al., 2023; Szlasa et al., 2023**). Des études récentes soulignent ses propriétés thérapeutiques à multiples facettes, en particulier ses effets anticancéreux et antiviraux (**Banerjee et al., 2024; Nska et al., 2023**).

En outre, le β -sitostérol, un phytostérol important présent dans diverses plantes, présente des propriétés anti-inflammatoires significatives en modulant la production de cytokines. Les recherches indiquent que le β -sitostérol réduit efficacement les cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-6 et le TNF- α , en particulier dans les modèles d'inflammation induite par les lipopolysaccharides (**Fan et al., 2023**). Son mécanisme implique la promotion de l'autophagie, qui est cruciale pour ses effets anti-inflammatoires, comme en témoigne l'inhibition de l'autophagie qui annule ses avantages (**Chen et al., 2023**). En outre, le β -sitostérol améliore la polarisation des macrophages et l'angiogenèse, ce qui confirme son rôle dans l'inflammation et la réparation des tissus (**Liu et al., 2023**).

Globalement, *P. herba venti* à 400 mg/kg et *C. nepeta* à 200 mg/kg se démarquent comme les traitements les plus efficaces dans la réduction de l'inflammation, avec un pourcentage d'inhibition soutenu tout au long des six heures. Les résultats *in vivo* confirment en partie les observations faites *in vitro*.

Les résultats concernant l'épaisseur de la patte des rats et le pourcentage d'inhibition de l'inflammation induite par la carragénine dans les groupes traités par l'huile essentielle de *C. nepeta* par rapport au Diclofénac sont présentés dans le tableau 20 et la figure 29.

Tableau 20 : Effet de l'huile essentielle de *C. nepeta* sur l'œdème de la patte (mm) induit chez le rat par l'injection de la carragénine

Traitement	Épaisseur de la patte (mm)					
	H1	H2	H3	H4	H5	H6
Contrôle	5,73±0.55	6,51±0.65	5,61±0.40	5,26±0.23	5,09±0.19	6,45±0.43
Standard 10 mg/kg	4.36±0.14*	4.71±0.19***	4.1±0.18***	3.92±0.15***	3.86±0.28**	3.87±0.37***
<i>C. nepeta</i> 100mg/kg	4.74±0.25	4.81±0.21***	4.5±0.22***	4.32±0.27***	4.11±0.44**	4.24±0.90***
<i>C. nepeta</i> 200mg/kg	4.78±0.43*	4.80±0.52***	4.42±0.24***	4.20±0.32***	4±0.17***	4.10±0.33***
<i>C. nepeta</i> 400mg/kg	3.34±0.55**	4.59±0.30***	4.22±0.20***	3.97±0.50***	3.8±0.48***	3.75±0.43***

Les résultats sont exprimés en en moyenne ± écart-type. * p<0,05 différence significatif, ** p<0,01 différence très significatif, *** p<0,001 différence hautement significatif.

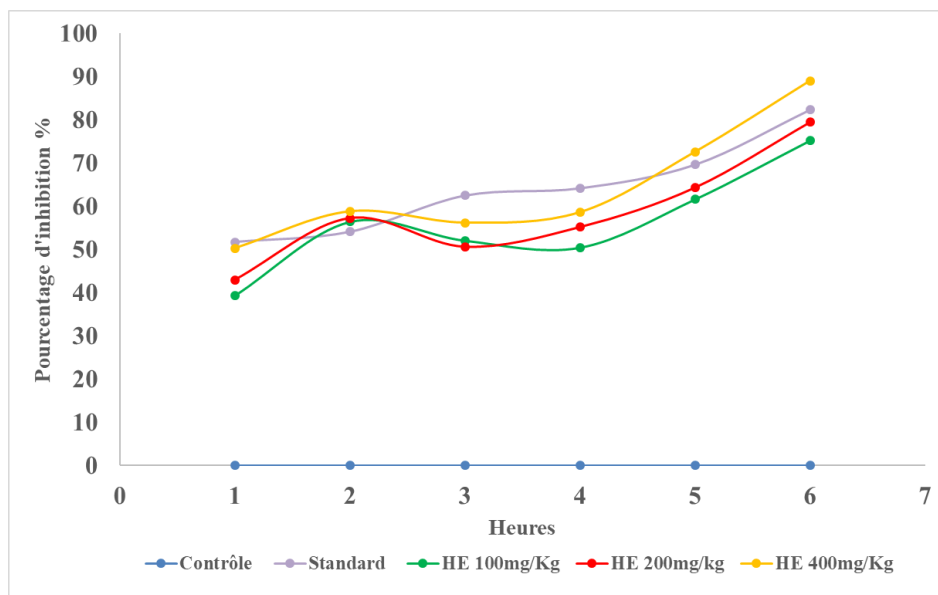


Figure 29 : Pourcentage d'inhibition (%) de l'œdème de la patte par l'huile essentielle de *C. nepeta* induit par la carragénine chez les rats.

Les résultats obtenus ont indiqué que l'administration d'huile essentielle de *C. nepeta* à des rats prétraités à différentes concentrations entraînait une réduction progressive de la taille de l'œdème des pattes après la deuxième heure d'inflammation, démontrant une différence très significative ($P < 0.001$) lorsqu'elle était juxtaposée au groupe témoin de rats. Après une durée de 6 heures, l'huile essentielle présentait des pourcentages d'inhibition de 75.17, 79.44 et 88.96 % à des doses respectives de 100, 200 et 400 mg/kg de poids corporel, alors que les rats traités au diclofénac ont présenté une réduction significative de l'œdème des pattes seulement après une période de 2 heures, atteignant un pourcentage d'inhibition maximal de 82.30 % au bout de 6 heures, l'efficacité antioédémique de l'huile essentielle de *C. nepeta* administrée à une dose de 400 mg/kg de poids corporel s'est révélée comparable à celle du diclofénac. L'administration d'huile essentielle de *C. nepeta* à des doses de 100, 200 et 400 mg/kg a entraîné une diminution marquée de l'œdème des pattes, de l'hyperalgésie thermique et de l'allodynie mécanique induits par l'injection de carragénine.

L'apparition d'un œdème des pattes induit par la carragénine représente une réaction inflammatoire biphasique (**Coruzzi et al., 2007; Karim et al., 2019**). Dans la phase initiale, qui s'étend de 0 à 150 minutes après l'administration de carragénine, il y a une libération d'histamine, sérotonine et bradykinine. Pendant la phase terminale, qui dure de 2 à 30 minutes et se prolonge jusqu'à 6 heures après l'administration de carragénine, les macrophages et les neutrophiles sont activés pour générer des radicaux libres, libérer des cytokines (notamment IL-1, IL-6, TNF- α et IL-10), s'infiltrer dans la région affectée, stimuler la cyclooxygénase (COX-2), synthétiser de l'oxyde nitrique et finalement produire des prostaglandines (**Bidian et al., 2022; Mekkaoui et al., 2022**). Les résultats ont indiqué que l'huile essentielle de *C. nepeta* présente un effet anti-inflammatoire prononcé contre l'œdème des pattes provoqué par la carragénine à une dose de 400 mg/kg en cas de juxtaposition avec du diclofénac et d'autres doses administrées (100 et 200 mg/kg).

Ce spécimen botanique a toujours été utilisé comme agent thérapeutique pour ses propriétés anti-inflammatoires et analgésiques dans le traitement des rhumes fébriles et des affections respiratoires (**Demirci et al., 2011**). Contrairement aux résultats d'une autre enquête, il a été déterminé que l'extrait méthanolique de *C. nepeta* présente une efficacité réduite dans l'atténuation de l'inflammation induite par le carragénine, démontrant un pourcentage d'inhibition de 49 % après une période de 3 heures à une dose de 200 mg/kg (**Smain et al., 2012**). La pertinence des propriétés anti-inflammatoires observées dans cette recherche peut être attribué à la présence de pulegone comme principal composé actif.

7.2. Activité antibactérienne *in vivo*

7.2.1. Résultats de l'examen bactériologique des urines

Après deux semaines de traitement, des échantillons d'urine sont collectés, et les rats sont sacrifiés. La présence de *Staphylococcus aureus* a été confirmée par l'ensemencement sur gélose au sang, mettant en évidence une hémolyse bêta caractéristique autour des colonies, ainsi que par une coloration de Gram révélant sa morphologie typique (figure 30).

Les analyses microbiologiques quantitatives (figure31) des urines montrent une diminution très significative du nombre de colonies dans les groupes traités avec l'huile essentielle à une dose de 50 mg/kg, par rapport au groupe témoin positif ($P < 0.01$). De plus, une diminution significative est également observée avec la dose de 25 mg/kg ($P < 0.05$). Une réduction du nombre de bactéries a également été observée dans le groupe d'animaux traités avec la céfalexine par rapport au témoin positif, bien que cette diminution ne soit pas statistiquement significative. La céfalexine est un antibiotique β -lactame de première génération, efficace contre diverses infections bactériennes, notamment celles dues aux staphylocoques et aux streptocoques. Couramment prescrite chez les adultes et les enfants, elle agit en inhibant la synthèse des peptidoglycanes, éléments essentiels de la paroi cellulaire bactérienne. Cette altération structurelle accroît la perméabilité membranaire, entraînant la destruction de la bactérie (Kanan *et al.*, 2023).

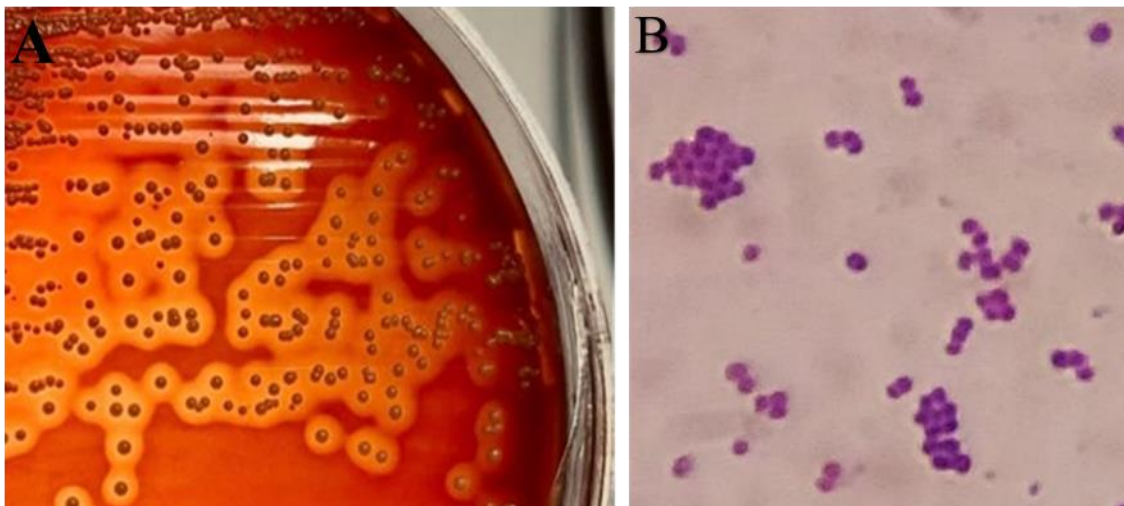


Figure 30 : Caractéristiques macro- et microscopiques de *Staphylococcus aureus* prélevé à partir des urines des rats. **A** : Hémolyse bêta de *Staphylococcus aureus*, **B** : Coloration de Gram.

L'activité anti-*Staphylocoque* est principalement attribuée à la présence de monoterpènes oxygénés, qui perturbent les membranes cellulaires bactériennes et inhibent la formation de biofilms. Plusieurs études *in vitro* ont rapporté l'efficacité de l'huile essentielle de *C. nepeta* contre *S. aureus*. Par exemple, **Kerbouche et al., (2013)** ont observé une zone d'inhibition de 40 mm et une CMI de 0,25 %, tout en identifiant une composition riche en monoterpènes oxygénés (97,4 %), avec le pulégone comme composé majeur (39,5 %). Une autre étude, réalisée par **(Brahimi et al., 2023)**, a également démontré la sensibilité de *S. aureus* à l'huile essentielle de *C. nepeta*.

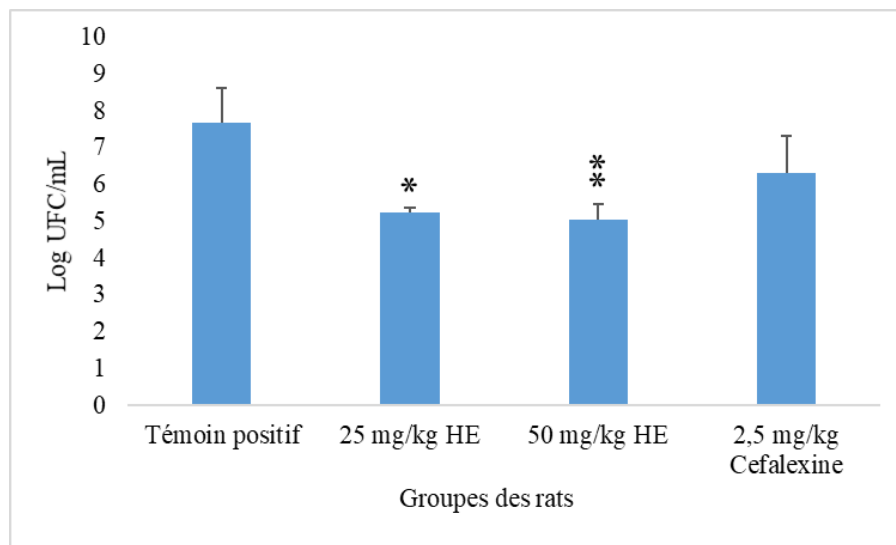


Figure 31 : Résultats bactériologiques quantitatifs de la culture urinaire.

7.2.2. Résultats histopathologies du vagin

Les résultats histopathologies du vagin des différents groupes sont présentés dans la figure 32. L'examen microscopique du vagin du groupe témoin (Figure 32 A) a montré une architecture normale de la paroi vaginale, formée d'un épithélium pavimenteux stratifié non kératinisé reposant sur une lame basale, avec un stroma de tissu conjonctif sous-jacent contenant des fibroblastes et des vaisseaux sanguins. Cette architecture est cruciale pour diverses fonctions physiologiques, notamment la protection et la lubrification **(Kırıcı et al., 2021; You et al., 2020)**.

L'infection vaginale à *S. aureus* a sérieusement affecté la morphologie de tissu (Figure 32 B et C). Un épaissement de l'épithélium de revêtement, l'apparition d'une couche de kératine avec la présence de débris tissulaires nécrotiques ont été observés dans la couche

épithéliale, associée à une infiltration inflammatoire neutrophiles dans le tissu conjonctif et congestion des vaisseaux sanguins.

Il est clairement établi qu'une augmentation de l'épaisseur de la couche épithéliale est d'une importance fondamentale dans l'évolution de l'infection, car elle réduit la desquamation des cellules épithéliales superficielles. Cette augmentation de l'épaisseur de la couche épithéliale est due à un gonflement, essentiellement des cellules de la couche intermédiaire, à une augmentation du nombre de ces cellules et à une augmentation de la quantité de la matrice intercellulaire (McCracken *et al.*, 2021). Néanmoins, quelques études fournissent des informations sur la couche de kératine et la nécrose dans le vagin infecté, ce qui pourrait être témoin de réactions inflammatoires graves, souvent liées à une infiltration inflammatoire neutrophiles qui participe à la défense contre diverses bactéries pathogènes (ElFeky *et al.*, 2023).

Le traitement avec la céfalexine à la dose de 2.5 mg/kg pendant une période de 15 jours a montré une diminution de certaines altérations et lésion tissulaire (Figure 32 D). Une épaisseur de l'épithélium normale et similaire au contrôle sans l'apparition de couche de kératine et une réduction de l'infiltrat inflammatoire dans le tissu conjonctif ont été observés dans le tissu vaginal.

Des études indiquent que la céfalexine peut améliorer de manière significative les marqueurs inflammatoires et l'intégrité des tissus, ce qui suggère son potentiel dans le traitement des infections vaginales en réduisant l'inflammation et les lésions tissulaires et restaurer l'épaisseur normale de l'épithélium au fil du temps (Dehpahni *et al.*, 2021; Kanan *et al.*, 2023).

Cependant, l'observation microscopique de groupe traité avec l'huile essentielle de *Calamintha nepeta* à la dose de 25 mg/kg (Figure 32 E) a montré une amélioration partielle des dommages tissulaires occasionnés lors de l'installation de *S. aureus*, y compris l'épaississement de l'épithélium de revêtement, l'apparition de la couche de kératine avec les débris tissulaires, et l'infiltration de neutrophiles dans le stroma. Les images histologiques ont montré que le tissu vaginal reste endommagé y compris l'apparition des cellules inflammatoires dans le tissu conjonctif.

En revanche, la dose de 50 mg/kg de l'huile essentielle de *C. nepeta* a été capable de rétablir tous les dommages tissulaires induits par *S. aureus* à l'état physiologique normale, ainsi que d'inhiber sa croissance (Figure 32 F). Les coupes histologiques présentaient une épaisseur

normale de l'épithélium avec la disparition complète de la couche de kératine et l'inflammation dans le tissu.

C. nepeta a des implications potentielles dans le traitement des infections, y compris celles causées par *S. aureus*. Les recherches indiquent que son huile essentielle, principalement composée de pulégone, présente des activités biologiques significatives, notamment des effets antimicrobiens (**Božović & Ragno, 2017**). Selon la composition chimique, l'huile essentielle de *C. nepeta* est principalement composée de monoterpènes oxygénés, avec le pulégone comme composé majeur. Ce dernier possède des propriétés anti-inflammatoires qui pourraient moduler la réponse inflammatoire en réduisant l'infiltration leucocytaire et les dommages tissulaires (**Roy et al., 2018**). **Farhanghi et al., (2022)** ont démontré que le pulégone présente une forte activité antibactérienne contre des agents pathogènes tels que *S. aureus*, avec une CMI de 5.85 µL/mL. Le composant principal peut ne pas être le seul responsable de l'activité antimicrobienne, mais un effet synergique peut se produire avec d'autres composants en agissant ensemble pour renforcer l'activité antimicrobienne de l'huile, notamment, la menthone et le menthol, qui contribuent à son efficacité contre divers agents pathogènes (**Ambrico et al., 2019; Mastelic et al., 1998**).

Les mécanismes d'action associés à cette activité peuvent être dus à l'inhibition du métabolisme énergétique des agents pathogènes, à la perturbation des membranes cellulaires procaryotes (**Araniti, Lupini, Mercati, et al., 2013; Marongiu et al., 2010; Negro et al., 2013**).

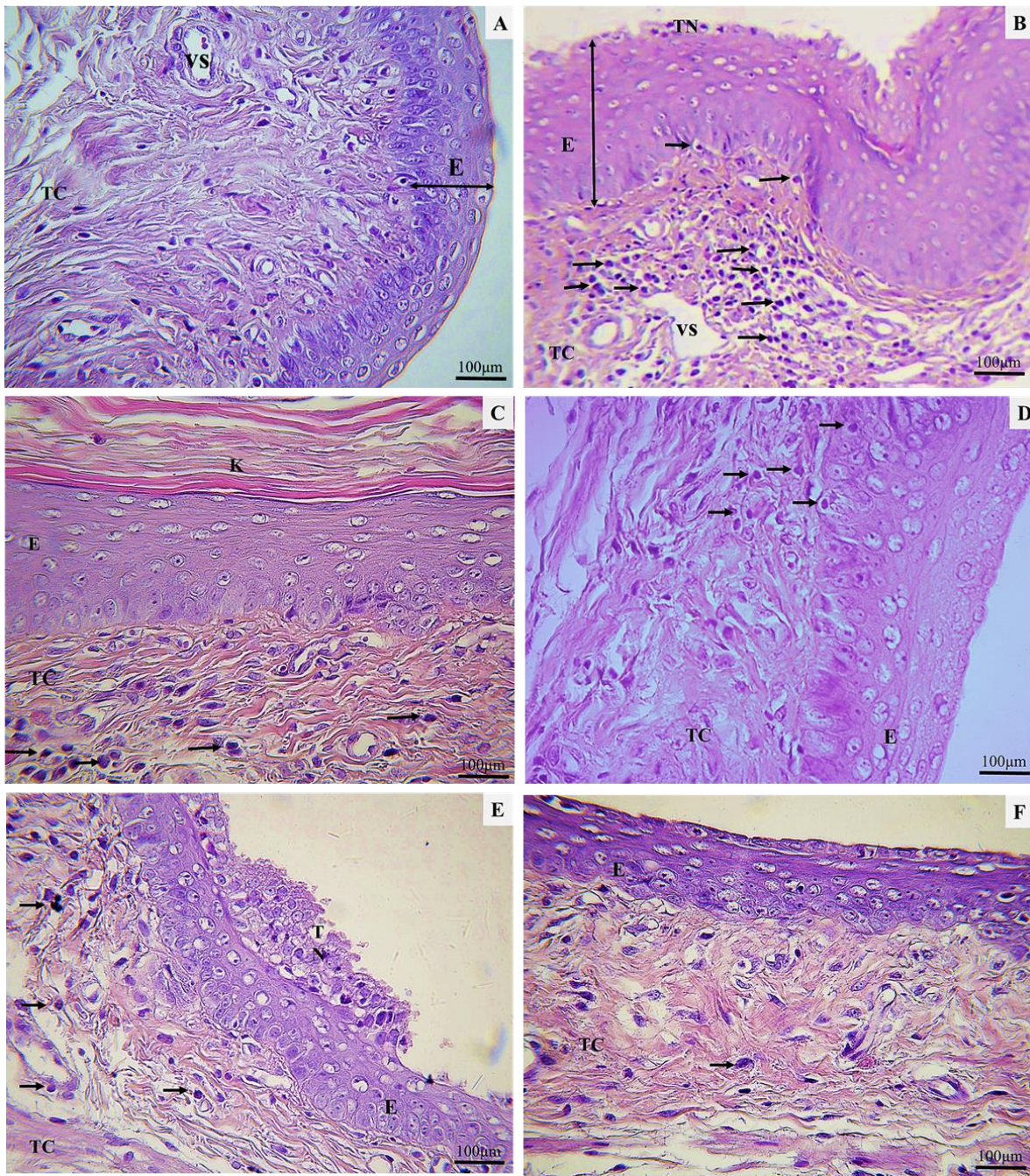


Figure 32 : Coupes histologiques du tissu vaginal. **A :** groupe témoin négatif, **B et C :** groupe infecté par *Staphylococcus*, **D :** groupe infecté par *Staphylococcus* et traité par la céfalexine, **E :** groupe infecté par *Staphylococcus* et traité par 25 mg/kg de *Calamintha nepeta*, **F :** groupe infecté par *Staphylococcus* et traité par 50 mg/kg de *Calamintha nepeta*. **E :** épithélium, **VS :** vaisseaux sanguins, **TC :** tissu conjonctif, **TN :** tissu nécrotique.

Conclusion et perspectives

En Algérie, la médecine conventionnelle occupe toujours une place prépondérante au sein de la population. Cependant, l'utilisation de la flore médicinale à des fins thérapeutiques demeure très répandue en raison de ses nombreux bienfaits. Cette recherche vise à approfondir le profilage phytochimique, la valorisation et l'évaluation des propriétés biologiques des huiles essentielles et des extraits hydro-éthanoliques de *Calamintha nepeta* et de *Phlomis herba-venti*.

Avant d'explorer leurs activités biologiques, un criblage phytochimique a été réalisé pour identifier les principales classes de métabolites présentes dans ces deux espèces. Les tests phytochimiques, basés sur des réactions de caractérisation, ont révélé la présence de polyphénols, tanins, alcaloïdes, flavonoïdes, glucides, coumarines, quinones et terpénoïdes dans les extraits de *P. herba-venti* et *C. nepeta*.

L'extraction de l'huile essentielle de *C. nepeta* et des extraits hydro-éthanoliques de *C. nepeta* et *P. herba-venti* a donné des rendements respectifs de 2.32 %, 12.33 % et 17.51 %. L'analyse de ces extraits par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse a révélé que les principaux composés de l'huile essentielle de *C. nepeta* étaient le pulégone (58.36 %) et l'isobornéol (10.40 %). Pour l'extrait, les composés majeurs incluaient également le pulégone (58.36 %), la menthone (8.91 %), le menthofurane (11.89 %) et la menthone (8.04 %). Concernant l'extrait de *P. herba-venti*, les principaux composés étaient l'acide oléanolique et l'acide bétulinique (98 %), ainsi que le β -sitostérol (1.21 %).

L'analyse quantitative des extraits hydro-éthanoliques de *C. nepeta* et *P. herba-venti* a mis en évidence une richesse notable en polyphénols (230.16 ± 3.32 et 206.33 ± 4.19 mg EAG/g d'extrait), en flavonoïdes (29.44 ± 0.13 et 19.31 ± 0.26 mg EQ/g d'extrait) et en tanins (0.07 ± 0.004 et 0.14 ± 0.03 mg EC/g d'extrait), respectivement.

L'activité antioxydante des deux espèces étudiées a été évaluée par la technique du piégeage du radical libre DPPH et le pouvoir réducteur. Les résultats obtenus ont montré une forte capacité antioxydante pour les extraits de *C. nepeta* et *P. herba-venti*, avec des IC_{50} de 34.43 et 36.34 μ g/mL et des EC_{50} de 28.58 et 29.41 μ g/mL, respectivement. En revanche, l'huile essentielle de *C. nepeta* a présenté un potentiel antioxydant modérément faible ($IC_{50} = 3\,772 \pm 70$ μ g/mL ; $EC_{50} = 544.6 \pm 12$ μ g/mL).

L'effet antimicrobien a été évalué par la méthode de diffusion sur disque, révélant un fort pouvoir inhibiteur de l'HE de *C. nepeta*, avec des diamètres de zones d'inhibition variant entre 10.2 et 37.12 mm. Les souches les plus sensibles étaient *Candida albicans* ATCC10231,

Klebsiella pneumoniae ATCC700603, *Bacillus cereus* ATCC11778 et *Bacillus subtilis* ATCC6633. L'utilisation de la méthode de microdilution en milieu liquide a permis de déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI), bactéricides (CMB) et fongicides (CMF), avec des valeurs allant de 0.937 à 3.75 $\mu\text{L}/\text{mL}$ pour la CMI et de 0.937 à 15 $\mu\text{L}/\text{mL}$ pour la CMB et la CMF.

L'administration orale des extraits à des rats Wistar, à des doses croissantes, n'a révélé aucune toxicité, à l'exception de l'HE de *C. nepeta*, classée dans la catégorie toxique avec une DL_{50} de 2500 mg/kg. L'évaluation de l'effet anti-inflammatoire a montré des réductions significatives de l'œdème de la patte, avec un pourcentage d'inhibition maximal enregistré pour l'HE de *C. nepeta* (88.96 %) à la dose de 400 mg/kg. Enfin, l'étude de l'activité anti-staphylococcique *in vivo* à la dose de 50 mg/kg de l'huile essentielle de *C. nepeta* a montré qu'elle était capable de rétablir toutes les lésions tissulaires induites par *S. aureus* à un état physiologique normal, ainsi que d'inhiber sa croissance. Les coupes histologiques ont révélé une épaisseur normale de l'épithélium, avec une disparition complète de la couche de kératine et une réduction de l'inflammation dans le tissu.

Cette étude apporte des informations précieuses, démontrant que *C. nepeta* et *P. herba-venti* possèdent un potentiel antioxydant, antimicrobien et anti-inflammatoire. Elle valide également leur usage traditionnel et ouvre la voie à des recherches futures, notamment :

- Le fractionnement des extraits pour identifier les molécules bioactives responsables des activités biologiques, à l'aide de la chromatographie liquide haute performance (HPLC) et d'autres techniques avancées.
- L'évaluation *in vitro* et *in vivo* de l'effet antioxydant de chaque composé phénolique isolément, afin d'identifier les principes actifs et les synergies potentielles.
- L'exploration des mécanismes d'action et des interactions entre les divers composés chimiques des extraits.
- L'investigation d'autres activités biologiques, telles que leur impact sur l'inflammation chronique et leur potentiel anticancéreux par le biais de tests de cytotoxicité.

Références Bibliographiques

- A. Zeynalova, S. (2018).** Chemical Composition of the Essential Oil From *Calamintha Nepeta* (L.) Savi Plants Growing in the Flora of Azerbaijan. *Plant & Fungal Research*, 1(1), 62–68. <https://doi.org/10.29228/plantfungalres.9>
- Abdelli, W., Sysak, A., Bahri, F., Szumny, A., Pawlak, A., & Obmińska-Mrukowicz, B. (2019).** Chemical composition, antimicrobial and cytotoxic activity of essential oils of algerian *Thymus vulgaris* L. *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*, 76(6), 1051–1059. <https://doi.org/10.32383/appdr/112477>
- Adepoju, F. O., Duru, K. C., Li, E., Kovaleva, E. G., & Tsurkan, M. V. (2023).** Pharmacological potential of betulin as a multitarget compound. *Biomolecules*, 13(7), 1105.
- AFNOR (Association Française de Normalisation). (2000).** *A.F.N.O.R, les huiles essentielles. Monographie relative aux huiles essentielles, Paris.*
- Afzal, S., Abdul Manap, A. S., Attiq, A., Albokhadaim, I., Kandeel, M., & Alhojaily, S. M. (2023).** From imbalance to impairment: the central role of reactive oxygen species in oxidative stress-induced disorders and therapeutic exploration. *Frontiers in Pharmacology*, 14(10), 1–22. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1269581>
- Agarwal, A., Mulgund, A., Sharma, R., & Sabanegh, E. (2014).** Mechanisms of oligozoospermia: An oxidative stress perspective. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, 60(4), 206–216. <https://doi.org/10.3109/19396368.2014.918675>
- Aggarwal, B. B., & Harikumar, K. B. (2009).** Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 41(1), 40-59.
- Aguilar-Veloz, L. M., Calderón-Santoyo, M., Vazquez Gonzalez, Y., & Ragazzo-Sánchez, J. A. (2020).** Application of essential oils and polyphenols as natural antimicrobial agents in postharvest treatments: Advances and challenges. *Food Science & Nutrition*, 8(6), 2555–2568.
- Ahmad, G., Almasry, M., Dhillon, A. S., Abuayyash, M. M., Kothandaraman, N., & Cakar, Z. (2017).** Overview and sources of reactive oxygen species (ROS) in the reproductive system. *Oxidative Stress in Human Reproduction: Shedding Light on a Complicated Phenomenon*, 1–16.
- Aitken, C., & Jeffries, D. J. (2001).** Nosocomial spread of viral disease. *Clinical Microbiology Reviews*, 14(3), 528–546. <https://doi.org/10.1128/CMR.14.3.528-546.2001>
- Akgül, A., De Pooter, H. L., & De Buyck, L. F. (1991).** The essential oils of *Calamintha*

- nepeta* subsp. *glandulosa* and *Ciziphora clinopodioides* from Turkey. *Journal of Essential Oil Research*, 3(1), 7–10. <https://doi.org/10.1080/10412905.1991.9697899>
- Akthar, M. S., Degaga, B., & Azam, T. (2014).** Antimicrobial activity of essential oils extracted from medicinal plants against the pathogenic microorganisms : A review. *Issues in Biological Sciences and Pharmaceutical Research*, 2(1), 1–7.
- Alan, S., Kürçüoğlu, M., & Can Baser, K. H. (2011).** Composition of essential oils of *Calamintha nepeta* (L.) savi subsp. *nepeta* and *Calamintha nepeta* (L.) savi subsp. *glandulosa* (Req.) P.W. ball. *Asian Journal of Chemistry*, 23(6), 2357–2360.
- Alan, S., & Ocak, A. (2009).** Taxonomical and morphological studies on the genus *Calamintha* Miller (Lamiaceae) in Turkey. *Biological Diversity and Conservation*, 1(1), 2–3.
- Alba, T. M., Tessaro, E., & Sobottka, A. M. (2021).** Seasonal effect on phenolic content and antioxidant activity of young, mature and senescent leaves from *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis (Basellaceae) | Efeito sazonal no conteúdo de fenólicos e ação antioxidante de folhas jovens, maduras e senescentes. *Brazilian Journal of Biology*, 84(12), 1–8.
- Albaladejo, R. G., Aguilar, J. F., Aparicio, A., & Feliner, G. N. (2005).** Contrasting nuclear-plastidial phylogenetic patterns in the recently diverged Iberian *Phlomis crinita* and *P. lychnitis* lineages (Lamiaceae). *Taxon*, 54(4), 987–998. <https://doi.org/10.2307/25065483>
- Ali-Rachedi, F., Meraghni, S., Touaiba, N., & Sabrina M. (2018).** Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa Atropurpurea* sub. *Maritima* L. Manuscrit. *Bulletin de La Société Royale Des Sciences de Liège*, 87(2), 13–21.
- Allahverdiyev, A., Duran, N., Ozguven, M., & Koltas, S. (2004).** Antiviral activity of the volatile oils of *Melissa officinalis* L. against Herpes simplex virus type-2. *Phytomedicine*, 11(7–8), 657–661.
- Allison, D. G., & Lambert, P. A. (2024).** Modes of action of antibacterial agents. In *Molecular medical microbiology* (597-614). Academic Press.
- Alves, N. M., Nunes, P. H. M., Mendes Garcez, A., Lima de Freitas, M. C., Oliveira, I. S., Silva, F. V. D., ... & Martins, M. D. C. D. C. E. (2023).** Antioxidant mechanisms underlying the gastroprotective effect of menthofuran on experimentally induced gastric lesions in rodents. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2023(1), 9192494.
- Ambrico, A., Trupo, M., Martino, M., & Sharma, N. (2019).** Essential oil of *Calamintha nepeta* (L.) Savi subsp. *nepeta* is a potential control agent for some postharvest fruit diseases. *Organic Agriculture*, 35–48. <https://doi.org/10.1007/s13165-019-00251-9>
- A Ambriz-Pérez, D. L., Leyva-López, N., Gutierrez-Grijalva, E. P., & Heredia, J. B.**

- (2016). Phenolic compounds: Natural alternative in inflammation treatment. A Review. *Cogent Food & Agriculture*, 2(1), 1131412.
- Amraoui, A., Bahri, F., & Wanner, J. (2022).** Chemical composition, anti-inflammatory and antimicrobial activity of algerian *Ammi visnaga* essential oil. *Plant Archives Journal*, 22(1), 249–254.
- Anand, U., Jacobo-Herrera, N., Altemimi, A., & Lakhssassi, N. (2019).** A comprehensive review on medicinal plants as antimicrobial therapeutics: Potential avenues of biocompatible drug discovery. *Metabolites*, 9(11), 1–13. <https://doi.org/10.3390/metabo9110258>
- Andújar, I., Recio, M. C., Giner, R. M., & Ríos, J. (2012).** Cocoa polyphenols and their potential benefits for human health. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2012(1), 906252.
- 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. <https://doi.org/10.1021/jf0603329>
- Angoue, M. T. A. A. (2020).** Prévalence des Infections nosocomiales dans 10 services du CHU du Point G. In *Thèse*. Bamako.Mali.
- Araniti, F., Lupini, A., Mercati, F., Statti, G. A., & Abenavoli, M. R. (2013).** *Calamintha nepeta* L. (Savi) as source of phytotoxic compounds: Bio-guided fractionation in identifying biological active molecules. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35(6), 1979–1988. <https://doi.org/10.1007/s11738-013-1236-7>
- Araniti, F., Lupini, A., Sorgonà, A., Statti, G. A., & Abenavoli, M. R. (2013).** Phytotoxic activity of foliar volatiles and essential oils of *Calamintha nepeta* (L.) Savi. *Natural Product Research*, 27(18), 1651–1656. <https://doi.org/10.1080/14786419.2012.746337>
- Arantes, M. S., Piçarra, A., Guerreiro, M., Salvador, C., Candeias, F., Caldeira, A. T., & Martins, M. R. (2019).** Toxicological and pharmacological properties of essential oils of *Calamintha nepeta*, *Origanum virens* and *Thymus mastichina* of Alentejo (Portugal). *Food and Chemical Toxicology*, 133(2). <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110747>
- Arantes, S., Piçarra, A., Candeias, F., Caldeira, A. T., Martins, M. R., & Teixeira, D. (2017).** Antioxidant activity and cholinesterase inhibition studies of four flavouring herbs from Alentejo. *Natural Product Research*, 31(1), 2183–2187. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1278598>
- Arce-Amezquita, P. M., Beltrán-Morales, F. A., Manríquez-Rivera, G. A., Cota-Almanza,**

- M., Elizabeth, Quian-Torres, A., & Peralta-Olachea, R. G. (2019).** Nutritional value of conventional , wild and organically produced fruits and vegetables available in Baja California Sur markets. *Terra Latinoamericana*, 37(4), 401–406.
- Arman, M., Payne, H., Ponomaryov, T., & Brill, A. (2015).** Role of platelets in inflammation. *The non-thrombotic role of platelets in health and disease*.
- Arnal-Schnebelen, B., Hadji-Minaglou, F., Peroteau, J. F., Ribeyre, F., & De Billerbeck, V. G. (2004).** Essential oils in infectious gynaecological disease: a statistical study of 658 cases. *International Journal of Aromatherapy*, 14(4), 192–197.
- Ashley, N. T., Weil, Z. M., & Nelson, R. J. (2012).** Inflammation: mechanisms, costs, and natural variation. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 43(1), 385-406.
- Astani, A., & Schnitzler, P. (2014).** Antiviral activity of monoterpenes beta-pinene and limonene against herpes simplex virus *in vitro*. *Iranian Journal of Microbiology*, 6(3), 149–155.
- Attaran, M., Pasqualotto, E., Falcone, T., Goldberg, J. M., Miller, K. F., Agarwal, A., & Sharma, R. K. (2000).** The effect of follicular fluid reactive oxygen species on the outcome of in vitro fertilization. *International Journal of Fertility and Women's Medicine*, 45(5), 314–320. <http://europepmc.org/abstract/MED/11092702>
- Averill-Bates, D. A. (2023).** The antioxidant glutathione. In *Vitamins and hormones* (Vol. 121, pp. 109-141). Academic Press.
- Azad, A. N., Hakimzadeh, V., Golmakani, E., & Quchan, I. (2015).** Phenolic contents and antioxidants activity from aerial parts of *Phlomis herba-venti* L. subsp. kopetdaghensis. *J. Appl. Environ. Biol. Sci*, 4(11S), 54-58.
- Azad, M. A. K. (2024).** Antimicrobial resistance : Real threat for the clinician. *Bangladesh Journal of Medicine*, 35(2), 131. <https://doi.org/10.3329/bjm.v35i20.73370>
- Aziz, N., Saleh, R. A., Sharma, R. K., Lewis-Jones, I., Esfandiari, N., Thomas, A. J., & Agarwal, A. (2004).** Novel association between sperm reactive oxygen species production, sperm morphological defects, and the sperm deformity index. *Fertility and Sterility*, 81(2), 349–354. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2003.06.026>
- Aziz, Z. A. A., Ahmad, A., Setapar, S. H. M., Karakucuk, A., Azim, M. M., Lokhat, D., Rafatullah, M., Ganash, M., Kamal, M. A., & Ashraf, G. M. (2018).** Essential Oils: Extraction Techniques, Pharmaceutical And Therapeutic Potential - A Review. *Current Drug Metabolism*, 19(13), 1100–1110. <https://doi.org/10.2174/1389200219666180723144850>
- Baali, F., Boudjelal, A., Smeriglio, A., Righi, N., Djemouai, N., Deghima, A., Bouafia, Z.,**

- & Trombetta, D. (2024).** *Phlomis crinita* Cav. from Algeria: A source of bioactive compounds possessing antioxidant and wound healing activities. *Journal of Ethnopharmacology*, 5, 103648. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2024.118295>
- Bahri, F., Romane, A., Höferl, M., Wanner, J., Schmidt, E., & Jirovetz, L. (2016).** Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of Algerian *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. *Journal of Essential Oil Research*, 28(1), 42–48. <https://doi.org/10.1080/10412905.2015.1076739>
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008a).** Biological effects of essential oils - A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008b).** Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016).** Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Bammou, M., Bouhlali, E. D. T., Sellam, K., El-Rhaffari, L., Ibijbijen, J., & Nassiri, L. (2020).** Evaluation of the Antioxidant and Antibacterial Activity of the Aqueous Extract of Leaves and Flowers of *Bituminaria bituminosa* (L.) Stirton. *Phytotherapie*, 20(1), 2–9. <https://doi.org/10.3166/phyto-2020-0226>
- Banerjee, S., Banerjee, S., Bishayee, A., Da Silva, M. N., Sukocheva, O. A., Tse, E., Casarcia, N., & Bishayee, A. (2024).** Cellular and molecular mechanisms underlying the potential of betulinic acid in cancer prevention and treatment. *Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology*, 132, 155858. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2024.155858>
- Baran, A., Kwiatkowska, A., & Potocki, L. (2023).** Antibiotics and Bacterial Resistance—A Short Story of an Endless Arms Race. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(6). <https://doi.org/10.3390/ijms24065777>
- Bariotakis, M., Georgescu, L., Laina, D., Koufaki, M., Souma, M., Douklias, S., Giannakakis, K. A., Chouli, K. N., Paoli, L., Loppi, S., Karousou, R., Smykal, P., Castanas, E., & Pirintsos, S. A. (2023).** Climate Change Dependence in Ex Situ Conservation of Wild Medicinal Plants in Crete, Greece. *Biology*, 12(10). <https://doi.org/10.3390/biology12101327>
- Barton, M. (2012).** Position paper: The membrane estrogen receptor GPER—Clues and

questions. *Steroids*, 77(10), 935-942.

- Bava, R., Castagna, F., Lupia, C., Ruga, S., Conforti, F., Marrelli, M., Argentieri, M. P., Musella, V., Britti, D., Statti, G., & Palma, E. (2024).** Phytochemical Composition and Pharmacological Efficacy Evaluation of *Calamintha nepeta*, *Calamintha sylvatica*, *Lavandula austroapennina* and *Mentha piperita* Essential Oils for the Control of Honeybee (*Apis mellifera*) Varroosis. *Animals*, 14(1). <https://doi.org/10.3390/ani14010069>
- Békro, Y.-A., Mamyrbekova Békro, J. A., Boua, B. B., Tra Bi, F. H., & Éhilé, E. E. (2007).** Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (Caesalpinaceae). *Sci. Nat*, 4, 217–225.
- Bekut, M., Božin, B., Gavarić, N., Dragović, G., Kladar, N., & Brkić, S. (2018).** Potential of selected Lamiaceae plants in anti(retro) viral therapy. *Pharmacological Research J*, 133(1), 301–314.
- Belkacem, N., Azzi, R., & Djaziri, R. (2022).** Phytochemical Screening, Total Phenolics Contents and in vitro Antioxidant Activity of *Salvia officinalis*, *Satureja calamintha*, *Mentha pulegium* and *Marrubium vulgare*. *Phytothérapie*, 20(1).23-28
- Ben Amor, I. L. Ben, Boubaker, J., Sgaier, M. Ben, Skandrani, I., Bhourri, W., Neffati, A., Kilani, S., Bouhlel, I., Ghedira, K., & Chekir-Ghedira, L. (2009).** Phytochemistry and biological activities of *Phlomis* species. *Journal of Ethnopharmacology*, 125(2), 183–202. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.06.022>
- Benabed, K. H., Boussoussa, H., Khacheba, I., Douadji, F. Z., Daïdi, S., Djaáfour, S., & Yousfi, M. (2023).** Alpha-amylase Inhibitory Activity of Extracts from Algerian *Calamintha nepeta* (L.). *Current Enzyme Inhibition*, 19(2), 136–141.
- Benchaar, C., Calsamiglia, S., Chaves, A. V., Fraser, G. R., Colombatto, D., McAllister, T. A., & Beauchemin, K. A. (2008).** A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Animal Feed Science and Technology*, 145(1–4), 209–228. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.04.014>
- Bendiksby, M., Thorbek, L., Scheen, A. C., Lindqvist, C., & Ryding, O. (2011).** An updated phylogeny and classification of Lamiaceae subfamily Lamioideae. *Taxon*, 60(2), 471–484. <https://doi.org/10.1002/tax.602015>
- Benfreha, H., Pereira, E. C. V., Rolim, L. A., Chelli, N., Almeida, J. R. G. D. S., Tirtouil, A., & Meddah, B. (2022).** Additive effect of the probiotics *Lactobacillus* exopolysaccharides and the *Satureja calamintha* extracts on enteropathogenic *Escherichia*

- coli* adhesion. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, 58, e20015.
- Bešlo, D., Golubić, N., Rastija, V., Agić, D., Karnaš, M., Šubarić, D., & Lučić, B. (2023).** Antioxidant Activity, Metabolism, and Bioavailability of Polyphenols in the Diet of Animals. *Antioxidants*, 12(6), 1–27. <https://doi.org/10.3390/antiox12061141>
- Betts, T. J. (2001).** Chemical characterisation of the different types of volatile oil constituents by various solute retention ratios with the use of conventional and novel commercial gas chromatographic stationary phases. *Journal of Chromatography A*, 936(1–2), 33–46. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)01284-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)01284-5)
- Bidian, C., Filip, G. A., David, L., Moldovan, B., Baldea, I., Olteanu, D., Filip, M., Bolfa, P., Potara, M., Toader, A. M., & Clichici, S. (2022).** *Viburnum opulus* fruit extract-capped gold nanoparticles attenuated oxidative stress and acute inflammation in carrageenan-induced paw edema model. *Green Chemistry Letters and Reviews*, 15(2), 319–335. <https://doi.org/10.1080/17518253.2022.2061872>
- Biyiti, L. F., Meko'o, D. J. L., Tamzc, V., & Amvam Zollo, P. H. (2004).** Recherche de l'activité antibactérienne de quatre plantes médicinales camerounaises. *Pharm. Med. Trad. Afr*, 13, 11–20.
- Bomfim de Barros, D., de Oliveira e Lima, L., Alves da Silva, L., Cavalcante Fonseca, M., Ferreira, R. C., Diniz Neto, H., da Nóbrega Alves, D., da Silva Rocha, W. P., Scotti, L., de Oliveira Lima, E., Vieira Sobral, M., Caçado Castellano, L. R., Moura-Mendes, J., Queiroga Sarmiento Guerra, F., & da Silva, M. V. (2023).** α -Pinene: Docking Study, Cytotoxicity, Mechanism of Action, and Anti-Biofilm Effect against *Candida albicans*. *Antibiotics*, 12(3). <https://doi.org/10.3390/antibiotics12030480>
- Bouarab Chibane, L., Degraeve, P., Ferhout, H., Bouajila, J., & Oulahal, N. (2019).** Plant antimicrobial polyphenols as potential natural food preservatives. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(4), 1457–1474.
- Boudet, A. M. (2007).** Evolution and current status of research in phenolic compounds. *Phytochemistry*, 68(22–24), 2722–2735. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.06.012>
- Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2012).** Effect Antifongique Des Extraits Aqueux et Methanolique de *Satureja calamintha* ssp .(Nepeta) briq. *Revue Des BioRessources*, 2(1), 1–7.
- Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2013).** Nature & Technologie Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp . Nepeta (L .) Briq . *Nature & Technologie Evaluation*, 2(1), 3–7.

- Boussena, A., Bahri, F., Bouyahyaoui, A., Kouidri, M., & Meziane, M. (2022).** Screening of Phytochemical, Evaluation of Phenolic Content, Antibacterial and Antioxydant Activities of *Ephedra Alata* From the Algerian Sahara. *Journal of Applied Biological Sciences E*, 16(2), 220–229. <https://doi.org/10.5281/zenodo.6590258>
- Boutabia, L., Telailia, S., Bouguetof, I., Guenadil, F., & Chefrou, A. (2016).** Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. De la région de Hammamet (Tébessa-Algérie). *Bulletin de La Societe Royale Des Sciences de Liege*, 85, 174–189. <https://doi.org/10.25518/0037-9565.6050>
- Bouzidi, N., & Kemieg, M. (2021).** Antioxidant and Antimicrobial Activities of Essential Oil of *Satureja Calamintha* ssp. nepeta (L.) Briq. from the Northwest of Algeria. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 86(4), 349–356.
- Bouzidi, N., Mederbak, K., & Bouhadi, D. (2018).** Chemical composition of the essential oil of *Satureja Calamintha* subsp. Nepeta of west Algerian. *Moroccan Journal of Chemistry*, 6(2), 213–217.
- Bowles, E. (2003).** *The Chemistry of Aromatherapeutic Oils*. <https://vdoc.pub/documents/chemistry-aromatherapeutic-oils-8av28i4t1ni0>
- Božovic, M., Garzoli, S., Sabatino, M., Pepi, F., Baldisserotto, A., Andreotti, E., Romagnoli, C., Mai, A., Manfredini, S., & Ragno, R. (2017).** Essential oil extraction, chemical analysis and anti-candida activity of *Calamintha nepeta* (L.) Savi subsp. glandulosa (Req.) ball-new approaches. *Molecules*, 22(2), 1–12. <https://doi.org/10.3390/molecules22020203>
- Božović, M., & Ragno, R. (2017).** *Calamintha nepeta* (L.) Savi and its Main Essential Oil Constituent Pulegone: *Biological Activities and Chemistry*. 22(2), 290. <https://www.mdpi.com/1420-3049/22/2/290>
- El Brahim, R., El Barnossi, A., El Moussaoui, A., Chebaibi, M., Kachkoul, R., Baghouz, A., ... & Bari, A. (2023).** Phytochemistry and biological activities of essential oils from *Satureja calamintha Nepeta*. *Separations*, 10(6), 344.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995).** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Brandes, A., Dunning, M., & Langland, J. (2024).** Antimicrobial Activity of Individual Volatile Compounds from Various Essential Oils. *Molecules*, 29(8). <https://doi.org/10.3390/molecules29081811>
- Brillouet, J. M., Romieu, C., Schoefs, B., Solymosi, K., Cheynier, V., Fulcrand, H., Verdeil,**

- J. L., & Conéjéro, G. (2013).** The tannosome is an organelle forming condensed tannins in the chlorophyllous organs of Tracheophyta. *Annals of Botany*, *112*(6), 1003–1014. <https://doi.org/10.1093/aob/mct168>
- Buadonpri, W., Wichitnithad, W., Rojsitthisak, P., & Towiwat, P. (2009).** Synthetic curcumin inhibits carrageenan-induced paw edema in rats. *J Health Res*, *23*(1), 11–16.
- Bvenura, C., & Kambizi, L. (2023).** Sustainable Uses and Prospects of Medicinal Plants: A Brief Overview. In *Sustainable Uses and Prospects of Medicinal Plants*. <https://doi.org/10.1201/9781003206620-1>
- CA-SFM. (2024).** Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. *Comité De L'Antibiogramme De La Société Française De Microbiologie*, 12–181.
- Campoy, S., & Adrio, J. L. (2017).** Antifungals. *Biochemical Pharmacology*, *133*, 86–96.
- Canton, M., Sánchez-Rodríguez, R., Spera, I., Venegas, F. C., Favia, M., Viola, A., & Castegna, A. (2021).** Reactive Oxygen Species in Macrophages: Sources and Targets. *Frontiers in Immunology*, *12*(9), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.734229>
- Ćavar, S., Vidic, D., & Maksimović, M. (2013).** Volatile constituents, phenolic compounds, and antioxidant activity of *Calamintha glandulosa* (Req.) Benth. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *93*(7), 1758–1764. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5967>
- Ceker, S., Agar, G., Alpsoy, L., Nardemir, G., & Kizil, H. E. (2013).** Protective role of essential oils of *Calamintha nepeta* L. on oxidative and genotoxic damage caused by aflatoxin B1 in vitro. *Fresenius Environmental Bulletin*, *22*(11), 3258–3263.
- Çelik, G., Kılıç, G., Kanbolat, Ş., Özlem Şener, S., Karaköse, M., Yaylı, N., & Karaoğlu, Ş. A. (2021).** Biological activity, and volatile and phenolic compounds from five Lamiaceae species. *Flavour and Fragrance Journal*, *36*(2), 223–232. <https://doi.org/10.1002/ffj.3636>
- Chandra, S., Chatterjee, P., Dey, P., & Bhattacharya, S. (2012).** Evaluation of in vitro anti-inflammatory activity of coffee against the denaturation of protein. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, *2*(1), S178-S180.
- Chaplin, D. D. (2010).** Overview of the immune response. *Journal of allergy and clinical immunology*, *125*(2), S3-S23.
- Chen, J., Zhao, Y., Cheng, J., Wang, H., Pan, S., & Liu, Y. (2024).** The Antiviral Potential of *Perilla frutescens*: Advances and Perspectives. *Molecules*, *29*(14), 1–27. <https://doi.org/10.3390/molecules29143328>
- Chen, Y., Yin, S., Liu, R., Yang, Y., Wu, Q., Lin, W., & Li, W. (2023).** β -Sitosterol activates autophagy to inhibit the development of hepatocellular carcinoma by regulating the

- complement C5a receptor 1/alpha fetoprotein axis. *European Journal of Pharmacology*, 957, 175983. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2023.175983>
- Chew, K. K., Khoo, M. Z., Ng, S. Y., Thoo, Y. Y., Aida, W. W. M., & Ho, C. W. (2011).** Effect of ethanol concentration, extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of *Orthosiphon stamineus* extracts. *International Food Research Journal*, 18(4), 1427.
- Chizzola, R. (2006).** Volatile compounds from some wild growing aromatic herbs of the Lamiaceae from southern France. *Plant Biosystems*, 140(2), 206–210. <https://doi.org/10.1080/11263500600756587>
- Chkhaidze, N., Imnadze, P., Malaria, L., & Chkhaidze, I. (2024).** Epidemiology and Risk Factors of Nosocomial Infection in Hospitalized Children and Adults: A Review. *International Journal of Advanced Multidisciplinary Research and Studies*, 4(2), 516–521. <https://doi.org/10.62225/2583049x.2024.4.2.2527>
- CLSI. (2012).** *Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests: Approved standard - Eleventh edition.*
- Conforti, F., Marrelli, M., Statti, G., Menichini, F., Uzunov, D., Solimene, U., & Menichini, F. (2012).** Comparative chemical composition and antioxidant activity of *Calamintha nepeta* (L.) Savi subsp. *glandulosa* (Req.) Nyman and *Calamintha grandiflora* (L.) Moench (Labiatae). *Natural Product Research*, 26(1), 91–97. <https://doi.org/10.1080/14786419.2010.545356>
- Coruzzi, G., Adami, M., Guaita, E., de Esch, I. J. P., & Leurs, R. (2007).** Antiinflammatory and antinociceptive effects of the selective histamine H4-receptor antagonists JNJ7777120 and VUF6002 in a rat model of carrageenan-induced acute inflammation. *European Journal of Pharmacology*, 563(1–3), 240–244. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2007.02.026>
- Coutinho, A. E., & Chapman, K. E. (2011).** The anti-inflammatory and immunosuppressive effects of glucocorticoids, recent developments and mechanistic insights. *Molecular and cellular endocrinology*, 335(1), 2-13.
- Cox-Georgian, D., Ramadoss, N., Dona, C., & Basu, C. (2019).** Therapeutic and medicinal uses of terpenes. *Medicinal Plants: From Farm to Pharmacy*, 12(9), 333–359. https://doi.org/10.1007/978-3-030-31269-5_15
- Creech, C. B., Litzner, B., Talbot, T. R., & Schaffner, W. (2010).** Frequency of detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from rectovaginal swabs in pregnant women. *American Journal of Infection Control*, 38(1), 72–74.

- Crozier, A., Clifford, M. N., & Ashihara, H. (2006).** Plant secondary metabolites. In *Natural Secondary Metabolites: From Nature, Through Science, to Industry*.
https://doi.org/10.1007/978-3-031-18587-8_5
- Cutrim, C. S., & Cortez, M. A. S. (2018).** A review on polyphenols: Classification, beneficial effects and their application in dairy products. *International Journal of Dairy Technology*, 71(3), 564–578. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12515>
- Da Silva, A. P. G., Sganzerla, W. G., John, O. D., & Marchiosi, R. (2023).** A comprehensive review of the classification, sources, biosynthesis, and biological properties of hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acids. *Phytochemistry Reviews*, 1-30.
- Daglia, M. (2012).** Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(2), 174–181. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.08.007>
- Dancer, S. J., & Noble, W. C. (1991).** Nasal, axillary, and perineal carriage of *Staphylococcus aureus* among women: identification of strains producing epidermolytic toxin. *Journal of Clinical Pathology*, 44(8), 681–684.
- Dar, R. A., Shahnawaz, M., & Qazi, P. H. (2017).** General overview of medicinal plants: A review. *The Journal of Phytopharmacology*, 6(6), 349–351.
- De La Rosa, L. A., Moreno-Escamilla, J. O., Rodrigo-García, J., & Alvarez-Parrilla, E. (2019).** Phenolic compounds. In *Postharvest physiology and biochemistry of fruits and vegetables* (pp. 253-271). Woodhead publishing.
- Debbabi, H., El Mokni, R., Majdoub, S., Aliev, A., & Hammami, S. (2020).** The effect of pressure on the characteristics of supercritical carbon dioxide extracts from *Calamintha nepeta* subsp. *nepeta*. *Biomedical Chromatography*, 34(9), 1–7. <https://doi.org/10.1002/bmc.4871>
- Dehpahni, M. F., Chehri, K., & Azadbakht, M. (2021).** Effect of Silver Nanoparticles and L _ Carnitine Supplement on Mixed Vaginitis Caused by *Candida albicans* / *Staphylococcus aureus* in Mouse Models : An Experimental Study. *Current Microbiology*, 78, :3945–3956.
- Demirci, B., Temel, H. E., Portakal, T., Kirmizibekmez, H., Demirci, F., & Başer, K. H. C. (2011).** Inhibitory effect of *Calamintha nepeta* subsp.glandulosa essential oil on lipoxygenase. *Turkish Journal of Biochemistry*, 36(4), 290–295.
- Deng, L., Schilcher, K., Burcham, L. R., Kwiecinski, J. M., Johnson, P. M., Head, S. R., Heinrichs, D. E., Horswill, A. R., & Doran, K. S. (2019).** Identification of key determinants of *Staphylococcus aureus* vaginal colonization. *Mbio*, 10(6), 10–1128.
- Derafa, I. (2023).** *Gastropotective and antidiabetic effects of Phlomis crinita and Phlomis*

herbaventi extracts .

- Dewanto, V., Wu, X., Kafui, A., & Rui hai, L. (2002).** Thermal Processing Enhances the Nutritional Value of Tomatoes by Increasing Total Antioxidant Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(4), 3011–3013. <https://doi.org/10.1088/0022-3727/31/22/002>
- Dharmappa, K. K., Kumar, R. V., Nataraju, A., Mohamed, R., Shivaprasad, H. V., & Vishwanath, B. S. (2009).** Anti-inflammatory activity of oleanolic acid by inhibition of secretory phospholipase A2. *Planta Medica*, 75(3), 211–215. <https://doi.org/10.1055/s-0028-1088374>
- Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N., & Mnif, W. (2016).** Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review. *Medicines*, 3(4), 25. <https://doi.org/10.3390/medicines3040025>
- Dimo, T., Fotio, A. L., Nguelefack, T. B., Asongalem, E. A., & Kamtchouing, P. (2006).** Antiinflammatory activity of leaf extracts of *Kalanchoe crenata* Andr. *Indian J Pharmacol*, 38(2), 115–119. <https://doi.org/10.4103/0253-7613.24617>
- Din EN 14476.(2009).** Chemical Disinfectants and Antiseptics-Quantitative Suspension Test for the Evaluation of Virucidal Activity of Chemical Disinfectants and Antiseptics Used in Human Medicine-Test Method and Requirements (Phase 2/Step 1). German version prEN. EN: Brussels, Belgium,
- Dini, I., & Grumetto, L. (2022).** Recent Advances in Natural Polyphenol Research. *Molecules*, 27(24). <https://doi.org/10.3390/molecules27248777>
- Dobignard, A., & Chatelain, C. (2012).** Index synonymique de la flore d’afrique du nord. In *Angewandte Chemie International Edition*, 6(11), 951–952.
- Dodoš, T., Janković, S., Marin, P. D., & Rajčević, N. (2021).** Essential oil composition and micromorphological traits of *satureja montana* l., s. subspicata bartel ex vis., and s. kitaibelii wierz. ex heuff. plant organs. *Plants*, 10(3), 1–15. <https://doi.org/10.3390/plants10030511>
- Dorman, H. J. D., & Deans, S. G. (2000).** Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88(2), 308–316. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.00969.x>
- Doshi, S. B., Khullar, K., Sharma, R. K., & Agarwal, A. (2012).** Role of reactive nitrogen species in male infertility. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 109(10), 1–11. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-10-109>
- Drayton, D. L., Liao, S., Mounzer, R. H., & Ruddle, N. H. (2006).** Lymphoid organ

- development: from ontogeny to neogenesis. *Nature immunology*, 7(4), 344-353.
- Dubrovina, A. S., & Kiselev, K. V. (2017).** Regulation of stilbene biosynthesis in plants. *Planta*, 246(4), 597–623. <https://doi.org/10.1007/s00425-017-2730-8>
- Ducel, G. (2002).** Prevention of Hospital Acquired Infections: A Practical Guide. *World Health Organization*.
- Dutta, S., Sengupta, P., & Samrot, A. V. (2024).** Physiological and pathological functions of Reactive Nitrogen Species (RNS) and Reactive Sulphur Species (RSS) on Male Reproductive functions. *Journal of Integrated Science and Technology*, 12(3), 1–10. <https://doi.org/10.62110/sciencein.jist.2024.v12.755>
- ElFeky, D. S., Awad, A. R., Shamseldeen, A. M., Mowafy, H. L., & Hosny, S. A. (2023).** Comparing the therapeutic potentials of *Lactobacillus johnsonii* vs. *Lactobacillus acidophilus* against vulvovaginal candidiasis in female rats: an *in vivo* study. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1222503.
- Eruygur, N., Kirci, D., Ayaz, F., Dogu, S., & Bagci, Y. (2022).** Biological activities of three *Phlomis* species. *J. Res. Pharm*, 26, 255-262.
- Eslahi, H., Fahimi, N., & Sardarian, A. R. (2017).** Chemical composition of essential oils. *Essential oils in food processing: chemistry, safety and applications*, 119-171.
- Espina, L., Somolinos, M., Lorán, S., Conchello, P., García, D., & Pagán, R. (2011).** Chemical composition of commercial citrus fruit essential oils and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes. *Food Control*, 22(6), 896–902. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.11.021>
- Fadili, K., Zerkani, Lh., Amalich, S., & Zair, T. (2017).** Etude phytochimique et evaluation de l'activite antioxydante des feuilles et des fruits du *Capparis spinosa* L. phytochemical study and evaluation of antioxidant activity of leaves and fruits of *Capparis spinosa* L. *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*, (10), 108–118.
- Fan, Y., Shen, J., Liu, X., Cui, J., Liu, J., Peng, D., & Jin, Y. (2023).** β -Sitosterol Suppresses Lipopolysaccharide-Induced Inflammation and Lipogenesis Disorder in Bovine Mammary Epithelial Cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(19). <https://doi.org/10.3390/ijms241914644>
- Fang, T., Huang, Y. K., Wei, J., Monterrosa Mena, J. E., Lakey, P. S. J., Kleinman, M. T., Digman, M. A., & Shiraiwa, M. (2022).** Superoxide Release by Macrophages through NADPH Oxidase Activation Dominating Chemistry by Isoprene Secondary Organic Aerosols and Quinones to Cause Oxidative Damage on Membranes. *Environmental Science and Technology*, 56(23), 17029–17038. <https://doi.org/10.1021/acs.est.2c03987>

- Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.
- Fernández-Calleja, L., García-Domínguez, M., Redondo, B. I., Martín, J. L. G., Villar, C. J., & Lombó, F. (2023). Isolation of two triterpenoids from *Phlomis purpurea*, one of them with anti-oomycete activity against *Phytophthora cinnamomi*, and insights into its biosynthetic pathway. *Frontiers in Plant Science*, 14(8), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1180808>
- Fernández-Ocana, A. M., Ortuno-Moya, I., Martos-Gilabert, A. I., & Fernández-López, C. (1993). Saber y utilización de plantas en la provincia de Jaén. *Campana de*, 199-318.
- Ferrante, C., Recinella, L., Ronci, M., Orlando, G., Di Simone, S., Brunetti, L., Chiavaroli, A., Leone, S., Politi, M., Tirillini, B., Angelini, P., Covino, S., Venanzoni, R., Vladimir-Knežević, S., & Menghini, L. (2019). Protective effects induced by alcoholic *Phlomis fruticosa* and *Phlomis herba-venti* extracts in isolated rat colon: Focus on antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial activities in vitro. *Phytotherapy Research*, 33(9), 2387–2400. <https://doi.org/10.1002/ptr.6429>
- Ferree, A., & Shirihai, O. S. (2012). Mitochondrial oxidative phosphorylation: nuclear-encoded genes, enzyme regulation, and pathophysiology. In *Advances in Experimental medicine and biology*.
- Fikri, H., Fechtali, T., Timinouni, M., Zouheir, Y., & Mamoumi, M. (2020). Structure activity modeling of essential oils compounds and plant secondary metabolites: a Mini review of Antimicrobial Activity. *Arabian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 6(1), 85–91. <https://doi.org/10.48347/IMIST.PRSM/ajmap-v6i1.20396>
- Findik, A., & Kaya, A. (2023). Morpho-anatomical and palynological properties of *Acanthoprasium integrifolium* (Benth.) Ryding (Lamiaceae), endemic to Cyprus. *Journal of Research in Pharmacy*, 27(1), 196–206. <https://doi.org/10.29228/jrp.303>
- Firdouse, S., & Alam, P. (2011). Phytochemical investigation of extract of *Amorphophallus campanulatus* tubers Seema. *International Journal of Phytomedicine*, 3, 32–35. <https://doi.org/10.1080/00102208108547506>
- Foley, C., Nice, J., & Webb, M. A. (2003). *Le grand guide des herbes: connaître, cultiver et utiliser les herbes*. Editions First. <https://books.google.dz/books?id=0zTMPQAACAAJ>
- Formisano, C., Oliviero, F., Rigano, D., Saab, A. M., & Senatore, F. (2014). Chemical composition of essential oils and in vitro antioxidant properties of extracts and essential oils of *Calamintha organifolia* and *Micromeria myrtifolia*, two Lamiaceae from the Lebanon flora. *Industrial Crops and Products*, 62(8), 405–411. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.08.043>

- Frenzel, L., & Hermine, O. B. S. (2013).** *Mast cells and inflammation*. 80(2), 141–145.
- Furie, M. B. *An Overview of Inflammation*.
- Fürst, R., & Zündorf, I. (2014).** Plant-derived anti-inflammatory compounds: Hopes and disappointments regarding the translation of preclinical knowledge into clinical progress. *Mediators of inflammation*, 2014(1), 146832.
- Gaamoune, S. (2017).** Antioxidant and antimicrobial activities of flavonoids extract of *Phlomis herba venti* L. *Phytochem & Biosub Journal*, 11(7).
- Galask, R. P., & Larsen, B. (2012).** *Infectious diseases in the female patient*. Springer Science & Business Media.
- Garzoli, S., Pirolli, A., Vavala, E., Di Sotto, A., Sartorelli, G., Božović, M., ... & Ragno, R. (2015).** Multidisciplinary approach to determine the optimal time and period for extracting the essential oil from *Mentha suaveolens* Ehrh. *Molecules*, 20(6), 9640-9655.
- Gattorno, M., & Martini, A. of P. R. (2016).** *Inflammation and its mediators*. 14–32.
- Gheffour, K., Boucherit, K., & Boucherit-Otmani, Z. (2015).** Phytochemical study and evaluation of the antioxidant activity of extracts of *Echinops spinosus*, *Phytothérapie*. *Phytotherapie*, 13(5), 288–294. <https://doi.org/10.1007/s10298-015-0917-8>
- Gherman, C., Culea, M., & Cozar, O. (2000).** Comparative analysis of some active principles of herb plants by GC/MS. *Talanta*, 53(1), 253–262.
- González, I., Morales, M. A., & Rojas, A. (2020).** Polyphenols and AGEs/RAGE axis. Trends and challenges. *Food Research International*, 129(9), 108843. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108843>
- González, J. A., García-Barriuso, M., & Amich, F. (2010).** Ethnobotanical study of medicinal plants traditionally used in the Arribes del Duero, western Spain. *Journal of Ethnopharmacology*, 131(2), 343–355. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.07.022>
- Gomez, A., Bozari, S., Yanmis, D., Gulluce, M., Sahin, F., & Agar, G. (2015).** Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of two species of Lamiaceae against phytopathogenic bacteria. *Polish Journal of Microbiology*, 64(2), 121–127. <https://doi.org/10.33073/pjm-2015-018>
- Gostin, I. N. (2023).** Glandular and Non-Glandular Trichomes from *Phlomis herba-venti* subsp. *pungens* Leaves: Light, Confocal, and Scanning Electron Microscopy and Histochemistry of the Secretory Products. *Plants*, 12(13). <https://doi.org/10.3390/plants12132423>
- Gutiérrez-del-Río, I., Fernández, J., & Lombó, F. (2018).** Plant nutraceuticals as antimicrobial agents in food preservation: Terpenoids, polyphenols and thiols. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 52(3), 309–315.

- Guyen, L., Erturk, A., Koca, M., & Gulcin, I. (2023).** Phenolic Compounds of *Phlomis tuberosa* by LC – MS / MS - Determination of Antioxidant Activity , Molecular Docking , and Enzyme Inhibition Profiles. *ChemistrySelect Research*,8(48)<https://doi.org/10.1002/slct.202303101>
- Habibou, H. H., Idrissa, M., Khalid, I., & Benjamin, O. (2019).** Activité Antioxydante des Extraits Méthanoliques de Différents Organes de *Detarium microcarpum* Antioxidant Activity of Méthanolic Extracts from Various Organs of *Detarium microcarpum* Guill .& Perr . 15(12), 159–171. *Eur sci JESJ*,15,195-717
- Hajhashemi, V., Ghannadi, A., & Sharif, B. (2003).** Anti-inflammatory and analgesic properties of the leaf extracts and essential oil of *Lavandula angustifolia* Mill. *Journal of Ethnopharmacology*, 89(1), 67–71. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(03\)00234-4](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(03)00234-4)
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2015).** *Free radicals in biology and medicine*. Oxford university press, USA.
- Hassanpour, S., Maheri-Sis1, N., Eshratkhah, B., & Mehmandar3, F. B. (2011).** Plants and secondary metabolites (Tannins): A Review. *International Journal of Forest, Soil and Erosion*, 1(1), 47–53.
- Hayani, M., Benhlime, N., Bouzoubaa, A., Ailli, A., Gourich, A. A., Mouradi, A., Mouradi, A., Oulhaj, H., Oulhaj, H., & Zair, T. (2020).** Phytochemical study, polyphenols determination and evaluation of antioxidant activity of *Origanum compactum* and *Satureja calamintha nepeta* from the region of Ouazzane (Morocco). *Mediterranean Journal of Chemistry*, 10(4), 396. <https://doi.org/10.13171/mjc104020041156mh>
- He, L., He, T., Farrar, S., Ji, L., Liu, T., & Ma, X. (2017).** Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 44(10), 532–553. <https://doi.org/10.1159/000485089>
- Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., & Bobilya, D. J. (2002).** Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(10), 572–584. [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(02\)00208-5](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(02)00208-5)
- Hennebelle, T., Sahpaz, S., & Bailleul, F. (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytotherapie*, 2(1), 3–6. <https://doi.org/10.1007/s10298-004-0003-8>
- Horvat, M., Krebs, B., Potrc, S., Ivanecz, A., & Kompan, L. (2010).** Preoperative synbiotic bowel conditioning for elective colorectal surgery. *Wien Klin Wochenschr*, 122 Suppl, 26–

30. <https://doi.org/10.1007/s00508-010-1347-8>
- Horváth, B., Mukhopadhyay, P., Kechrid, M., Patel, V., Tanchian, G., Wink, D. A., Gertsch, J., & Pacher, P. (2012).** B-Caryophyllene Ameliorates Cisplatin-Induced Nephrotoxicity in a Cannabinoid 2 Receptor-Dependent Manner. *Free Radical Biology and Medicine*, 52(8), 1325–1333. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2012.01.014>
- Hould, R. (1984).** Histopathology and cytopathology techniques. In *Paris – Montréal, Maloine - Décarie*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2017.03.004>
- Hussain, A., Azam, S., Rehman, K., Ali, M., Hamid, S., Zhou, X., Rauf, A., Alshammari, A., Albekairi, N. A., Al-ghamdi, A. H., Kaleem, A., Khan, S., & Usman, M. (2024).** Green synthesis of Fe and Zn-NPs , phytochemistry and pharmacological evaluation of *Phlomis cashmeriana* Royle ex Benth. *Heliyon*, 10(13), e33327. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e33327>
- Hussain, A. I., Anwar, F., Hussain Sherazi, S. T., & Przybylski, R. (2008).** Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chemistry*, 108(3), 986–995. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.12.010>
- Hussain, T., Tan, B., Yin, Y., Blachier, F., Tossou, M. C., & Rahu, N. (2016).** Oxidative stress and inflammation: what polyphenols can do for us?. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016(1), 7432797.
- Ichikawa, D., Matsui, A., Imai, M., Sonoda, Y., Kasahara, T., & Bulletin, P. (2004).** *Effect of various catechins on the IL-12p40 production by murine peritoneal macrophages and a macrophage cell line, J774. 1.* 27(9), 1353–1358.
- Isobe, Y., Kato, T., & Arita, M. (2012).** Emerging roles of eosinophils and eosinophil-derived lipid mediators in the resolution of inflammation. *Frontiers in immunology*, 3, 270.
- Jamshidi-Kia, F., Lorigooini, Z., & Amini-Khoei, H. (2018).** Medicinal plants: Past history and future perspective. *Journal of HerbMed Pharmacology*, 7(1), 1–7. <https://doi.org/10.15171/jhp.2018.01>
- Jarmuszkiewicz, W., Dominiak, K., Budzinska, A., Wojcicki, K., & Galganski, L. (2023).** Mitochondrial Coenzyme Q Redox Homeostasis and Reactive Oxygen Species Production. *Frontiers in Bioscience - Landmark*, 28(3), 61. <https://doi.org/10.31083/j.fb12803061>
- Jeane, S., Abebe, W., Sousa, S. M., Duarte, V. G., Machado, M. I. L., & Matos, F. J. A. (2003).** Analgesic and anti-inflammatory effects of essential oils of Eucalyptus. *Journal of Ethnopharmacology*, 89(2–3), 277–283. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2003.09.007>

- Jeeva, J. S., Sunitha, J., Ananthalakshmi, R., Rajkumari, S., Ramesh, M., & Krishnan, R. (2015).** Enzymatic antioxidants and its role in oral diseases. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, 7(2), S331-3. <https://doi.org/10.4103/0975-7406.163438>
- Jha, N. K., Sharma, C., Hashiesh, H. M., Arunachalam, S., Meeran, M. N., Javed, H., Patil, C. R., Goyal, S. N., & Ojha, S. (2021).** β -Caryophyllene, A Natural Dietary CB2 Receptor Selective Cannabinoid can be a Candidate to Target the Trinity of Infection, Immunity, and Inflammation in COVID-19. *Frontiers in Pharmacology*, 12(5), 1–24. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.590201>
- Jomova, K., Alomar, S. Y., Alwasel, S. H., Nepovimova, E., Kuca, K., & Valko, M. (2024).** Several lines of antioxidant defense against oxidative stress: Antioxidant enzymes, nanomaterials with multiple enzyme-mimicking activities, and low-molecular-weight antioxidants. *Archives of Toxicology*, 98(5), 1323-1367.
- Jouzeau, J. Y., Daouphars, M., Benani, A., & Netter, P. (2004).** Pharmacologie et classification des inhibiteurs de la cyclooxygénase. *Gastroentérologie clinique et biologique*, 28, 7-17.
- Juita, T. R., Hildayanti, R. A., Wahyuni, S., Handono, K., Irwanto, Y., Raharjo, B., Rahajeng, R., & Handayani, T. S. (2022).** The Effect of Black Garlic Extract on Levels of IL-6, TGF- β , TNF- α , IL-10, Vaginal pH, Bacterial Colonies in Pregnant Rats Aerobic Vaginitis Model. *Jordan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 15(4), 438–448. <https://doi.org/10.35516/jjps.v15i4.669>
- Kanan, M., Atif, S., Mohammed, F., Balahmar, Y., Adawi, Y., Alsaleem, R., Farhan, A., Alghoribi, M., Mohammed, S., Alshanbari, R., Fahad, M., & Kallab, R. (2023).** A Systematic Review on the Clinical Pharmacokinetics of Cephalexin in Healthy and Diseased Populations. *Antibiotics*, 12(9), 1402.
- Kar, S., Gupta, P., & Gupta, J. (2018).** Essential oils: Biological activity beyond aromatherapy. *Natural Product Sciences*, 24(3), 139–147. <https://doi.org/10.20307/nps.2018.24.3.139>
- Karim, N., Khan, I., Khan, W., Khan, I., Khan, A., Halim, S. A., Khan, H., Hussain, J., & Al-Harrasi, A. (2019).** Anti-nociceptive and anti-inflammatory activities of asparacosin a involve selective cyclooxygenase 2 and inflammatory cytokines inhibition: An *in-vitro*, *in-vivo*, and *in-silico* approach. *Frontiers in Immunology*, 10(3), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00581>
- Kaur, A., Sharma, R. B., & Dua, K. (2024).** Approaches for Prevention of Antibacterial Drug Resistance. In *Contemporary Approaches to Mitigating Antibacterial Drug Resistance*

(pp. 51–91). IGI Global.

- Keller, M. R., & Dörr, T. (2023).** Bacterial metabolism and susceptibility to cell wall-active antibiotics. *Advances in Microbial Physiology*, 83(5), 181–219. <https://doi.org/10.1016/bs.ampbs.2023.04.002>
- Kerbouche, L., Hazzit, M., & Baaliouamer, A. (2013).** Essential Oil of *Satureja calamintha* subsp. nepeta (L.) Briq. from Algeria: Analysis, Antimicrobial and Antioxidant Activities. *TBAP* 3, 3(4), 266–272. <https://doi.org/10.1080/22311866.2013.833466>
- Khalilzadeh, M. A., Tajbakhsh, M., & Rineh, A. (2008).** Study of the essential oils composition of leaves and flowers of two subspecies *phlomis herba-venti* (pungens and lenkoranica) from Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 20(1), 46–48. <https://doi.org/10.1080/10412905.2008.9699419>
- Khameneh, B., Diab, R., Ghazvini, K., & Fazly Bazzaz, B. S. (2016).** Breakthroughs in bacterial resistance mechanisms and the potential ways to combat them. *Microbial Pathogenesis*, 95(2), 32–42. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2016.02.009>
- Khan, H. A., Baig, F. K., & Mehboob, R. (2017).** Nosocomial infections: Epidemiology, prevention, control and surveillance. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(5), 478–482.
- Khan, S., Khan, T., & Shah, A. J. (2018).** Total Phenolic and Flavonoid Contents and Antihypertensive Effect of the Crude Extract and Fractions of *Calamintha vulgaris*. *Phytomedicine*. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.04.046>
- Khitri, W., Smati, D., Mitaine-Offer, A. C., Paululat, T., & Lacaille-Dubois, M. A. (2020).** Chemical constituents from *Phlomis bovei* Noë and their chemotaxonomic significance. *Biochemical Systematics and Ecology*, 91(2), 104054. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2020.104054>
- Khoddami, A., Wilkes, M. A., & Roberts, T. H. (2013).** Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*, 18(2), 2328–2375. <https://doi.org/10.3390/molecules18022328>
- Khodja, N. K., Boulekbache, L., Chegdani, F., Dahmani, K., Bennis, F., & Madani, K. (2018).** Chemical composition and antioxidant activity of phenolic compounds and essential oils from *Calamintha nepeta* L. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 15(4), 1–12. <https://doi.org/10.1515/jcim-2017-0080>
- Kirimer, N., Suleymanov, T. A., Kurkcuoglu, M., Nazemiyeh, H., Shukurova, A. S., & Jouyban, A. (2018).** Essential oil constituents of *phlomis pungens* willd. From Azerbaijan. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 20(6), 1492–1501.

<https://doi.org/10.1080/0972060X.2017.1407261>

- Kitic, D., Jovanovic, T., Ristic, M., Palic, R., & Stojanovic, G. (2002).** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Calamintha nepeta* (L.) Savi ssp. glandulosa (Req.) P.W. Ball from Montenegro. *Journal of Essential Oil Research*, 14(2), 150–152. <https://doi.org/10.1080/10412905.2002.9699802>
- Kırcı, P., Kaplan, S., Aydın Turk, B., & Annac, E. (2021).** Histopathological Examination of the Mucosal Effects of Obstetric Gel on Vaginal Wound Healing in an Incision-Inflicted Rat Model. *Cureus*, 13(9), e18254. <https://doi.org/10.7759/cureus.18254>
- Koch, C., Reichling, J., & Schnitzler, P. (2008). Essential oils inhibit replication of herpes simplex virus type 1 and type 2. In *Botanical Medicine in Clinical Practice* (pp. 192–197). CAB International Wallingford UK.
- Kolesnikova, A. I., Kayumov, A. R., Gilfanov, I. R., Frolova, L. L., Nikitina, L. E., & Trizna, E. Y. (2024).** Antimicrobial Activity of Terpenes and Oxygen-Containing Terpenoids Against *Staphylococcus aureus*. *Microbiology*, 93(3), 374–378.
- Krzowska-Firyeh, J., Kozłowska, A., Sukhadia, T., & Al-Mosawi, L. K. (2014).** Hospital-acquired infections caused by antibiotic resistant bacteria. *Postępy Nauk Medycznych*, 11, 783–786.
- Kukula-Koch, W. A., & Widelski, J. (2017).** Alkaloids. In *Pharmacognosy* (pp. 163-198). Academic Press.
- Kumar, N., & Goel, N. (2019).** Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnology reports*, 24, e00370.
- Kwaśnica, A., Pachura, N., Carbonell-Barrachina, Á. A., Issa-Issa, H., Szumny, D., Figiel, A., Masztalerz, K., Klemens, M., & Szumny, A. (2023).** Effect of Drying Methods on Chemical and Sensory Properties of *Cannabis sativa* Leaves. *Molecules*, 28(12). <https://doi.org/10.3390/molecules28248089>
- Labioud, R. (2016).** Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide. In *Thèse de Doctorat, université badji mokhtar - annaba*. <http://www.univ-soukahras.dz/eprints/2016-9175-fa163.pdf>
- Labioud, R., Aouadi, S., & Bouhaddouda, N. (2015).** Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *satureja calamintha nepeta* against phytopathogens fungi. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7(7), 208–211.
- Lafay, S., & Gil-Izquierdo, A. (2008).** Bioavailability of phenolic acids. *Phytochemistry Reviews*, 7(2), 301–311. <https://doi.org/10.1007/s11101-007-9077-x>

- Lahsissene, H., Kahouadji, A., Tijane, M., & Hseini, S. (2009).** Catalogue Des Plantes Medicinales Utilisées Dans La Région De Zaër (Maroc Occidental). *Lejeunia, Revue de Botanique*, 186, 1–27.
- Lamblin, F., Hano, C., Fliniaux, O., Mesnard, F., Fliniaux, M.-A., & Lainé, É. (2008).** Intérêt des lignanes dans la prévention et le traitement de cancers. *Médecine/Sciences*, 24(5), 511–520. <https://doi.org/10.1051/medsci/2008245511>
- Lawani, B. T., Bayode, M. T., Sadibo, M. E., Awodire, E. F., Aro, O. P., & Akindele, A. A. (2024).** Antibiotic Resistance Microbes' (ARM) Mechanisms and Management: A Phytomedicinal Approach. *Proceedings of the National Academy of Sciences India Section B - Biological Sciences*, 94(4), 697–704. <https://doi.org/10.1007/s40011-023-01525-9>
- Liu, Y., Li, Z., Li, W., Chen, X., Yang, L., Lu, S., Zhou, S., Li, M., Xiong, W., Zhang, X., Liu, Y., & Zhou, J. (2023).** Discovery of β -sitosterol's effects on molecular changes in rat diabetic wounds and its impact on angiogenesis and macrophages. *International Immunopharmacology*, 126, 111283. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2023.111283>
- Liu, Z. K., Xiao, H. B., & Fang, J. (2014).** Anti-inflammatory properties of kaempferol via its inhibition of aldosterone signaling and aldosterone-induced gene expression. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 92(2), 117-123.
- Lopez-Romero, J. C., González-Ríos, H., Borges, A., & Simões, M. (2015).** Antibacterial Effects and Mode of Action of Selected Essential Oils Components against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/795435>
- Łyczko, J., Kieltyka-Dadasiewicz, A., Skrzyński, M., Klisiewicz, K., & Szumny, A. (2023).** Chemistry behind quality – The usability of herbs and spices essential oils analysis in light of sensory studies. *Food Chemistry*, 411(6). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135537>
- Mabou, F. D., & Yossa, I. B. N. (2021).** TERPENES: Structural classification and biological activities. *IOSR J Pharm Biol Sci*, 16, 25-40.
- Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. EPFL Press.
- Mahdi, S., Abdelaal, M., El-Sherbeny, G., Mashaly, I., Yahia, A., & Ramadan, S. (2023).** Phytochemical content, antioxidant activity, essential oils, and antibacterial potential of Egyptian *Phlomis floccosa* D. Don and *Glebionis coronaria* (L.) Cass. ex Spach. *The egyptian society for environmental sciences phytochemical*, 27(1), 45–58.

<https://doi.org/10.21608/cat.2023.304760>

- Mammeri, B., Bahri, F., Kouidri, M., Boudani, B., & Arioui, F. (2022).** Evaluation of chemical composition , anti- inflammatory , antibacterial activity and synergistic effect between antibiotics and the essential oil of *Artemisia campestris* L . *Journal of Applied Biological Sciences*, 16(2), 230–247. <https://doi.org/10.5281/zenodo.6590285>
- Marin, P. D., Grayer, R. J., Veitch, N. C., Kite, G. C., & Harborne, J. B. (2001).** Acacetin glycosides as taxonomic markers in *Calamintha* and *Micromeria*. *Phytochemistry*, 58(6), 943–947. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(01\)00352-1](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(01)00352-1)
- Markelova, N. N., & Semenova, E. F. (2017).** Sensitivity of nonfermentative gram-negative bacteria to essential oils of different origin. *Microbiology*, 86, 610–617.
- Marongiu, B., Piras, A., Porcedda, S., Falconieri, D., Maxia, A., Goncalves, M. J., Cavaleiro, C., & Salgueiro, L. (2010).** Chemical composition and biological assays of essential oils of *Calamintha nepeta* (L.) Savi subsp. *nepeta* (Lamiaceae). *Natural Product Research*, 24(9), 1734–1742. <https://doi.org/10.1080/14786410903108944>
- Martinez, J. A., & Pumarola, T. (2013).** Viriasis nosocomiales. Virus de la hepatitis, herpesvirus y virus de la gripe. *Enfermedades Infecciosas y Microbiologia Clinica*, 31(7), 471–479. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2013.05.001>
- Masella, R., Di Benedetto, R., Vari, R., Filesi, C., & Giovannini, C. (2005).** Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: Involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 16(10), 577–586. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2005.05.013>
- Masotti, V., Juteau, F., Bessière, J. M., & Viano, J. (2003).** Seasonal and Phenological Variations of the Essential Oil from the Narrow Endemic Species *Artemisia molinieri* and Its Biological Activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(24), 7115–7121. <https://doi.org/10.1021/jf034621y>
- Mastelic, J., Milos, M., Kustrak, D., & Radonic, A. (1998).** The Essential Oil and Glycosidically Bound Volatile Compounds of *Calamintha nepeta* (L .) Savi . *Croatica chemica acta*, 71(3), 147–154.
- Matacchione, G., Gurău, F., Silvestrini, A., Tiboni, M., Mancini, L., Valli, D., Rippo, M. R., Recchioni, R., Marcheselli, F., Carnevali, O., Procopio, A. D., Casettari, L., & Olivieri, F. (2021).** Anti-SASP and anti-inflammatory activity of resveratrol, curcumin and β -caryophyllene association on human endothelial and monocytic cells. *Biogerontology*, 22(3), 297–313. <https://doi.org/10.1007/s10522-021-09915-0>
- Mathiesen, C., Scheen, A. C., & Lindqvist, C. (2011).** Phylogeny and biogeography of the

- lamioid genus *Phlomis* (Lamiaceae). *Kew Bulletin*, 66(1), 83–99.
<https://doi.org/10.1007/s12225-011-9257-0>
- McCracken, J. M., Calderon, G. A., Robinson, A. J., Sullivan, C. N., Cosgriff-Hernandez, E., & Hakim, J. C. E. (2021).** Animal Models and Alternatives in Vaginal Research: a Comparative Review. *Reproductive Sciences (Thousand Oaks, Calif.)*, 28(6), 1759–1773.
<https://doi.org/10.1007/s43032-021-00529-y>
- Medjdoub, A. R., Benmehdi, H., & Oukali, Z. (2022).** Chemical Composition And Antifungal Activity Of Essential Oil Of *Satureja Calamintha* Spp . *Nepeta* (L .) Briq Against Some Toxinogenous Mold. *Natural Volaitles and Essential Oils*, 9(1), 1981–2000.
- Medzhitov, R. (2008).** Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, 454(7203), 428-435.
- Mehalaine, S., & Chenchouni, H. (2021).** Quantifying how climatic factors influence essential oil yield in wild-growing plants. *Arabian Journal of Geosciences*, 14(13).
<https://doi.org/10.1007/s12517-021-07582-6>
- Mekkaoui, M., Boudida, E. H., Naceiri Mrabti, H., Ouamr, A., Lee, L. H., Bouyahya, A., Cherrah, Y., & Alaoui, K. (2022).** Investigation of Chemical Compounds and Evaluation of Toxicity, Antibacterial, and Anti-Inflammatory Activities of Three Selected Essential Oils and Their Mixtures with Moroccan Thyme Honey. *Foods*, 11, 1–20.
<https://doi.org/10.3390/foods11193141>
- Mittal, M., Siddiqui, M. R., Tran, K., Reddy, S. P., & Malik, A. B. (2014).** Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. *Antioxid Redox Signal*, 20(7), 1126–1167.
<https://doi.org/10.1089/ars.2012.5149>
- Mittal, R. P., Rana, A., & Jaitak, V. (2018).** Essential Oils: An Impending Substitute of Synthetic Antimicrobial Agents to Overcome Antimicrobial Resistance. *Current Drug Targets*, 20(6), 605–624. <https://doi.org/10.2174/1389450119666181031122917>
- Moench, C. (1794).** *Methodus plantas Horti botanici et agri Marburgensis, a straminum situ describendi.*
- Monforte, M. T., Tzakou, O., Nostro, A., Zimbalatti, V., & Galati, E. M. (2011).** Chemical Composition and Biological Activities of *Calamintha officinalis* Moench Essential Oil. *Journal of medicinal food*, 14(3), 297–303.
- Morteza-Semnani, K., Saeedi, M., & Shahani, S. (2006).** Antioxidant activity of the methanolic extracts of some species of *Phlomis* and *Stachys* on sunflower oil. *African Journal of Biotechnology*, 5(24), 2428–2432.

- Moshari-Nasirkandi, A., Alirezalu, A., Alipour, H., & Amato, J. (2023).** Screening of 20 species from Lamiaceae family based on phytochemical analysis, antioxidant activity and HPLC profiling. *Scientific Reports*, 13(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-44337-7>
- Mosquera, M. E. G., Jiménez, G., Taberner, V., Vinueza-Vaca, J., García-Estrada, C., Kosalková, K., Sola-Landa, A., Monje, B., Acosta, C., Alonso, R., & Valera, M. Á. (2021).** Terpenes and Terpenoids: Building Blocks to Produce Biopolymers. *Sustainable Chemistry*, 2(3), 467–492. <https://doi.org/10.3390/suschem2030026>
- Moussa, Z., M.A. Judeh, Z., & A. Ahmed, S. (2020).** Nonenzymatic Exogenous and Endogenous Antioxidants. *Free Radical Medicine and Biology*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.87778>
- Muller, W. A. (2013).** Getting leukocytes to the site of inflammation. *Veterinary pathology*, 50(1), 7-22.
- Naghibi, F., Mosaddegh, M., Motamed, S. M., & Ghorbani, A. (2022).** Essential oil composition and phytochemical survey of *Phlomis herba-venti*, *Phlomis persica* Boiss. and *Phlomis olivieri* Benth. from northwestern Iran. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 4(2), 63–79. <https://doi.org/10.22037/IJPR.2010.619>
- Naguib, Y. W., & Cui, Z. (2014).** Nanomedicine: The promise and challenges in cancer chemotherapy. *Nanomaterial: Impacts on Cell Biology and Medicine*, 207-233.
- Najjari, Z., & Fattahi, M. (2022).** Essential oil composition and phytochemical survey of *Phlomis herba-venti*, *Phlomis persica* Boiss. and *Phlomis olivieri* Benth. from northwestern Iran. Nassar, M. A., El-segai, M. U., & Mohamed, S. N. A. (2013). *Botanical Studies on Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae). 9(5), 150–163.
- Nathan, C. (2006).** Neutrophils and immunity: challenges and opportunities. *Nature reviews immunology*, 6(3), 173-182.
- Negro, C., Notarnicola, S., De Bellis, L., & Miceli, A. (2013).** Intraspecific variability of the essential oil of *Calamintha nepeta* subsp. *nepeta* from Southern Italy (Apulia). *Natural Product Research*, 27(4–5), 331–339. <https://doi.org/10.1080/14786419.2012.691495>
- Nematian, M. A., Bahramynia, B., & Baghaeifar, Z. (2024).** Chemical composition of the essential oils isolated from *Phlomis olivieri* Benth (Lamiaceae) in four western provinces in Iran. *International Journal of Secondary Metabolite*, 11(2), 315–332.
- Nemmar, A., Subramaniyan, D., & Ali, B. H. (2012).** Protective effect of curcumin on pulmonary and cardiovascular effects induced by repeated exposure to diesel exhaust particles in mice. *PLoS One*, 7(6), e39554.

- Neves, Â., Rosa, S., Gonçalves, J., Rufino, A., Judas, F., Salgueiro, L., Lopes, M. C., Cavaleiro, C., & Mendes, A. F. (2010). Screening of five essential oils for identification of potential inhibitors of IL-1-induced Nf-κB activation and NO production in human chondrocytes: Characterization of the inhibitory activity of α-pinene. *Planta Medica*, 76(3), 303–308. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1186085>
- Nimer, N. A. (2022). Nosocomial Infection and Antibiotic-Resistant Threat in the Middle East. *Infection and Drug Resistance*, 15(2), 631–639. <https://doi.org/10.2147/IDR.S351755>
- Nowak, M., Trynieszewski, W., Sarniak, A., Włodarczyk, A., Nowak, P. J., & Nowak, D. (2022). Concentration Dependence of Anti-and Pro-Oxidant Activity of Polyphenols as Evaluated with a Light-Emitting Fe²⁺-Egta-H₂ O₂ System. *Molecules*, 27(11). <https://doi.org/10.3390/molecules27113453>
- Nska, A. L., Bębenek, E., Garnarczyk, A., & Wcisło-Dziadecka, D. (2023). Evaluation of the Effect of Betulin and Its Alkynyl Derivatives on the Profile of Changes in Gene Expression of the Inflammatory Process of Colorectal Adenocarcinoma Cells. *Processes*, 11.
- Nunes-Silva, A., & Freitas-Lima, L. C. (2015). The Association between Physical Exercise and Reactive Oxygen Species (ROS) Production. *Journal of Sports Medicine & Doping Studies*, 5(1), 1–7. <https://doi.org/10.4172/2161-0673.1000152>
- Nurtazina, A. N., Khalmenova, Z. B., & Umbetova, A. K. (2016). Comparative Analysis of Vitamins and Amino and Fatty Acids from Several Satureja Plant Species. *Chemistry of Natural Compounds*, 52(7), 686–688. <https://doi.org/10.1007/s10600-016-1741-1>
- Obeidnejad, E., Kavooosi, G., & Saharkhiz, M. J. (2024). Antioxidant, anti-amylase, anti-lipase, and efficiency of Satureja fatty acid on the anti-inflammatory parameters in lipopolysaccharide-stimulated macrophage through Nrf2/NF-κB/NADH oxidase pathway. *Scientific Reports*, 14(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-63205-6>
- OECD. (2001). The Organization of Economic Co-operation and Development Guidelines Test No. 423: Acute Oral toxicity - Acute Toxic Class Method, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4. *Oecd, February*, 1–14.
- OMS(Organisation Mondiale de la Santé). (1998). Réglementation des médicaments à base de plantes La situation dans le monde. *WHO/TRM/98*, 65p.
- OMS(Organisation Mondiale de la Santé). (2002). Stratégie de l’OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002-2005. *WHO/EDM/TRM/2002*, 135 p.
- Ouguirti, N., Bahri, F., Bouyahyaoui, A., & Wanner, J. (2021). Chemical characterization and bioactivities assessment of *Artemisia herba-alba* asso essential oil from South-

- Western Algeria. *Natural Volatiles and Essential Oils*, 8(2), 27–36.
<https://doi.org/10.37929/nveo.844309>
- Özgüney, I. S., Karasulu, H. Y., Kantarci, G., Sözer, S., Güneri, T., & Ertan, G. (2006).** Transdermal delivery of Diclofenac sodium through rat skin from various formulations. *AAPS PharmSciTech*, 7(4). <https://doi.org/10.1208/pt070488>
- Pacifico, S., Galasso, S., Piccolella, S., Kretschmer, N., Pan, S. P., Marciano, S., Bauer, R., & Monaco, P. (2015).** Seasonal variation in phenolic composition and antioxidant and anti-inflammatory activities of *Calamintha nepeta* (L.) Savi. *Food Research International*, 69(1), 121–132. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.12.019>
- Pagnussatt, F. A., Kupski, L., Darley, F. T., Filoda, P. F., Ponte, É. M. Del, Garda-Bufferon, J., & Badiale-Furlong, E. (2013).** *Fusarium graminearum* growth inhibition mechanism using phenolic compounds from Spirulina sp. *Food Science and Technology*, 33, 75–80.
- Paladino, A., Vitagliano, L., & Graziano, G. (2023).** The Action of Chemical Denaturants: From Globular to Intrinsically Disordered Proteins. *Biology*, 12(5). <https://doi.org/10.3390/biology12050754>
- Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016).** Flavonoids: An overview. *Journal of Nutritional Science*, 5. <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>
- Pankey, G. A., & Sabath, L. D. (2004).** Clinical relevance of bacteriostatic versus bactericidal activity in the treatment of gram-positive bacterial infections [2]. *Clinical Infectious Diseases*, 39(5), 755–756. <https://doi.org/10.1086/422881>
- Peng, Q., Li, K., Sacks, S. H., & Zhou, W. (2009).** The role of anaphylatoxins C3a and C5a in regulating innate and adaptive immune responses. *Inflammation & Allergy-Drug Targets-Inflammation & Allergy*, 8(3), 236-246.
- Pereira, D. M., Valentão, P., Pereira, J. A., & Andrade, P. B. (2009).** Phenolics: From chemistry to biology. *Molecules*, 14(6), 2202–2211. <https://doi.org/10.3390/molecules14062202>
- Perretti, M., & Ahluwalia, A. (2000).** The microcirculation and inflammation: site of action for glucocorticoids. *Microcirculation*, 7(3), 147-161.
- Perry, N. S. L., Bollen, C., Perry, E. K., & Ballard, C. (2003).** Salvia for dementia therapy: Review of pharmacological activity and pilot tolerability clinical trial. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 75(3), 651–659. [https://doi.org/10.1016/S0091-3057\(03\)00108-4](https://doi.org/10.1016/S0091-3057(03)00108-4)
- Pichersky, E., Noel, J. P., & Dudareva, N. (2006).** Biosynthesis of plant volatiles: Nature's diversity and ingenuity. *Science*, 311(5762), 808–811.

<https://doi.org/10.1126/science.1118510>

- Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., & Defraigne, J.-O. (2002).** Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 16(4), 233–239.
- Ponce, A. G., Fritz, R., Del Valle, C., & Roura, S. I. (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lwt*, 36(7), 679–684. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(03\)00088-4](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(03)00088-4)
- POWO. (2024).** *Plants of the World Online*. Published on the Internet; <Http://Www.Plantsoftheworldonline.Org/> Retrieved 21 May 2024.
- Queiroga, M. C., Pinto Coelho, M., Arantes, S. M., Potes, M. E., & Martins, M. R. (2018).** Antimicrobial Activity of Essential Oils of Lamiaceae Aromatic Spices Towards Sheep mastitis-Causing *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 21(5), 1155–1165. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2018.1491330>
- Qureshi, K. A., Parvez, A., Uzzaman Khan, M. M., Aspatwar, A., Atiya, A., Elhassan, G. O., Khan, R. A., Erattil Ahammed, S. Y., Khan, W. U., & Jaremko, M. (2024).** Exploring nature’s hidden treasure: Unraveling the untapped phytochemical and pharmacological potentials of *Clinopodium vulgare* L. – A hidden gem in the Lamiaceae family. *Heliyon*, 10(2), e24781. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e24781>
- Rahmouni, F., Saudi, M., & Rebai, T. (2021).** Therapeutics studies and biological properties of *Teucrium polium* (Lamiaceae). *BioFactors*, 47(6), 952–963. <https://doi.org/10.1002/biof.1782>
- Rajput, V. D., Harish, Singh, R. K., Verma, K. K., Sharma, L., Quiroz-Figueroa, F. R., Meena, M., Gour, V. S., Minkina, T., Sushkova, S., & Mandzhieva, S. (2021).** Recent developments in enzymatic antioxidant defence mechanism in plants with special reference to abiotic stress. *Biology*, 10(4). <https://doi.org/10.3390/biology10040267>
- Rao, J., Chen, B., & McClements, D. J. (2019).** Improving the efficacy of essential oils as antimicrobials in foods: Mechanisms of action. *Annual Review of Food Science and Technology*, 10(1), 365–387.
- Rao, U. S. M., Abdurrazak, M., & Mohd, K. S. (2016).** Phytochemical screening, total flavonoid and phenolic content assays of various solvent extracts of tepal of *Musa paradisiaca*. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 20(5), 1181–1190. <https://doi.org/10.17576/mjas-2016-2005-25>

- Rasool Hassan, B. A. (2012).** Medicinal Plants (Importance and Uses). *Pharmaceutica Analytica Acta*, 03(10), 4172. <https://doi.org/10.4172/2153-2435.1000e139>
- Raut, J. S., & Karuppayil, S. M. (2014).** A status review on the medicinal properties of essential oils. *Industrial Crops and Products*, 62, 250–264. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.05.055>
- Riaz, M., Khalid, H., & Kiran, N. (2022).** Prevalence of Hepatitis B and C Viral Infections in Chronic Liver Disorder. *Pakistan Journal of Medical & Health Sciences*, 16(10), 396–398. <https://doi.org/10.53350/pjmhs221610396>
- Ribeiro, A. D., Cardoso, M. N. A., Freire, J. C. P., Júnior, E. C. F., Costa, M. M. A., Silva, P. G., Gomes, D. Q. de C., de Brito, E. M. M., & Pereira, J. V. (2023).** Antimicrobial activity of limonene: Integrative review. *Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas*, 22(5), 581–593. <https://doi.org/10.37360/blacpma.23.22.5.42>
- Richard, T., Temsamani, H., Delaunay, J. C., Krisa, S., & Mérillon, J. M. (2014).** Stilbènes: de la chimie à la neuroprotection. *Cahiers de Nutrition et de Dietétique*, 49(4), 173–180. <https://doi.org/10.1016/j.cnd.2014.03.001>
- Riela, S., Bruno, M., Formisano, C., Rigano, D., Rosselli, S., Saladino, M. L., & Senatore, F. (2008).** Effects of solvent-free microwave extraction on the chemical composition of essential oil of *Calamintha nepeta* (L.) Savi compared with the conventional production method. *Journal of Separation Science*, 31(6–7), 1110–1117. <https://doi.org/10.1002/jssc.200700425>
- Ríos, J. L., Recio, M. C., Mañé, S., & Giner, R. M. (2000).** Natural triterpenoids as anti-inflammatory agents. *Studies in natural products chemistry*, 22, 93–143.
- Croteau, R., Kutchan, T. M., & Lewis, N. G. (2000).** Natural products (secondary metabolites). *Biochemistry and molecular biology of plants*, 24, 1250–1319.
- Roy, A., Park, H. J., Abdul, Q. A., Jung, H. A., & Choi, J. S. (2018).** Pulegone exhibits anti-inflammatory activities through the regulation of NF- κ B and Nrf-2 signaling pathways in LPS-stimulated RAW 264.7 cells. *Natural Product Sciences*, 24(1), 28–35. <https://doi.org/10.20307/nps.2018.24.1.28>
- Rudenko, N. N., Vetoshkina, D. V., Marenkova, T. V., & Borisova-Mubarakshina, M. M. (2023).** Antioxidants of Non-Enzymatic Nature: Their Function in Higher Plant Cells and the Ways of Boosting Their Biosynthesis. *Antioxidants*, 12(11). <https://doi.org/10.3390/antiox12112014>
- Saderi, H., & Abbasi, M. (2011).** Evaluation of anti-adenovirus activity of some plants from lamiaceae family grown in Iran in cell culture. *African Journal of Biotechnology*, 10(11),

- 17546–17550. <https://doi.org/10.5897/AJB10.1686>
- Saeed, S. T., & Samad, A. (2017).** Emerging threats of begomoviruses to the cultivation of medicinal and aromatic crops and their management strategies. *VirusDisease*, 28(1), 1–17. <https://doi.org/10.1007/s13337-016-0358-0>
- Salehi, B., Upadhyay, S., Erdogan Orhan, I., Kumar Jugran, A., L D Jayaweera, S., A Dias, D., Sharopov, F., Taheri, Y., Martins, N., Baghalpour, N., Cho, W. C., & Sharifi-Rad, J. (2019).** Therapeutic Potential of α - and β -Pinene: A Miracle Gift of Nature. *Biomolecules*, 9(11). <https://doi.org/10.3390/biom9110738>
- Salhi, N., Deluyker, D., Bito, V., Zaid, A., & Rhaffari, L. El. (2024).** *In vitro* biological activities of *Calamintha nepeta* L . aqueous extracts. *Journal of Applied Biomedicine*, 22(3), 155–163. <https://doi.org/10.32725/jab.2024.017>
- Sandilands, E. A., & Bateman, D. N. (2016).** Non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Medicine*, 44(3), 185-186.
- Santangelo, C., Vari, R., Scazzocchio, B., Di Benedetto, R., Filesi, C., & Masella, R. (2007).** Polyphenols, intracellular signalling and inflammation. *Annali-istituto superiore di sanita*, 43(4), 394.
- Sarikurkcü, C., Cemil, M., Tepe, B., & Cengiz, M. (2015).** *Phlomis armeniaca* : Phenolic compounds , enzyme inhibitory and antioxidant activities. *Industrial Crops & Products*, 78, 95–101. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.10.016>
- Sarıkürkcü, C., Cengiz, M., Küçükyumru, A., & Zengin, G. (2018).** Determination of antioxidant activities of solvent extracts from an endemic plant : *Phlomis leucophracta*. *Marmara Pharmaceutical Journal Research*, 22(1), 86–90.
- Sbayou, H., Ababou, B., Boukachabine, K., Zerouali, A. M. K., & Souad, A. (2014).** Chemical composition and antibacterial activity of *Mentha pulegium* L. and *Mentha spicata* L. essential oils. *Journal of Life Sciences*, 8(1), 35–41.
- Senol, F. S., Gunbatan, T., Ozturk, N., Gurbuz, I., & Orhan, I. E. (2018).** Phenolic acid profile and *in vitro* neurobiological effect of *phlomis grandiflora* H.S. Thompson var. *Grandiflora*. *Journal of the Chemical Society of Pakistan*, 40(1), 129–137.
- Serhan, C. (2014).** Pro-resolving lipid mediators are leads for resolution physiology. *J Nature*, 510, 92–101.
- Serhan, C. N., Ward, P. A., & Gilroy, D. W. (2010).** *Fundamentals of inflammation*. Cambridge University Press.
- Shafiq, Y., Asghar, M. A., Ali, H., Abedien, S., Rehman, A. A., & Anser, H. (2020).** *In Vitro* Assessment of Antimicrobial Potential of Ethanolic and Aqueous Extract of Against Some Highly Resistant Pathogens. *Annals of jinnah sindh medical university*, 6(1), 3–9.

<https://doi.org/10.46663/ajsmu.v6i1.3-9>

- Shaikh, J. R., & Patil, M. (2020).** Qualitative tests for preliminary phytochemical screening: An overview. *International Journal of Chemical Studies*, 8(2), 603–608. <https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i2i.8834>
- Sharma, K., Guleria, S., Razdan, V. K., & Babu, V. (2020).** Synergistic antioxidant and antimicrobial activities of essential oils of some selected medicinal plants in combination and with synthetic compounds. *Industrial Crops and Products*, 154(5). <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112569>
- Sherwood, E. R., & Toliver-Kinsky, T. (2004).** Mechanisms of the inflammatory response. *Best practice & research Clinical anaesthesiology*, 18(3), 385-405.
- Sharma, S., & Shabir, S. (2017).** The Menace of Nosocomial Infections. *Global Journal of Otolaryngology*, 7(4), 84–86. <https://doi.org/10.19080/gjo.2017.07.555717>
- Sherwood, E. R., & Toliver-Kinsky, T. (2004).** Mechanisms of the inflammatory response. *Best practice & research Clinical anaesthesiology*, 18(3), 385-405.
- Shlapakova, T. I., Kostin, R. K., & Tyagunova, E. E. (2020).** Reactive Oxygen Species: Participation in Cellular Processes and Progression of Pathology. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 46(5), 657–674. <https://doi.org/10.1134/S1068162020050222>
- Silbemagi, S., & Lang, F. (2000).** Atlas de poche de physiopathologie. Éd France, Flammarion Médecine-Sciences, 48.
- Sindhi, V., Gupta, V., Sharma, K., Bhatnagar, S., Kumari, R., & Dhaka, N. (2013).** Potential applications of antioxidants – A review. *Journal of Pharmacy Research*, 7(9), 828–835. <https://doi.org/10.1016/j.jopr.2013.10.001>
- Singh, R. (2015).** Medicinal plants : A review. *Journal of Plant Sciences*, 3(1), 50–55. <https://doi.org/10.11648/j.jps.s.2015030101.18>
- Sinico, C., De Logu, A., Lai, F., Valenti, D., Manconi, M., Loy, G., Bonsignore, L., & Fadda, A. M. (2005).** Liposomal incorporation of *Artemisia arborescens* L. essential oil and in vitro antiviral activity. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 59(1), 161–168.
- Smain, A., Martín, D., Guillemo, S., & José-Luis Ríos. (2012).** Anti-inflammatory, antioxidant, and apoptotic activities of four plant species used in folk medicine in the Mediterranean basin. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 25(1), 65–72.
- Snoussi, S. A., Djazouli, Z. E., Arour, M. E. F., & Sahli, Z. (2003).** Les plantes maraichères, industrielles, condimentaires, aromatiques, médicinales et ornementales. *Recueil Des Communications Atelier*, 3, 29–34.

- Soehnlein, O., & Lindbom, L. (2010).** *Phagocyte partnership during the onset and resolution of inflammation.* *10(6)*, 427–439.
- Solanki, H. K., Shah, D. A., Maheriya, P. M., & Patel, C. A. (2015).** Evaluation of anti-inflammatory activity of probiotic on carrageenan-induced paw edema in Wistar rats. *International Journal of Biological Macromolecules*, *72*, 1277–1282. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.09.059>
- Souli, M., Ruffin, F., Choi, S.-H., Park, L. P., Gao, S., Lent, N. C., Sharma-Kuinkel, B. K., Thaden, J. T., Maskarinec, S. A., & Wanda, L. (2019).** Changing characteristics of *Staphylococcus aureus* bacteremia: results from a 21-year, prospective, longitudinal study. *Clinical Infectious Diseases*, *69(11)*, 1868–1877.
- Spencer, J. P. E., Abd El Mohsen, M. M., Minihane, A. M., & Mathers, J. C. (2008).** Biomarkers of the intake of dietary polyphenols: Strengths, limitations and application in nutrition research. *British Journal of Nutrition*, *99(1)*, 12–22. <https://doi.org/10.1017/S0007114507798938>
- Spivak, A. Y., Khalitova, R. R., Nedopekina, D. A., & Gubaidullin, R. R. (2020).** Antimicrobial properties of amine-and guanidine-functionalized derivatives of betulinic, ursolic and oleanolic acids: Synthesis and structure/activity evaluation. *Steroids*, *154*, 108530.
- Stefanaki, A., & van Andel, T. (2021).** Mediterranean aromatic herbs and their culinary use. In *Aromatic herbs in food* (pp. 93-121). Academic Press.
- Strate, L. L., Liu, Y. L., Huang, E. S., Giovannucci, E. L., & Chan, A. T. (2011).** Use of aspirin or nonsteroidal anti-inflammatory drugs increases risk for diverticulitis and diverticular bleeding. *Gastroenterology*, *140(5)*, 1427–1433. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.02.004>
- Suhaila Mohamed, S. M. (2014).** *Functional foods against metabolic syndrome (obesity, diabetes, hypertension and dyslipidemia) and cardiovascular disease.*
- Swamy, M. K., Akhtar, M. S., & Sinniah, U. R. (2016).** Antimicrobial Properties of Plant Essential Oils against Human Pathogens and Their Mode of Action : An Updated Review. *Hindawi*, *4747(10)*, 21. <https://doi.org/10.1155/2016/3012462>
- Szlasa, W., Ślusarczyk, S., Nawrot-Hadzik, I., Abel, R., Zalesińska, A., Szewczyk, A., Sauer, N., Preissner, R., Saczko, J., Drąg, M., Poręba, M., Daczewska, M., Kulbacka, J., & Drąg-Zalesińska, M. (2023).** Betulin and Its Derivatives Reduce Inflammation and COX-2 Activity in Macrophages. *Inflammation*, *46(2)*, 573–583. <https://doi.org/10.1007/s10753-022-01756-4>

- Szymanowska, U., & Baraniak, B. (2019).** Antioxidant and potentially anti-inflammatory activity of anthocyanin fractions from pomace obtained from enzymatically treated raspberries. *Antioxidants*, 8(8). <https://doi.org/10.3390/antiox8080299>
- Tanigawa, S., Fujii, M., Hou, D. R. B., & Medicine. (2007).** *Action of Nrf2 and Keap1 in ARE-mediated NQO1 expression by quercetin.* 42(11), 1690–1703.
- Tariq, S., Wani, S., Rasool, W., Shafi, K., Bhat, M. A., Prabhakar, A., Shalla, A. H., & Rather, M. A. (2019).** A comprehensive review of the antibacterial, antifungal and antiviral potential of essential oils and their chemical constituents against drug-resistant microbial pathogens. *Microbial Pathogenesis*, 134, 103580.
- Triantafi, J. K., Triantafyllidi, A., Vagianos, C., & Papalois, A. (2016).** *Favorable results from the use of herbal and plant products in inflammatory bowel disease : evidence from experimental animal studies.* February, 1–14.
- Tu, X. F., Hu, F., Thakur, K., Li, X. L., Zhang, Y. S., & Wei, Z. J. (2018).** Comparison of antibacterial effects and fumigant toxicity of essential oils extracted from different plants. *Industrial Crops and Products*, 124(5), 192–200. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.07.065>
- Tutin, T., Heywood, V. H., & Burges, N. (1980).** *Flora Europaea: Volume 5. Alismataceae to Orchidaceae.* 452.
- Ullah, S., Hussain, S. A., Shaukat, F., Hameed, A., Yang, W., & Song, Y. (2019).** Antioxidant Potential and the Characterization of Arachis hypogaea Roots. *BioMed Research International*. <https://doi.org/10.1155/2019/7073456>
- Urban-Chmiel, R., Marek, A., Stepien-Pysniak, D., Wieczorek, K., Dec, M., Nowaczek, A., & Osek, J. (2022).** The basis of antibiotic resistance in bacteria. *Antibiotics*, 11(8), 2–40.
- Valdez, L. B., Lores arnaiz, S., Bustamante, J., Álvarez, S., Costa, L. E., & Boveris, A. (2000).** Free radical chemistry in biological systems. *Biological Research*, 33(5), 65–70.
- Vazquez, E., Navarro, M., Salazar, Y., Crespo, G., Bruges, G., Osorio, C., Tortorici, V., Vanegas, H., & López, M. (2015).** Systemic changes following carrageenan-induced paw inflammation in rats. *Inflammation Research*, 64(5), 333–342. <https://doi.org/10.1007/s00011-015-0814-0>
- Voehringer, D. (2013).** *Protective and pathological roles of mast cells and basophils.* 13(5), 362–375.
- Wagstaff, A. J., Faulds, D., & Goa, K. L. (1994).** Aciclovir. A reappraisal of its antiviral activity, pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy. *Drugs*, 47(1), 153–205.

<https://doi.org/10.2165/00003495-199447010-00009>

- Wang, D., & Shang, K. (2023).** Isoborneol as a natural sporulation quenching agent to control *Aspergillus flavus*. *Natural Product Research*, 37(16), 2737–2741. <https://doi.org/10.1080/14786419.2022.2124988>
- Wang, H. S. (2016).** Development of fluorescent and luminescent probes for reactive oxygen species. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 85(9), 181–202. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2016.09.006>
- Wei, M.-Z., Wang, Z.-J., Zhu, Y.-Y., Zu, W.-B., Zhao, Y.-L., & Luo, X.-D. (2024).** Oleanolic acid derivatives against drug-resistant bacteria and fungi by multi-targets to avoid drug resistance. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 280, 116940.
- Weill, B., & Batteux, F. (2003).** *Immunopathologie et réactions inflammatoires*. De Boeck Supérieur.
- WHO. (2009).** The use of herbal medicines in primary health care. Report of the regional meetings. Yangon, Myanmar 10 - 12 March 2009. *WHO Drug Information, March*. <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s22295en/s22295en.pdf>
- Wieseler-Frank, J., Maier, S. F., & Watkins, L. R. (2004).** *Glial activation and pathological pain*. 45(2–3), 389–395.
- Williams, L. (2009).** Further Insight into the Bovine Serum Albumin Assay (The *in vitro* Anti-inflammatory Assay) Profundización en el Ensayo de Albúmina de Suero Bovino (El Ensayo Anti-inflamatorio *in vitro*). *West Indian Med J*, 58(2), 2–3.
- Williams, L., O’Connor, A., Latore, L., Dennis, O., Ringer, S., Whittaker, J. A., J., C., Vogler, B., Rosner, H., & Kraus, W. (2008).** The *in vitro* Anti-denaturation Effects Induced by Natural Products and Non-steroidal Compounds in Heat Treated (Immunogenic) Bovine Serum Albumin is Proposed as a Screening Assay for the Detection of Anti-inflammatory Compounds, without the use of Animals. *West Indian Med J*, 57(4), 327–331. [https://doi.org/https://doi.org/10.1215/9780822388630-010](https://doi.org/10.1215/9780822388630-010).
- Winter, C. A., Risley, E. A., & Nuss, G. W. (1962).** Carrageenin-induced edema in hind paw. *Experimental Biology and Medicine*, 3(9), 544–547.
- Xiong, Q., Du, C., Xia, W., & Tang, K. (2022).** Pulegone ameliorates inflammation and oxidative stress in L-arginine-induced acute pancreatitis in mice by regulating the activation of p38 MAPK pathway. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research April*, 21(2), 755–760.
- Yan, Y., Li, X., Zhang, C., Lv, L., Gao, B., & Li, M. (2021).** Research Progress on Antibacterial Activities and Mechanisms of Natural Alkaloids: A Review. *Antibiotics*,

- 10(3), 318. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.805986>
- Yang, S. K., Low, L. Y., Yap, P. S. X., Yusoff, K., Mai, C. W., Lai, K. S., & Lim, S. H. E. (2018). Plant-derived antimicrobials: Insights into mitigation of antimicrobial resistance. *Records of Natural Products*, 12(4), 295–316. <https://doi.org/10.25135/rnp.41.17.09.058>
- Yiran, D., Jiayi, W., & Lifang, M. (2024).** *Harnessing antioxidants to counter oxidative stress-induced apoptosis.* doi: 10.5772/intechopen.1004460
- Yoon, H. S., Moon, S. C., Kim, N. D., Park, B. S., Jeong, M. H., & Yoo, Y. H. (2000).** Genistein induces apoptosis of RPE-J cells by opening mitochondrial PTP. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 276(1), 151–156.
- You, S., Liu, S., Dong, X., Li, H., Zhu, Y., & Hu, L. (2020).** Intravaginal Administration of Human Type III Collagen-Derived Biomaterial with High Cell-Adhesion Activity to Treat Vaginal Atrophy in Rats. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 6(4), 1977–1988. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.9b01649>
- Zarkovic, N. (2020).** Roles and functions of ros and rns in cellular physiology and pathology. *Cells*, 9(3). <https://doi.org/10.3390/cells9030767>
- Zhang, Y., Liu, X., Wang, Y., Jiang, P., & Quek, S. Y. (2016).** Antibacterial activity and mechanism of cinnamon essential oil against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Food Control*, 59, 282–289. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.05.032>
- Zhao, Z. (2023).** Hydroxyl radical generations form the physiologically relevant Fenton-like reactions. *Free Radical Biology and Medicine*, 208, 510–515. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2023.09.013>

Annexes

Annexe 1

Réactifs de screening phytochimique

1. Réactif de Mayer

Chlorure mercurique (HgCl ₂).....	1.358g
Iodure de potassium (KI).....	5g
Eau distillée	100mL

2. Réactif de Wagner

Iodure de potassium (KI).....	2g
Iode (I ₂).....	1.27g
Eau distillée.....	100mL

3. Réactif de Dragendorff (Solution A+B (V/V))

Solution A

Acide tartrique concentré.....	20g
Nitrate de bismuth.....	1.7g
Eau distillée.....	100mL

Solution B

Iodure de potassium.....	10g
Eau distillée.....	100mL

Annexe 2

Milieux de culture utilisés :

1. Bouillon nutritif (g/L)

Peptone.....	10 g
Extrait de viande.....	5 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Eau distillée.....	1000 ml

pH = 7,3 ± 0,2

2. Gélose nutritive (g/L)

Peptone.....	10 g
Extrait de viande.....	3 g
Extrait de levure.....	3 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Agar.....	18 g
Eau distillée.....	1000 ml

pH = 7,3 ± 0,2

3. Gélose Mueller Hinton (g/L)

Extrait de viande.....	3 g
Hydrolysate acide de caséine.....	17,5 g
Amidon.....	1.5 g
Agar.....	16 g
Eau distillée.....	1000 ml

pH = 7, 3

Annexe 3

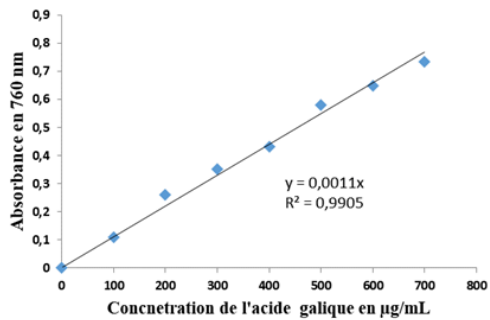


Figure 1 : Droite d'étalonnage d'acide gallique.

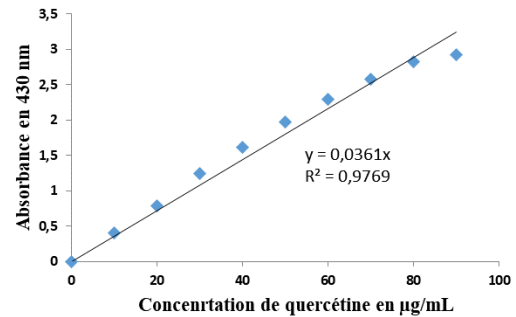


Figure 2 : Droite d'étalonnage de la Quercétine.

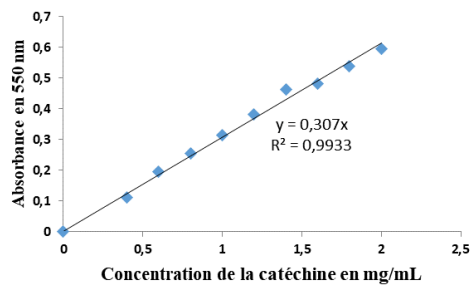


Figure 3 : Droite d'étalonnage de la catéchine.

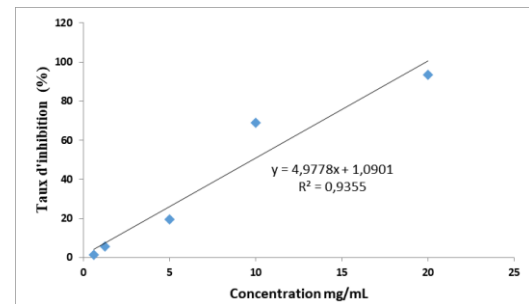


Figure 4 : Inhibition de dénaturation d'albumine par l'huile essentielle de *C.nepeta*.

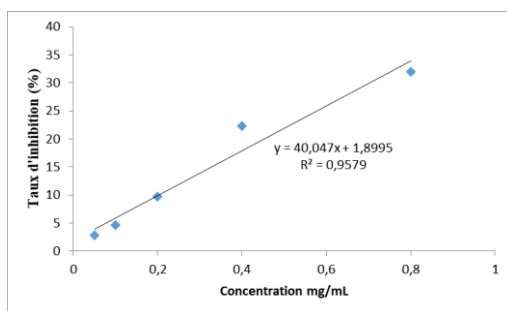


Figure 5 : Inhibition de dénaturation d'albumine par l'extrait de *C.nepeta*.

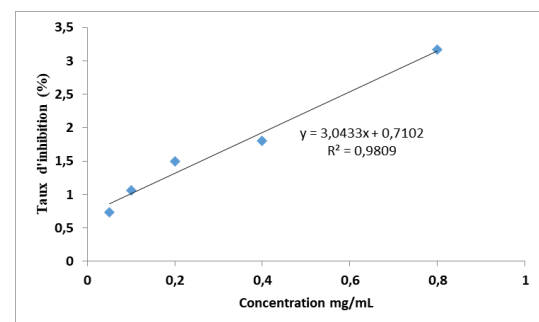


Figure 6 : Inhibition de dénaturation d'albumine par l'extrait de *P. herba venti*.

Annexe 4

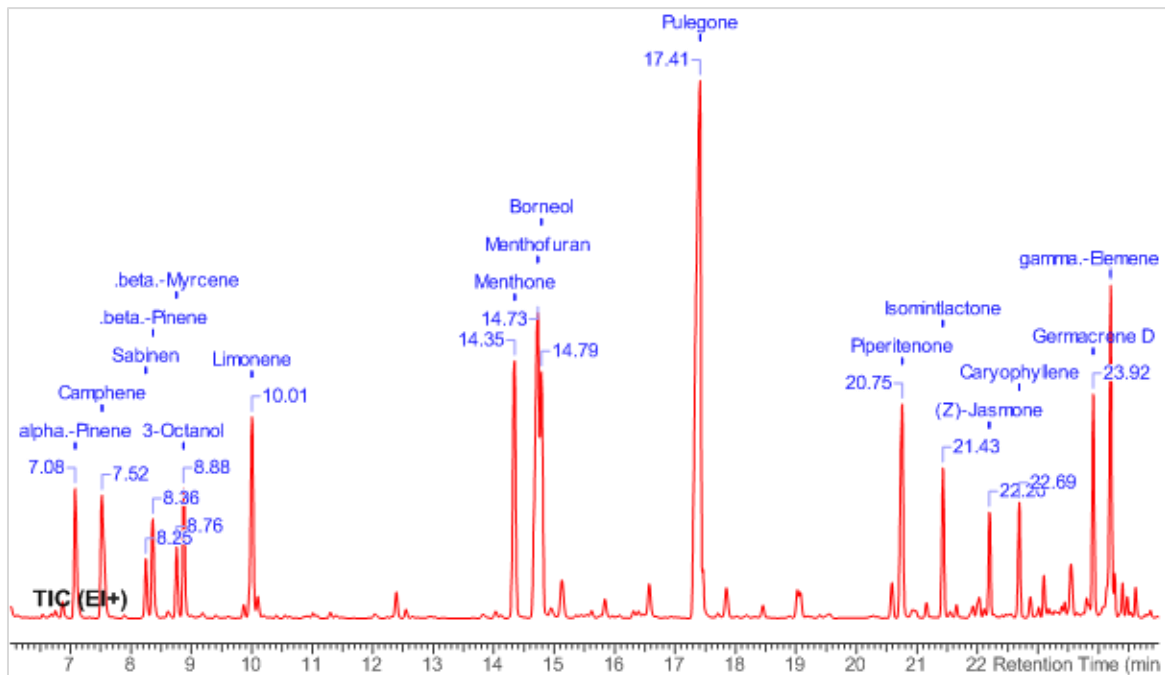


Figure 1 : Chromatogramme de GC-MS de de l'extrait hydro-éthanolique *Calamintha nepeta*.

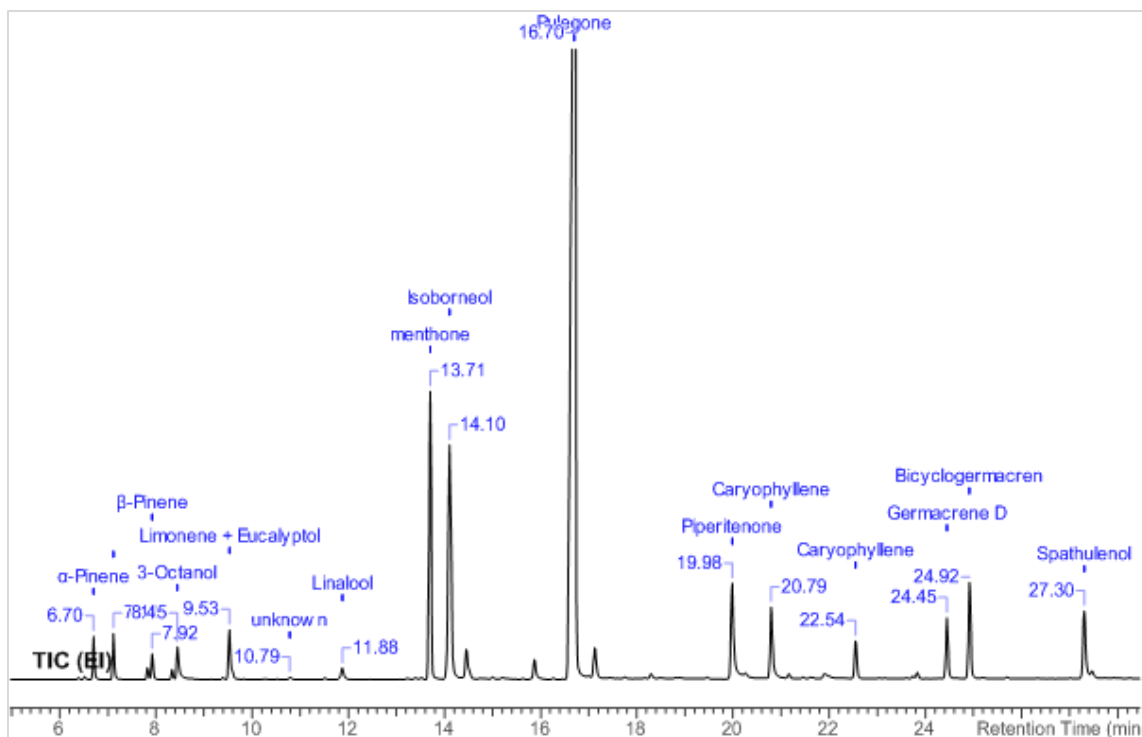


Figure 2 : Chromatogramme de GC-MS de l'huile essentielle de *Calamintha nepeta*.

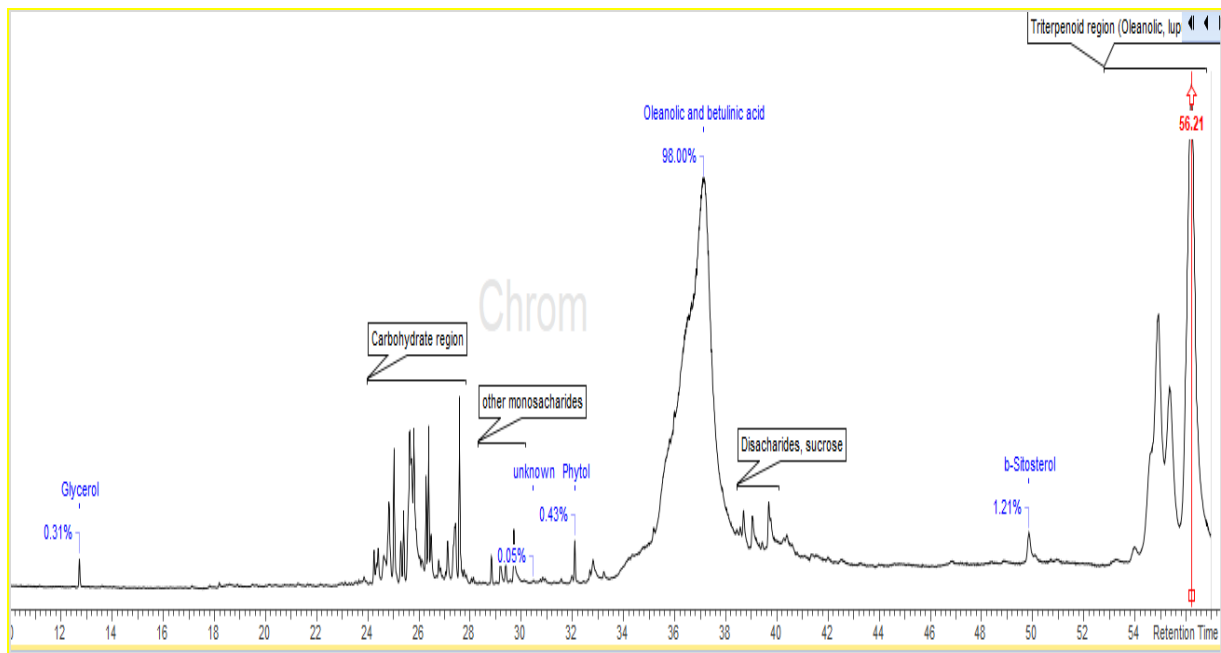


Figure 3 : Chromatogramme de GC-MS de l'extrait hydro-éthanolique de *Phlomis herba venti*.

Annexe 5

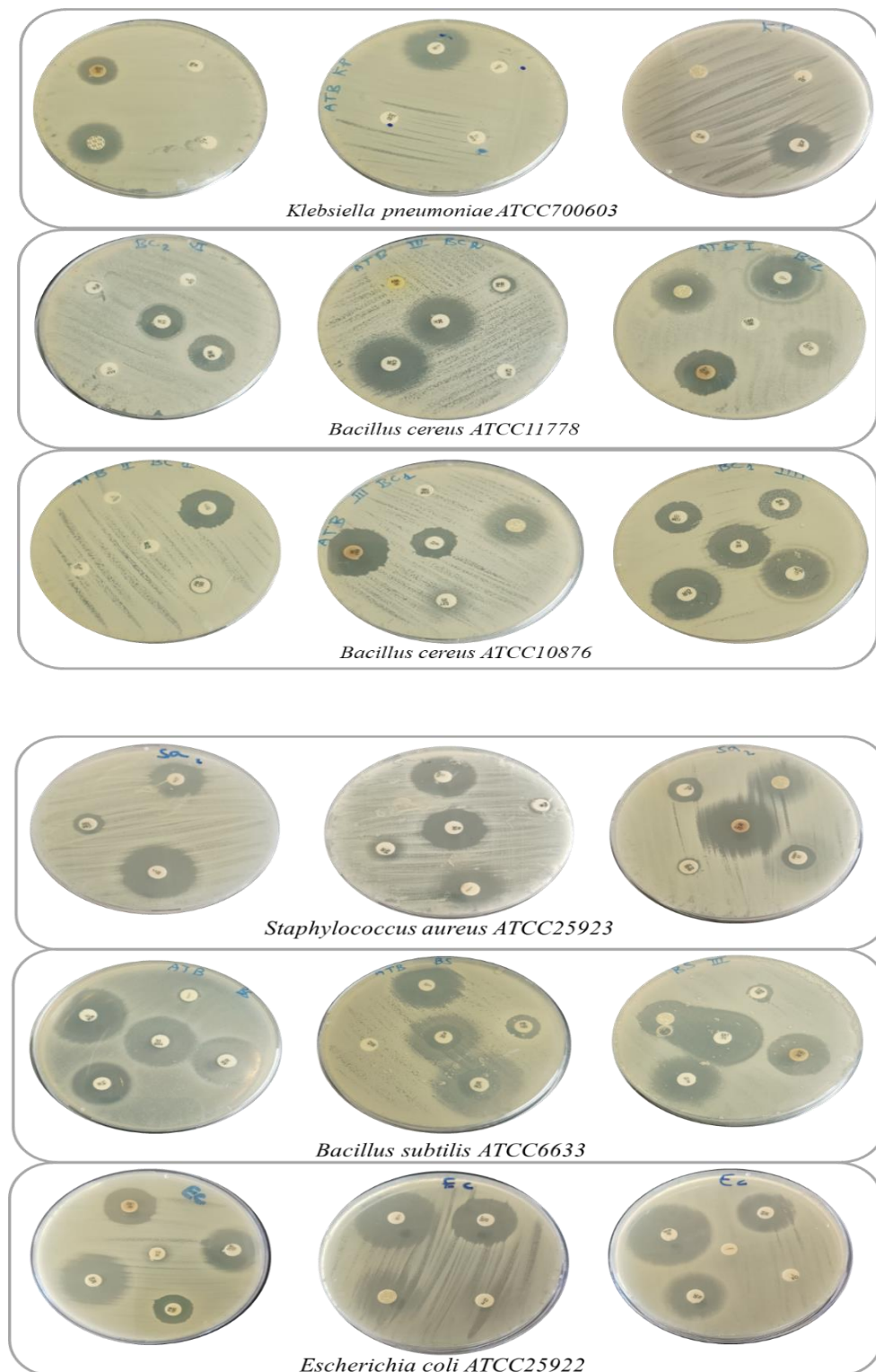
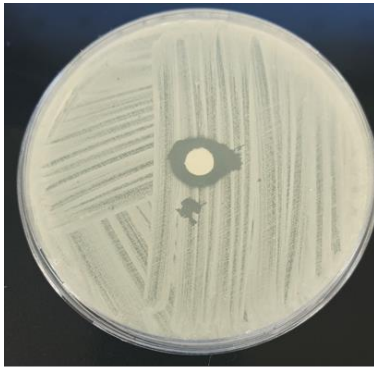
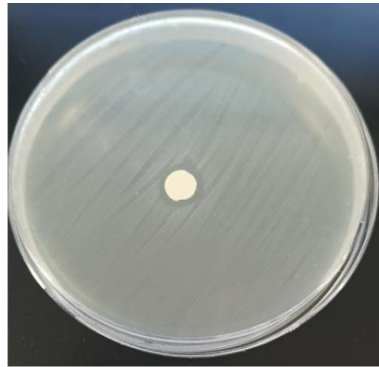
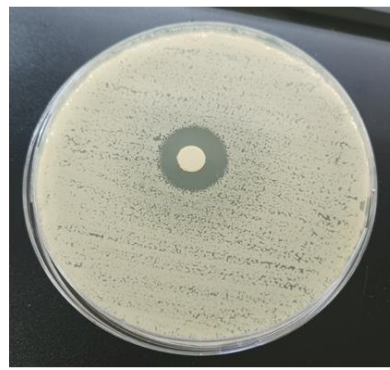
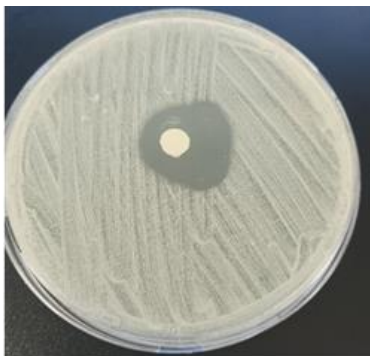
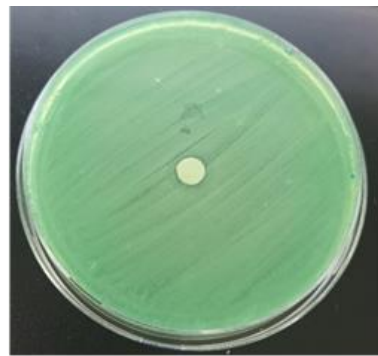
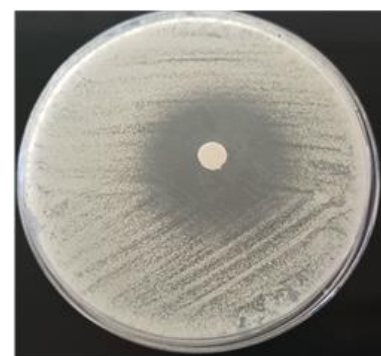
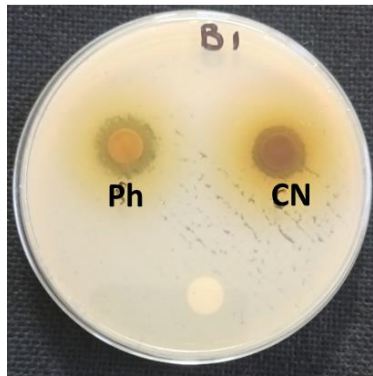
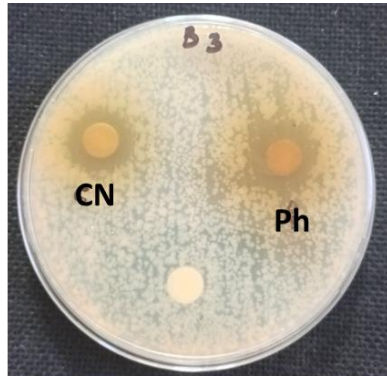
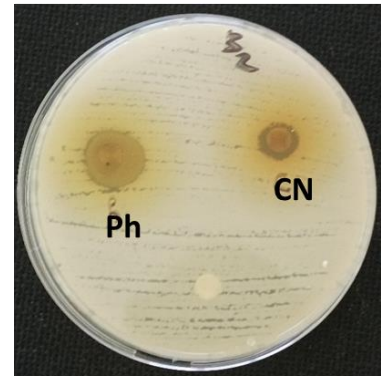
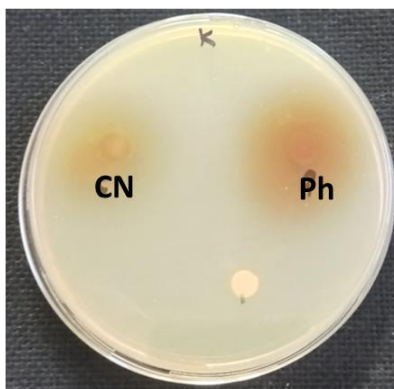
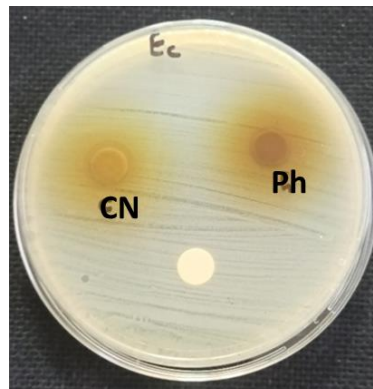
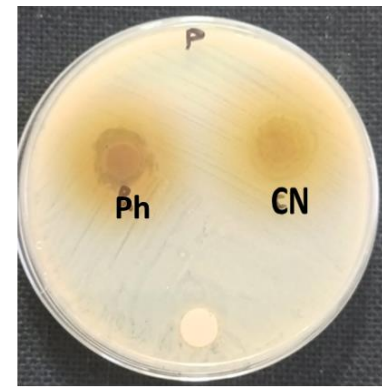
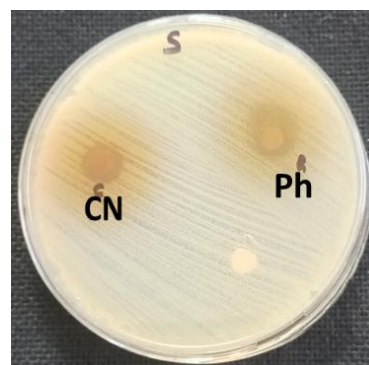


Figure 1 : La sensibilité des souches aux agents antimicrobiens standards.

Annexe 6

*S. aureus* ATCC25923*E. fecalis* ATCC29212*P. mirabilis* ATCC35659*B. cereus* ATCC11778*B. cereus* ATCC10876*B. subtilis* ATCC6633*K. pneumoniae* ATCC700603*P. aeruginosa* ATCC27853*C. albicans* ATCC10231**Figure 1** : les zones d'inhibition de l'huile essentielle de *C. nepeta*.

Annexe 7

*B. cereus* ATCC10876*B. subtilis* ATCC6633*B. cereus* ATCC11778*K. pneumoniae* ATCC700603*E. coli* ATCC25922*P. mirabilis* ATCC35659*S. aureus* ATCC25923**Figure 1** : les zones d'inhibition des extraits de *P. herba venti* et de *C. nepeta*.

Annexe 8

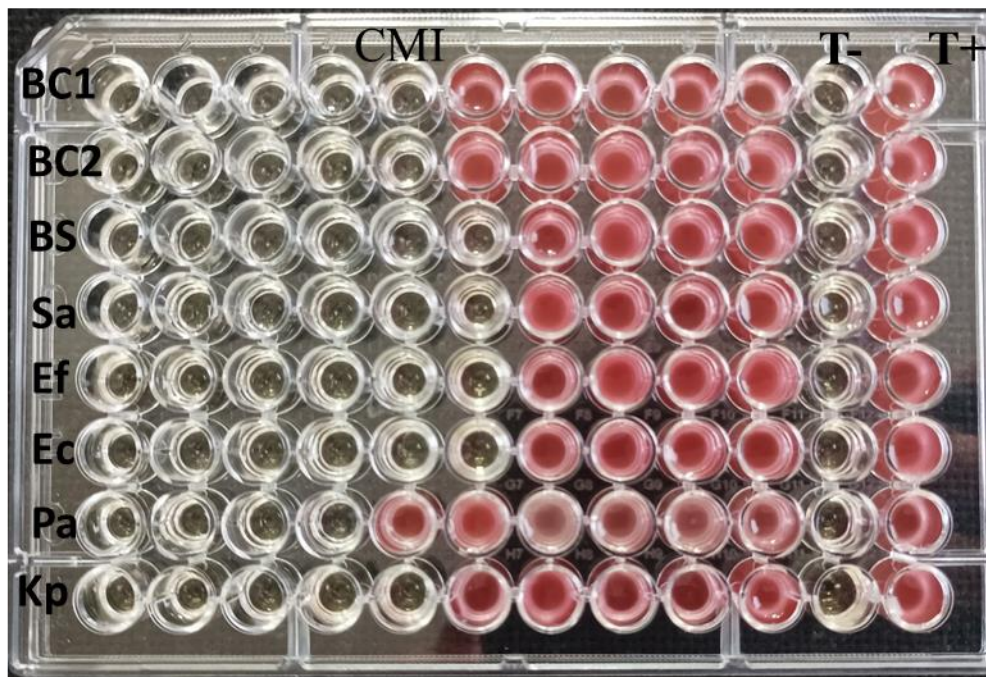


Figure 1 : la détermination de CMI pour l'huile de *C. nepeta*.

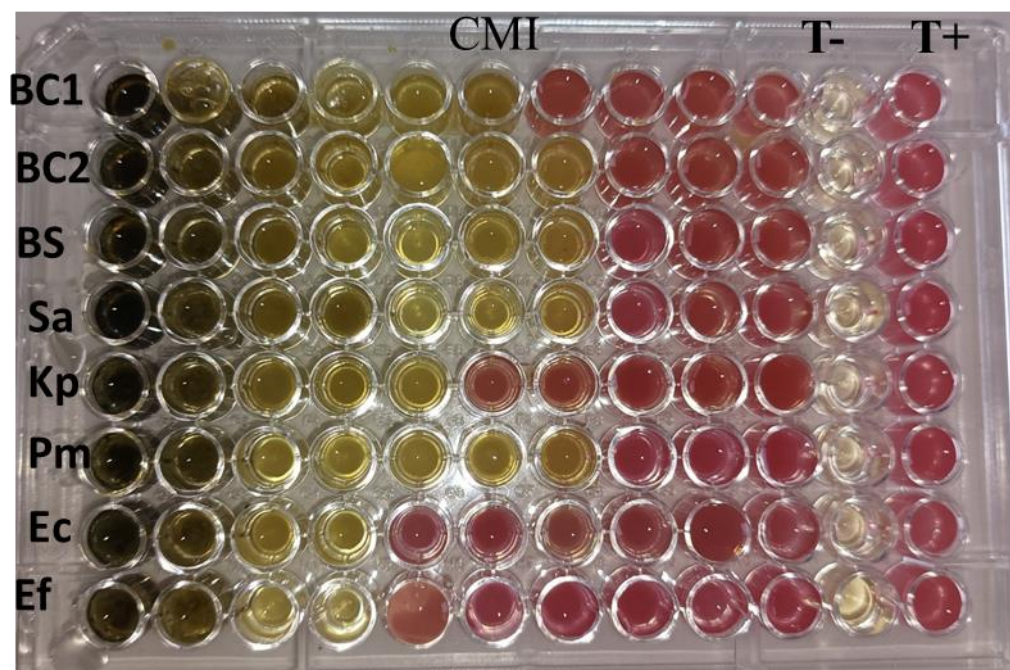
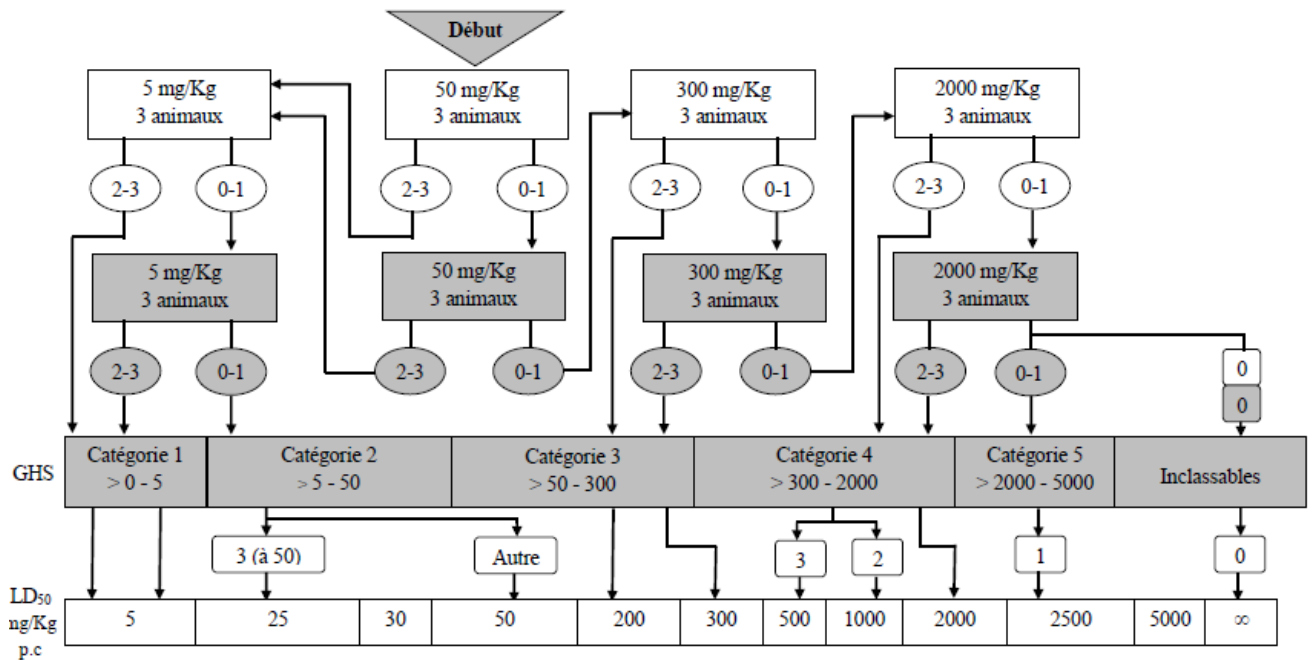


Figure 2 : la détermination de CMI pour l'extrait de *P. herba venti*.

Annexe 9

Etude *in vivo* de la toxicité aigue selon la méthode décrite par la ligne directrice OECD code 423 et détermination des LD_{50} selon la classification établie par GHS (Globally Harmonized System).



Trois animaux d'un seul sexe sont utilisés (généralement des femelles) ; 0, 1, 2, 3 : nombre d'animaux morts à chaque étape ; GHS : Globally Harmonized Classification System (mg/Kg p.c) ; ∞: inclassable