



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة 20 أوت 1955 سكيكدة

Université du 20 Août 1955 Skikda

Faculté des sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

THESE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de

Doctorat (LMD)

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Thème

Valorisation d'une plante endémique *Dianthus sylvestris*
subsp. *aristidis* (Batt) Greuter et Burdet par évaluation de ses
activités biologiques

Présentée par: M^{elle} BOUZANA Amina

Devant le Jury

Pr. SLIMANI Souheila	Professeur	Présidente	Université de Skikda
Pr. CHEKROUD Zohra	Professeur	Directrice de thèse	Université de Skikda
Pr. BERREDJEM Hajira	Professeur	Examinatrice	Université d'Annaba
Dr. LABID Asma	Maitre de conference A	Examinatrice	Université de Skikda
Dr. BECHEKER Imène	Maitre de conference A	Co-directrice de thèse	Université de Skikda

Année universitaire : 2023/2024

Remerciements

Tout d'abord, je remercie Dieu, le Tout Puissant, de m'avoir donné la volonté, la force et la patience pour achever cette thèse.

Nos vifs remerciements s'adressent

À mes directrices de thèse, Mme Chekrout Zohra, Professeur, et Mme Becheker Imène, Maître de conférences A, à l'université de Skikda, pour avoir encadré et orienté ce travail avec une grande rigueur scientifique. Leurs conseils, encouragements, contributions scientifiques, ainsi que leurs qualités humaines, ont été déterminants pour la réussite de cette thèse.

Aux membres du jury pour avoir généreusement accepté la lourde tâche de lire l'intégralité de ce manuscrit et de participer à la soutenance;

- Mme SLIMANI Souheila, Professeur à l'université de 20 Aout 1955, Skikda.*
- Mme BERREDJEM Hajira, Professeur à l'université de Badji Mokhtar, Annaba.*
- Mme LABID Asma, Maître de conférences A à l'université de 20 Aout 1955, Skikda.*

À Mr Bencouici Chawki, Mr Chaib Abdelhak, Mr Hadaf Youcef et Mme Memlouk Hayat pour m'avoir chaleureusement accueilli au sein de son laboratoire.

À Mme Machia leila, Mme Sakhraoui Nora, Mr Boudjellab Zine Eddine, Mme Chaib Yousra, Mme Kouadri Wijdene, Mme Hadjadj Radia, Mme Hadri Meriem, Mme Mansouri Rokaya, Mme Boukabache Nada, Mme Mezghache Nassima et Mr Guenoune Hassene, paix à son ame, pour leur générosité et leur aide tout au long de la période de recherche.

À tous ce qui, de près ou de loin, ont contribué directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce travail avec une profonde gratitude

À l'âme de mon père, Hamid j'aurais tant aimé qu'il soit présent. À ma Chère mère,

Medjani Farida

Ce jour est venu grâce à vos efforts, conseils, surveillance et sacrifices pour m'offrir les conditions propices à ma réussite. Vous n'avez cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études. Vos prières m'ont toujours accompagné et je ne pourrai jamais vous remercier assez. Merci d'avoir été les parents exceptionnels que vous êtes!

À Mes sœurs adorées et mes beaux frères

Asma, Iman, Aya, Fethi et Wassim un immense merci pour votre soutien et vos encouragements inconditionnels.

À mes chers neveux et nièces

Mouhamed-Habib Arahmene, Anas, Youssef-Hamid, Djaber- Abd Allah, Aamna-Sophia et Yasmine que la protection divine vous entoure, que votre chemin soit éclairé, je souhaite pour chacun de vous aura un avenir empli de réussites et de bonheur.

À mes amies et collègues

Je vous adresse mes vœux sincères de réussite dans la vie. Que chacun d'entre vous puisse concrétiser ses ambitions et atteindre ses objectifs.

À toute ma grande famille paternelle et maternelle

Table des matières

Résumés

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction 1

Synthèse bibliographique

I. Description de la plante étudiée..... 4

1. Famille des Caryophyllaceae..... 4

1.1. *Dianthus* L. 4

1.2. *Dianthus sylvestris* Wulfen 4

1.3. *Dianthus sylvestris* subsp. *aristidis* Greuter et Burdet 5

1.3.1. Description botanique et position systématique 5

1.3.2. Evolution de la nomenclature..... 7

1.3.3. Répartition géographique..... 7

1.4. Composition Phytochimique du genre *Dianthus* 7

1.4.1. Composés phénoliques 8

1.4.2. Classification..... 8

1.4.3. Extraction des polyphénols..... 9

1.5. Propriétés Médicinales et Pharmacologiques du genre *Dianthus* 9

II. Généralités sur les activités biologiques 10

1. Cytotoxicité 10

1.1. Test d'évaluation de la cytotoxicité sur *Artemia salina* 10

2. Activité antimicrobienne..... 11

2.1. Infections microbiennes 11

2.2. Traitement des infections bactériennes: les antibiotiques 11

2.3. Mode d'action des antibiotiques..... 11

2.4. Types de résistance aux antibiotiques..... 12

2.5.	Mécanismes de résistance aux antibiotiques	12
2.6.	Traitement des infections fongiques: les antifongiques.....	13
2.7.	Mode d'action des antifongiques.....	13
2.8.	Résistance aux antifongiques	14
2.9.	Mécanismes de résistance aux antifongiques	14
3.	Activité antioxydante	15
3.1.	Radicaux libres	15
3.2.	Stress oxydatif.....	15
3.3.	Antioxydants	15
4.	Activités enzymatiques.....	16
4.1.	Activité inhibitrice de l'alpha amylase	16
4.2.	Activité inhibitrice de l'uréase.....	16
4.3.	Activité inhibitrice de la tyrosinase.....	16
5.	Activité photoprotectrice	17

Matériel et méthodes

1.	Matériel	19
1.1.	Matériel biologiques.....	19
1.1.1.	Plante testée	19
1.1.2.	Micro-organismes testés	20
1.1.3.	<i>Artemia salina</i>	21
2.	Méthodes	21
2.1.	Préparation des extraits.....	21
2.2.	Rendement d'extraction	22
2.3.	Détermination des teneurs totales en polyphénols, flavonoïdes et flavonols	23
2.3.1.	Dosage des polyphénols.....	23
2.3.2.	Dosage des flavonoïdes.....	23
2.3.3.	Dosage des flavonols.....	24
2.4.	Analyse de la composition phytochimique de n-BuOH et EtOAc par chromatographie liquide -spectrométrie de masse à ionisation par électrospray (LC-ESI-MS/MS).....	24

2.5.2. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits de <i>D. sylvestris</i> subsp. <i>aristidis</i> vis-à-vis des souches cliniques et de référence.....	25
2.5.2.1. Méthode de diffusion en milieu solide	25
2.5.2.2. Détermination des concentrations minimale inhibitrice (CMI).....	26
2.5.3. Evaluation de l'activité antifongique des extraits de <i>D. sylvestris</i> subsp. <i>aristidis</i> vis-à-vis des souches du genre <i>Candida</i>	26
2.5.3.1. Méthode de diffusion en milieu solide	26
2.5.3.2. Détermination des concentrations minimale inhibitrice.....	26
2.5.4. Evaluation de l'activité antifongique des extraits de <i>D. sylvestris</i> subsp. <i>aristidis</i> vis-à-vis des souches d' <i>A. niger</i>	27
2.5.4.1. Détermination des pourcentages d'inhibition de la croissance d' <i>A. niger</i>	27
2.5.5. Activité antioxydante <i>in vitro</i>	27
2.5.5.1. Activité de piégeage des radicaux libres 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)	28
2.5.5.2. Activité de piégeage de 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS).....	29
2.5.5.3. Activité de pouvoir réducteur ferrique antioxydant (FRAP).....	30
2.5.5.4. Activité sur nanoparticules d'argent (SNP)	31
2.5.5.5. Activité de phénantroline.....	31
2.5.6. Activité enzymatique.....	32
2.5.6.1. Inhibition de l'alpha-amylase	32
2.5.6.2. Activité inhibitrice de l'uréase	33
2.5.6.3. Activité inhibitrice de la tyrosinase	34
2.5.7. Facteur de protection solaire (SPF)	35
Analyse statistique.....	36

Résultats et discussion

1. Caractérisation physique et rendement d'extraction	38
2. Teneur totale en composés phénoliques, flavonoïdes et flavonols	38
3. Analyse de la composition phytochimique des extraits EtOAc et n-BuOH par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse à ionisation par électrospray (LC-MS/MS)	41
4. Activités biologiques.....	42

4.1. Evaluation de la cytotoxicité	42
4.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de <i>D. sylvestris</i> subsp. <i>aristidis</i> 45	
4.2.1. Caractérisation des microorganismes étudiés	45
4.2.2. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits de <i>D. sylvestris</i> subsp. <i>aristidis</i>	46
4.2.3. Evaluation de l'activité antifongique des extraits de <i>D. sylvestris</i> subsp. <i>aristidis</i> 54	
a. Souches de <i>Candida</i> sp.	54
b. Souches d' <i>Aspergillus niger</i>	56
4.2.4. Evaluation statistique de l'efficacité des extraits testés	61
4.3. Evaluation de l'activité antioxydante <i>in vitro</i>	66
4.4. Activités enzymatiques	68
4.4.1. Evaluation de l'activité inhibitrice de l'alpha-amylase.....	68
4.4.2. Evaluation de l'activité inhibitrice de l'uréase	69
4.4.3. Evaluation de l'activité inhibitrice de la tyrosinase	70
4.5. Evaluation de l'activité photo-protectrice.....	71
Conclusion et perspectives.....	73

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Le présent travail est consacré à la caractérisation phytochimique et l'évaluation des activités biologiques, *in vitro*, de l'extrait hydro-méthanolique (MeOH), acétate d'éthyle (EtOAc) et butanolique (n-BuOH) des feuilles de la plante endémique *Dianthus sylvestris* subsp. *aristidis* (Batt.) Greuter & Burdet. Les méthodes utilisées comprennent: le dosage des composés phénoliques par le réactif de Folin-Ciocalteu, des flavonoïdes et des flavonols par la méthode de chlorure d'aluminium, l'analyse phytochimique en utilisant la technique LC-ESI-MS/MS, l'évaluation de la cytotoxicité par le test de létalité des nauplii d'*Artemia salina*, l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur milieu solide et par la détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI sur milieu liquide, l'activité antioxydante en utilisant cinq tests différents, l'inhibition enzymatique de trois des enzymes α -amylase, urease et tyrosinase et l'évaluation du facteur de protection solaire (SPF). Les résultats ont révélé que l'extrait n-BuOH était riche en polyphénols et en flavonoïdes ($121,45 \pm 1,87$ μg GAE/mg d'extrait et $57,09 \pm 0,14$ μg QE/mg d'extrait, respectivement), tandis que l'extrait EtOAc était riche en flavonols ($41,90 \pm 0,98$ μg QE/mg d'extrait). L'analyse par LC-ESI-MS/MS des extraits EtOAc et n-BuOH a permis d'identifier 14 composés, parmi lesquels des acides phénoliques, des flavonoïdes et des vitamines représentées majoritairement par l'acide p-coumarique, l'héspértine et l'acide ascorbique, respectivement. Aucun des trois extraits n'a présenté d'effet cytotoxique vis-à-vis les nauplii d'*Artémia salina*, avec une $CL_{50} > 100$ $\mu\text{g}/\text{mL}$. Un effet antibactérien intéressant vis-à-vis de la plupart des bactéries testées a été noté avec des diamètres des zones d'inhibition (DI) qui varient entre 10 et 20 mm et des CMI entre 31,25 et 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Une activité antifongique importante a été observée, notamment contre *Candida albicans* et *Aspergillus niger* avec des pourcentages d'inhibition allant jusqu'à 100% pour ce dernier. Les extraits EtOAc et n-BuOH ont présenté la plus forte activité antioxydante avec le test de la phénanthroline ($A_{0,5}$: $17,75 \pm 0,72$ $\mu\text{g}/\text{mL}$ et $A_{0,5}$: $21,02 \pm 0,43$ $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectivement). L'extrait n-BuOH a montré une activité d'inhibition de l'enzyme α -amylase supérieure à celle du standard acarbose (IC_{50} de $307,08 \pm 1,13$ $\mu\text{g}/\text{mL}$). Les valeurs du facteur de protection solaire des extraits EtOAc ($45,19 \pm 0,73$) et n-BuOH ($43,81 \pm 0,59$) appartiennent à la catégorie de haute protection. Ces résultats suggèrent que *Dianthus sylvestris* subsp. *aristidis* pourrait être une source prometteuse de molécules bioactives pour l'industrie pharmaceutique.

Mots-clés: Activités biologiques, Caractérisation phytochimique, *Dianthus sylvestris* subsp. *aristidis*, plante endémique.

Abstract

The present work aims at studying the phytochemical characterization and the *in vitro* evaluation of biological activities of the hydro-methanolic (MeOH), ethyl acetate (EtOAc), and butanolic (n-BuOH) extracts from the leaves of the endemic plant *Dianthus sylvestris* subsp. *aristidis* (Batt.) Greuter & Burdet. The methods used include: the quantification of phenolic compounds using Folin-Ciocalteu reagent, flavonoids and flavonols using aluminum chloride method, phytochemical analysis using LC-ESI-MS/MS, cytotoxic activity using Brine shrimp lethality test, antimicrobial activity using solid medium diffusion and determination of minimum inhibitory concentration (MIC) in liquid medium, antioxidant activity using five tests, enzymatic inhibition activity of α -amylase, urease, and tyrosinase, and evaluation of sun protection factor (SPF). The results revealed that the n-BuOH extract was rich in polyphenols and flavonoids (121.45 ± 1.87 μg GAE/mg of extract and 57.09 ± 0.14 μg QE/mg of extract, respectively) while the EtOAc extract was rich in flavonols (41.90 ± 0.98 μg QE/mg of extract). Analysis by LC-ESI-MS/MS of the EtOAc and n-BuOH extracts revealed the presence of 14 compounds, including phenolic acids, flavonoids, and vitamins, with p-coumaric acid, hesperetin, and ascorbic acid as the major compounds, respectively. None of the three extracts exhibited cytotoxic effects on *Artemia salina* nauplii, with a $\text{LC}_{50} > 100$ $\mu\text{g}/\text{mL}$. An interesting antibacterial effect was observed against most tested bacteria, with inhibition zone diameters (DI) ranging between 10 and 20 mm, and minimum inhibitory concentrations (MIC) ranging between 31.25 and 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Significant antifungal activity was observed, particularly against *Candida albicans* and *Aspergillus niger*, with inhibition percentages reaching up to 100% for the latter. The EtOAc and n-BuOH extracts exhibited the highest antioxidant activity with the phenanthroline assay (IC_{50} : 17.75 ± 0.72 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and IC_{50} : 21.02 ± 0.43 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectively). The n-BuOH extract demonstrated higher α -amylase enzyme inhibition activity compared to the standard acarbose (IC_{50} : 307.08 ± 1.13 $\mu\text{g}/\text{mL}$). The sun protection factor values of the EtOAc (45.19 ± 0.73) and n-BuOH (43.81 ± 0.59) extracts belong to the high protection category. These present results suggest that *Dianthus sylvestris* subsp. *aristidis* could be a promising source of bioactive molecules for the pharmaceutical industry.

Key words: Biological activities, *Dianthus sylvestris* subsp. *aristidis*, Endemic plant, phytochemical characterization.

الملخص

يهدف هذا العمل لدراسة الكيمياء النباتية و تقييم الأنشطة البيولوجية للمستخلصات: المائي الميثانولي (MeOH) و الأسيتات الإيثيلي (EtOAc) و البيوتانولي (n-BuOH) من أوراق النبات المتوطن *Dianthus sylvestris* subsp. *aristidis*. تشمل الطرق المستخدمة: قياس كمية المركبات الفينولية باستخدام محلول Folin-Ciocalteu، الفلافونويدات والفلافونولات باستخدام طريقة كلوريد الألومنيوم، التحليل الكيميائي النباتي باستخدام LC-ESI-MS/MS، اختبار السمية الخلوية باستخدام اختبار سمية يرقات *Artemia salina*، النشاط المضاد للميكروبات باستخدام الانتشار في الوسط الصلب وتحديد الحد الأدنى للتركيز المثبط (MIC) في الوسط السائل، النشاط المضاد للأكسدة باستخدام خمس اختبارات، نشاط تثبيط الإنزيمات α -amylase و urease و tyrosinase، وتقييم عوامل الحماية من الأشعة فوق البنفسجية (SPF). أظهرت النتائج أن مستخلص n-BuOH كان غنياً بالمركبات الفينولية (121.45±1.87 µg GAE/mg d'extract) والفلافونويدات (57.09±0.14µg QE/mg d'extract) في حين كان مستخلص EtOAc غنياً بالفلافونولات (41.90 ± 0.98 µg QE/mg d'extract). كشفت التحليلات بواسطة LC-ESI-MS/MS لمستخلصات EtOAc و n-BuOH عن وجود 14 مركباً، من بينهم الأحماض الفينولية والفلافونويدات والفيتامينات، مع اعتبار حمض-p كوماريك والهيسبيريتين وحمض الأسكوربيك كمركبات رئيسية على التوالي. لم يُظهر أي من المستخلصات الثلاثة آثاراً سامة على يرقات *Artemia salina* مع $CL_{50} > 100$ ug/mL. تم ملاحظة تأثير مضاد للبكتيريا مثير للاهتمام تجاه معظم البكتيريا المختبرة، حيث تراوحت أقطار التنشيط بين 10 و 20 mm، وتراوحت تراكيز الحد الأدنى المثبطة بين 1000 ug/mL و 31.25. أظهرت المستخلصات تأثيراً كبيراً مضاداً للفطريات، خاصة ضد *Aspergillus niger* و *Candida albicans* بنسب تثبيط تصل إلى 100% للأخير. أظهرت مستخلصات EtOAc و n-BuOH أعلى نشاط مضاد للأكسدة في اختبار phénanthroline ($A_{0.5}$: 21.02 و $A_{0.5}$: 17.75 ± 0.72 ug/ mL) و 0.43 ug/ mL (على التوالي). أظهر مستخلص n-BuOH نشاطاً مثبطاً لإنزيم α -amylase بنسبة تفوق معيار acarbose (IC_{50} : 307.08 ± 1.13 ug/ mL). تنتمي مستخلصات EtOAc (0.73±45.19) و (43.81±0.59) n-BuOH إلى فئة الحماية العالية من الأشعة فوق البنفسجية. تشير هذه النتائج إلى أن *Dianthus sylvestris* subsp. *aristidis* قد تكون مصدرًا واعدًا للجزيئات البيولوجية التي تتمتع بأنشطة بيولوجية متنوعة ومثيرة للاهتمام للصناعة الصيدلانية.

الكلمات المفتاحية

التركيب الكيميائي النباتي، الأنشطة البيولوجية، نبات متوطن، *Dianthus sylvestris* subsp. *aristidis*

Liste des tableaux

Tableau 1: Classification botanique de <i>D. sylvestris</i> subsp. <i>aristidis</i>	6
Tableau 2: Fonction normale de produit utilisée dans le calcul du facteur de protection solaire (SPF)	35
Tableau 3: Rendements (%) et caractérisation physique des extraits MeOH, EtOAc et n-BuOH	38
Tableau 4: Teneur totale en composés phénoliques, flavonoïdes et flavonols de divers extraits de <i>D. sylvestris</i> subsp. <i>aristidis</i>	40
Tableau 5: Profil phytochimique déterminé par LC-MS/MS des extraits EtOAc et n-BuOH de <i>D. sylvestris</i> subsp. <i>aristidis</i>	42
Tableau 6: Activité cytotoxique de divers extraits de <i>D. sylvestris</i> subsp. <i>aristidis</i> sur les nauplii d'artémies salines.....	44
Tableau 7: Diamètres des zones d'inhibition et CMI des souches de référence et cliniques à Gram-positif (<i>S. aureus</i>) vis-à-vis des extraits testés de <i>D. sylvestris</i> subsp. <i>aristidis</i>	47
Tableau 8: Diamètres des zones d'inhibition et CMI des souches de référence et cliniques à Gram-négatif vis-à-vis des extraits testés de <i>D. sylvestris</i> subsp. <i>aristidis</i>	51
Tableau 9: Diamètres des zones d'inhibition et CMI des souches de référence et cliniques de <i>Candida</i> sp. vis-à-vis les extraits testés de <i>D. sylvestris</i> subsp. <i>aristidis</i>	55
Tableau 10: Pourcentage d'inhibition (%) de la croissance d' <i>Aspergillus niger</i> vis-à-vis des extraits testés de <i>D. sylvestris</i> subsp. <i>aristidis</i>	58
Tableau 11: Activité antioxydante de différents extraits de <i>D. sylvestris</i> subsp. <i>aristidis</i>	68
Tableau 12: Activité inhibitrice de l'enzyme α -amylase de différents extraits de <i>D. sylvestris</i> subsp. <i>aristidis</i>	69
Tableau 13: Activité inhibitrice de l'enzyme uréase de différents extraits de <i>D. sylvestris</i> subsp. <i>aristidis</i>	70
Tableau 14: Activité inhibitrice de l'enzyme tyrosinase de différents extraits de <i>D. sylvestris</i> subsp. <i>aristidis</i>	70
Tableau 15: Les valeurs de facteur de protection solaire (SPF) de différents extraits de <i>D. sylvestris</i> subsp. <i>aristidis</i>	71
Tableau 16 : Catégories de protection affichées sur les produits solaires en fonction des facteurs de protection mesurés.....	72

Liste des figures

Figure 1: <i>D. sylvestris</i> subsp. <i>aristidis</i> (Batt.) Greuter et Burdet	6
Figure 2: <i>Artemia salina</i>	10
Figure 3: Principaux modes d'action des antibiotiques	12
Figure 4: Mécanismes de résistance bactériennes aux antibiotiques	13
Figure 5: Principales cibles des antifongiques	14
Figure 6: Localisation de la wilaya de Skikda en Algérie.....	19
Figure 7: Lieu de récolte de <i>D. sylvestris</i> subsp. <i>aristidis</i>	20
Figure 8: Schéma représentatif des étapes de préparation des extraits des feuilles de <i>D. sylvestris</i> subsp. <i>aristidis</i>	22
Figure 9: Réduction du DPPH par un antioxydant.....	28
Figure 10: Structure chimique de 2,2'- azino-bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)	29
Figure 11: Réduction de fer ³⁺ en fer ²⁺	30
Figure 12: Mécanisme de réduction des nanoparticules d'argent	31
Figure 13: Formation du complexe Fe ⁺² - phénanthroline	32
Figure 14: Schéma de la plaque de l'activité inhibitrice de l' α -amylase	33
Figure 15: Courbes d'étalonnages d'acide gallique et quercétine.....	40
Figure 16: Répartition des micro-organismes isolés selon les espèces	45
Figure 17: Répartition des micro-organismes isolés selon le type de prélèvement.	46
Figure 18 : Effet des extraits MeOH, EtOAc et n-BuOH sur <i>P. aeruginosa</i> 01	53
Figure 19 : Effet des extraits MeOH, EtOAc et n-BuOH sur <i>P. aeruginosa</i> 03	53
Figure 20: Effet de l'extrait MeOH sur <i>Serratia sp</i> 02 et <i>E. coli</i> 02	54
Figure 21: Effet de l'extrait EtOAc sur <i>K. pneumoniae</i> 03 et <i>P. aeruginosa</i> 27853 ATCC... ..	54
Figure 22: Effet de l'extrait n-BuOH sur <i>P.aeruginosa</i> 02.....	54
Figure 23: Effet des extraits MeOH, EtOAc et n-BuOH sur <i>C. albicans</i> 01	56
Figure 24: Effet de l'extrait MeOH sur <i>C. albicans</i> 04.....	56
Figure 25: Effet de l'extrait EtOAc sur <i>C. albicans</i> 09, <i>C. albicans</i> 05 et <i>C. albicans</i> 07	56
Figure 26: Effet des extraits MeOH, EtOAc et n-BuOH sur <i>A. niger</i> 01.....	59
Figure 27: Effet des extraits MeOH, EtOAc et n-BuOH sur <i>A. niger</i> 02.....	59
Figure 28: Classification ascendante hiérarchique des souches bactériennes G+ et G- testées en fonction de leur sensibilité aux extraits étudiés.....	62
Figure 29: Pourcentage de souches sensibles/résistantes appartenant à une seule espèce et cela quel que soit l'extrait utilisé	63

Figure 30: Classification ascendante hiérarchique des levures testées en fonction de leur sensibilité aux extraits étudiés.....	64
Figure 31: Classification ascendante hiérarchique des souches fongiques (<i>A. niger</i>) testées en fonction de leur sensibilité aux extraits étudiés.....	65
Figure 32: Activité antioxydante des différents extraits de <i>D. sylvestris</i> subsp. <i>aristidis</i>	67

Liste des abréviations

Abréviations	Significations
A _{0,5}	Concentration indiquant 0,50 d'absorbance
ABTS	2, 2 azinobis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid
ADN	Acide Désoxyribonucléique
AlCl ₃	Trichlorure d'aluminium
ANOVA	Analyse de Variance
ATCC	American Type Culture Collection
API 20 ^E	Analytical Profile Index 20 ^E (E= Entérobactéries)
API 20N ^E	Analytical Profile Index 20N ^E (N= Non, E=Entérobactéries)
API STAPH	Analytical Profile Index <i>Staphylococcus</i>
ARN	Acide Désoxyribonucléique
BHA	Butylhydroxyanisole.
BHT	Butylhydroxytoluène
C ₃ G	Céphalosporines de troisième Génération
CHU	Centre Hospitalier Universitaire
CI ₅₀	Concentration d'inhibition à 50%
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
DI	Diamètres d'inhibitions
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DO	Densité Optique
DPPH	α,α -diphényl- β -picrylhydrazyl
EBLSE	Entérobactéries Productrices de Bêta-Lactamases à Spectre Etendu
ECBU	Examen Cytobactériologique des Urines
EDTA	Acide Ethylènediaminetétraacétique
EPH	Etablissement Public Hospitalier
EPS	ExoPolysaccharides
ERO	Espèces Réactives de l'Oxygène
EtOAc	Extrait acétate d'éthyle
FCR	Réactif de Folin-Ciocalteu
Fe ²⁺	Ions Ferreux

Fe ³⁺	Ions Ferriques
FeCl ₃	Trichlorure de fer
FRAP	Pouvoir Réducteur de l'ion Ferrique
HCL	Acide Chlorohydrique
H ₂ O ₂	Peroxyde d'Hydrogène
IKI	Iodine Potassium Iodide
GN	Gélose Nutritive
K ₃ Fe (CN) ₆	Ferricyanure de Potassium
LC-ESI-MS/MS	Chromatographie Liquide -Spectrométrie de Masse à Ionisation par Electrospray
LPS	Lipopolysaccharides
MH	Mueller Hinton
n-BuOH	Extrait butanolique
O ₂ •+	Radical superoxide.
OH•	Radical Hydroxyle
PE	polysaccharides Extracellulaires
pH	Potentiel Hydrogène
RL	Radicaux Libres
RO•	Radical peroxydes
SD	Standard de Déviation
Snp	Silver nanoparticule
SM	Solution mère
SPF	Sun Protection Factor
TCA	Acide Tri-chloroacetique
TR	Temps de rétention
µg GAE/mg d'extrait	µg d'Equivalents d'Acide Gallique par mg d'extrait
µg QE/mg d'extrait	µg d'Equivalents de Quercétine par mg d'extrait
UV	Ultraviolet

Introduction

La croissance de la population humaine et divers facteurs environnementaux tels que les contacts étroits avec les animaux, l'agriculture intensive, la pollution, les changements climatiques, ainsi qu'à l'usage abusif et pas assez contrôlé des antibiotiques qui sont devenus moins efficaces, ont contribué à l'émergence des agents pathogènes multi résistants et à la propagation de la résistance aux antimicrobiens. De plus, bien que les antioxydants synthétiques soient très efficaces, ils peuvent avoir des effets secondaires sur notre santé à long terme (Liu et Mabury, 2020). Cela suscite l'intérêt des chercheurs qui tentent non seulement de réduire leurs emplois mais encore de développer de nouvelles molécules visant à les substituer par d'autres agents antimicrobiens et antioxydants naturels et efficaces en se basant sur les extraits et les principes actifs des plantes médicinales.

L'utilisation des plantes médicinales comme source de remède pour se soigner ou prévenir des maladies remonte à des millénaires surtout dans les pays en voie de développement (Batoool *et al.*, 2018). De nos jours l'industrie pharmaceutique s'appuie largement sur la diversité des métabolites secondaires d'origine végétale pour trouver de nouvelles molécules thérapeutiques aux propriétés biologiques inédites et sans effets nocifs. Parmi ces métabolites, les composés phénoliques, tels que les acides phénoliques et les flavonoïdes, constituent les principales catégories de composants naturels présents dans les plantes, présentant une large gamme d'activités biologiques exploitables à des fins thérapeutiques (Pratyusha, 2022).

Le continent Africain et l'Algérie en particulier, en tant que pays méditerranéen riche en biodiversité, possède certainement un grand potentiel pour la découverte de ces molécules naturelles à activité biologique. Cependant, cela nécessite une connaissance approfondie des plantes peu ou non étudiées. La famille des Caryophyllaceae faisant partie de ces plantes et elle comprend plusieurs espèces qui ont été utilisées dans la médecine traditionnelle par diverses communautés ethniques à travers le monde (Chandra et Rawat, 2015). Des études antérieures ont montré que plusieurs de ces espèces sont riches en composés phénoliques et volatils démontrant des activités prometteuses, notamment des activités antibactériennes, antifongiques, antioxydantes, antidiabétiques, anticancéreuses, antivirales, insecticides, répulsives, réno-protectrices, anesthésiques et analgésiques (Kazeem et Ashafa, 2015; Al-Snafi, 2017).

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à élargir la connaissance du patrimoine algérien et à préserver la biodiversité locale par la mise en valeur d'une sous-espèce rare et peu abordée dans la littérature, faisant partie de la flore endémique du Nord-Est Algérien (Skikda), à savoir *Dianthus sylvestris* subsp. *aristidis* (*D. sylvestris* subsp. *aristidis*). Nous avons également cherché à contribuer à la recherche de nouvelles molécules thérapeutiques naturelles

en explorant pour la première fois la composition phytochimique ainsi que les activités cytotoxique, antimicrobienne, antioxydante, enzymatique et photoprotectrice de cette sous espèce à grande valeur patrimoniale.

Ce manuscrit comporte trois parties principales:

La première partie présentera une synthèse bibliographique qui porte sur la description botanique de la plante étudiée et des généralités sur les activités biologiques.

La deuxième partie est consacrée à la présentation du matériel et méthodes utilisés où nous avons exposé les différentes techniques de la préparation des extraits, le dosage des polyphénols, des flavonoïdes et des flavonols, l'analyse phytochimique des extraits de la plante par la technique LC-ESI-MS/MS ainsi que les méthodes d'évaluation de ses activités biologiques: activité cytotoxique sur les naupii d'*Artemia salina*, antibactérienne, antifongique, antioxydante, enzymatique et photoprotectrice.

La troisième partie présentera les résultats obtenus, suivis de leur discussion.

Enfin nous terminerons par une conclusion qui retrace l'ensemble des résultats importants obtenus le long de ce travail au terme de laquelle les principales perspectives ouvertes par ce travail sont identifiées.

Synthèse bibliographique

I. Description de la plante étudiée

1. Famille des Caryophyllaceae

La famille des Caryophyllaceae, également connue sous le nom de famille des oeillets, est largement connue pour ses plantes ornementales. Elle est composée de plantes herbacées, vivaces ou annuelles et est l'une des principales familles de Eudicotylédones. Elle regroupe plus de 80 genres comprenant plus de 2600 espèces réparties en 3 sous-familles: Caryophylloideae (ou Silenoideae), Alsinoideae et Paronychioideae. Cette répartition se base sur la présence ou l'absence de stipules, ainsi que le type de calice et de corolle (Jakimiuk *et al.*, 2022).

La flore algérienne se caractérise par la présence de la famille des Caryophyllaceae qui se classe en deuxième position après les Asteraceae par rapport au nombre de taxons endémiques avec 25 taxons (Quézel, 1964). La sous-famille Caryophylloideae comprend des espèces caractérisées par l'absence de stipules, des sépales soudés et des pétales articulés avec un onglet distinct. Parmi les genres inclus, nous trouvons *Agrostemma*, *Dianthus*, *Gypsophila*, *Lychnis*, *Silene* et bien d'autres (Judd *et al.*, 2002).

1.1. *Dianthus* L.

Le nom *Dianthus* (de dios = Jupiter et anthos = fleur) a été donné par Linné (Linnaeus) en raison de la beauté de ses fleurs (Botineau, 2010). Parmi les noms communs, nous citons "Gronfel" en arabe, "Oeillet" en français, "Carnation" en anglais et "Clavel" en espagnol (Jenderek et Reed, 2017).

Dianthus L. est le deuxième plus grand genre de la famille des Caryophyllaceae après *Silene* L., comprenant environ 300 espèces (Fassou *et al.*, 2022). Il est principalement répandue en Afrique, en Eurasie, en Iran, en Turquie et en Amérique du Nord (Mabberley, 2008). Il se compose de plantes herbacées vivaces, ainsi que de quelques plantes annuelles ou bisannuelles ou encore d'arbustes ayant des feuilles oblongues à ovales ou linéaires, ressemblant à de l'herbe. Selon Quézel et Santa (1962), le genre *Dianthus* est représenté en Algérie par 7 taxons répartis sur l'ensemble du territoire national, par contre, Dobignard et Chatelain (2011) reconnaissent 13 taxons pour l'Algérie dont un éteint (*D. tripunctatus* Sm.) ce qui réduit le nombre à 12 taxons.

1.2. *Dianthus sylvestris* Wulfen

Dianthus sylvestris Wulfen est une espèce complexe au sein du genre *Dianthus* avec une confusion de synonymes (Terlević et Rešetnik, 2020). Le nom *Dianthus sylvestris* a été décrit par Wulfen (1786), puis a été néotypifié par Bacchetta *et al.* (2010). Selon POWO (2023) cette espèce comprend plusieurs sous espèces endémiques dans plusieurs pays, notamment l'Albanie,

l'Algérie, l'Autriche, la France, l'Allemagne, la Grèce, le Maroc, l'Espagne, la Suisse, et l'ancienne Yougoslavie. Parmi les sous espèces identifiées (POWO, 2023):

- *D. sylvestris* subsp. *aristidis* (Batt.) Greuter & Burdet
- *D. sylvestris* subsp. *alboroseus* F.K.Mey.
- *D. sylvestris* subsp. *bertisceus* Rech.f.
- *D. sylvestris* subsp. *boissieri* (Willk.) Dobignard
- *D. sylvestris* subsp. *longibracteatus* (Maire) Greuter & Burdet
- *D. sylvestris* subsp. *sylvestris*
- *D. sylvestris* subsp. *tergestinus* (Rchb.) Hayek

D'après Dobignard et Chatelain (2011), *D. sylvestris* comprend 5 sous espèces en Afrique du Nord :

- *D. sylvestris* subsp. *aristidis* (Batt.) Greuter & Burdet, endémique algérienne stricte.
- *D. sylvestris* subsp. *boissieri* (Willk.) Dobignard, présente en Algérie, Maroc et en Espagne d'après POWO (2023).
- *D. sylvestris* subsp. *longibracteatus* (Maire) Greuter & Burdet, endémique Marocaine stricte.
- *D. sylvestris* subsp. *longicaulis* (Ten.) Greuter & Burdet, soupçonnée d'être présente en Tunisie.
- *D. sylvestris* subsp. *siculus* (C. Presl) Tutin, présente en Algérie, Maroc et Tunisie.

POWO (2023), ne reconnaît par contre que 3 subsp. Pour l'Afrique du Nord:

- *D. sylvestris* subsp. *aristidis*
- *D. sylvestris* subsp. *boissieri*
- *D. sylvestris* subsp. *longibracteatus*

D. sylvestris subsp. *siculus* est considérée comme synonyme de *D. siculus* C. Presl, inexistante en Algérie pour POWO.

1.3. *Dianthus sylvestris* subsp. *aristidis* Greuter et Burdet

1.3.1. Description botanique et position systématique

D. sylvestris subsp. *aristidis* Greuter et Burdet (Figure1) est une plante pérenne (hémicryptophyte) qui forme une souche nettement cespiteuse avec de courts rejets et une abondante feuillaison. Elle est caractérisée par:

- Les feuilles sont linéaires, peu charnues, larges de 4-5 mm et ont une couleur glauque;
- Les tiges sont souvent carrées, fortes et noueuses, réduites épaisses hautes de 80-100 cm;
- Les fleurs sont roses, assez grandes et sont souvent disposées en groupes de 5 ou 8 à l'extrémité des tiges florifères.

- Le calice est cylindrique et strié sur presque toute sa longueur;
- Le fruit est une capsule contenant de petites graines noires (Battandier et Trabut, 1888).

Selon APG (2016), la famille des Caryophyllaceae suit l'ordre des Caryophyllales dont la systématique détaillée est donnée ci-dessous.

Tableau 1: Classification botanique de *D. sylvestris* subsp. *aristidis*

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Caryophyllidae
Ordre	Caryophyllales
Famille	Caryophyllaceae
Genre	<i>Dianthus</i> L.
Espèce	<i>Dianthus sylvestris</i>
Sous espèce	<i>Dianthus sylvestris</i> subsp. <i>aristidis</i>



Figure 1: *D. sylvestris* subsp. *aristidis* (Batt.) Greuter et Burdet **A**; Fiches d'herbier à Cap de Garde, Annaba (GBIF, 2023). **B**; Photographie à Îlot des Chèvres, Skikda

1.3.2. Evolution de la nomenclature

Battandier et Trabut (1888) ont mentionné ce taxon sous le nom de *D. aristidis* Batt. Quézel et Santa (1962), ainsi que Maire (1963), l'ont classé comme une sous-espèce de *D. caryophyllus* L. Le nom utilisé par ces auteurs a donc été *D. caryophyllus* subsp. *aristidis* Maire (WFO, 2023). Le nom actuellement accepté est *D. sylvestris* subsp. *aristidis* (Batt.) Greuter et Burdet. Ce nom a été publié pour la première fois par Greuter et Raus (1982), puis a été repris par Dobignard et Chatelain (2011) lors de la révision de la nomenclature de la flore Nord-Africaine.

1.3.3. Répartition géographique

D. sylvestris subsp. *aristidis* est une plante endémique algérienne (Dobignard et Chatelain, 2011), rare et peu étudiée (Sakhraoui *et al.*, 2021).

D. sylvestris subsp. *aristidis* a une répartition géographique restreinte au niveau national, limitée à la zone côtière du Nord-Est algérien, s'étendant d'Annaba (anciennement Bône) à Skikda (anciennement Philippeville) selon Quézel et Santa (1962), mais récemment élargie jusqu'à la zone frontalière d'El Tarf suite à la découverte de la plante dans la région d'Oum Tboul (Véla *et al.*, 2012). Cette sous-espèce ne pousse que sur les rochers maritimes de cette région côtière spécifique, et a été considérée par Dobignard et Chatelain (2011) comme une endémique algérienne stricte. Quelques stations dudit taxon ont été mentionnées dans la littérature scientifique, notamment le Cap de Fer, la plage Kef Fatima, Stora et Collo (Maire, 1963; Véla, 2018) et dans la station de l'îlot des Chèvres, localement appelée "Lilou" (Lieu de collecte) (Sakhraoui *et al.*, 2021) pour la région de Skikda, le cap de Garde et la péninsule de l'Edough pour la région d'Annaba (Hamel et Boulemtafes, 2017; Boulemtafes *et al.*, 2018; Hamel *et al.*, 2018) et le versant Est du cap Sigleb (ex. cap Roux) pour la région d'El Tarf (Véla *et al.*, 2012).

1.4. Composition Phytochimique du genre *Dianthus*

Les enquêtes phytochimiques menées sur différentes espèces de la famille de Caryophyllaceae, en particulier le genre *Dianthus* ont révélé que les composés phénoliques constituent une part significative des métabolites secondaires. Parmi ces composés les flavonoïdes sont l'un des groupes les plus étendus. De plus, les plantes Caryophyllaceae produisent divers autres métabolites secondaires, notamment des saponines, des phytoecdystéroïdes, d'autres stérols, des lignanes, des anthocyanes, des huiles essentielles et des composés azotés tels que des vitamines, des alcaloïdes et des peptides cycliques (Jakimiuk *et al.*, 2022). Il est à noter que les pigments principaux responsables de la couleur des fleurs de l'œillet sont la cyanidine, la pelargidine et l'isosalipurposide jaune (Al-Snafi, 2017).

Quelques espèces et sous espèces du genre *Dianthus* ont été étudiées jusqu'ici d'un point de vue phytochimique comme *D. carmelitarum* (Aliyazıcıoğlu *et al.*, 2017) et *D. superbus* (Ding *et al.*, 2013), toutefois, il n'existe aucune étude sur la composition phytochimique ni sur les effets biologiques de *D. sylvestris* subsp. *aristidis* dans la littérature scientifique.

Mais, d'une façon générale les sous espèces du genre *Dianthus* se sont montrées très riches en composés phénoliques.

1.4.1. Composés phénoliques

Les polyphénols sont des métabolites secondaires des plantes, dont plus de 8000 types de polyphénols présentant une grande variété de structures ont été découverts (Rasouli *et al.*, 2017b; Singla *et al.*, 2019).

1.4.2. Classification

Selon leurs structures chimiques, les polyphénols sont divisés en différentes classes: les **acides phénoliques** qui sont divisés en acides hydroxybenzoïques (exemple, l'acide salicylique, l'acide vanillique et l'acide gallique) et acides hydroxycinnamiques (exemple, l'acide p-coumarique, l'acide caféique et l'acide chlorogénique) (Ferreira *et al.*, 2017), les **flavonoïdes** qui sont divisées en six sous-classes principales; les flavonols (exemple, la quercétine et la kaempférol), les flavones (exemple, la lutéoline et l'apigénine), les flavanones (exemple, l'hespéridine et la naringénine), les flavanols (exemple les catéchines), les anthocyanines (exemple, la cyanidine) et les isoflavones (exemple, la génistéine) (Ferreira *et al.*, 2017; Luna-Guevara *et al.*, 2018; Pandey et Rizvi, 2009), les **stilbènes** (exemple, resvératrol, piceatannol), les **lignanes** (exemple, le sésamol, le pinoresinol, le sinol et l'enterodiol), et d'autres, notamment les **tanins** qui sont classés en tanins hydrolysables et tanins condensés, les **lignines**, les **coumarines** (exemple, l'hydroxycoumarine) (Cheynier, 2012; Rasouli *et al.*, 2017b ; Singla *et al.*, 2019)

Les résultats des recherches précédentes montrent que le genre *Dianthus* est riche en polyphénols tels que les acides phénoliques à l'exemple de l'acide chlorogénique et l'acide caféique identifiés dans *D. carmelitarum* (Aliyazıcıoğlu *et al.*, 2017) ainsi que le trans-p-coumarique et l'acide benzoïque identifiés dans *D. superbus* (Ding *et al.*, 2013). De plus des flavonoïdes tels-que le kaempferol et la quercétine identifiés dans *D. superbus* et *D. anatolicus* (Richardson, 1978; Ding *et al.*, 2013), tandis que l'apigénin et luteolin ont été identifiés dans *D. versicolor* (Obmann *et al.*, 2012).

1.4.3. Extraction des polyphénols

L'extraction des composés phénoliques se fait selon plusieurs méthodes conventionnelles, telles que l'extraction solide-liquide (par exemple, Soxhlet, macération et hydrodistillation) et l'extraction liquide-liquide, ainsi que des méthodes non conventionnelles telles que l'utilisation d'ultrasons, de micro-ondes et de fluides supercritiques. Plusieurs facteurs influencent les performances d'extraction parmi lesquelles la composition chimique des composés phénoliques à extraire, la température et le temps de contact (Lama-Muñoz et Contreras, 2022)

1.5. Propriétés Médicinales et Pharmacologiques du genre *Dianthus*

Les polyphénols sont réputés depuis des décennies pour avoir de nombreuses propriétés bénéfiques pour la santé. De nombreuses études pharmacologiques centrée sur le genre *Dianthus* ont révélé une variété de propriétés médicinales. Cela comprend des activités antibactérienne, antifongique, antivirale, antioxydante, antidiabétique, cytotoxique (Ertürk, 2006; Yu *et al.*, 2012; Kazeem et Ashafa, 2015), insecticide, répulsive, réno-protectrice, analgésique, anesthésique (Al-Snafi, 2017), anticancéreuse, anti-inflammatoire (Chandra et Rawat, 2015) anti-hépatotoxiques (Hikino *et al.*, 1984), ainsi que des caractéristiques immuno-modulatrices (Mutlu *et al.*, 2018).

Ils peuvent être impliqués dans la défense contre les radiations ultraviolettes et contribuent à la sécrétion d'insuline, ce qui permet de maintenir le taux de sucre dans le sang, d'augmenter la tolérance au glucose et la sensibilité à l'insuline. Globalement ils jouent un rôle impératif dans les applications industrielles et thérapeutiques (Beckman, 2000; Rasouli *et al.*, 2017a; Tresserra-Rimbau *et al.*, 2017; Luna-Guevara *et al.*, 2018; Singla *et al.*, 2019).

II. Généralités sur les activités biologiques

1. Cytotoxicité

Afin d'évaluer le potentiel toxique d'un médicament ou d'une molécule nouvellement synthétisée, des tests d'évaluation de la cytotoxicité sont nécessaires. Une substance est considérée comme cytotoxique si elle inhibe des processus métaboliques vitaux ou provoque des troubles chez les organismes vivants, entraînant une altération du comportement ou la mort de l'organisme (Fatope, 1995).

1.1. Test d'évaluation de la cytotoxicité sur *Artemia salina*

Le test d'évaluation de la cytotoxicité, *in vitro*, sur *Artemia salina* (*A. salina*) (Figure 2); une crevette d'eau salée, un invertébré marin d'environ 1 mm de taille. Les cystes (œufs d'*A. salina*) lyophilisés peuvent durer plusieurs années et peuvent éclore en larves sans équipement spécial, en particulier en stade nauplii (Lawal et Ogunwande, 2013). Il est parmi les tests les plus utilisés avec succès ces dernières années et qui a été développé après l'interdiction de l'utilisation des animaux à l'exemple des rongeurs et des lapins. Il est considéré comme un outil important pour l'évaluation préliminaire de la cytotoxicité des produits naturels ou de synthèse à l'exemple des agents anti-tumoraux, des pesticides et pour le criblage des extraits de plantes en vue de leur activité pharmacologique. Ce test est peu coûteux, reproductible et facile à réaliser (Anderson *et al.*, 1991 ; Wanyoike *et al.*, 2004; Favilla *et al.*, 2006 ; Syahmi *et al.*, 2010)

Des études ont montré que les plantes ayant un effet cytotoxique pourraient constituer des agents antitumoraux efficaces dans le traitement des cancers (Meyer *et al.*, 1982) dû à la présence de métabolites secondaires tels que les alcaloïdes, les glycosides, les stéroïdes, les tanins, les phlobatannins, les terpénoïdes et les flavonoïdes dans leurs extraits (Özçelik *et al.*, 2011).



Figure 2: *Artemia salina* (Munteanu *et al.*, 2011)

2. Activité antimicrobienne

2.1. Infections microbiennes

L'infection microbienne est le résultat de l'agression de l'organisme par un microorganisme pathogène (bactéries, champignons; levuforme ou filamenteux, virus et parasites) qui peut être difficile à traiter et peut aboutir à des décès (Murray *et al.*, 2022)

2.2. Traitement des infections bactériennes: les antibiotiques

Les antibiotiques sont des produits capables d'inhiber la multiplication ou de détruire des microorganismes (Davies *et al.*, 2013), en particulier les bactéries. Ils peuvent être classés en trois catégories en fonction de leurs origines et de leur composition.

- Antibiotiques naturels: sont produits par des microorganismes tels que les moisissures (*Penicillium* et *Aspergillus*) ou les bactéries (*Streptomyces* et *Bacillus*) exemple 'la pénicilline' produite par la moisissure *Penicillium*, découverte par Alexander Fleming.
- Antibiotiques semi-synthétiques: sont des dérivés chimiquement modifiés d'antibiotiques naturels exemple 'l'amoxicilline' est un dérivé de la pénicilline.
- Antibiotiques synthétiques: sont entièrement synthétisés en laboratoire exemple 'les Sulfamides'(Newman *et al.*, 2003; Singh et Barrett, 2006)

2.3. Mode d'action des antibiotiques

Selon leurs mode d'action principal, les antibiotiques agissent en général de façon très spécifique sur certaines structures ou processus de la cellule bactérienne (Asselineau *et al.*, 1973) (Figure 3) par:

- Inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire;
- Perturbation de la structure et fonctionnement de la membrane cellulaire;
- Interférence avec la synthèse d'acide nucléique (ADN ou ARN);
- Inhibition de la synthèse des protéines;
- Inhibition de certaines voies du métabolisme (à l'exemple du métabolisme des folates). (Carpenter et Chambers, 2004 ; Tenover, 2006)

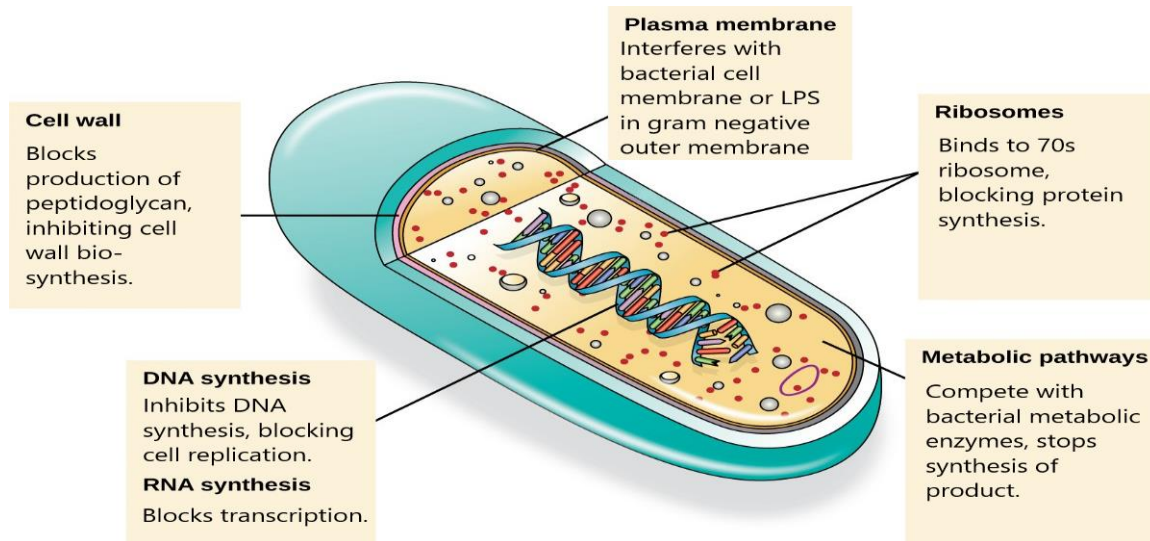


Figure 3: Principaux modes d'action des antibiotiques (OpenStax, 2019)

2.4. Types de résistance aux antibiotiques

Il existe deux types de résistance aux antibiotiques:

- La résistance naturelle: un phénomène naturel présent chez toutes les souches de la même espèce, fait partie du patrimoine génétique normal du germe. Les bacilles à Gram - sont naturellement résistants aux antibiotiques hydrophobes (Philippon et Arlet, 2006; Wellington *et al.*, 2013)
- La résistance acquise: l'apparition d'une résistance chez une bactérie auparavant sensible aux antimicrobiens, via une mutation génétique ou bien à l'acquisition de matériel génétique étranger (plasmide, transposon) porteur d'un, ou plusieurs gènes de résistance (Farhadi *et al.*, 2019).

Les facteurs contribuant à la résistance aux antimicrobiens sont surtout leur utilisation massive et inapproprié pour les humains, pour les animaux d'élevage et dans l'agriculture (Jalal *et al.*, 2012; Riu *et al.*, 2022).

2.5. Mécanismes de résistance aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques peut résulter de cinq mécanismes majeurs (Dever et Dermody, 1991; Coates *et al.*, 2002; Blair *et al.*, 2015) (Figure 4):

- Modification de la perméabilité membranaire aux antibiotiques;
- Modification ou substitution des cibles de l'antibiotique;
- Inactivation enzymatique modifiant ou détruisant l'antibiotique;
- Mécanisme d'efflux actif; exprimer des pompes d'efflux pour expulser les antibiotiques du milieu cellulaire;

- Production de biofilms.

Une même bactérie peut présenter plusieurs de ces mécanismes de résistance.

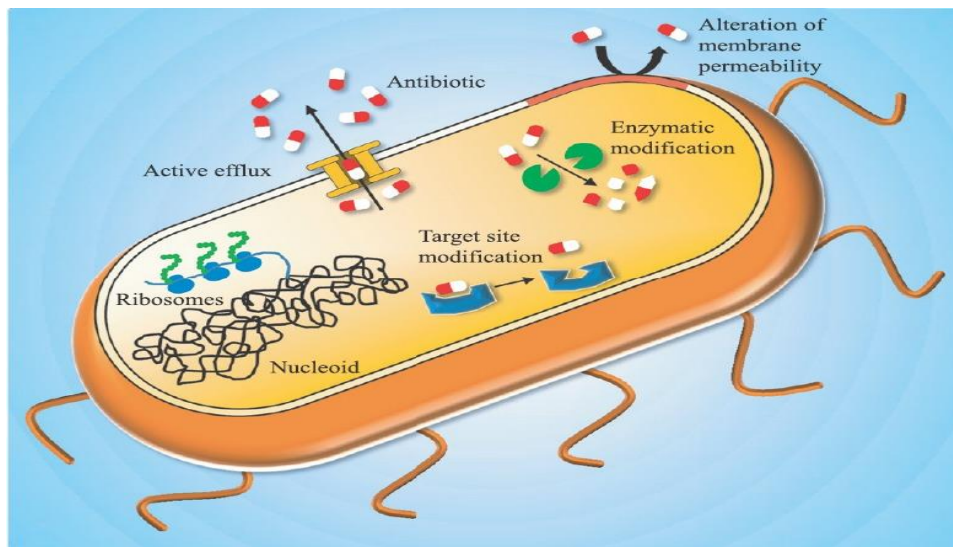


Figure 4: Mécanismes de résistance bactériennes aux antibiotiques (Sharma *et al.*, 2019)

2.6. Traitement des infections fongiques: les antifongiques

Les antifongiques sont des agents capables d'inhiber la croissance de différents champignons tels que les levures et les moisissures isolés en mycologie médicale (Chabaud, 2012). Le *Candida* et l'*Aspergillus* étant les deux principaux types de champignons pathogènes (Carle, 2003) et sont les plus fréquemment en cause dans les infections fongiques invasives (Dannaoui, 2006). Les infections causées par les souches de *Candida* représentent la principale cause des infections fongiques nosocomiales (80 %). Les souches de *Candida* peuvent produire une grande variété d'infections, allant des infections légères mucocutanées aux infections invasives (septicémie). Les espèces d'*Aspergillus* les plus fréquemment rencontrées en clinique sont l'*Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus flavus*. Les autres espèces communes sont *Aspergillus niger* (*A. niger*), *Aspergillus nidulans* et *Aspergillus terreus*. Une aspergillose invasive chez l'humain représente une infection très sérieuse. Elle affecte principalement les poumons, mais parfois les sinus et le système nerveux central de l'hôte (Carle, 2003).

2.7. Mode d'action des antifongiques

Chaque famille d'antifongiques possède un mode d'action particulier. Les antifongiques agissent en ciblant des sites d'action différents ou processus essentiels au niveau de la cellule fongique principalement selon six mécanismes (Figure 5):

- Inhibition de la synthèse des acides nucléiques (ADN ou ARN) et la synthèse protéique;
- Inhibition de la synthèse des glucanes de la paroi cellulaire;
- Inhibition de la synthèse des membranes cellulaires en perturbant la production d'ergostérol;

- Augmentation de la perméabilité membranaire aux protons et cations qui endommage les enzymes intracellulaires;
- Action sur les microtubules intervenant dans la division cellulaire (métaphase) et blocage de croissance des champignons;
- Inhibition de la chaîne respiratoire mitochondriale (Granier, 2003 ; Biabiany, 2011).

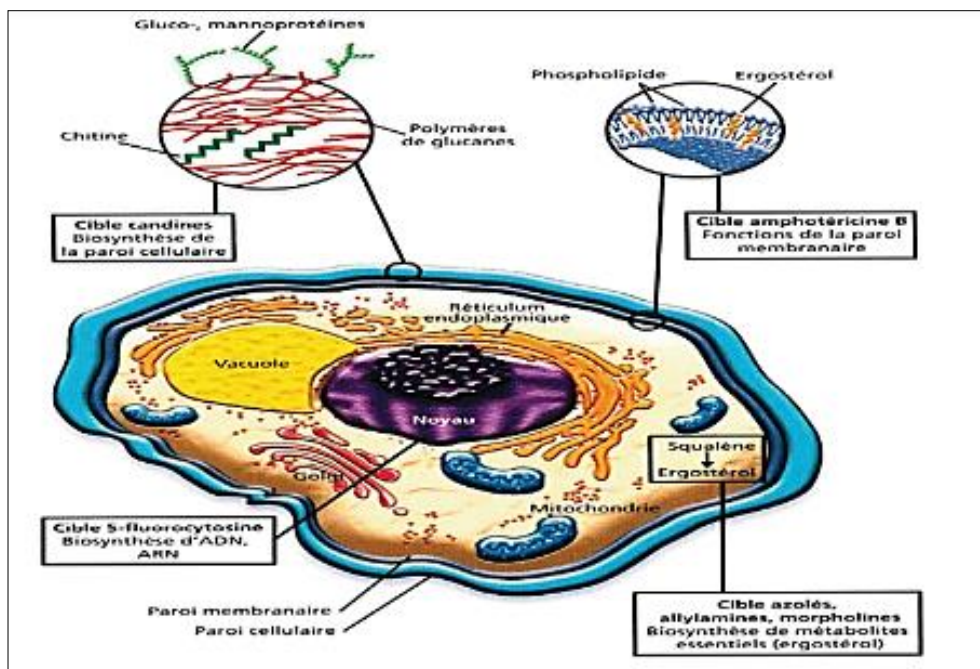


Figure 5: Principale cibles des antifongiques (Hulin *et al.*, 2005)

2.8. Résistance aux antifongiques

La diminution de la sensibilité d'un champignon à un antifongique (Ferret, 2015). Il existe deux types de résistance aux antifongiques:

- La résistance naturelle: présente naturellement chez toutes les souches d'une même espèce ou d'un même genre (résistance du *Candida krusei* au fluconazole) (Guillot et Dannaoui, 2015).
- La résistance acquise: correspond au développement de résistance à un antifongique chez une souche appartenant à une espèce qui est habituellement sensible à cet antifongique (résistance du *Candida albicans* (*C. albicans*) au fluconazole).

L'utilisation fréquente des traitements antifongiques notamment les fongicides en agriculture est responsable d'une augmentation de la résistance (Dannaoui, 2013)

2.9. Mécanismes de résistance aux antifongiques

La résistance acquise aux antifongiques est variée en fonction de type du champignon cible et classes d'antifongiques utilisés. Elle résulte des mécanismes de résistance suivants:

- Altération de la cible de l'antifongique résultant d'une ou plusieurs mutations.
- Surexpression de la cible de l'antifongique.
- Surexpression des pompes membranaires d'efflux actif qui diminue la concentration intracellulaire en antifongiques (Dannaoui, 2013; Cuenca-Estrella, 2014).

3. Activité antioxydante

3.1. Radicaux libres

Les radicaux libres (RL) sont des espèces chimiques qui ont au moins un électron non apparié dans leur couche externe qui leurs rendent très réactifs (López-Jaén *et al.*, 2016). Parmi les RL auxquels notre organisme est exposé, nous retrouvons les espèces réactives de l'oxygène (ERO) tels que les radicaux superoxyde (O_2^-), hydroxyle ($OH\cdot$), peroxydes ($RO\cdot$) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Favier, 2003). Ils sont produits par plusieurs facteurs internes (métabolisme cellulaire), ou externes (rayonnements UV, radiations ionisantes, la cigarette, fumées de combustion, pollution, médicaments, pesticides et solvants) (Magder, 2006; Pham-Huy *et al.*, 2008).

À des niveaux faibles ou modérés, les RL exercent des effets bénéfiques notamment, à titre d'exemples, les phagocytes (neutrophiles, macrophages et monocytes) libèrent des RL pour détruire les microbes pathogènes et participent à la destruction des cellules tumorales par apoptose (Favier, 2003).

3.2. Stress oxydatif

La surproduction des ERO et l'incapacité de défense de l'organisme à les neutraliser sont à l'origine d'un stress oxydatif avec modifications irréversibles de lipides, de protéines et d'acides nucléiques (Baudin, 2020). Le stress oxydatif joue un rôle majeur dans le développement de maladies chroniques et dégénératives telles que les troubles auto-immuns, le cancer, le vieillissement, le diabète, les maladies cardiovasculaires, les maladies inflammatoires et les maladies d'Alzheimer (Favier, 2003; Lim *et al.*, 2019; Sebbar *et al.*, 2023)

3.3. Antioxydants

Les antioxydants sont des molécules capables d'inhiber directement la production des ERO, de limiter leurs propagations ou de les détruire. Pour se protéger du stress oxydatif, l'organisme est généralement contrôlé par l'action de systèmes enzymatiques (la superoxyde dismutase, la glutathion- peroxydase et la catalase) ainsi que des antioxydants tels que les vitamines A, E et C (Favier, 2003; Baudin, 2020). L'apport exogène des antioxydants (alimentation et médicaments) pourrait donc ralentir, voire à prévenir les désordres physiologiques liés au stress oxydatif (Blois, 1958) par conséquent, renforcer la défense immunitaire de l'organisme.

4. Activités enzymatiques

4.1. Activité inhibitrice de l'alpha amylase

L' α -amylase est une enzyme principale présente dans la salive et le pancréas qui catalyse la décomposition des amidons (Pieper-Bigelow *et al.*, 1990). Cet enzyme clive les liaisons glycosidiques de type α -D-(1,4) dans les glucides pour produire des oligosaccharides, qui sont ensuite décomposés en glucose, un monosaccharide, facilitant ainsi son absorption et entraînant une hyperglycémie (Pieper-Bigelow *et al.*, 1990 ; Nguyen *et al.*, 2017). L'inhibition de l'activité de l' α -amylase empêche la décomposition et l'absorption des glucides complexes, réduisant ainsi le risque de développer le diabète essentiellement type 2 (Mechchate *et al.*, 2021). Cependant, des inhibiteurs antidiabétiques synthétiques utilisés peuvent causer des effets secondaires gastro-intestinaux tels que la diarrhée, la flatulence et le boursoufflage abdominal. Des inhibiteurs d' α amylase d'origine naturelle à l'exemple de flavonoïdes et de composés phénoliques extrait de plantes peuvent être employés en thérapie pour la prévention et le traitement du diabète de type 2 avec un minimum d'effets secondaires (Nair *et al.*, 2013 ; Khan *et al.*, 2018).

4.2. Activité inhibitrice de l'uréase

L'uréase est une enzyme qui catalyse la réaction de l'hydrolyse de l'urée en dioxyde de carbone et en ammoniac, produit par plusieurs organismes y compris certaines bactéries notamment *Hylicobacter pylori* (Mazzei *et al.*, 2017) qui l'utilise pour neutraliser l'acidité gastrique de l'estomac, ce qui provoque des problèmes gastro-intestinaux tels que l'ulcère gastrique (Chiba *et al.*, 2008; Wroblewski *et al.*, 2010). Des inhibiteurs de l'uréase jouent un rôle important dans le contrôle des microorganismes uréolytiques à l'exemple de *Helicobacter pylori* en inhibant ou réduisant l'activité de cet enzyme ce qui contribue à la prévention des infections (Kafarski et Talma, 2018).

4.3. Activité inhibitrice de la tyrosinase

La tyrosinase est une enzyme présente dans divers organismes, y compris les champignons comestibles (Kameda *et al.*, 2006; Bari *et al.*, 2021). Elle joue un rôle essentiel dans la synthèse de la mélanine; le pigment responsable de la couleur de la peau, des cheveux et des yeux chez les humains et les animaux (Qu *et al.*, 2020). La mélanine est essentielle pour protéger la peau des dommages causés par les rayons ultraviolets du soleil. Cependant, une superproduction de la tyrosinase contribue à une synthèse excessive de ce pigment ce qui provoque divers troubles dermatologiques essentiellement des désordres de pigmentation. Par conséquent l'inhibition de la tyrosinase est la cible pour réguler la production de la mélanine (Masum *et al.*, 2019) et le traitement de problèmes à l'exemple l'hyperpigmentation de la peau,

l'acné et les lentigos (Mirmortazavi *et al.*, 2019) ce qui permet de réduire les taches brunes et d'homogénéiser la pigmentation cutanée. Les inhibiteurs synthétiques de la tyrosinase sont limités en raison de leur insolubilité et leur toxicité. C'est pour cela des études ont développé des inhibiteurs naturels en raison de leur moindre toxicité tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les huiles essentielles et les alcaloïdes (Gong *et al.*, 2019).

5. Activité photoprotectrice

L'exposition prolongée aux radiations ultraviolettes (UV), en particulier les rayons UVA et UVB, peut endommager les zones du corps les plus fréquemment exposées au soleil, telles que le visage, le cou, la tête et le dos des mains (Sax, 2000). Dans certaines conditions, cela peut entraîner plusieurs effets nocifs, notamment les coups de soleil, la photocarcinogénèse, l'immunosuppression, le vieillissement prématuré et le cancer de la peau (Latha *et al.*, 2013). Pour éviter ces effets néfastes, de nombreux produits solaires d'origine naturels à l'exemple des extraits de plantes ont été développés afin d'inverser et de bloquer les radiations UV. Des études ont révélé que ces capacités sont souvent associées à certains constituants chimiques, en particulier les flavonoïdes et les composés phénoliques (Martínez *et al.*, 2012).

Matériel et méthodes

1. Matériel

1.1. Matériel biologiques

1.1.1. Plante testée

Les feuilles de *D. sylvestris* subsp. *aristidis* ont été récoltées dans son habitat naturel dans la wilaya de Skikda au Nord-Est de l'Algérie (Figure 6) dans la station de l'îlot des Chèvres (36,881456, 6,927103) (Figure 7), en novembre 2020. L'identification botanique a été faite par Dr. Sakhraoui Nora, du Département d'Ecologie et Environnement, Université du 20 août 1955 - Skikda. Les feuilles ont été ensuite nettoyées et séchées à l'air libre pendant deux semaines. Elles ont été broyées en poudre fine à l'aide d'un moulin à café et conservées soigneusement dans des bocaux en verre à l'abri de la lumière jusqu'à son utilisation.



Figure 6: Localisation de la wilaya de Skikda en Algérie (web1)



Figure 7: Lieu de récolte de *D. sylvestris* subsp. *aristidis* (Web2)

1.1.2. Micro-organismes testés

Dans cette étude, un nombre de 55 souches bactériennes, 23 souches fongiques ainsi que 06 souches de référence, obtenues de l'Institut Pasteur, Alger (*S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 19111, *E. coli* ATCC 25922, *K. pneumoniae* ATCC 70603, *P. aeruginosa* ATCC 27853 et *C. albicans* ATCC 21300) ont été utilisées.

a. Isolement et identification des souches bactériennes

Des bactéries cliniques à Gram positif (+) et à Gram négatif (-) ont été collectées des établissements sanitaires publics; l'Etablissement Public Hospitalier (EPH) Abderrazak Bouhara à Skikda, l'EPH Mohamed Denden à Azzaba, ainsi des laboratoires d'analyse médicales privés: Dr. Chaib, Dr. Mezghache, Dr. Guennoune à Azzaba et le laboratoire Al-Amal à Skikda. Il s'agit de *S. aureus* (10 souches), *E. coli* (14 souches), *K. pneumoniae* (09 souches), *k. oxytoca* (01 souche), *k. ozaenae* (01 souche), *Proteus mirabilis* (05 souches), *P. vulgaris* (01 souche), *Enterobacter sp* (03 souches), *Serratia sp* (03 souches), *Salmonella sp* (02 souches) et *P. aeruginosa* (06 souches). Les souches suscitées ont été principalement isolées à partir d'échantillons pathologiques tels que le pus, l'urine, échantillons de selles et des prélèvements vaginaux.

Plusieurs paramètres ont été étudié afin d'identifier l'ensemble de nos souches: observation macroscopique, observation microscopique (état frais et coloration de Gram) et caractérisation biochimique par le système Appareils et Procédés d'Identification API, (API 20E, API STAPH, API 20NE).

b. Isolement et identification des souches fongiques

Treize souches de levures du genre *Candida*: *C. albicans* (10 souches), *C. parapsilosis* (01 souche), *C. dubliniensis* (01 souche) et *C. guilliermondii* (01 souche), en plus de dix souches fongiques d'*Aspergillus niger* ont été collectées du laboratoire de bactériologie de l'EPH Abderrazak Bouhara à Skikda, et le laboratoire de parasitologie et mycologie médicales du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) Ibn Sina à Annaba ainsi que dans le laboratoire du Dr. Chaib à Azzaba. Les souches suscitées ont été principalement isolées à partir d'échantillons pathologiques tels que l'urine, l'espace entre les orteils, les ongles, les oreilles et les prélèvements vaginaux.

Plusieurs paramètres ont été étudiés afin d'identifier l'ensemble de nos souches: observation macroscopique, observation microscopique et test de filamentation en sérum (test de blastèse) décrit par Mackenzie (1962) pour confirmer le diagnostic de l'espèce en tant que *C. albicans*. Dans le cas où le test est négatif, l'utilisation du système automatisé Vitek 2 (BioMérieux) a été réalisée pour l'identification des espèces autres que *C. albicans*.

Les données relatives à chaque prélèvement ont été recueillies de manière prospective, incluant la date, l'âge, le sexe et le type de prélèvement du patient. Les souches ont été conservées à 4°C dans des tubes de conservation à gélose nutritive (GN) pour les souches bactériennes et à gélose Sabouraud au chloramphénicol pour les souches fongiques.

1.1.3. *Artemia salina*

Pour réaliser le test de cytotoxicité, *in vitro*, nous avons utilisé un crustacé marin *A. salina* qui nous a été fourni par le Laboratoire des Bioressources Marines, Département des Sciences de la Mer, Université de Badji Mokhtar, Annaba.

2. Méthodes

2.1. Préparation des extraits

Les différents extraits ont été préparés selon la méthode de Upson *et al.* (2000). Une quantité de 100 g de poudre végétale a été macérée dans 3 L de méthanol-eau (70:30 v/v) pendant trois jours (1L par jour) par agitation magnétique dans l'obscurité à température ambiante. Après filtration sur papier filtre Whatman n°1, le filtrat a été évaporé sous pression dans un évaporateur rotatif à 50 °C pour obtenir l'extrait hydro-méthanolique. Une partie de cet extrait a été diluée dans 100 mL d'eau distillée et soumise à une extraction liquide-liquide dans une ampoule à décanter en utilisant différents solvants de polarité croissante: hexane (100mL×3) pour l'élimination de graisses et de cires, acétate d'éthyle (100mL×3) et n-butanol (100mL×3) (Figure 8). Les solvants ont été évaporés sous pression dans un évaporateur rotatif

à 50 °C. Les extraits obtenus **MeOH**, **EtOAc** et **n-BuOH** ont été conservés jusqu'à leur utilisation.

Pour les activités antimicrobienne et cytotoxique, une série de dilutions géométriques de raison 2 a été préparée en diluant 1 mg de chaque extrait (MeOH, EtOAc et n-BuOH) dans 1mL du dimethyl sulfoxide (DMSO). Six concentrations sont obtenues allant de 31,25 µg/mL jusqu'à 1000µg/mL.

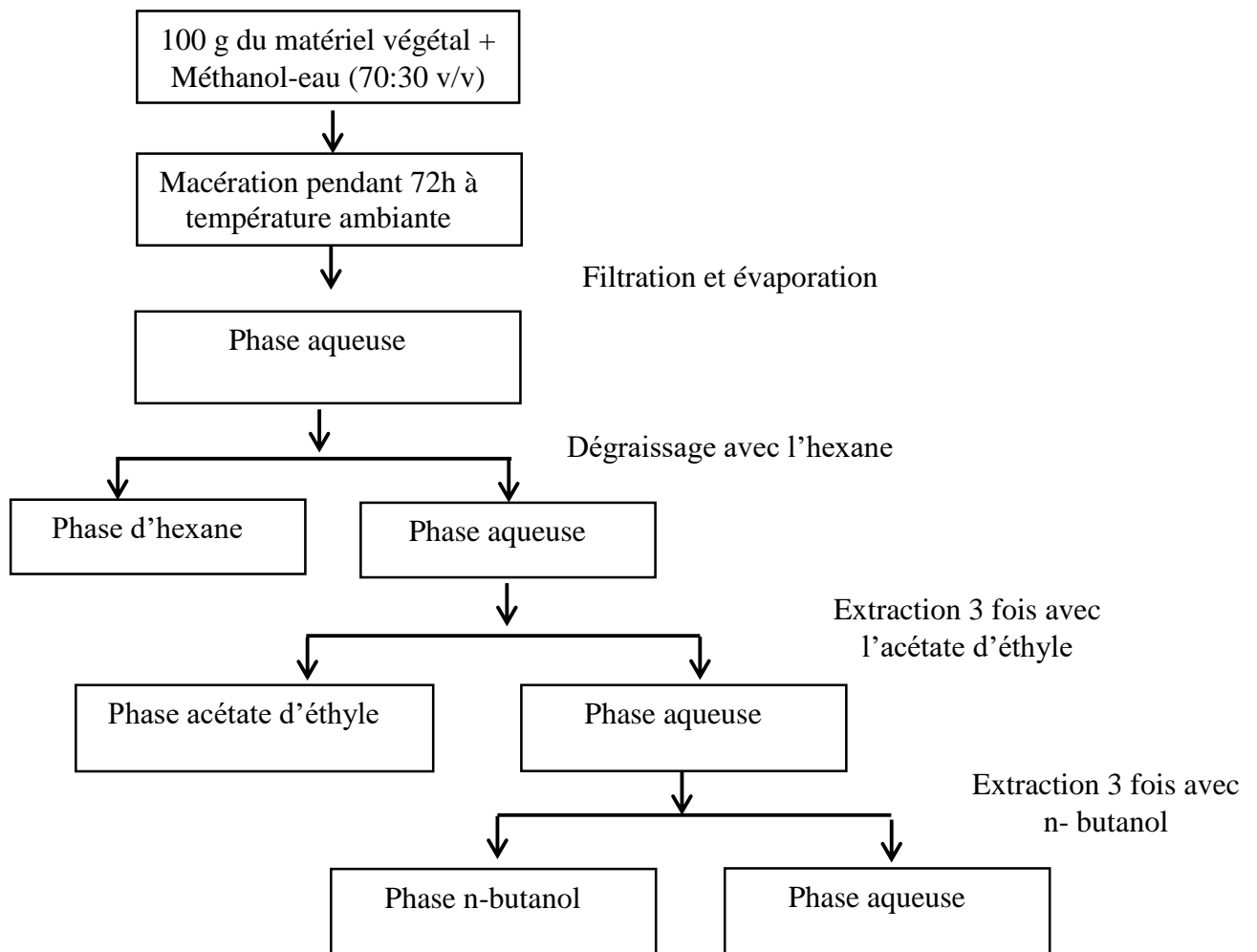


Figure 8: Schéma représentatif des étapes de préparation des extraits des feuilles de *D. sylvestris* subsp. *aristidis* (Upson *et al.*, 2000).

2.2. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est estimé par la formule suivante (Stanojević *et al.*, 2009)

$$R\% = (mf / m0) \times 100$$

Où : R : Rendement d'extraction (%)

mf : Masse de l'extrait (g)

m0 : Masse de la prise d'essai (g)

2.3. Détermination des teneurs totales en polyphénols, flavonoïdes et flavonols

2.3.1. Dosage des polyphénols

La teneur en polyphénols des différents extraits MeOH, EtOAc et n-BuOH a été déterminée à l'aide du réactif de Folin-Ciocalteu (Singleton et Rossi, 1965) selon une méthode de dosage en microplaque décrite par Müller *et al.* (2010).

Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un liquide constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) de couleur jaune. Ce réactif réagit avec les composés phénoliques en les réduisant, formant ainsi un mélange d'oxydes de tungstène et de molybdène de couleur bleue dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en composés phénoliques et elle est mesurable au spectrophotomètre à 765 nm (Bonnaillie *et al.*, 2012).

Protocole

Le protocole consiste à mélanger successivement 20 μ L de la solution d'extrait (1 mg/mL), 100 μ L de réactif de Folin- Ciocalteu et 75 μ L de carbonate de sodium (7,5 %). Le mélange a été incubé à température ambiante dans l'obscurité pendant 2 h. Un blanc a été préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé. L'absorbance a été lue à 765 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques à 96 puits (Perkin Elmer, Enspire). Les résultats ont été exprimés en μ g d'équivalents d'acide gallique par mg d'extrait (μ g GAE/mg) en utilisant l'équation d'étalonnage ci-dessous :

$$y = 0.003x + 0.104, (R^2 = 0.997).$$

2.3.2. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes des extraits MeOH, EtOAc et n-BuOH a été déterminée par la méthode de nitrate d'aluminium en utilisant l'essai en microplaque rapporté par Topçu *et al.* (2007) avec une légère modification.

Principe

La méthode repose sur la formation d'un complexe stable entre les flavonoïdes et Al^{3+} , de couleur jaune dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en flavonoïdes mesurable au spectrophotomètre à 415 nm.

Protocole

Un volume de 50 μ L de la solution d'extrait (1 mg/mL) a été mélangé à 130 μ L de méthanol, 10 μ L acétate de potassium (1M) et 10 μ L de nitrate d'aluminium (10 %). Le mélange a été incubé pendant 40 min. Un blanc a été préparé de la même manière en remplaçant l'extrait

par le solvant utilisé. L'absorbance a été lue à 415 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques à 96 puits (Perkin Elmer, Enspire). Les résultats ont été exprimés en μg d'équivalents de quercétine par mg d'extrait (μg QE/mg) en utilisant l'équation d'étalonnage ci-dessous :

$$y = 0.004x, (R^2 = 0.997).$$

2.3.3. Dosage des flavonols

La teneur totale en flavonols des extraits MeOH, EtOAc et n-BuOH a été déterminée par la méthode du triochlorure d'aluminium (AlCl_3) développée par Kumaran et Karunakaran (2007).

Principe

Le dosage des flavonols suit le même principe que celui des flavonoïdes, sauf que la lecture se fait à 440 nm.

Protocole

Un volume de 50 μL de solution d'extrait (1 mg/mL) ont été mélangés à 50 μL de AlCl_3 (2 %) et 150 μL acétate de sodium (5 %). Le mélange a été incubé pendant 150 min à température ambiante dans l'obscurité. Un blanc a été préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé. L'absorbance a été lue à 440 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques à 96 puits (Perkin Elmer, Enspire). Les résultats ont été exprimés en μg d'équivalents de quercétine par mg d'extrait (μg QE/mg) en utilisant l'équation d'étalonnage ci-dessous :

$$y = 0.007x + 0.022, (R^2 = 0.998).$$

2.4. Analyse de la composition phytochimique de n-BuOH et EtOAc par chromatographie liquide -spectrométrie de masse à ionisation par électrospray (LC-ESI-MS/MS)

Les différents composés phytochimiques dans les fractions n-BuOH et EtOAc des feuilles de *D. sylvestris* subsp. *aristidis* ont été déterminés à l'aide d'un spectromètre de masse ultrasensible UPLC-ESI-MS-MS Shimadzu 8040 avec technologie UFMS équipé d'une bombe binaire Nexera XR LC-20AD. La séparation a été réalisée avec une colonne Ultra-force C18 (I, D, 150 mm \times 4,6 mm, 3 μm de taille de particules ; Restek). La séparation chromatographique a été réalisée en utilisant de l'eau, de l'acide formique à 0,1 % comme phase mobile A et du méthanol comme phase mobile B. Le programme d'élution en gradient suivant a été appliqué: 80 % A (0,1 min à 1 min), 20 % A (1 min à 30 min), 0 % A (30 min à 40 min), 0 % A (40 min à 45 min) et 80 % A (45 min à 60 min). Le débit était de 0,3 mL/min, le volume d'injection était de 5 μL et la température de la colonne était fixée à 30 °C. Les conditions ESI employées dans la LC-MS-MS sont les suivantes : 230 KPs de gaz CID ; - 6,00 Kv de dynode de conversion;

350 °C de température d'interface; 250 °C de température DL; 3,00 L/min de débit de gaz de nébulisation, 400 °C de bloc thermique; et 15,00 L/min de débit de gaz de séchage. Le spectromètre de masse à piège à ions a été utilisé pour les ions négatifs et positifs en mode MRM (surveillance des réactions multiples).

2.5. Activités biologiques

2.5.1. Cytotoxicité

a. Éclosion des crevettes

Le test de létalité sur les crevettes saumâtres a été réalisé selon le protocole de Meyer *et al.* (1982). Les œufs d'artémies (*A. salina*) ont été incubés dans un récipient en plastique rectangulaire peu profond (22 x 32 cm), rempli d'eau de mer naturelle et une séparation inégale a été faite dans le récipient en plastique à l'aide d'un dispositif perforé. Environ 50 mg d'œufs ont été dispersés dans le grand compartiment, qui était obscurci, tandis que le petit compartiment était éclairé. Après 48 h, les nauplii phototropes ont été prélevés du côté éclairé.

b. Essai biologique

Dix nauplii ont été transférés dans chaque tube contenant 0,5 mL de chaque extrait testé et 4,5 mL d'eau de mer naturelle. Après 24 h, les crevettes survivantes ont été comptées. La CL₅₀ (concentration létale) des extraits testés a été déterminée par analyse Probit et régression linéaire (Finney, 1971), définie comme la concentration des différents composés nécessaire pour tuer 50 % de la population testée. Les données ont été analysées à l'aide du logiciel R (version 4.1.1) en utilisant le package 'ecotox' (Benjamin, 2017), l'expérience a été répétée trois fois.

2.5.2. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits de *D. sylvestris* subsp. *aristidis* vis-à-vis des souches cliniques et de référence.

2.5.2.1. Méthode de diffusion en milieu solide

L'activité antibactérienne des différents extraits (MeOH, EtOAc et n-BuOH) obtenus à partir des feuilles de *D. sylvestris* subsp. *aristidis* a été déterminée contre des souches bactériennes en utilisant la méthode de Kirby Bauer de diffusion sur gélose Mueller-Hinton (MH) (CASFM, 2023).

La technique consiste à mettre quelques colonies de pré-cultures avec 5 à 10 mL d'eau physiologique stérile et homogénéiser la suspension. La densité optique (DO_{625nm}) a été ajustée à 0,08 – 0,1 à l'aide d'un spectrophotomètre.

Les boîtes de Petri pré-coulées avec la gélose Mueller-Hinton ont étéensemencées avec les inocula de bactéries par écouvillonnage. Des disques stériles ont été placés sur les boîtes et

imprégnés de 20 µL des différentes concentrations des extraits testés. Un disque stérile vide de 6 mm de diamètre imprégné de DMSO a été utilisé comme témoin négatif, alors qu'un disque de la Gentamycine (10 µg/mL), un antibiotique à large spectre, est utilisé comme témoin positif vis-à-vis des bactéries. Tous les tests ont été effectués en double. Les boîtes de Petri ont, ensuite, été incubées à 37°C pendant 24 h et les diamètres des zones d'inhibition (ZI) formées sur le milieu ont été mesurés en millimètre (mm).

Les résultats ont été interprétés selon l'échelle de Ponce *et al.*(2003), où " $09 < \emptyset < 14$ mm " représente une sensibilité, " $15 < \emptyset < 19$ mm" représente une sensibilité plus élevée et " $\emptyset > 20$ mm" représente une sensibilité extrême.

2.5.2.2. Détermination des concentrations minimale inhibitrice (CMI)

Les CMI des différents extraits (MeOH, EtOAc et n-BuOH) ont été déterminées par la méthode de dilution en bouillon Mueller-Hinton (CASFM, 2023). La technique consiste à ajouter 100 µL de chaque suspension bactérienne à chaque tube contenant 4,5mL de bouillon MH et 0,5 mL des dilutions d'extraits allant de 31,25 à 1000 µg/mL. Deux tubes représentent le témoin de culture des bactéries et le témoin de stérilité du bouillon MH. Tous les tests ont été effectués en double. Après une incubation à 37°C pendant 24 h. L'activité a été estimée visuellement en comparant la présence ou l'absence de croissance de la bactérie par rapport au tube témoin. La CMI est la plus faible concentration d'un agent antimicrobien (dans ce cas, les extraits) qui inhibe la croissance visible des microorganismes.

2.5.3. Evaluation de l'activité antifongique des extraits de *D. sylvestris* subsp. *aristidis* vis-à-vis des souches du genre *Candida*

2.5.3.1. Méthode de diffusion en milieu solide

A partir de chaque souche de levure, une suspension d'une densité optique de 0,12 lue à 530 nm est préparée. L'activité des extraits MeOH, EtOAc et n-BuOH de *D. sylvestris* subsp. *aristidis* contre des levures testées a été déterminée en utilisant la méthode de Kirby Bauer, diffusion sur milieu gélosé Sabouraud (CASFM, 2023), précédemment décrit dans la partie

2.5.2.1.

Les résultats ont été interprétés selon l'échelle de Ponce *et al.* (2003)

2.5.3.2. Détermination des concentrations minimale inhibitrice

Les CMI de divers extraits (MeOH, EtOAc et n-BuOH) ont été déterminées par la méthode de dilution en bouillon MH (CASFM, 2023) décrites dans la partie **2.5.2.2.**

2.5.4. Evaluation de l'activité antifongique des extraits de *D. sylvestris* subsp. *aristidis* vis-à-vis des souches d'*A. niger*

2.5.4.1. Détermination des pourcentages d'inhibition de la croissance d'*A. niger*

L'activité antifongique des différents extraits (MeOH, EtOAc et n-BuOH) contre des moisissures pathogènes du genre *A. niger* a été déterminée en utilisant la méthode de diffusion de disques sur milieu Sabouraud au chloramphénicol avec des modifications mineures.

Des cultures fongiques ont été préparées en déposant un fragment mycélien provenant de pré-cultures au centre de chaque boîte de Petri contenant le milieu Sabouraud au chloramphénicol. Les boîtes ont été incubées pendant 72 h à température 28°C.

Des fragments mycéliens ont été prélevés à partir de cultures fongiques jeunes de 72 h et placés au centre de chaque boîte de Pétri (1 disque / boîte de Petri).

Des disques stériles vides de 6 mm de diamètre ont été placés sur les boîtes et imprégnés de 20 µL des extraits testés à des concentrations allant de 31,25 à 1000 µg/mL. Comme témoin négatif, une boîte contenant un disque mycélien et le DMSO a été utilisée. Les boîtes de Petri ont été ensuite incubées à une température de $27 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 72 heures. La croissance fongique a été mesurée en calculant la moyenne des deux diamètres perpendiculaires de chaque colonie en croissance. Le pourcentage d'inhibition de la croissance (%) a été calculé en utilisant la formule suivante (Hajji, 2016):

$$\text{Pourcentage d'inhibition de la croissance} = [(dc - dt) / dc] \times 100$$

Où, dc est le diamètre de la colonie dans la boîte du contrôle et; dt est le diamètre de la colonie dans la boîte traitée.

Les résultats ont été interprétés selon l'échelle d'interprétation établie par Abd-Ellatif *et al.* (2011), dont un pourcentage : de " 30 à 40%" représente une faible activité, de " 50 à 60%" représente une activité modérée, de " 60 à 70%" représente une bonne activité et ">70%" représente une excellente activité.

2.5.5. Activité antioxydante *in vitro*

L'activité antioxydante des différents extraits (MeOH, EtOAc et n-BuOH) a été déterminée en utilisant cinq tests différents notamment la capture de DPPH, le radical cation ABTS, le pouvoir réducteur (FRAP), les nanoparticules d'argent (SNP) et la phénanthroline.

2.5.5.1. Activité de piégeage des radicaux libres 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

Principe

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), un composé organique, est un radical libre et stable de couleur violette. Sa réduction par un antioxydant (donneur de protons), conduit à l'apparition d'une couleur jaunâtre (Figure 9), ce changement étant proportionnel à l'activité antioxydante. La réaction est quantifiée en mesurant l'absorbance de la solution par spectrophotomètre à 517 nm (Brand-Williams *et al.*, 1995).

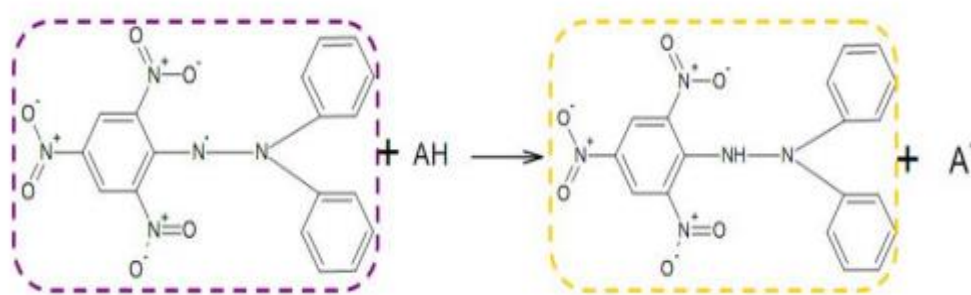


Figure 9: Réduction du DPPH par un antioxydant (Gülçin, 2012).

Protocole

L'activité de piégeage des radicaux libres a été déterminée selon Blois (1958). Un volume de 40 μL de chaque extrait (MeOH, EtOAc, et n-BuOH), préparé à plusieurs concentrations (800; 400; 200; 100; 50; 25; 12,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$), a été mélangé avec 160 μL de solution de DPPH. Le mélange a été incubé pendant 30 min à température ambiante dans l'obscurité. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (méthanol). L'absorbance a été lue à 517 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques à 96 puits.

Les pourcentages d'inhibition du radical DPPH sont déterminés selon la formule ci-dessous:

$$\text{Inhibition (\%)} = \left[\frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}}}{A_{\text{contrôle}}} \right] \times 100$$

Où $A_{\text{contrôle}}$ est l'absorbance du contrôle négatif, et A_{extrait} est l'absorbance de l'extrait/standard.

Les résultats ont été comparés aux antioxydants standards: butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT), Trolox et acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les extraits. Ils ont été exprimés en concentration d'inhibition de 50 % $\mu\text{g}/\text{mL}$ (IC_{50}).

2.5.5.2. Activité de piégeage de 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS)

Principe

Ce test est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (Figure 10) de coloration vert bleu en le transformant en ABTS incolore. La réaction est quantifiée en mesurant l'absorbance de la solution par spectrophotomètre à 734 nm (Chen et Ho, 1997).

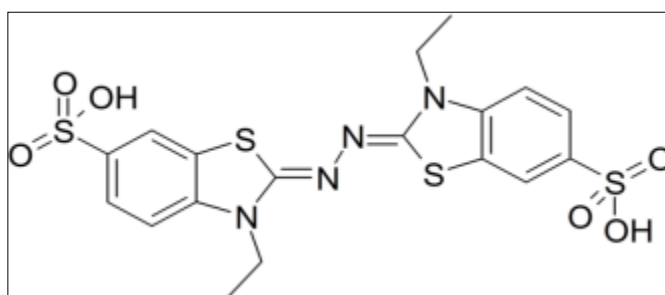


Figure 10: Structure chimique de 2,2'- azino-bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (Mouffouk, 2019)

Protocole

L'activité de piégeage de l'ABTS a été déterminée selon la méthode développée par Re *et al.* (1999). Un volume de 40 µL de chaque extrait (MeOH, EtOAc, et n-BuOH) préparé en plusieurs concentrations (800; 400; 200; 100; 50; 25; 12,5 µg/mL), a été mélangé avec 160 µL de solution d'ABTS. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (méthanol). Le mélange a été incubé pendant 10 min à température ambiante dans l'obscurité et l'absorbance a été lue à 734 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques à 96 puits.

Les pourcentages d'inhibition du ABTS sont déterminés selon la formule ci-dessous:

$$\text{Inhibition (\%)} = \left[\frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}}}{A_{\text{contrôle}}} \right] \times 100$$

Où $A_{\text{contrôle}}$ est l'absorbance du contrôle négatif, et A_{extrait} est l'absorbance de l'extrait / standard.

Les résultats ont été comparés aux antioxydants standards : BHA, BHT, Trolox, acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les extraits et sont exprimés en concentration d'inhibition de 50 % µg/mL (IC₅₀).

2.5.5.3. Activité de pouvoir réducteur ferrique antioxydant (FRAP)

Principe

Cette méthode est basée sur la capacité d'un antioxydant à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe ferricyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) en fer ferreux (Fe^{2+}) conduisant à la formation de ferrocyanure de potassium ($\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$). La réaction est révélée par le virement de couleur jaune du Fe^{3+} en couleur bleu vert du Fe^{2+} (Figure 11). La réaction est quantifiée en mesurant l'absorbance de la solution par spectrophotomètre à 700 nm (Pellegrini *et al.*, 2003).

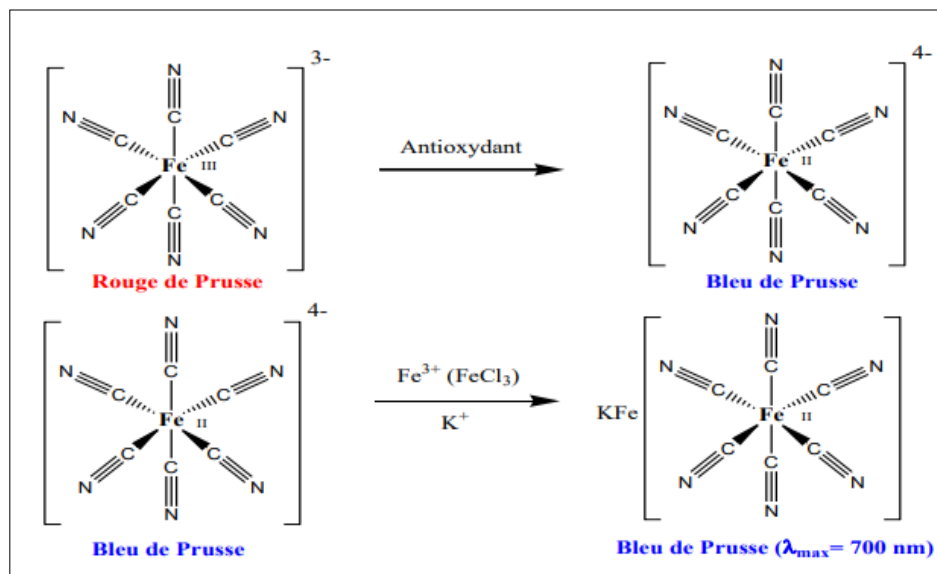


Figure 11: Réduction de fer $^{3+}$ en fer $^{2+}$ (Gülçin, 2012)

Protocole

L'activité de pouvoir réducteur a été déterminée selon la méthode de Oyaizu (1986) avec de légères modifications adaptées au lecteur de microplaques. Un volume de 10 μL de chaque extrait (MeOH, EtOAc et n-BuOH), préparé à plusieurs concentrations (800; 400; 200; 100; 50; 25; 12,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) a été mélangé avec 40 μL de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 50 μL de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (1 %); la plaque a été incubée à 50 $^\circ\text{C}$ pendant 20 min, puis 50 μL d'acide trichloroacétique TCA (10 %), 40 μL d'eau distillée et 10 μL de chlorure de fer FeCl_3 (0,1 %) ont été ajoutés. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (méthanol). L'absorbance du mélange obtenu a été lue à 700 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques à 96 puits et les résultats ont été comparés aux antioxydants standards: BHA, BHT, Trolox, acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les extraits et exprimés comme absorbance $A_{0,50} \mu\text{g}/\text{mL}$, ce qui représente la concentration produisant une absorbance de 0,5.

2.5.5.4. Activité sur nanoparticules d'argent (SNP)

Principe

La méthode est basée sur la capacité d'un antioxydant à réduire des ions d'argent (Ag^+) en atomes d'argent (Ag^0) qui s'agglomèrent en petits clusters, puis se combinent pour former des particules d'argent colloïdales (SNP) (Figure 12). La réaction est quantifiée en mesurant l'absorbance de la solution par spectrophotomètre à 423 nm (Kapoor *et al.*, 1994).

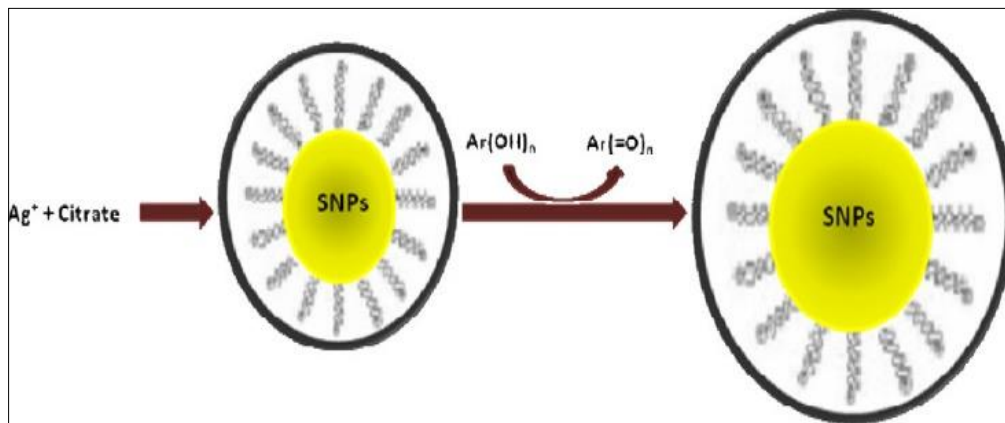


Figure 12: Mécanisme de réduction des nanoparticules d'argent (Özyürek *et al.*, 2012)

Protocole

L'activité des nanoparticules d'argent a été déterminée selon la méthode décrite par Özyürek *et al.* (2012). Un volume de 20 μL de chaque extrait (MeOH, EtOAc et n-BuOH), préparé à plusieurs concentrations (800; 400; 200; 100; 50; 25; 12,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) a été mélangé avec 130 μL de solution de SNP et 50 μL d'eau distillée. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (méthanol). Les mélanges réactionnels ont été incubés à 25 °C pendant 30 min et lus à 423 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques à 96 puits. Les résultats ont été comparés aux antioxydants standards: BHA, BHT, Trolox, acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les extraits et exprimés comme absorbance $A_{0,50}$ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ce qui représente la concentration produisant une absorbance de 0,5.

2.5.5.5. Activité de phénanthroline

Principe

La méthode de Phénanthroline est basée sur la réduction de l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}) par un antioxydant. L'ion Fe^{2+} formé réagit avec l'ortho-phénanthroline pour

former un complexe de couleur rouge-orange (Figure 13) (Yefrida *et al.*, 2018). La réaction est quantifiée en mesurant l'absorbance de la solution par spectrophotomètre à 510 nm.

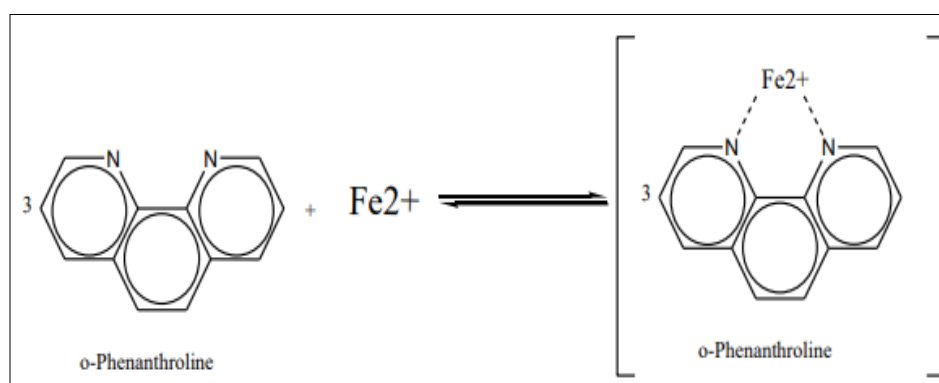


Figure 13: Formation du complexe Fe^{2+} - phénanthroline (Apak *et al.*, 2004)

Protocole

L'activité de phénanthroline a été déterminée selon à la méthode décrite par Szydłowska-Czerniak *et al.* (2008). Un volume de 10 μL de chaque extrait (MeOH, EtOAc et n-BuOH) à différentes concentrations (800; 400; 200; 100; 50; 25; 12,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) a été mélangé avec 50 μL de chlorure de fer (FeCl_3) (0,2 %), 30 μL de solution de phénanthroline (0,5 %) et 110 μL de méthanol. Les mélanges obtenus ont été incubés à 30 °C pendant 20 min. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (méthanol). L'absorbance a été mesurée à 510 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques à 96 puits. Les résultats ont été comparés aux antioxydants standards: BHA, BHT, Trolox, acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les extraits et exprimés comme absorbance $A_{0,50}$ $\mu\text{g}/\text{mL}$, ce qui représente la concentration produisant une absorbance de 0,5.

2.5.6. Activité enzymatique

2.5.6.1. Inhibition de l'alpha-amylase

Principe:

L' α -amylase dégrade l'amidon en composés moins complexes qui ne peuvent pas réagir avec l'iode. L'inhibition de l' α -amylase par un inhibiteur entraîne l'accumulation de l'amidon qui réagit par suite avec l'iode pour donner un complexe bleu-noir dont l'absorbance est mesurée à 630 nm (Adjissi, 2024).

Protocole:

L'activité inhibitrice de l' α -amylase a été déterminée en utilisant la méthode de l'iode/potassium (IKI) décrite par Zengin *et al.* (2014) avec des modifications mineures. Un

volume de 25 µL de la solution d'extrait (MeOH, EtOAc, et n-BuOH) à différentes concentrations (400; 200; 100; 50; 25; 12,5; 6,25 µg/mL) a été mélangée avec 50µL de solution d'α-amylase (1U) préparée dans un tampon phosphate (pH 6,9 avec 6 mM de chlorure de sodium). Le mélange a été incubé pendant 10 min à 37°C. Ensuite, 50µL de solution d'amidon (0,1%) ont été ajoutés et le mélange a été ré-incubé pendant 10 min à 37°C. Après incubation, 25µL d'acide chlorhydrique (HCL) (1M) et 100 µL d'IKI ont été ajoutés (Figure 14). L'absorbance a été lue à 630 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques à 96 puits (PerkinElmer, EnSpire Multimode Plate Reader). L'acarbose a été utilisé comme standard. Le pourcentage d'inhibition de l'α-amylase a été calculé selon l'équation suivante:

$$\% \text{ d'Inhibition de l'}\alpha\text{-amylase} = 1 - [(Ac - Ae) - (As - Ab) / (Ac - Ae)]$$

Ac=Absorbance [amidon+ IKI+ HCl+ volume de solvant de l'extrait+ tompon phosphate de l'enzyme; Ae=Absorbance [Enzyme+ amidon+ IKI+ HCL+ volume de se solvant de l'extrait] ; As=Absorbance [Enzyme + Extrait+ amidon+ IKI+ HCl] ; Ab=Absorbance [Extrait+ IKI+ tompon phosphate de sodium].

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	As ₁	As ₁	As ₁	A _{b1}	As ₂	As ₂	As ₂	A _{b2}	As	As	As	A _b
B	As ₁	As ₁	As ₁	A _{b1}	As ₂	As ₂	As ₂	A _{b2}	As	As	As	A _b
C	As ₁	As ₁	As ₁	A _{b1}	As ₂	As ₂	As ₂	A _{b2}	As	As	As	A _b
D	As ₁	As ₁	As ₁	A _{b1}	As ₂	As ₂	As ₂	A _{b2}	As	As	As	A _b
E	As ₁	As ₁	As ₁	A _{b1}	As ₂	As ₂	As ₂	A _{b2}	As	As	As	A _b
F	As ₁	As ₁	As ₁	A _{b1}	As ₂	As ₂	As ₂	A _{b2}	As	As	As	A _b
G	As ₁	As ₁	As ₁	A _{b1}	As ₂	As ₂	As ₂	A _{b2}	As	As	As	A _b
H	Ae	Ae	Ae	Ae	Ae	Ae	Ac	Ac	Ac	Ac	Ac	Ac

Figure 14: Schéma de la plaque de l'activité inhibitrice de l'α -amylase

2.5.6.2. Activité inhibitrice de l'uréase

Principe

L'uréase catalyse l'hydrolyse de l'urée, produisant du dioxyde de carbone et de l'ammoniac. La production d'ammoniac est mesurée par la méthode de l'indophénol, où une diminution en présence d'inhibiteurs sert d'indicateur à l'activité inhibitrice de l'uréase (El-Zahabi *et al.*, 2019).

Protocole

L'activité inhibitrice de l'uréase a été déterminée selon la méthode décrite par Weatherburn (1967) et Taha (2018). Le mélange réactionnel contenant 10 µL de chaque extrait à différentes concentrations (200; 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 31,25 µg/mL), 25 µL de solution

enzymatique (uréase de haricot Jack) et 50 µL de solution d'urée a été incubé à 30°C pendant 15 min dans une plaque à 96 puits; 45 µL de réactif phénolique et 70 µL de réactif alcalin ont été ajoutés à chaque puits. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (méthanol). Après 50 min d'incubation à 30 °C, l'absorbance a été mesurée à 630 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques à 96 puits (PerkinElmer, EnSpire Multimode Plate Reader, USA). La thiourée a été utilisée comme inhibiteur standard.

Le pourcentage d'inhibition de l'urease été calculé par la formule suivante:

$$\text{Inhibition (\%)} = \left[\frac{A \text{ contrôle} - A \text{ extrait}}{A \text{ contrôle}} \right] \times 100$$

Où A contrôle est l'absorbance du contrôle négatif, et A extrait est l'absorbance de l'extrait/standard

2.5.6.3. Activité inhibitrice de la tyrosinase

Principe

L'évaluation de l'activité des inhibiteurs de la tyrosinase repose sur leur capacité à moduler la formation de dopachrome, un produit coloré issu de la conversion enzymatique des substrats phénoliques, tels que la tyrosine ou la L-3,4-dihydroxyphénylalanine (L-DOPA), par la tyrosinase (Chang, 2009).

Protocole

Extraction de la tyrosinase

La tyrosinase a été préparée selon la méthode décrite par Gouzi et Benmansour (2007). 100 g d'*Agaricus bisporus* appelé champignon de Paris ont été broyés dans un mixeur contenant 120 mL de tampon phosphate à pH 7, préalablement refroidi, pendant 30 s. Après une agitation de 30 min et filtration, le filtrat est centrifugé à 18000 g pendant 30 min à 4°C. Le surnageant constitue l'extrait enzymatique brut de la tyrosinase.

Inhibition de la tyrosinase

L'activité inhibitrice de tyrosinase a été déterminée en utilisant la méthode décrite par Deveci *et al.* (2018). Cette méthode consiste à mélanger 150 µL du tampon phosphate à pH 6,8 avec 10 µL de chaque extrait (MeOH, EtOAc, et n-BuOH) à différentes concentrations (200; 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125 mg/mL) et 20 µL d'enzyme tyrosinase, le mélange est incubé pendant 10 mn à 37 °C; 20 µL de L-DOPA ont été ajoutées et le mélange a été ré-incubé à 37 °C pendant 10 mn. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (méthanol).

L'absorbance des extraits contre un blanc a été lue à 475 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques à 96 puits (PerkinElmer, EnSpire Multimode Plate Reader). L'acide kojique a été utilisé comme standard.

Le pourcentage d'inhibition de la tyrosinase été calculé par la formule suivante:

$$\text{Inhibition (\%)} = \left[\frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}}}{A_{\text{contrôle}}} \right] \times 100$$

Où *A contrôle* est l'absorbance du contrôle négatif, et *A extrait* est l'absorbance de l'extrait/standard

2.5.7. Facteur de protection solaire (SPF)

Le facteur de protection solaire (SPF) de différents extraits (MeOH, EtOAc, et n-BuOH) préparés à une concentration de 2mg/ mL a été déterminé selon la méthode décrite par Mansur *et al.* (1986). L'absorbance a été mesurée à différentes longueurs d'onde, de 290 nm jusqu'à 320 nm (UV-B), chaque 5 nm.

Le SPF a été calculé en utilisant l'équation ci-dessous. Toutes les mesures ont été effectuées en triplicata.

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

EE: spectre d'effet érythémal, **I**: spectre d'intensité solaire, **Abs**: absorbance du produit solaire, CF: facteur de correction (= 10), **EE * I**: valeurs constantes déterminées par (Sayre *et al.*, 1979) (Tableau 2).

Tableau 2: Fonction normale de produit utilisée dans le calcul du facteur de protection solaire (SPF) (Mansur *et al.*, 1986).

Longueur d'onde λ (nm)	EE (λ)x I(λ) (Normes)
290	0.0150
295	0.0817
300	0.2874
305	0.3278
310	0.1864
315	0.0837
320	0.0180
Total	1.0000

Analyse statistique

Les résultats sont exprimés en moyennes \pm écart type (DS) de trois mesures et analysés par une analyse de variance à un facteur (ANOVA) à l'aide du logiciel IBM SPSS v.25 (IBM corp, 2017) et OriginPro v.2021 (Origin Lab Corporation, 2021) suivi par le test de Tukey. Les différences sont considérées statistiquement significatives au seuil de 0,05 ($p < 0,05$). La Classification Ascendante Hiérarchique (CAAH, Cluster) a été réalisée par le logiciel OriginPro v.2021 (Origin Lab Corporation, 2021).

Résultats et discussion

Dans de nombreuses communautés africaines, l'utilisation de remèdes à base de plantes en tant qu'approche thérapeutique alternative ou complémentaire contre diverses maladies est une pratique courante (Akinrinde *et al.*, 2018). Plusieurs espèces de la famille des Caryophyllaceae sont largement utilisées par de nombreuses communautés ethniques dans le monde entier dans des pratiques de médecine traditionnelle (Chandra et Rawat, 2015), parmi les quelles les espèces *D. caryophyllus* L. et *D. chinensis* L., connues pour leurs activités anticancéreuse, antivirale, antibactérienne et antioxydante (Chandra et Rawat, 2015 ; Al-Snafi, 2017). Le but de cette recherche est de mettre en évidence la composition phytochimique d'une sous-espèce endémique du Nord-Est de l'Algérie, *D. sylvestris* subsp. *aristidis*, ainsi que l'exploration de ses activités biologiques; activité cytotoxique, antibactérienne, antifongique, antioxydante, enzymatique, et photo-protectrice.

1. Caractérisation physique et rendement d'extraction

Les rendements d'extraction sont calculés par rapport à 100 g de la matière sèche et exprimés en pourcentage (%). Les résultats du Tableau 3 montrent que l'extrait MeOH présente le rendement le plus élevé, soit 23% suivie par l'extrait n-BuOH avec un rendement de 14,75% et finalement l'extrait EtOAc avec un rendement de 2,70%. En comparaison, nos résultats sont bien meilleurs que ceux obtenus avec l'extrait éthanolique des racines de *D. thunbergii* (2,4%) (Akinrinde *et al.*, 2018).

Tableau 3: Rendements (%) et caractérisation physique des extraits MeOH, EtOAc et n-BuOH

	MeOH	EtOAc	n-BuOH
Rendement %	23%	2,70%	14,75%
Couleur	marron foncé	noir	jaune
Aspect	pâteux	pâteux	solide

2. Teneur totale en composés phénoliques, flavonoïdes et flavonols

La macération semble être la meilleure méthode d'extraction des polyphénols totaux, bien que généralement longue et exige des solvants organiques qui sont chers et dangereux pour la santé (Garcia-Salas *et al.*, 2010), mais elle est souvent préférée pour l'extraction d'un ensemble de molécules fragiles (Pandino *et al.*, 2011). L'addition de l'eau aux solvants organiques peut augmenter la solubilité des polyphénols (Sripad *et al.*, 1982) en modulant la polarité du solvant organique (Atik et Mohammedi, 2011). Il est toutefois important de noter que le fractionnement peut également entraîner une perte de certains composés, mais qu'il permet globalement d'améliorer la concentration des types de polyphénols recherchés dans les extraits en prenant

en considération que la solubilité des composés phénoliques est influencée par la polarité du solvant utilisé. Par conséquent, développer un procédé d'extraction approprié à l'extraction de tous les composés phénoliques de la plante est une tâche complexe (Garcia-Salas *et al.*, 2010 ; Jokić *et al.*, 2010).

Les teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes et flavonols, ont été déterminées à partir de l'équation de la régression linéaire des courbes d'étalonnage tracées ci-dessous (Figure 15). Les résultats présentés dans le Tableau 4 montrent que la teneur en polyphénols dans l'extrait n-BuOH ($121,45 \pm 1,87$ µg GAE/mg d'extrait) est plus élevée que les extraits MeOH ($23,02 \pm 0,17$ µg GAE/mg d'extrait) et EtOAc ($93,51 \pm 0,16$ µg GAE/mg d'extrait) ainsi que l'extrait éthanolique des racines de *D. thunbergii* ($28,01 \pm 0,37$ mg GAE/g) (Akinrinde *et al.*, 2018) et l'extrait aqueux de *D. carmelitarum* ($16,67 \pm 0,40$ mg GAE/g) (Aliyazıcioglu *et al.*, 2017). Nos résultats sont proches de ceux trouvés dans les extraits EtOAc et n-BuOH de *D. superbis* L. ($105,2$ mg GAE/g et 80 mg GAE/g, respectivement) (Kim *et al.*, 2019). L'extrait n-BuOH s'est également révélé être l'extrait le plus riche en flavonoïdes ($57,09 \pm 0,14$ µg QE/mg d'extrait) par apport aux extraits MeOH ($21,18 \pm 0,14$ µg QE/mg d'extrait) et EtOAc ($49,58 \pm 0,15$ µg QE/mg d'extrait), ce qui est proche à l'extrait éthanolique de *D. Thunbergii* ($62,21$ mg QE/g) (Akinrinde *et al.*, 2018), à l'extrait EtOAc ($69,11$ mg QE/g) et à l'extrait n-BuOH ($62,50$ mg QE/g) de *D. superbis* L. (Kim *et al.*, 2019). La teneur totale en flavonols était significativement plus élevée dans l'extrait EtOAc ($41,90 \pm 0,98$ µg QE/mg) que dans les autres extraits testés MeOH ($13,78 \pm 0,64$ µg QE/mg d'extrait) et n-BuOH ($28,99 \pm 1,44$ µg QE/mg d'extrait) et l'extrait éthanolique ($13,06$ mg QE/g) de *D. Thunbergii* (Akinrinde *et al.*, 2018).

Le réactif de Folin-Ciocalteu n'est pas spécifique aux polyphénols et divers composés peuvent réagir avec ce réactif, ce qui conduit à une surestimation de la quantité réelle de polyphénols (Tawaha *et al.*, 2007). Pour une détermination plus précise des différents types de polyphénols, nous avons opté pour une analyse qualitative par LC-MS/MS.

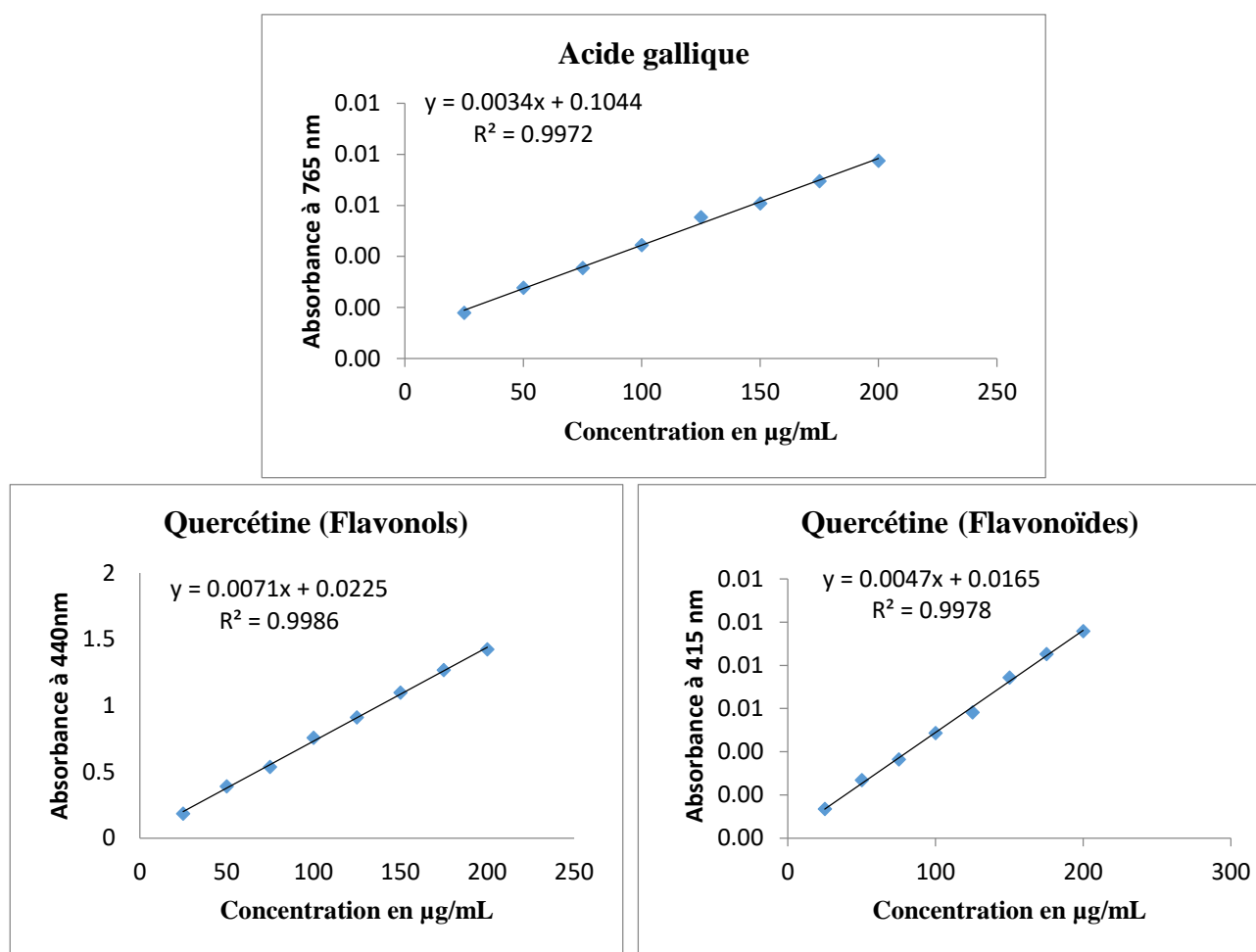


Figure 15: Courbes d'étalonnages d'acide gallique et quercétine.

Tableau 4: Teneur totale en composés phénoliques, flavonoïdes et flavonols de divers extraits de *D. sylvestris* subsp. *aristidis*.

Extraits	Phénols totaux ($\mu\text{g GAE/mg}$) ¹	Flavonoïdes ($\mu\text{g QE/mg}$) ²	Flavonols ($\mu\text{g QE/mg}$) ²
MeOH	$23,02 \pm 0,17^c$	$21,18 \pm 0,14^c$	$13,78 \pm 0,64^c$
EtOAc	$93,51 \pm 0,16^b$	$49,58 \pm 0,15^b$	$41,90 \pm 0,98^a$
n-BuOH	$121,45 \pm 1,87^a$	$57,09 \pm 0,14^a$	$28,99 \pm 1,44^b$

Les valeurs ont été exprimées en moyenne \pm écart-type (SD) de trois mesures parallèles. Les valeurs avec des superscripts différents (a, b ou c) dans les mêmes colonnes sont significativement différentes ($p < 0,05$).

¹Le contenu total en phénols a été exprimé en μg équivalent acide gallique/mg d'extrait ($\mu\text{g GAE/mg}$).

²Le contenu en flavonoïdes et flavonols a été exprimé en μg équivalent quercétine/mg d'extrait ($\mu\text{g QE/mg}$).

3. Analyse de la composition phytochimique des extraits EtOAc et n-BuOH par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse à ionisation par électrospray (LC-MS/MS)

À notre connaissance, c'est la première fois qu'une LC-MS/MS a été utilisée pour analyser les métabolites majeurs et secondaires des feuilles de *D. sylvestris* subsp. *aristidis*. L'analyse LC-ESI/MS des extraits EtOAc et n-BuOH des feuilles de la plante a révélé la présence de 14 composés (Tableau 5), parmi lesquels des acides phénoliques représentés par l'acide p-coumarique connu pour ses activités antioxydante, anti-inflammatoire (Moradi *et al.*, 2023) et antibactérienne (Lou *et al.*, 2012) suivi par l'acide benzoïque utilisé comme un conservateur dans l'industrie alimentaire et cosmétique en raison de ses propriétés antimicrobiennes (Al Jitan *et al.*, 2018). Les flavonoïdes sont représentés par l'hespéridine doté d'un potentiel inhibiteur de la formation du biofilm de *C. albicans* (Carević *et al.*, 2022), alors que les vitamines sont représentées par l'acide ascorbique connu pour ses activités antioxydantes (Pohanka *et al.*, 2012) et l'acide folique qui joue un rôle important dans nombreux processus métaboliques, notamment la synthèse de l'ADN et la division cellulaire (Myszczyzyn *et al.*, 2019). Nos résultats sont assez proches de ceux rapportés par Aliyazıcıoğlu *et al.* (2017) où l'acide p-coumarique, l'acide chlorogénique, l'acide gallique, l'acide benzoïque et la vanilline ont été isolés de l'extrait aqueux de *D. carmelitarum* en utilisant l'analyse RP-HPLC. D'autre part, Ding *et al.* (2013) ont isolé l'acide benzoïque, le kaempférol, la quercétine et l'acide trans-p-coumarique de l'extrait EtOAc de l'extrait éthanolique de *D. superbis* en utilisant la méthode chromatographique de Sephadex LH-20. Cependant, il n'y avait pas de chevauchement complet entre nos résultats de composition chimique et les données de la littérature sur le genre *Dianthus* (Yusupova *et al.*, 2020; Liu *et al.*, 2022). Cela pourrait provenir de la différence de l'espèce végétale ainsi que du nombre et du type de standards utilisés. Nous pensons que la composition chimique de *D. sylvestris* subsp. *aristidis* pourrait être mieux révélée avec l'utilisation de davantage de composés standards dans les futures recherches.

Tableau 5: Profil phytochimique déterminé par LC-MS/MS des extraits EtOAc et n-BuOH de *D. sylvestris* subsp. *aristidis*

Composés	TR (min)	Poids moléculaire	Ion précurseur	Ion produit	Charge (+/-)	Voltage CE (v)	Intensité maximale		Surface%	
							EtOAc	n -BuOH	EtOAc	n -BuOH
Acide p-Coumarique	1,42	164,15	165,10	101,20	+	-10	429312	434367	43,88	47,35
Acide Benzoïque	47,65	122,12	123,10	91,20	+	-12	216559	203997	22,13	22,24
Acide chlorogénique	20,40	354,31	355,00	73,15	+	-34	6893	6879	0,70	0,75
Acide 4-Hydroxy Coumarique	47,90	162,14	160,80	117,10	-	22	1444	1444	0,15	0,16
Acide gallique	18,30	170,12	168,80	125,10	-	16	346	325	0,04	0,04
Hespéretine	37,60	302,28	300,90	255,25	-	10	40541	54296	4,14	5,92
Kaempférol	26,25	286,24	287,10	225,25	+	-8	13488	14305	1,38	1,56
Naringenin	48,10	272,25	273,10	147,15	+	-25	4827	4531	0,49	0,49
Quercétine	48,07	302,23	303,10	85,05	+	-41	3738	3556	0,38	0,39
Acide ascorbique	48,15	176,12	174,90	131,10	-	16	127519	45043	13,03	4,91
Acide Folique	38,40	441,14	442,90	323,45	+	-26	50015	49748	5,12	5,42
Beta-Carotène	42,62	536,87	537,20	23,10	+	-49	5325	7377	0,54	0,80
Vanilline	48,20	152,15	153,10	71,15	+	-22	30490	27698	3,15	3,02
Acide maléique	47,90	116,07	117,10	85,20	+	-10	39153	54800	4,00	5,97

TR: temps de rétention

4. Activités biologiques

Les activités biologiques, notamment l'activité cytotoxique, antibactérienne, antifongique, antioxydante, antidiabétique et photo-protectrice des différents extraits de la plante *D. sylvestris* subsp. *aristidis* ont été évaluées *in vitro*.

4.1. Evaluation de la cytotoxicité

Le test de cytotoxicité sur *A. salina* est largement utilisé en raison de sa rapidité, de son faible coût et de sa simplicité, permettant d'évaluer la toxicité des médicaments, y compris les extraits de plantes. Dans ce test, un médicament est considéré comme cytotoxique si sa LC₅₀

est inférieure à 100 µg/mL (Meyer *et al.*, 1982 ; Bechecker *et al.*, 2022). L'activité cytotoxique de divers extraits de *D. sylvestris* subsp. *aristidis* a été déterminée et les résultats sont présentés dans le Tableau 6, exprimés en termes de LC₅₀. Les extraits MeOH, EtOAc et n-BuOH n'ont montré aucun effet cytotoxique sur les nauplii d'*A. salina*, avec des valeurs de LC₅₀ dépassant 100 µg/mL, soit 6320, 2500 et 1272 µg/mL, respectivement. Cependant, l'étude menée par Lamula et Ashafa (2014) a révélé que les extraits hydro-alcooliques et éthanoliques de plante entière de *D. basuticus* présentaient un potentiel cytotoxique élevé avec des LC₅₀ de 17,3 et 59,4 µg/mL, respectivement.

Tableau 6: Activité cytotoxique de divers extraits de *D. sylvestris* subsp. *aristidis* sur les nauplii d'artémies salines.

Extraits	Concentrations ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Nombre initial de nauplii	Mortalité totale	Pourcentage de mortalité	LC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Intervalle de confiance (LCL-UCL)
MeOH	1000	10	2 5 3	33,33	6320	$1,18 \times 10^3 - 6,01 \times 10^9$
	500	10	3 3 5	36,66		
	250	10	1 2 3	20		
	125	10	0 1 4	16,66		
	62.5	10	1 2 2	16,66		
	31,25	10	1 0 1	6,66		
EtOAc	1000	10	4 4 4	40	2500	$6,75 \times 10^2 - 1,44 \times 10^7$
	500	10	3 4 5	40		
	250	10	3 2 3	30		
	125	10	3 3 0	20		
	62,5	10	3 2 2	23,33		
	31,25	10	2 2 1	16,66		
n-BuOH	1000	10	5 5 6	53,33	1272	$436 - 9,21 \times 10^5$
	500	10	4 4 3	36,66		
	250	10	2 2 3	23,33		
	125	10	1 3 2	20		
	62,5	10	1 4 1	20		
	31,25	10	1 2 2	16,66		
Control	/	10	0 1 0	3,33	/	/

LCL: limite inférieure de confiance

UCL: limite supérieure de confiance

4.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de *D. sylvestris* subsp. *aristidis*

4.2.1. Caractérisation des microorganismes étudiés

a. Répartition des micro-organismes par espèce

Dans notre étude, 84 espèces ont été isolées et identifiées, représentées principalement par: *E. coli* avec un pourcentage de 18%, *S. aureus*, *C. albicans* et *A. niger* avec un pourcentage de 12% (Figure 16). *E. coli* est souvent considérée comme la cause la plus fréquente d'infections urinaires (Zhou *et al.*, 2023). *S. aureus* est le plus couramment associé aux prélèvements de pus (Saptoka *et al.*, 2019). *C. albicans* est l'agent pathogène le plus courant détecté dans les prélèvements vaginaux responsable d'une candidose vaginale (Yapar, 2014 ; Pappas *et al.*, 2016). *A. niger* est en effet l'une des espèces du genre *Aspergillus* les plus couramment isolées à partir d'échantillons d'ongles anormaux et peut potentiellement causer l'onychomycose (Bongomin *et al.*, 2018).

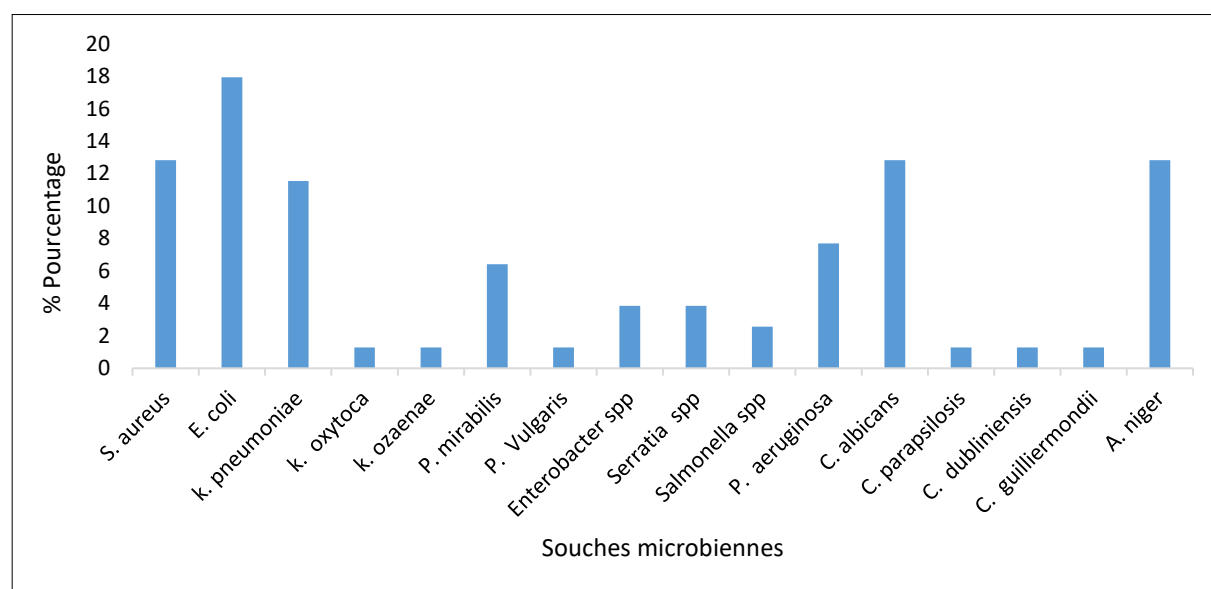


Figure 16: Répartition des micro-organismes isolés selon les espèces

b. Répartition des micro-organismes selon l'origine du prélèvement

Les résultats obtenus (Figure 17) montrent que la plupart des souches bactériennes ont été isolées à partir des urines (41,46 %), alors que les souches fongiques ont été isolées à partir des ongles (14,63%) et entre les orteils (14,63%).

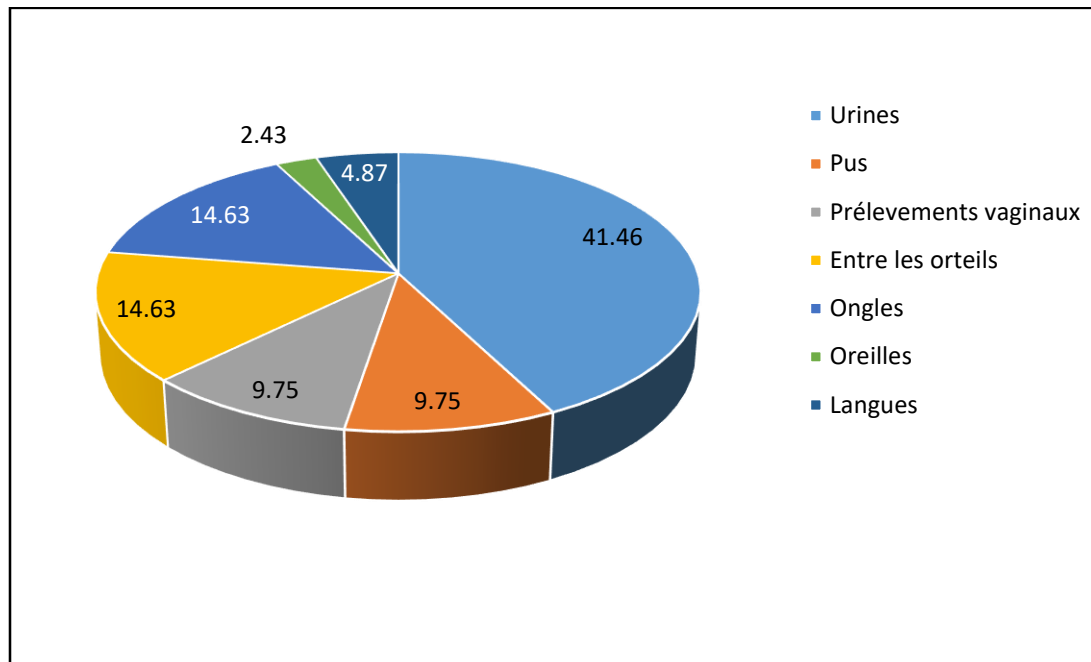


Figure 17: Répartition des micro-organismes isolés selon le type de prélèvement.

Dans cette étude, les souches bactériennes et fongiques ont été évaluées pour déterminer leur sensibilité aux extraits MeOH, EtOAc et n-BuOH. L'évaluation de l'activité antimicrobienne des souches bactériennes et des levures a été réalisée en utilisant deux paramètres: le diamètre de la zone d'inhibition et la CMI. L'évaluation de l'activité antimicrobienne des souches fongiques (*A. niger*) a été réalisée en calculant le pourcentage d'inhibition de la croissance (%). Le DMSO a été testé au préalable pour sa neutralité vis-à-vis des souches bactériennes et fongiques étudiées. Il est considéré comme témoin négatif.

4.2.2. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits de *D. sylvestris* subsp. *aristidis*

a. Souches de référence à Gram-positif

Les extraits testés MeOH, EtOAc et n-BuOH n'ont présenté aucune activité antibactérienne vis-à-vis des souches de référence à Gram-positif *S. aureus* ATCC 25923 et *S. aureus* ATCC 19111 (Tableau 7).

b. Souches cliniques à Gram-positif

Les résultats présentés dans le Tableau 7 montrent que l'extrait MeOH a exhibé un effet inhibiteur sur les souches *S. aureus* 01, 02, 03, 04 et 05 avec des diamètres de zone d'inhibition allant de 10 à 15 mm et des CMI allant de 31.25 à 500 µg/mL. L'extrait EtOAc s'est révélé actif contre *S. aureus* 01, 02 et 03 avec des diamètres de zone d'inhibition allant de 10 à 14 mm et des CMI allant de 31.25 à 125 µg/mL. Seule la souche *S. aureus* 01 s'est révélée sensible à l'extrait n-BuOH, avec un diamètre de zone d'inhibition de 11 mm et une CMI de 500 µg/mL. Les trois extraits n'ont montré aucune activité inhibitrice de la croissance des cinq autres

souches de *S. aureus*. En parallèle, toutes les souches bactériennes testées étaient sensibles à la Gentamycine avec un diamètre de zone d'inhibition (≥ 20 mm) à l'exception des deux souches *S. aureus* 05 et 06 dont le diamètre de zone d'inhibition (< 20 mm) (CASFM, 2023).

Tableau 7: Diamètres des zones d'inhibition et CMI des souches de référence et cliniques à Gram-positif (*S. aureus*) vis-à-vis des extraits testés de *D. sylvestris* subsp. *aristidis*.

Extractions Bactéries	MeOH		EtOAc		n-BuOH		GEN
	ZI (mm)	CMI ($\mu\text{g/ml}$)	ZI (mm)	CMI ($\mu\text{g/ml}$)	ZI (mm)	CMI ($\mu\text{g/ml}$)	
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	R	R	R	R	R	R	S
<i>S. aureus</i> ATCC 19111	R	R	R	R	R	R	S
<i>S. aureus</i> 01	11 \pm 0,01	31,25	13 \pm 0,98	125	11 \pm 0,64	500	S
<i>S. aureus</i> 02	10 \pm 0,20	62,5	10 \pm 0,52	31,25	R	R	S
<i>S. aureus</i> 03	13 \pm 0,90	500	14 \pm 1,20	31,25	R	R	S
<i>S. aureus</i> 04	14 \pm 1,20	31,25	R	R	R	R	S
<i>S. aureus</i> 05	15 \pm 1,82	125	R	R	R	R	R
<i>S. aureus</i> 06	R	R	R	R	R	R	R
<i>S. aureus</i> 07	R	R	R	R	R	R	S
<i>S. aureus</i> 08	R	R	R	R	R	R	S
<i>S. aureus</i> 09	R	R	R	R	R	R	S
<i>S. aureus</i> 10	R	R	R	R	R	R	S

R : résistante

S : sensible

GEN : Gentamicine.

c. Souches de référence à Gram négatif

Les résultats présentés dans le Tableau 8 montrent que les extraits testés MeOH, EtOAc et n-BuOH n'ont aucune activité antibactérienne vis-à-vis de la souche de référence *E. coli* ATCC 25922. En revanche, de bons résultats ont été obtenus avec les autres souches de référence Gram -. Pour *K. pneumoniae* ATCC 70603, les diamètres des zones d'inhibition sont

égaux à 10 mm, 12 mm et 11 mm pour les extraits MeOH, EtOAc et n-BuOH, respectivement. Les CMI correspondantes ont été estimées à 62,5; 125 et 62,5 µg/mL pour ces extraits, respectivement. En ce qui concerne *P. aeruginosa* ATCC 27853 (Figure 21), les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés à 10 et 12 mm pour les extraits EtOAc et n-BuOH, respectivement. Les CMI correspondantes à ces deux extraits sont égales à 31,25 µg/mL. Cependant, cette souche s'est révélée résistante à l'extrait MeOH.

d. Souches cliniques à Gram négatif

D'après les résultats présentés dans le Tableau 8, il s'est avéré que l'extrait MeOH avait un effet inhibiteur contre les souches *E. coli* 02 (Figure 20) et 03 avec des diamètres des zones d'inhibition de 12 et 14 mm et des CMI de 31,25 et 1000 µg/mL respectivement. L'extrait EtOAc s'est révélé actif contre les souches *E. coli* 01 et 07 avec des diamètres des zones d'inhibition de 13 et 14 mm et des CMI de 31,25 et 1000 µg/mL respectivement. L'extrait n-BuOH a montré par contre une activité antibactérienne vis-à-vis quatre souches d'*E. coli* : *E. coli* 01,04, 05 et 06 avec des diamètres des zones d'inhibition variant entre 10 et 17 mm et des CMI entre 125 et 1000 µg/ml. Les sept autres souches étaient résistantes à tous les extraits testés. Toutes les souches d'*E. coli* étaient par contre sensibles à la Gentamycine avec un diamètre de zone d'inhibition (≥ 18 mm) (CASFM, 2023).

Pour les souches de *Klebsiella pneumoniae* (Tableau 8), il s'est avéré que l'extrait MeOH avait un effet contre les souches de *K. pneumoniae* 01 et 04 avec des diamètres des zones d'inhibition de 10 et 14 mm et des CMI déterminées à 31,25 et 62,5 µg/mL, respectivement. Trois souches de *K. pneumoniae*: *K. pneumoniae* 01, 02 et 03 (Figure 21), ont montré une sensibilité vis-à-vis l'extrait EtOAc avec des diamètres qui varient entre 11 et 15 mm et des CMI allant de 31,25 à 125 µg/mL. La souche *K. pneumoniae* 05 s'est montrée sensible à l'extrait n-BuOH avec un diamètre de zone d'inhibition de 12 mm et une CMI de 1000 µg/mL. Les six autres souches étaient résistantes à tous les extraits testés. Toutes les souches de *klebsiella* étaient sensibles à la Gentamycine avec un diamètre de zone d'inhibition (≥ 18 mm) (CASFM, 2023).

Deux souches de *P. mirabilis* se sont révélées sensibles à l'extrait MeOH, *P. mirabilis* 02 et 03, avec des diamètres des zones d'inhibition de 13 et 10 mm et des CMI de 125 µg/mL et 1000 µg/mL, respectivement. Les extraits EtOAc et n-BuOH se sont montrés actifs contre seulement la souche *P. mirabilis* 01, avec des diamètres des zones d'inhibition de 12 et 15 mm et des CMI déterminé à 125 µg/mL et 500 µg/mL, respectivement. Les trois autres souches étaient résistantes aux trois extraits testés. Toutes les souches de *Proteus* étaient sensibles à la Gentamycine avec un diamètre de zone d'inhibition (≥ 18 mm) (CASFM, 2023).

L'extrait MeOH a exhibé une activité inhibitrice sur *Enterobacter* sp. 01 et 02, avec des diamètres des zones d'inhibition de 13 mm et 15 mm, respectivement. Quand aux CMI, elles sont de 500 et 1000 µg/mL, respectivement. Trois souches d'*Enterobacter* sp. 01, 02 et 03 se sont révélées sensibles aux extraits EtOAc et n-BuOH où les diamètres des zones d'inhibition varient entre 12 et 15 mm et des CMI allant de 31.25 à 1000 µg/mL. En parallèle, les deux souches *Enterobacter* sp 01 et 02 étaient sensibles à la Gentamycine avec un diamètre de zone d'inhibition (≥ 18 mm), alors que la souche *Enterobacter* 03 était résistante avec un diamètre de zone d'inhibition (< 16 mm) (CASFM, 2023).

Serratia sp 01, 02 (Figure 20) et 03 ont montré une sensibilité aux extraits MeOH, EtOAc et n-BuOH avec des diamètres des zones d'inhibition allant de 13 à 20 mm. Les CMI correspondantes sont comprises entre 31,25 et 500 µg/ml; 31,25 et 250 µg/ml; 31,25 et 1000 µg/ml, respectivement. Toutes les souches de *Serratia* étaient sensibles à la Gentamycine avec un diamètre de zone d'inhibition (≥ 18 mm) (CASFM, 2023).

Seul l'extrait EtOAc était actif contre les souches *Salmonella* sp 01 et 02 avec des diamètres des zones d'inhibition de 12 et 13 mm et des CMI de 31.25 et 250 µg/mL, respectivement. Toutes les souches de *Salmonella* étaient sensibles à la Gentamycine avec un diamètre de zone d'inhibition (≥ 18 mm) (CASFM,2023).

P. aeruginosa 01(Figure 18), 02 (Figure 22) et 03 (Figure 19) se sont montrées sensibles aux trois extraits MeOH, n-BuOH et EtOAc, avec des diamètres des zones d'inhibition allant de 13 à 20 mm, de 12 à 16 mm et de 10 à 14 mm, respectivement. Les CMI correspondantes sont comprises entre 31,25 et 1000 µg/mL. *P. aeruginosa* 04 n'était sensible qu'à l'extrait n-BuOH avec une zone d'inhibition de 11 mm et une CMI de 31,25 µg/mL. *P. aeruginosa* 05 et 06 étaient résistantes aux trois extraits. Toutes les souches de *Pseudomonas* étaient sensibles à la Gentamycine avec un diamètre de zone d'inhibition (≥ 15 mm) (CASFM, 2023).

En comparant nos résultats avec d'autres études portant sur des extraits du genre *Dianthus* faites sur les mêmes espèces bactériennes testées, nous avons constaté que l'extrait éthanolique de *D. caryophyllus* a montré des diamètres de zone d'inhibition allant de 10 à 14 mm contre *K. pneumoniae*. L'extrait éthanolique de *D. coryophyllum* a montré un effet antibactérien contre *E. coli*, *S. aureus* et *P. aeruginosa*, avec des CMI de 15,25 et 15 mg/mL (Ertürk, 2006). Le thymol et l'eugénol, deux composés antibactériens extraits de *D. caryophyllus*, ont montré une activité antagoniste contre *E. coli* et *P. mirabilis*, avec une CMI de 7,8 µg/mL et contre *Bacillus cereus* (*B.cereus*), *Listeria monocytogenes* et *S. aureus*, avec une CMI de 15,6 µg/mL (Mohammed et Al-Bayati, 2009). L'extrait aqueux de *D. carmelitarum* a montré une activité

antibactérienne avec une CMI de 250 µg/mL contre *S. aureus*, *P. aeruginosa* et une CMI inférieure à 125 µg/mL contre *Yersinia pseudotuberculosis* (*Y. pseudotuberculosis*) (Aliyazıcıoğlu *et al.*, 2017). Cependant, les huiles essentielles de *D. carmelitarum* et de *D. calocephalus* n'ont montré aucune activité antibactérienne contre les bactéries testées, à savoir: *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *E. faecalis*, *Y. pseudotuberculosis*, *M. smegmatis* et *B. cereus* (Yucel et Yayli, 2018). De même, les extraits totaux de *D. caryophyllus* n'ont montré aucune activité antibactérienne contre *E. coli* et *S. aureus* (Bonjar, 2004). L'extrait aqueux de *D. carmelitarum* n'a également montré aucune activité contre *E. coli*, *E. faecalis* et *B. cereus* (Aliyazıcıoğlu *et al.*, 2017). Ces résultats mettent en lumière les propriétés antibactériennes potentielles de quelques extraits de quelques espèces du genre *Dianthus*.

Tableau 8: Diamètres des zones d'inhibition et CMI des souches de référence et cliniques à Gram-négatif vis-à-vis des extraits testés de *D. sylvestris* subsp. *aristidis*.

Extractions Bactéries	MeOH		EtOAc		n-BuOH		GEN
	ZI (mm)	CMI (µg/mL)	ZI (mm)	CMI (µg/mL)	ZI (mm)	CMI (µg/mL)	
<i>E. coli</i> ATCC 25922	R	R	R	R	R	R	S
<i>E. coli</i> 01	R	R	13±1,60	31,25	15±0,25	250	S
<i>E. coli</i> 02	12±1,22	31,25	R	R	R	R	S
<i>E. coli</i> 03	14±0,82	1000	R	R	R	R	S
<i>E. coli</i> 04	R	R	R	R	17±2,04	1000	S
<i>E. coli</i> 05	R	R	R	R	10±1,45	125	S
<i>E. coli</i> 06	R	R	R	R	15±1,01	1000	S
<i>E. coli</i> 07	R	R	14±1,75	1000	R	R	S
<i>E. coli</i> 08	R	R	R	R	R	R	R
<i>E. coli</i> 09	R	R	R	R	R	R	S
<i>E. coli</i> 10	R	R	R	R	R	R	S
<i>E. coli</i> 11	R	R	R	R	R	R	S
<i>E. coli</i> 12	R	R	R	R	R	R	S
<i>E. coli</i> 13	R	R	R	R	R	R	S
<i>E. coli</i> 14	R	R	R	R	R	R	S
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 70603	10±1,00	62,5	12±2,30	125	11±1,92	62,5	S
<i>K. pneumoniae</i> 01	12±0,92	62,5	11±1,11	31,25	R	R	S
<i>K. pneumoniae</i> 02	R	R	14	31,25	R	R	S
<i>K. pneumoniae</i> 03	R	R	15	62,5	R	R	S
<i>K. pneumoniae</i> 04	14±0,00	31,25	R	R	R	R	S

Résultats et discussion

<i>K. pneumoniae</i> 05	R	R	R	R	12±0,06	1000	S
<i>K. pneumoniae</i> 06	R	R	R	R	R	R	S
<i>K. pneumoniae</i> 07	R	R	R	R	R	R	S
<i>K. pneumoniae</i> 08	R	R	R	R	R	R	S
<i>K. pneumoniae</i> 09	R	R	R	R	R	R	S
<i>K. ozaenae</i>	R	R	R	R	R	R	R
<i>K. oxytoca</i>	R	R	R	R	R	R	R
<i>P. mirabilis</i> 01	R	R	12±0,65	125	15±1,12	500	S
<i>P. mirabilis</i> 02	13±0,64	125	R	R	R	R	S
<i>P. mirabilis</i> 03	10±0,22	1000	R	R	R	R	S
<i>P. mirabilis</i> 04	R	R	R	R	R	R	S
<i>P. mirabilis</i> 05	R	R	R	R	R	R	S
<i>P. vulgaris</i>	R	R	R	R	R	R	S
<i>Enterobacter sp</i> 01	13±1,22	500	12±1,25	1000	12±0,05	31,25	S
<i>Enterobacter sp</i> 02	15±2,02	1000	15±0,35	500	14±0,58	62,5	S
<i>Enterobacter sp</i> 03	R	R	13±2,01	250	15±0,95	62,5	R
<i>Serratia sp</i> 01	15±0,25	62,5	15±0,39	250	10±1,23	31,25	S
<i>Serratia sp</i> 02	20±0,27	31,25	15±0,90	31,25	14±1,02	31,25	S
<i>Serratia sp</i> 03	13±0,15	500	15±0,89	31,25	15±0,60	1000	S
<i>Salmonella sp</i> 01	R	R	12±0,12	31,25	R	R	S
<i>Salmonella sp</i> 02	R	R	13±1,98	250	R	R	S
<i>P. aeruginosa</i> 27853 ATCC	R	R	12±0,12	31,25	10±0,29	31,25	S
<i>P. aeruginosa</i> 01	20±1,01	31,25	16±0,45	31,25	10±0,96	1000	S
<i>P. aeruginosa</i> 02	14±0,98	31,25	12±0,18	250	13±0,97	250	S

<i>P. aeruginosa</i> 03	13±1,89	62,5	12±0,92	62,5	14±1,15	125	S
<i>P. aeruginosa</i> 04	R	R	R	R	11±0,96	31,25	S
<i>P. aeruginosa</i> 05	R	R	R	R	R	R	S
<i>P. aeruginosa</i> 06	R	R	R	R	R	R	S

R : résistante

S : sensible

GEN : Gentamicine.



Figure 18 : Effet des extraits MeOH, EtOAc et n-BuOH sur *P. aeruginosa* 01



Figure 19 : Effet des extraits MeOH, EtOAc et n-BuOH sur *P. aeruginosa* 03

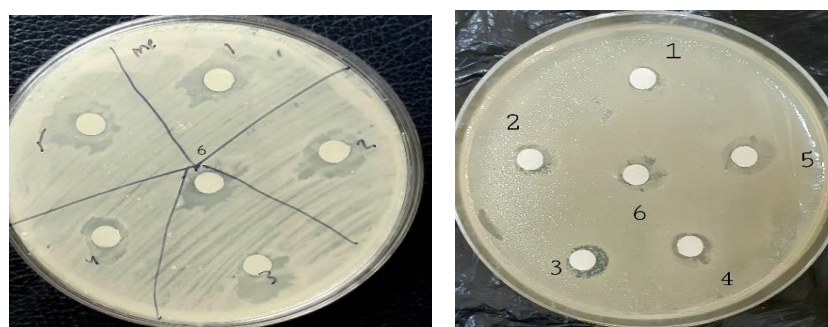


Figure 20: Effet de l'extrait MeOH sur *Serratia* sp 02 et *E. coli* 02

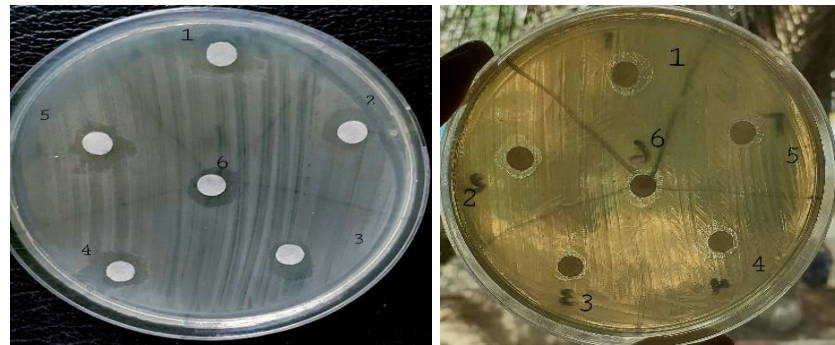


Figure 21: Effet de l'extrait EtOAc sur *K. pneumoniae* 03 et *P. aeruginosa* 27853 ATCC



Figure 22: Effet de l'extrait n-BuOH sur *P.aeruginosa* 02

1: 1000µg/mL; 2: 500µg/mL; 3: 250µg/mL; 4: 125µg/mL; 5: 62,5µg/mL; 6: 31,25µg/mL

4.2.3. Evaluation de l'activité antifongique des extraits de *D. sylvestris* subsp. *aristidis*

a. Souches de *Candida* sp.

Les résultats présentés dans le Tableau 9 montrent que *C. albicans* ATCC 21300 s'est montré sensible à tous les extraits testés, avec un diamètre de zone d'inhibition de 12 mm et une CMI de 62,5 µg/mL. En outre, neuf souches de *C. albicans* (Figure 23,24 et 25) se sont également révélées sensibles aux extraits MeOH, EtOAc et n-BuOH, avec des diamètres des zones d'inhibition variant entre 12 à 14 mm, de 11 à 14 mm et de 10 à 13 mm, respectivement. Les CMI correspondantes à ces levures étaient comprises entre 31,25 et 62,5 µg/mL, 62,5 et 250 µg/mL, et 31,25 et 1000 µg/mL pour les extraits MeOH, EtOAc et n-BuOH, respectivement. Quatre levures par contre, *C. albicans* 10, *C. parapsilosis*, *C. dubliniensis*, et *C. guilliermondii* se sont révélées résistantes à tous les extraits testés.

En comparant nos résultats à d'autres études portant sur des extraits du genre *Dianthus*, nous avons noté que les huiles essentielles de *D. carmelitarum* et de *D. calocephalus* ont montré une activité antifongique contre une souche de *C. albicans* avec des CMI élevées égales à 668 µg/mL et 1041 µg/mL, respectivement (Yucel et Yayli, 2018). En outre, l'extrait éthanolique de *D. coryophyllum* a présenté une bonne activité antifongique contre *C. albicans* avec un diamètre de zone d'inhibition de 30 mm et une CMI de 20 mg/mL (Ertürk, 2006). D'autre part,

l'extrait aqueux de *D. carmelitarum* n'a montré aucune activité antifongique contre *C. albicans* et *S. cerevisiae* (Aliyazıcıoğlu *et al.*, 2017).

Tableau 9: Diamètres des zones d'inhibition et CMI des souches de référence et cliniques de *Candida* sp. vis-à-vis les extraits testés de *D. sylvestris* subsp. *aristidis*

Extraits Levures	MeOH		EtOAc		n-BuOH	
	ZI (mm)	CMI (µg/mL)	ZI (mm)	CMI (µg/mL)	ZI (mm)	CMI (µg/mL)
<i>C. albicans</i> ATCC 21300	12±0,02	62,5	12±0,25	62,5	12±0,45	62,5
<i>C. albicans</i> 01	14±0,00	31,25	13±0,26	62,5	10±0,68	62,5
<i>C. albicans</i> 02	12±1,23	62,5	12±0,39	125	12±0,14	31,25
<i>C. albicans</i> 03	12±1,20	62,5	12±0,56	250	12±0,26	125
<i>C. albicans</i> 04	12±0,12	62,5	12±1,26	62,5	10±1,26	62,5
<i>C. albicans</i> 05	12±1,85	31,25	12±1,28	125	12±0,98	62,5
<i>C. albicans</i> 06	13±0,09	31,25	14±0,42	62,5	13±0,00	31,25
<i>C. albicans</i> 07	13±2,01	62,5	14±0,41	62,5	13±0,16	62,5
<i>C. albicans</i> 08	12±0,56	62,5	11±2,05	125	10±0,23	1000
<i>C. albicans</i> 09	13±0,78	62,5	12±0,36	125	13±0,12	62,5
<i>C. albicans</i> 10	R	R	R	R	R	R
<i>C. parapsilosis</i>	R	R	R	R	R	R
<i>C. dubliniensis</i>	R	R	R	R	R	R
<i>C. guilliermondii</i>	R	R	R	R	R	R

R : résistante

S : sensible



Figure 23: Effet des extraits MeOH, EtOAc et n-BuOH sur *C. albicans* 01



Figure 24: Effet de l'extrait MeOH sur *C. albicans* 04

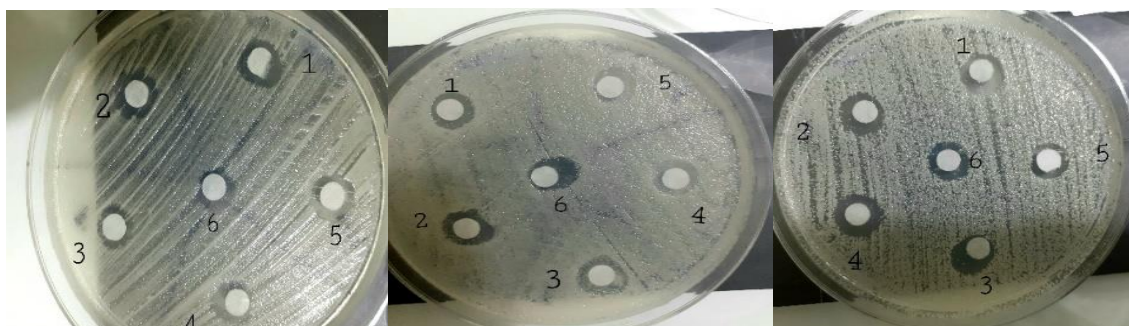


Figure 25: Effet de l'extrait EtOAc sur *C. albicans* 09, *C. albicans* 05 et *C. albicans* 07
1: 1000 μ g/mL; **2:** 500 μ g/mL; **3:** 250 μ g/mL; **4:** 125 μ g/mL; **5:** 62, 5 μ g/mL; **6:** 31, 25 μ g/mL.

b. Souches d'*Aspergillus niger*

Les pourcentages d'inhibition de la croissance des différentes souches fongiques d'*A. niger* vis-à-vis des trois extraits testés: MeOH, EtOAc et n-BuOH sont présentés dans le Tableau 10.

L'extrait MeOH a montré une excellente activité contre les souches d'*A. niger* 01 (Figure26), 02 (Figure27), 03 et 04 avec des pourcentages d'inhibition de la croissance allant de 70% à 100%. Une activité modérée a été observée contre *A. niger* 06 et 07, avec des pourcentages d'inhibition de la croissance de 50 et 55%, respectivement. En ce qui concerne les

souches *A. niger* 05 et 10, une activité faible a été observée, où les pourcentages d'inhibition de la croissance sont de 30%. *A. niger* 08 et 09 se sont révélés résistants à cet extrait.

L'extrait EtOAc a également montré une excellente activité contre *A. niger* 01 (Figure 26), 02 (Figure 27), 03, 05, 06, 07 et 09, avec des pourcentages d'inhibition de la croissance allant de 80% à 100%. Une faible activité a été observée contre *A. niger* 04 et 08, où les pourcentages d'inhibition de la croissance ont été de 20% et 30%, respectivement, tandis que *A. niger* 10 était résistant à cet extrait.

L'extrait n-BuOH a montré une excellente activité contre *A. niger* 01 (Figure 26), 02 (Figure 27), 03, 05, et 07, avec des pourcentages d'inhibition de la croissance allant de 75% à 100%. Une activité modérée a été observée contre *A. niger* 06, avec un pourcentage d'inhibition de la croissance égale à 60%. Une faible activité a été observée contre *A. niger* 04 et 08 avec des pourcentages d'inhibition de la croissance de 15 et 35%, respectivement. *A. niger* 09 et 10 se sont révélés résistants à cet extrait.

Il existe peu d'informations spécifiques concernant l'activité antifongique du genre *Dianthus* contre *A. niger*. Une étude basée sur l'utilisation de l'extrait éthanolique de *D. coryophyllum* a montré une activité antifongique contre *A. niger* avec un diamètre de zone d'inhibition de 22 mm (Ertürk, 2006).

Tableau 10: Pourcentage d'inhibition (%) de la croissance d'*Aspergillus niger* vis-à-vis des extraits testés de *D. sylvestris* subsp. *aristidis*.

Extractions Moisissures	MeOH		EtOAc		n-BuOH	
	Concentration	% inhibition	Concentration	% inhibition	Concentration	% inhibition
<i>A. niger</i> 01	500	90 ^{oooo}	31.25	100 ^{oooo}	31,25	95 ^{oooo}
<i>A. niger</i> 02	250	100 ^{oooo}	1000	80 ^{oooo}	31,25	95 ^{oooo}
<i>A. niger</i> 03	31,25	100 ^{oooo}	62,5	100 ^{oooo}	62,5	75 ^{oooo}
<i>A. niger</i> 04	1000	70 ^{oooo}	1000	20 ^o	1000	15 ^o
<i>A. niger</i> 05	1000	30 ^o	32,5	80 ^{oooo}	250	80 ^{oooo}
<i>A. niger</i> 06	250	55 ^{oo}	250	90 ^{oooo}	500	60 ^{ooo}
<i>A. niger</i> 07	250	50 ^{oo}	500	90 ^{oooo}	62,5	75 ^{oooo}
<i>A. niger</i> 08	NA	NA	62,5	30 ^o	31,25	35 ^o
<i>A. niger</i> 09	NA	NA	250	80 ^{oooo}	NA	NA
<i>A. niger</i> 10	1000	30 ^o	NA	NA	NA	NA

NA : non activité

o : faible activité

oo : activité modérée

ooo : bonne activité

oooo : excellente activité

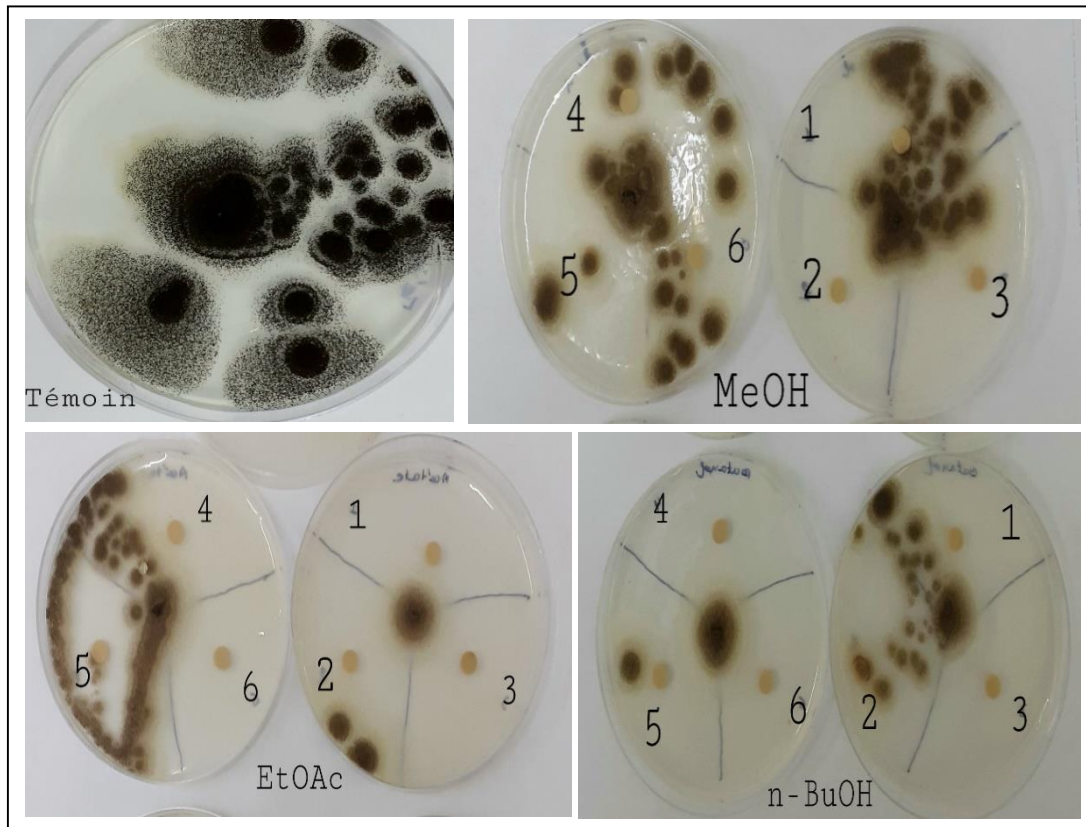


Figure 26: Effet des extraits MeOH, EtOAc et n-BuOH sur *A. niger* 01

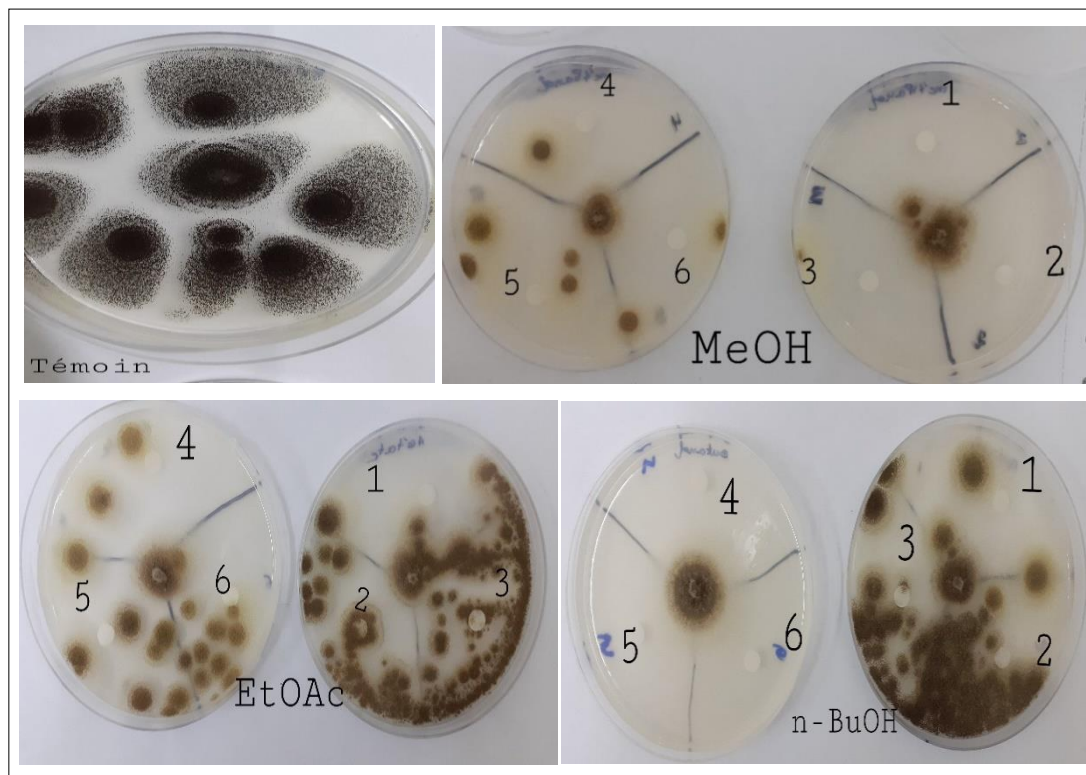


Figure 27: Effet des extraits MeOH, EtOAc et n-BuOH sur *A. niger* 02

1: 1000µg/mL ; **2:** 500µg/mL ; **3:** 250µg/mL ; **4:** 125µg/mL ; **5:** 62,5µg/mL ; **6:** 31,25µg/mL.

Nos résultats peuvent être expliqués par les différences anatomiques, structurelles et métaboliques entre les bactéries à Gram + et à Gram -, ainsi qu'entre les isolats fongiques qui jouent un rôle crucial dans leur sensibilité à divers agents antimicrobiens (Ashafa et Umebese, 2012).

Les bactéries à Gram + sont généralement plus sensibles aux agents antimicrobiens en raison de leur paroi cellulaire composée d'une couche épaisse de peptidoglycane. Cette structure les rend vulnérables aux antibiotiques ciblant la synthèse du peptidoglycane, comme les β-lactamines (Nostro *et al.*, 2000 ; Sharma *et al.*, 2009). En revanche, les bactéries à Gram - possèdent une paroi cellulaire plus complexe, avec une fine couche de peptidoglycane et une membrane externe contenant des lipopolysaccharides (LPS), ce qui leur confère une résistance accrue à certains antimicrobiens (Abirami *et al.*, 2012).

Il est important de noter que la sensibilité des bactéries aux agents antimicrobiens peut varier au sein du même groupe (Gram + ou Gram -) et même au sein de la même espèce, en raison de facteurs génétiques (présence de gènes de résistance spécifiques, capacité à développer une résistance par mutation ou acquisition de gènes de résistance provenant d'autres bactéries) et environnementaux (pH, température et disponibilité des nutriments) (Woods *et al.*, 2021 ; Saleem *et al.*, 2019). De plus, le mécanisme d'action spécifique de l'agent antimicrobien joue un rôle significatif dans l'efficacité du traitement (Sass, 2017).

Les composés phytochimiques en particulier les composés phénoliques présents dans la plante *D. sylvestris* subsp. *aristidis* (Tableau 5) comme l'acide coumarique et l'acide benzoïque, constituent des agents de lutte chimique contre les pathogènes tels que les bactéries et les champignons (Kamelé *et al.*, 2019). Ces composés peuvent cibler les protéines bactériennes, perturber les polysaccharides, affecter la perméabilité de la membrane ou inhiber les pompes d'efflux, conduisant à la mort cellulaire (Mostafa *et al.*, 2018). De plus, certains polyphénols et flavonoïdes peuvent inhiber la formation de biofilms, ce qui est crucial pour prévenir les infections persistantes (Slobodníková *et al.*, 2016). A titre d'exemple, l'hespéretine est confirmée pour sa capacité d'inhiber la formation du biofilm chez *C. albicans*. Rauha *et al.* (2000) ont rapporté que *S. aureus* et *B. subtilis* étaient sensibles au quercétine, tandis que Rigano *et al.* (2007) ont rapporté que *P. aeruginosa* et *P. vulgaris* étaient sensibles au naringénine. La vanilline, détectée dans les extraits de notre plante, exercent des effets directs contre des bactéries à Gram + et à Gram - par inhibition de leur croissance, de la formation des biofilms et du quorum sensing (Maisch *et al.*, 2022).

Des études ont montré que l'association de polyphénols avec des antibiotiques et antifongiques peut avoir un effet synergique, offrant une alternative prometteuse pour les stratégies thérapeutiques contre la résistance aux antibiotiques (Manso *et al.*, 2021). Cependant, la variation de la composition phytochimique, dont l'efficacité optimale d'un extrait ne peut pas être due à un constituant actif principal mais à l'action combinée de différents composés (Essawi et Srour, 2000), ainsi que les solvants utilisés pour la préparation des dilutions, peuvent influencer l'activité antimicrobienne des extraits végétaux (Balouiri *et al.*, 2016). En effet, les composés les moins polaires n'ayant pas de groupements hydroxyles (OH) sont plus actifs vis-à-vis des microorganismes par rapport à ceux portant des groupements hydroxyles (Fertout-Mouri *et al.*, 2016). De plus, l'ajout du DMSO à un extrait végétal peut diminuer son activité antimicrobienne (Ciobanu *et al.*, 2012).

4.2.4. Evaluation statistique de l'efficacité des extraits testés

L'efficacité des différents extraits (MeOH, EtOAc et n-BuOH) sur les différentes souches microbiennes testées (bactéries, moisissures et levures) a été comparée en appliquant une analyse de la variance à un facteur (ANOVA) sur les données des tableaux 7,8,9 et 10 avec $p < 0,05$.

Les résultats obtenus (Annexe 1) montrent qu'il n'existe pas une différence significative entre les trois extraits sur le plan efficacité avec des valeurs de $P > 0,05$ (0,6099 ; 0,6134 ; 0,4904 et 0,617 pour bactéries à Gram +, bactéries à Gram -, levures et moisissures, respectivement)

Globalement les différents extraits agissent approximativement sur le même nombre de souches testées. Cependant, chaque extrait agit sur un groupe de souches différents des deux autres extraits.

La Classification Ascendante Hiérarchique (CAAH, Cluster) effectuée par le logiciel OriginPro v.2021, appliquée sur les données des tableaux 7,8,9 et 10 incluant le diamètre de la zone d'inhibition (ZI) et la concentration minimale inhibitrice (CMI) a permis de regrouper les souches testées en fonction de leur niveau de sensibilité aux trois extraits étudiés.

Selon les résultats représentés dans la figure 28, il s'est avéré qu'il existe des souches conservant leur profil de sensibilité/résistance quel que soit l'extrait utilisé. D'ailleurs, la totalité des souches de *K. oxytoca*, *K. ozonae* et *P. vulgaris* se sont révélées résistantes aux trois extraits, alors qu'entre 40 à 60% des souches de *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae* et *P. mirabilis* se sont révélées sensibles aux trois extraits (Figure 29).

Résultats et discussion

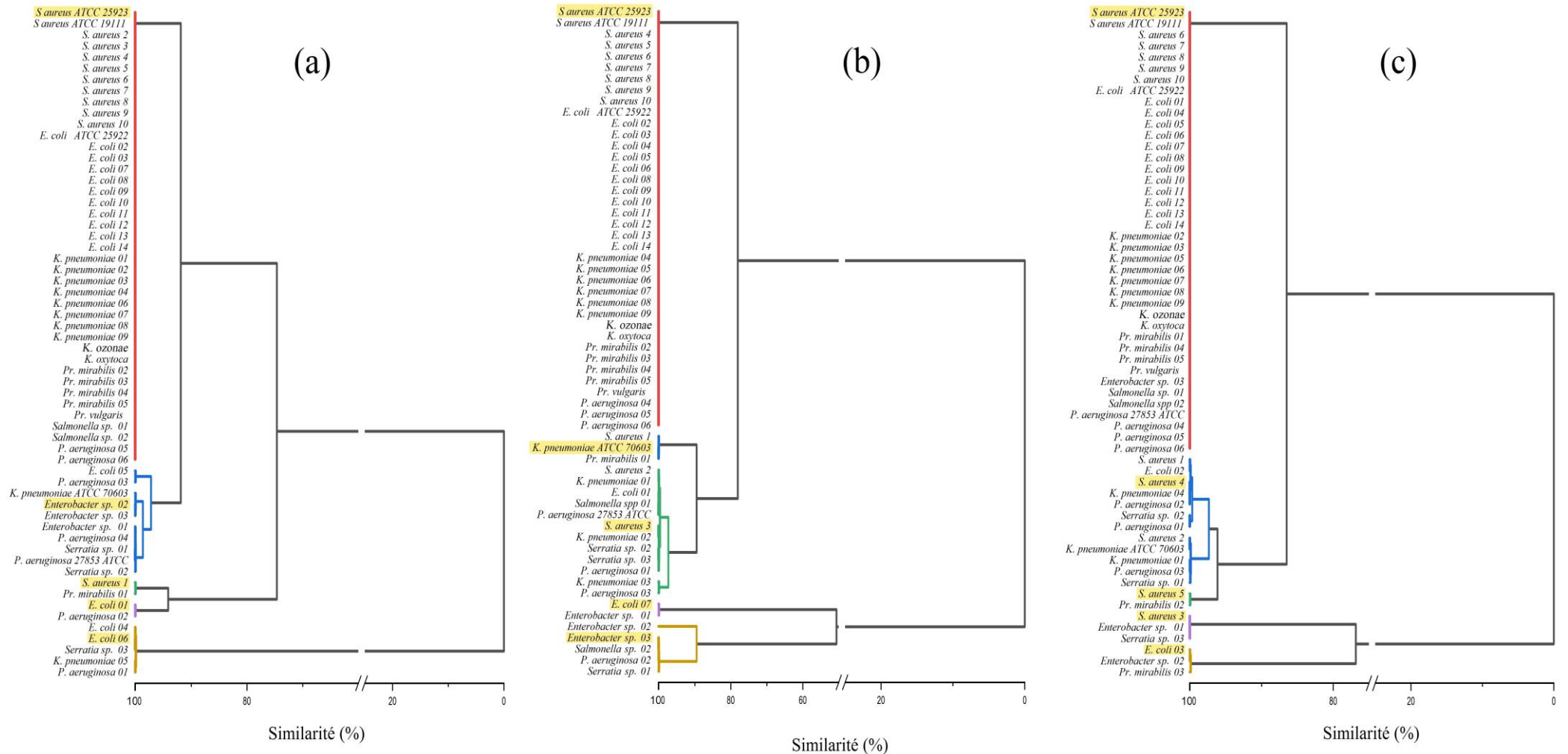


Figure 28: Classification ascendante hiérarchique des souches bactériennes G+ et G- testées en fonction de leur sensibilité aux extraits étudiés

(a): n-BuOH, (b) : EtOAc, (c): MeOH

Les souches surlignées en jaune sont représentatives d'un cluster

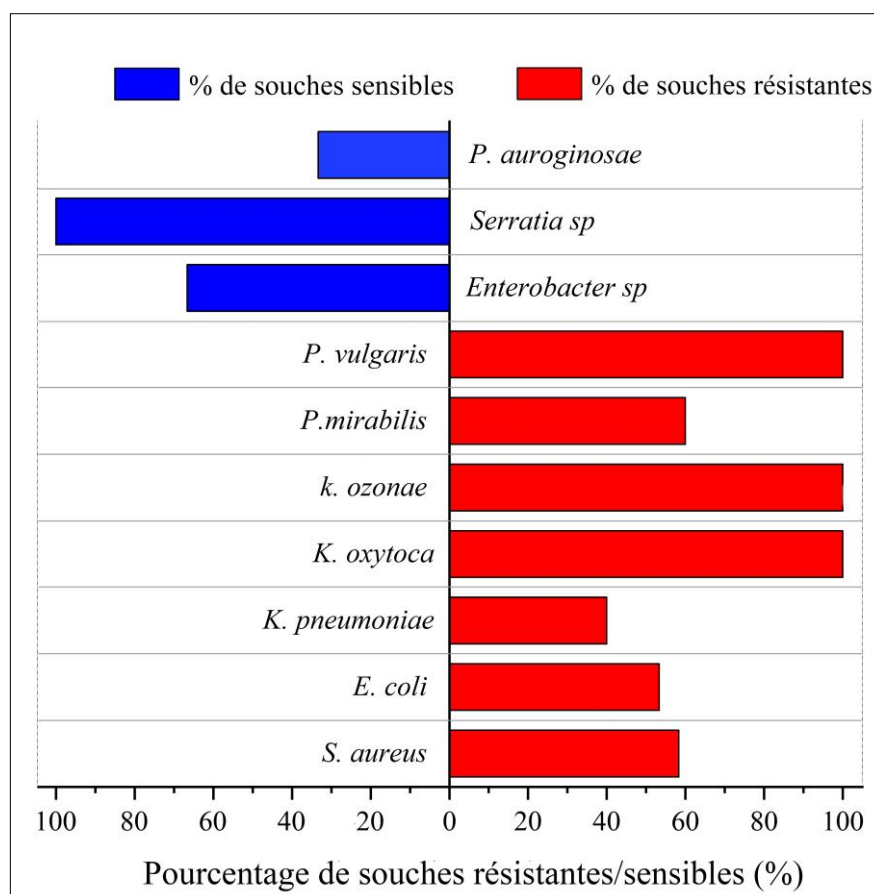


Figure 29: Pourcentage de souches sensibles/résistantes appartenant à une seule espèce et cela quel que soit l'extrait utilisé

En ce qui concerne la sensibilité des levures aux trois extraits, les résultats de la CAAH représentés dans la figure 30 indiquent que 71,42% des souches testées se sont avérées sensibles aux trois extraits, alors que les souches *C. albicans*¹⁰, *C. parapsilosis*, *C. dubliniensis* et *C. guilliermondii* se sont révélées résistantes.

Cependant, l'application de la CAAH sur les données des levures incluant le diamètre de la zone d'inhibition (ZI) et la concentration minimale inhibitrice (CMI) a permis de distinguer des groupes différents malgré leur profil de sensibilité identique.

Résultats et discussion

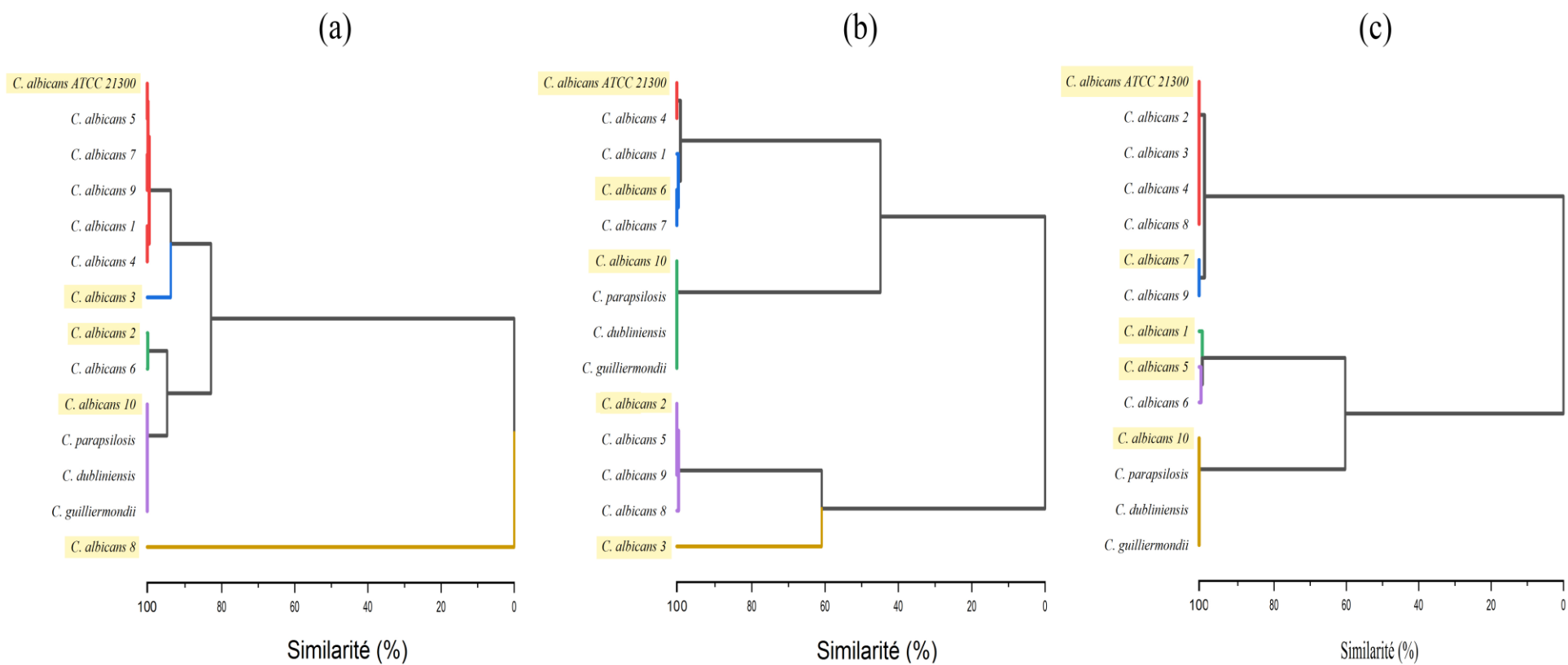


Figure 30: Classification ascendante hiérarchique des levures testées en fonction de leur sensibilité aux extraits étudiés (a): n-BuOH, (b) : EtOAc, (c): MeOH

Les souches surlignées en jaune sont représentatives d'un cluster

Les résultats de la classification CAAH par rapport à la sensibilité des moisissures aux trois extraits (Figure 31) indiquent que les extraits EtOAc et n-BuOH ont montré une excellente activité vis-à-vis de 60 % à 70% des souches d'*A. niger* testées, tandis que l'activité de l'extrait de MeOH s'est limité à 30 % des souches.

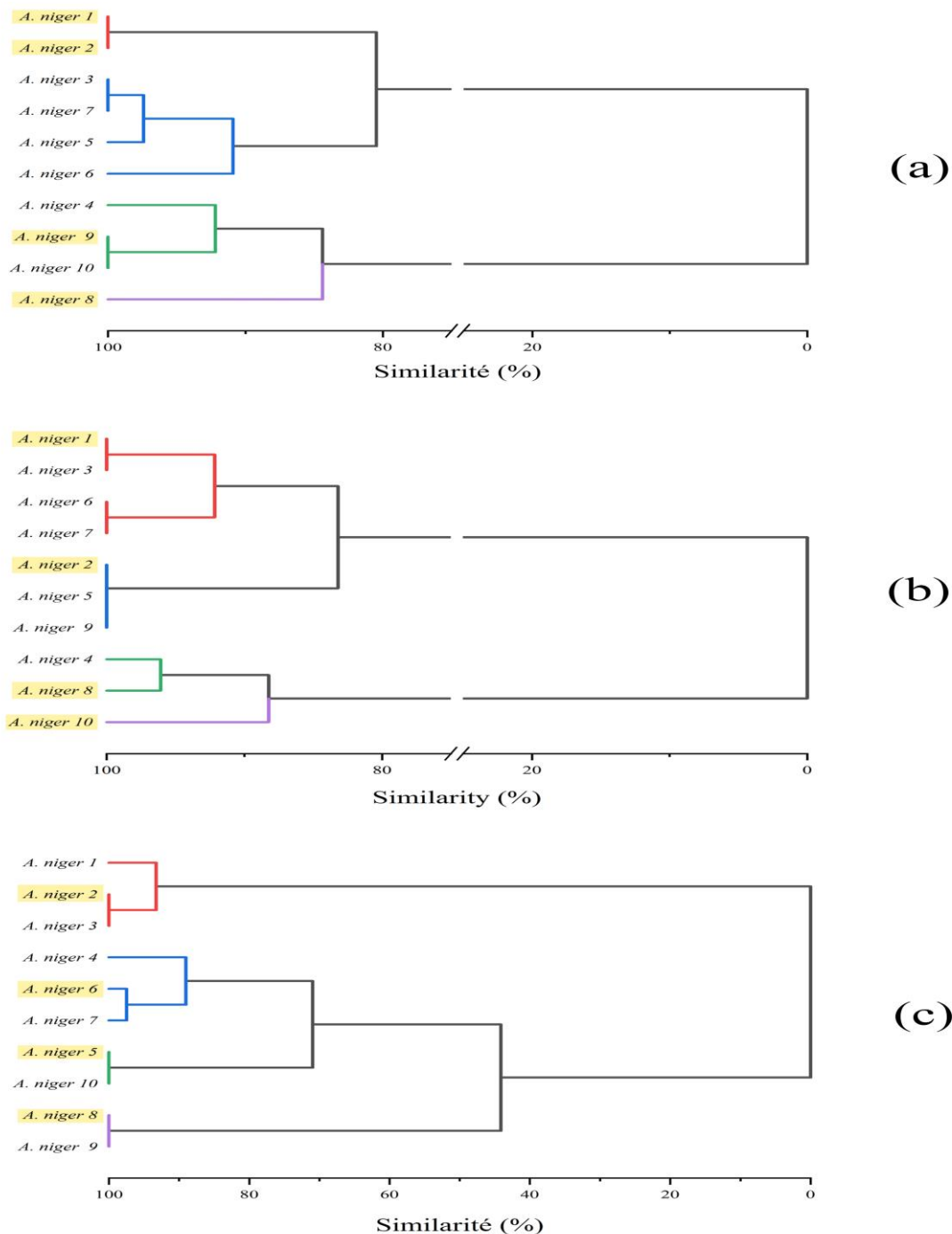


Figure 31: Classification ascendante hiérarchique des souches fongiques (*A. niger*) testées en fonction de leur sensibilité aux extraits étudiés (a): n-BuOH, (b) : EtOAc, (c): MeOH

Les souches surlignées en jaune sont représentatives d'un cluster.

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

Dans notre étude, l'activité antioxydante de différents extraits a été déterminée en utilisant cinq tests différents, à savoir le piégeage du radical DPPH, le radical cationique ABTS, la phénantroline, le pouvoir réducteur FRAP et les nanoparticules d'argent SNP. Sachant que la différence entre ces tests réside dans le mode d'action et le mécanisme de réaction, deux mécanismes sont disponibles pour l'action des antioxydants: le transfert d'atome d'hydrogène (HAT) et le transfert d'électron unique (SET) (Srief *et al.*, 2023). Les résultats des activités antioxydantes sont présentés dans la Figure 32 et le Tableau 11 et, exprimés en termes de IC_{50} et $A_{0,5}$ et comparés aux antioxydants standards (BHT, BHA, Trolox et l'acide ascorbique).

La méthode de piégeage du radical DPPH montre que les extraits EtOAc et n-BuOH ont présenté une faible activité antioxydante (IC_{50} : $290,39 \pm 2,90$ $\mu\text{g/mL}$ et IC_{50} : $291,45 \pm 0,22$ $\mu\text{g/mL}$, respectivement) comparée aux standards, tandis que l'extrait MeOH n'a montré aucune activité antioxydante à 800 $\mu\text{g/mL}$.

L'analyse des données du test ABTS montre que les extraits EtOAc et n-BuOH se sont avérés d'une bonne activité antioxydante (IC_{50} : $69,26 \pm 0,56$ $\mu\text{g/mL}$ et IC_{50} : $89,59 \pm 0,08$ $\mu\text{g/mL}$, respectivement) comparée aux standards. De plus, l'extrait MeOH est caractérisé par une faible activité (IC_{50} : $479,20 \pm 0,69$ $\mu\text{g/mL}$). Les résultats des tests de piégeage du radical DPPH et ABTS des extraits MeOH, EtOAc et n-BuOH de *D. superbis* L enregistrés par Kim *et al.* (2019) (IC_{50} : $54,3$ $\mu\text{g/mL}$, $47,1$ $\mu\text{g/mL}$ et $42,4$ $\mu\text{g/mL}$) et (IC_{50} : $5,20$ $\mu\text{g/mL}$, $4,99$ $\mu\text{g/mL}$ et $5,02$ $\mu\text{g/mL}$) respectivement, se sont révélés être plus élevés que les valeurs rapportées dans la présente étude.

En revanche, les résultats du test de la phénantroline ont montré que l'extrait n-BuOH présentait la plus forte activité antioxydante ($A_{0,5}$: $17,75 \pm 0,72$ $\mu\text{g/mL}$), qui n'est pas très éloignée de l'activité de l'acide ascorbique ($A_{0,5}$: $8,30 \pm 0,76$ $\mu\text{g/mL}$), suivi par l'extrait EtOAc ($A_{0,5}$: $21,02 \pm 0,43$ $\mu\text{g/mL}$); l'extrait MeOH a cependant montré une activité modérée ($A_{0,5}$: $113,04 \pm 0,83$ $\mu\text{g/mL}$).

De plus, les résultats du test du pouvoir réducteur ont montré que l'extrait EtOAc présentait une activité modérée ($A_{0,5}$: $117,97 \pm 1,65$ $\mu\text{g/mL}$), suivi par l'extrait n-BuOH ($A_{0,5}$: $167,92 \pm 1,59$ $\mu\text{g/mL}$), qui est plus élevée que l'activité du standard BHT (pas d'activité à >200 $\mu\text{g/mL}$) et inférieure à l'activité des autres standards. L'extrait MeOH, cependant, n'a montré aucune activité. Les résultats obtenus du test du pouvoir réducteur des extraits EtOAc et n-BuOH sont meilleurs que l'extrait aqueux de *D. carmelitarum* ($A_{0,5}$: $238 \pm 2,89$ $\mu\text{M TE/g}$) (Aliyazıcıoğlu *et al.*, 2017).

En ce qui concerne le test des nanoparticules d'argent, une activité antioxydante modérée a été trouvée avec l'extrait EtOAc ($A_{0,5}$: $195,43 \pm 1,73 \mu\text{g/mL}$), qui est plus puissant que le BHT, l'acide ascorbique (pas d'activité à $>200 \mu\text{g/mL}$) et les autres extraits; les extraits MeOH et n-BuOH n'ont montré aucune activité à $>400 \mu\text{g/mL}$.

L'évaluation de l'activité antioxydante a montré que les extraits EtOAc et n-BuOH étaient les plus actifs (Tableau 11) sans différence significative dans l'activité DPPH et avec une différence significative dans les activités ABTS, Phénanthroline et FRAP. Cela peut être dû au nombre et au type de molécules bioactives bien connues pour leurs activités antioxydantes et biologiques telles que: l'acide p-coumarique (acide 4-hydroxy-cinnamique) (Shen *et al.*, 2019), l'acide chlorogénique (Wang *et al.*, 2022), le kaempférol (Jakimiuk *et al.*, 2022), la quercétine, la naringénine (Nishimura *et al.*, 2013) et l'acide ascorbique (Gęgotek et Skrzydlewska, 2022) détectés et identifiés par l'analyse LC-ESI-MS/MS comme indiqué précédemment dans le Tableau 5 ou grâce à leur effet de synergie, en plus de la sensibilité et du mode d'action des réactifs utilisés.

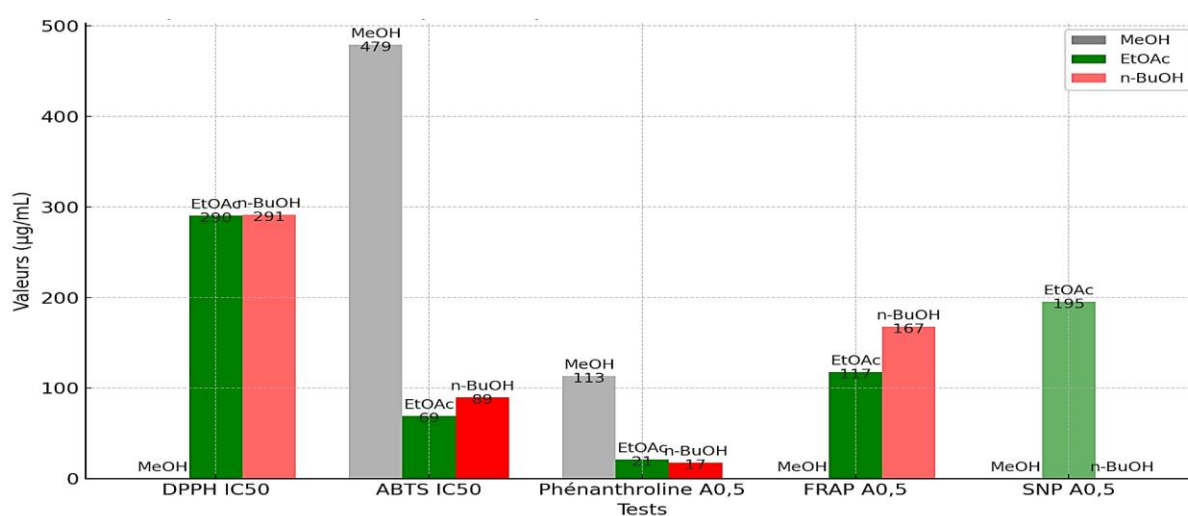


Figure 32: Activité antioxydante des différents extraits de *D. sylvestris subsp. aristidis*

Tableau 11: Activité antioxydante des différents extraits de *D. sylvestris* subsp. *aristidis*

Extraits	Test DPPH IC ₅₀ (µg/mL)	Test ABTS IC ₅₀ (µg/mL)	Test de phénantroline A _{0,5} (µg/mL)	Test de pouvoir réducteur A _{0,5} (µg/mL)	Test SNP A _{0,5} (µg/mL)
MeOH	> 800	479,20 ± 0,69 ^a	113,04 ± 0,83 ^a	NA	> 400
EtOAc	290,39 ± 2,90 ^a	69,26 ± 0,56 ^c	21,02 ± 0,43 ^b	117,97 ± 1,65 ^b	195,43 ± 1,73 ^a
n-BuOH	291,45 ± 0,22 ^a	89,59 ± 0,08 ^b	17,75 ± 0,72 ^c	167,92 ± 1,59 ^a	> 400
BHA	6,14 ± 0,41 ^c	1,81 ± 0,10 ^e	0,93 ± 0,07 ^g	9,29 ± 0,22 ^c	73,47 ± 0,88 ^b
BHT	12,99 ± 0,41 ^b	1,29 ± 0,30 ^e	2,24 ± 0,17 ^f	> 200	> 200
Trolox	5,12 ± 0,21 ^c	3,21 ± 0,06 ^d	5,21 ± 0,27 ^e	5,25 ± 0,20 ^d	34,17 ± 1,23 ^c
Acide ascorbique	4,39 ± 0,01 ^d	3,04 ± 0,05 ^d	8,30 ± 0,76 ^d	3,62 ± 0,29 ^d	> 200

IC₅₀ et A_{0,5} représentent les moyennes ± écart-type de trois mesures parallèles, calculées par analyse de régression linéaire. Les valeurs avec différentes lettres en exposant (a, b, c, d, e, f et g) dans les mêmes colonnes sont significativement différentes (p < 0,05).

BHA : butylhydroxyanisole. BHT : butylhydroxytoluène. NA : non activité.

4.4. Activités enzymatiques

À notre connaissance et d'après la littérature, il n'existe pas de travaux ayant évalué les activités inhibitrices des enzymes de *D. sylvestris* subsp. *aristidis*.

4.4.1. Evaluation de l'activité inhibitrice de l'alpha-amylase

Les résultats concernant l'inhibition de l'enzyme α -amylase sont représentés dans le Tableau 12, exprimés en termes d'IC₅₀ et comparés à l'acarbose standard. L'extrait n-BuOH avec (IC₅₀ de 307,08 ± 1,13 µg/mL) était meilleur que l'extrait EtOAc qui n'était pas actif à la concentration de 400 µg/mL et n'a pas atteint 50 % d'inhibition de l'enzyme. Quant à l'extrait MeOH, il n'a montré aucun effet inhibiteur de l' α -amylase. L'extrait n-BuOH avec (IC₅₀ de 307,08 ± 1,13 µg/mL) était plus puissant que le standard acarbose (IC₅₀ = 3650,93 ± 10,70 µg/mL) et moins que l'extrait éthanolique de *D. basuticus* qui a montré une inhibition significativement plus élevée (p < 0,05) de l' α -amylase avec IC₅₀ = 34,02 mg/mL, (Kazeem et Ashafa, 2015).

L'acarbose est un médicament largement utilisé en tant qu'inhibiteur de l'enzyme α -amylase. Cependant, son utilisation est associée à des effets indésirables tels que la diarrhée, les hernies et les ulcérations (Nair *et al.*, 2013). Une stratégie thérapeutique moderne visant à

traiter le diabète de type 2 en minimisant les effets indésirables des médicaments synthétiques a été explorée, basée sur l'inhibition des enzymes métaboliques. Les plantes sont capables d'inhiber l' α -amylase, ce qui limite la décomposition des glucides complexes et leur absorption et réduit les niveaux postprandiaux du glucose dans le sang (Wresdiyati *et al.*, 2015). De plus, certains minéraux présents dans ces plantes peuvent renforcer l'action de l'insuline (Bljajić *et al.*, 2021). Cette étude a démontré que l'extrait n-BuOH de *D. sylvestris* subsp. *aristidis* a un potentiel anti-diabétique *in vitro* notable par rapport au standard acarbose, en inhibant l'enzyme α -amylase. Ceci peut être dû aux composés phénoliques, flavonoïdes et tanins connus pour leur activité anti-diabétique, tels que la naringine (Rasouli *et al.*, 2017a), l'hespéridine et le kaempférol (Aryaeian *et al.*, 2017) signalés dans le profil phytochimique de cet extrait (Bouzana *et al.*, 2023). L'acide cafeique, la catéchine, la silibinine et la pélargonidine, absents ou non détectés dans l'extrait n-BuOH vu le manque de composés standards, sont connus comme étant de puissants inhibiteurs de l' α -amylase (Aryaeian *et al.*, 2017).

Tableau 12: Activité inhibitrice de l'enzyme α -amylase de différents extraits de *D. sylvestris* subsp. *aristidis*

Extraits	% d'inhibition de l' α -amylase							
	6,25 μ g	12,5 μ g	25 μ g	50 μ g	100 μ g	200 μ g	400 μ g	IC ₅₀ (μ g/ml)
MeOH	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
EtOAc	NA	NA	NA	NA	NA	24,40 \pm 0,36	30,24 \pm 1,74	>400
n-BuOH	NA	14,27 \pm 1,04	16,27 \pm 2,87	28,36 \pm 0,78	40,75 \pm 0,79	48,64 \pm 0,42	53,19 \pm 0,04	307,08 \pm 1,13 ^b
	62,5 μ g	125 μ g	250 μ g	500 μ g	1000 μ g	2000 μ g	4000 μ g	IC ₅₀ (μ g/ml)
Acarbose	7,76 \pm 0,17	8,08 \pm 0,30	9,46 \pm 0,11	10,70 \pm 0,96	31,81 \pm 2,89	37,21 \pm 3,54	53,05 \pm 1,59	3650,93 \pm 10,70 ^a

Les valeurs sont exprimées en moyennes \pm écart-type de trois mesures parallèles. NA : non activité.

Les valeurs avec différentes lettres en exposant (a ou b) dans la même colonne sont significativement différentes (P<0,05).

4.4.2. Evaluation de l'activité inhibitrice de l'uréase

L'activité inhibitrice de l'enzyme uréase des extraits MeOH, EtOAc et n-BuOH a été étudiée et les résultats n'ont révélé aucune inhibition (Tableau 13). Cela pourrait être expliqué

par la faible concentration en composés phénoliques inhibiteurs de l'uréase ou leur absence totale à l'exemple du méthyle gallate et de la stilbénoides, qui ont montré une efficacité inhibitrice dans des travaux antérieurs (Shin *et al.*, 2005 ; Wu *et al.*, 2013).

Tableau 13: Activité inhibitrice de l'enzyme uréase de différents extraits de *D. sylvestris* subsp. *aristidis*

Extraits	IC ₅₀ µg/mL
MeOH	NA
EtOAc	NA
n-BuOH	NA
Thiourea	11,57±0,68

NA: non activité

4.4.3. Evaluation de l'activité inhibitrice de la tyrosinase

L'activité inhibitrice de l'enzyme tyrosinase de divers extraits a été étudiée et les résultats n'ont révélé aucune inhibition de la tyrosinase (Tableau 14). Cela pourrait être expliqué par la faible concentration en composés phénoliques inhibiteurs de la tyrosinase voire leur absence totale à l'exemple des dérivés des flavonoïdes, tels que la myricétine, la morine, l'isorhamnétine, la galangine et leurs glycosides (Kubo et Kinoshita, 1999 ; Huang *et al.*, 2009). D'ailleurs, Uysal *et al.* (2018) ont montré que le rutin présent dans l'extrait méthanolique de *D. calocephalus* Boiss est caractérisé par une activité inhibitrice de la tyrosinase avec IC₅₀ : 34,41 ± 1,11 (mg équivalent acide kojique /g).

Tableau 14: Activité inhibitrice de l'enzyme tyrosinase de différents extraits de *D. sylvestris* subsp. *aristidis*

Extraits	IC ₅₀ µg/mL
MeOH	NA
EtOAc	NA
n-BuOH	NA
Acide kojique	19,43±0,98

NA : non activité.

4.5. Evaluation de l'activité photo-protectrice

Le facteur de protection solaire (SPF) est connu comme le paramètre le plus couramment utilisé pour exprimer la capacité de protection solaire des écrans solaires (Chisvert et Salvador, 2007). Les résultats ont montré que les valeurs de SPF des divers extraits de *D. sylvestris* subsp. *aristidis* variaient de $17,82 \pm 0,45$ à $45,19 \pm 0,73$. Selon les recommandations de la Commission des Communautés européennes (2006) (Tableau 16), l'extrait MeOH appartient à la catégorie de protection moyenne bien que les extraits EtOAc et n-BuOH appartiennent à la catégorie de haute protection (30 – 49,90) la même catégorie que les référence 1 et 2 et peuvent être utilisés dans les formulations d'écrans solaires pour protéger la peau des coups de soleil.

Dans la littérature, les données sur l'activité de photoprotection de cette sous-espèce ne sont pas disponibles. En effet les plantes ont développé divers mécanismes pour éviter les effets nocifs du rayonnement UV, principalement en filtrant les longueurs d'onde UV et en réparant les dommages induits par les UV (Donglikar et Deore, 2017). L'activité photoprotectrice élevée de différents extraits peut s'expliquer par la présence de composés phénoliques. Il a été mentionné que les flavonoïdes riches en groupes hydroxyles et en propriétés antioxydantes sont liés à leur capacité à absorber les rayons ultraviolets longs et moyens (Saewan et Jimtaisong, 2013) et à neutraliser les radicaux libres produits par l'exposition aux UV. En outre, la quercétine, la naringénine, l'apigénine et l'acide caféique assurent une protection solaire élevée sur toute la gamme des longueurs d'onde UV (Stevanato *et al.*, 2014), de même que les caroténoïdes, la vitamine E et la vitamine C qui assurent l'absorption de la lumière ultraviolette et disposent de propriétés de protection solaire (Chisvert et Salvador, 2007 ; Muzaffer *et al.*, 2018).

Tableau 15: Les valeurs de facteur de protection solaire (SPF) des différents extraits de *D. sylvestris* subsp. *aristidis*

Extraits	MeOH	EtOAc	n-BuOH	Référence 1	Référence 2
SPF	$17,82 \pm 0,45^a$	$45,19 \pm 0,73^b$	$43,81 \pm 0,59^b$	$50,11 \pm 0,53^c$	$44,22 \pm 0,35^b$

Valeurs exprimées en moyenne \pm SD (n = 3). Les valeurs suivies de lettres différentes (a-c) sont significativement différentes (p < 0,05).

Tableau 16 : Catégories de protection affichées sur les produits solaires en fonction des facteurs de protection mesurés, selon la Recommandation de la Commission Européenne (2006)

Catégorie indiquée	Facteur de protection indiqué	Facteur de protection solaire mesuré	Facteur de protection UVA minimal recommandé	Longueur d'onde critique minimale recommandée
« Faible protection »	6	6 – 9,9	1/3 du facteur de Protection solaire indiqué sur l'étiquette	370 nm
« Protection moyenne »	10	10 – 14,9		
	15	15 – 19,9		
	20	20 – 24,9		
« Haute » « protection »	25	25 – 29,9		
	30	30 – 49,9		
« Très haute protection »	50	50 – 59,9		
	50+	60 ≤		

La variation dans le contenu total en polyphénols, flavonoïdes, flavonols et les résultats des activités biologiques étudiées entre les espèces du même genre *Dianthus* pourrait être liée à divers facteurs, notamment le potentiel génétique de l'espèce, la localisation géographique, les conditions environnementales, la saison de récolte, les traitements post-récolte, les méthodes d'extraction et la polarité du solvant utilisé (Zahnit *et al.*, 2022).

Conclusion et perspectives

Cette recherche s'inscrit dans le cadre de la valorisation de la flore endémique Algérienne en apportant de nouvelles informations aux données limitées de la sous-espèce *Dianthus sylvestris* subsp. *aristidis* au sein de la famille des Caryophyllaceae.

L'analyse quantitative a montré que l'extrait n-BuOH s'est révélé avoir des teneurs élevées en composés phénoliques et flavonoïdes ($121,45 \pm 1,87$ μg GAE/mg d'extrait et $57,09 \pm 0,14$ μg QE/mg d'extrait, respectivement), tandis que l'extrait EtOAc s'est révélé plus riche en flavonols ($41,90 \pm 0,98$ μg QE/mg d'extrait).

L'analyse qualitative des extraits EtOAc et n-BuOH en utilisant la technique LC-ESI-MS/MS a révélé la présence de 14 composés principalement des polyphénols et flavonoïdes.

L'étude de la cytotoxicité sur *Artemia salina* a permis de conclure que la plante n'est pas toxique.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits MeOH, EtOAc et n-BuOH a révélé un effet antimicrobien inhibiteur intéressant vis-à-vis des souches bactériennes à Gram + et à Gram- testées. Les DI obtenus varient entre 10 à 20 mm, tandis que les CMI varient entre 31, 25 et 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$. De plus, ces mêmes extraits ont montré un effet antifongique important, notamment contre les souches de *C. albicans* avec des DI variant entre 10 et 14 mm et des CMI entre 31, 25 et 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$. En outre, les trois extraits ont montré des pourcentages d'inhibition de la croissance d'*A. niger* allant jusqu'à 100%.

L'évaluation de l'activité antioxydante, *in vitro*, a été évaluée par cinq tests différents; les extraits EtOAc et n-BuOH ont présenté la plus forte activité antioxydante dans le test de la phénanthroline ($A_{0,5}$: $17,75 \pm 0,72$ $\mu\text{g}/\text{mL}$ et $A_{0,5}$: $21,02 \pm 0,43$ $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectivement).

L'extrait n-BuOH a montré un effet inhibiteur de l'alpha-amylase (IC_{50} de $307,08 \pm 1,13$ $\mu\text{g}/\text{mL}$) plus important que celui obtenu avec le standard acarbose. Cependant, les trois extraits n'ont pas montré d'inhibition de la tyrosinase ni de l'uréase.

Les extraits EtOAc et n-BuOH appartiennent à la catégorie de haute protection contre les UV du soleil (30 – 49,90) et peuvent être utilisés dans les formulations des écrans solaires pour protéger la peau des coups de soleil.

Par leurs propriétés antibactérienne, antifongique, antioxydante, enzymatique et photoprotectrice, les feuilles de la plante endémique *Dianthus sylvestris* subsp. *aristidis* peuvent avoir une incidence sur la conservation des produits, en particulier cosmétiques, alimentaires ou pharmaceutiques surtout que les trois extraits n'ont montré aucun effet cytotoxique.

Les résultats de cette étude nécessitent d'être approfondis et les perspectives qui en résultent sont:

- Préservation de cette sous espèce endémique rare par l'optimisation de sa culture à grande échelle.
- Isolement, purification et identification des composés actifs des différents extraits, ainsi que la détermination de leurs modes d'action vis-à-vis des activités pharmacologiques.
- Exploration des techniques d'encapsulation pour améliorer la stabilité des composés actifs, prévenir leur dégradation et ouvrir de nouvelles voies d'administration.
- Etude d'autres activités biologiques telles que l'activité antivirale, anticancéreuse, anti-inflammatoire et inhibitrice d'enzymes comme de l'alpha glucosidase.
- Etude des activités biologiques de la plante, *in vivo*, pour valider les résultats obtenus, *in vitro*.
- Application dans l'industrie parapharmaceutique en élaborant des produits de soins de la peau et en agroalimentaire comme complément alimentaire.

Références bibliographiques

« A »

- Abd-Ellatif, S., Abdel Rahman, S. M., & Deraz, S. F. (2011). Promising antifungal effect of some folkloric medicinal plants collected from El-Hammam habitat, Egypt against dangerous pathogenic and toxinogenic fungi. *ARPJ Journal of Agricultural and Biological Science*, 6(9), 26-32.
- Abirami, P., Gomathinayagam, M., & Panneerselvam, R. (2012). Preliminary study on the antimicrobial activity of *Enicostemma littorale* using different solvents. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 5(7), 552-555.
- Akinrinde, A. S., Afolayan, A. J., & Bradley, G. (2018). Phytochemical composition and antioxidant activities of *Dianthus Thunbergii* hooper and *Hypoxis Argentea* harv ex baker : Plants used for the management of diabetes mellitus in Eastern Cape, South Africa. *Pharmacognosy magazine*, 14(54), 195.
- Al Jitan, S., Alkhoori, S. A., & Yousef, L. F. (2018). Phenolic acids from plants: Extraction and application to human health. *Studies in natural products chemistry*, 58, 389-417.
- Aliyazıcıoğlu, R., Demir, S., Badem, M., Şener, S. Ö., Korkmaz, N., Demir, E. A., Özgen, U., Karaoğlu, Ş. A., & Aliyazıcıoğlu, Y. (2017). Antioxidant, antigenotoxic, antimicrobial activities and phytochemical analysis of *Dianthus carmelitarum*. *Records of Natural Products*, 11(3), 270-284
- Al-Snafi, A. E. (2017). Chemical contents and medical importance of *Dianthus caryophyllus*- A review. *IOSR Journal of Pharmacy*, 7(3), 61-71.
- Anderson, J. E., Goetz, C. M., McLaughlin, J. L., & Suffness, M. (1991). A blind comparison of simple bench-top bioassays and human tumour cell cytotoxicities as antitumor prescreens. *Phytochemical Analysis*, 2(3), 107-111.
- Angiosperm Phylogeny Group, Chase, M. W., Christenhusz, M. J., Fay, M. F., Byng, J. W., Judd, W. S., ... & Stevens, P. F. (2016). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical journal of the Linnean Society*, 181(1), 1-20.

Références bibliographiques

- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., & Karademir, S. E. (2004). Novel Total Antioxidant Capacity Index for Dietary Polyphenols and Vitamins C and E, Using Their Cupric Ion Reducing Capability in the Presence of Neocuproine: CUPRAC Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 7970–7981.
- Aryaeian, N., Sedehi, S. K., & Arablou, T. (2017). Polyphenols and their effects on diabetes management: A review. *Medical journal of the Islamic Republic of Iran*, 31, 134.
- Ashafa, A. O. T., & Umebese, C. E. (2012). Phytochemical screening, antibacterial and antifungal activity of *Garuleum woodii Schinz.* Root extracts against human pathogenic microbes. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6:5513-5518.
- Asselineau, J., Zalta, J.-P., & Boissier, J. R. (1973). Les antibiotiques : Structure et exemples de mode d'action.
- Atik, F., & Mohammedi, Z. (2011). Impact of solvent extraction type on total polyphenols content and biological activity from *Tamarix aphylla* (L.) Karst. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2(1), 609-615.
- « B »**
- Bacchetta, G., Brullo, S., Casti, M., & Pietro Giusso Del Galdo, G. (2010). Taxonomic revision of the *Dianthus sylvestris* group (Caryophyllaceae) in central-southern Italy, Sicily and Sardinia. *Nordic Journal of Botany*, 28(2), 137-173.
- 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.
- Bari, A., Ghani, U., & Syed, S. A. (2021). Thiosemicarbazide binds with the dicopper center in the competitive inhibition of mushroom tyrosinase enzyme : Synthesis and molecular modeling of theophylline analogues. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 36, 127826.
- Batool, K., Sultana, S., Akhtar, N., Muhammad, H., & Naheed, A. (2018). Medicinal plants combating against human pathogens : A review. *international journal of biotechnology and food science*, 6(3), 42-51.
- Battandier, J. A., & Trabut, L. (1888). *Flore de l'Algérie [...] Dicotylédones.*

Références bibliographiques

- Baudin, B. (2020). Stress oxydant et protections antioxydantes. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2020(522), 22-30.
- Becheker, I., Becheker, A., Melakhessou, M. A., Marref, S. E., Berredjem, H. 2022. Antibacterial, Antifungal, Cytotoxic and Genotoxic Activities of Different Extracts of Arabic and Myrrh Gums. *Journal of Pharmaceutical Research International*, **12(1)**: 20–27.
- Beckman, C. H. (2000). Phenolic-storing cells : Keys to programmed cell death and periderm formation in wilt disease resistance and in general defence responses in plants? *Physiological and molecular plant pathology*, 57(3), 101-110.
- Benjamin L. Hlina, Wilfrid Laurier University, Waterloo, Ontario, Canada. Written in ‘Programming Language R’, version 3.4.3 (2017-11-30) – “Kite-Eating Tree”. Run on a PC with Intel(R) Core(TM) I7- Q820 CPU, 1.73 GHz processor, 14.0 GB RAM, and Microsoft Windows 7 Professional operating system, 2009 Service Pack 1.
- Biabiany, M. (2011). Recherche et développement d’extraits antifongiques issus de la flore guadeloupéenne : Caractérisations phytochimiques, pharmacologiques et formulation [PhD Thesis, Lille 2].
- Blair, J. M., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O., & Piddock, L. J. (2015). Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature reviews microbiology*, 13(1), 42-51.
- Bljajić, K., Brajković, A., Čačić, A., Vujić, L., Jablan, J., Saraiva de Carvalho, I., & Zovko Končić, M. (2021). Chemical composition, antioxidant, and α -glucosidase-inhibiting activity of aqueous and hydroethanolic extracts of traditional antidiabetics from Croatian ethnomedicine. *Horticulturae*, 7(2), 15.
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Nature*, 181, 1199-1200.
- Bonjar, S. (2004). Evaluation of antibacterial properties of some medicinal plants used in Iran. *Journal of ethnopharmacology*, 94(2-3), 301-305.
- Bongomin, F., Batac, CR., Richardson, MD., Denning, DW. (2018). A Review of Onychomycosis Due to *Aspergillus* Species. *Mycopathologia*. 183(3):485-493.

Références bibliographiques

- Bonnaillie, C., Salacs, M., Vassiliova, E., & Saykova, I. (2012). Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (*Arachis hypogaea* L.). *Revue de génie industriel*, 7, 35-45.
- Botineau, M. (2010). *Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs*. Tec & doc.
- Boulemtafes, A., Hamel, T., de Bélair, G., & Véla, E. (2018). Nouvelles données sur la distribution et l'écologie de seize taxons végétaux du littoral de la péninsule de l'Edough (Nord-Est algérien). *Bulletin de la Société Linnéenne de Provence*, 69, 1-18.
- Bouzana, A., Chekroud, Z., Becheker, I., Sakhraoui, N., Bouzenad, N., & Bensouici, C. (2023). Phytochemical analysis by LC MS/MS and *in vitro* antioxidant activity of the Algerian endemic plant *Dianthus sylvestris* subsp. *aristidis* (Batt.) Greuter & Burdet. *Global NEST Journal*, 25(7), 113–119.
- 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.
- « C »
- CASFM. (2023). Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. disponible à : https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2023/06/CASFM2023_V1.0.pdf . Consulté le: 18 septembre 2024.
- Carević, T., Kostić, M., Nikolić, B., Stojković, D., Soković, M., & Ivanov, M. (2022). Hesperetin—Between the Ability to Diminish Mono-and Polymicrobial Biofilms and Toxicity. *Molecules*, 27(20), 6806.
- Carle, S. (2003). Les antifongiques dans le traitement des infections invasives. *Pharmactuel*, 36(1).
- Carpenter, C. F., & Chambers, H. F. (2004). Daptomycin : Another novel agent for treating infections due to drug-resistant gram-positive pathogens. *Clinical infectious diseases*, 38(7), 994-1000.
- Chabaud, A. (2012). Étude sur le bon usage et le suivi thérapeutique pharmacologique du voriconazole dans deux établissements de santé de Rouen.

Références bibliographiques

- Chandra, S., & Rawat, D. S. (2015). Medicinal plants of the family Caryophyllaceae : A review of ethno-medicinal uses and pharmacological properties. *Integrative Medicine Research*, 4(3), 123-131.
- Chang, T.S. (2009). an Updated Review of Tyrosinase Inhibitors, *International Journal of Molecular Sciences*, 10, 2440-2475.
- Chen, J. H., & Ho, C.-T. (1997). Antioxidant Activities of Caffeic Acid and Its Related Hydroxycinnamic Acid Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(7), 2374-2378.
- Cheyrier, V. (2012). Phenolic compounds : From plants to foods. *Phytochemistry Reviews*, 11(2-3), 153-177.
- Chiba, T., Marusawa, H., Seno, H., & Watanabe, N. (2008). Mechanism for gastric cancer development by *Helicobacter pylori* infection. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 23(8pt1), 1175-1181.
- Ciobanu, C. S., Iconaru, S. L., Le Coustumer, P., Constantin, L. V., & Predoi, D. (2012). Antibacterial activity of silver-doped hydroxyapatite nanoparticles against gram-positive and gram-negative bacteria. *Nanoscale Research Letters*, 7(1), 324.
- Coates, A., Hu, Y., Bax, R., & Page, C. (2002). The future challenges facing the development of new antimicrobial drugs. *Nature reviews Drug discovery*, 1(11), 895-910.
- Cuenca-Estrella, M. (2014). Antifungal drug resistance mechanisms in pathogenic fungi : From bench to bedside. *Clinical Microbiology and Infection*, 20, 54-59.

« D »

- Dannaoui, E. (2006). Méthodologie d'évaluation de la sensibilité in vitro aux antifongiques. *Therapies*, 61(3), 201-207.
- Dannaoui, E. (2013). Résistance des Candida aux antifongiques : Détection et mécanismes. *revue francophone des laboratoires*, 2013(450), 71-77.
- Davies, D. S., Grant, J., & Catchpole, M. (2013). *The drugs don't work: A global threat*. Penguin UK.

Références bibliographiques

- Deveci, E., Tel-Çayan, G., & Duru, M. E. (2018). Phenolic profile, antioxidant, anticholinesterase, and anti-tyrosinase activities of the various extracts of *Ferula elaeochytris* and *Sideritis stricta*. *International Journal of Food Properties*, 21(1), 771-783.
- Dever, L. A., & Dermody, T. S. (1991). Mechanisms of bacterial resistance to antibiotics. *Archives of internal medicine*, 151(5), 886-895.
- Ding, C., Zhang, W., Li, J., Lei, J., & Yu, J. (2013). Cytotoxic constituents of ethyl acetate fraction from *Dianthus superbis*. *Natural Product Research*, 27(18), 1691-1694.
- Dobignard, A., & Chatelain, C. (2011). Synonymic index to the flora of North Africa. Volume 3 : Dicotyledoneae: Balsaminaceae-Euphorbiaceae.
- Donglikar, M. M., & Deore, S. L. (2017). Development and evaluation of herbal sunscreen. *Pharmacognosy Journal*, 9(1).

« E »

- Ertürk, Ö. (2006). Antibacterial and antifungal activity of ethanolic extracts from eleven spice plants. *Biologia*, 61(3), 275-278.
- Essawi, T., & Srour, M. (2000). Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of ethnopharmacology*, 70(3), 343-349.
- El-Zahabi, H. S., Abdulwahab, H. G., Edrees, M. M., & Hegab, A. M. (2019). Utility of anthranilic acid and diethylacetylenedicarboxylate for the synthesis of nitrogenous organo/organometallic compounds as urease inhibitors. *Archiv der Pharmazie*, 352(7), 1800314.

« F »

- Farhadi, F., Khameneh, B., Iranshahi, M., & Iranshahi, M. (2019). Antibacterial activity of flavonoids and their structure–activity relationship : An update review. *Phytotherapy Research*, 33(1), 13-40.
- Fassou, G., Korotkova, N., Nersesyan, A., Koch, M. A., Dimopoulos, P., & Borsch, T. (2022). Taxonomy of *Dianthus* (Caryophyllaceae)—overall phylogenetic relationships and assessment of species diversity based on a first comprehensive checklist of the genus. *Phytokeys*, 196, 91–214.

Références bibliographiques

- Fatope, M. O. (1995). Phytocompounds : Their bioassay and diversity. *Discovery and Innovation*, 7(3), 229-236.
- Favier, A. (2003). Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*, 108, 115.
- Favilla, M., Macchia, L., Gallo, A., & Altomare, C. (2006). Toxicity assessment of metabolites of fungal biocontrol agents using two different (*Artemia salina* and *Daphnia magna*) invertebrate bioassays. *Food and Chemical Toxicology*, 44(11), 1922-1931.
- Ferreira, I. C., Martins, N., & Barros, L. (2017). Phenolic compounds and its bioavailability : *In vitro* bioactive compounds or health promoters? In *Advances in food and nutrition research* 82, 1-44.
- Ferret, L. (2015). Anticoagulants oraux, réutilisation de données hospitalières informatisées dans une démarche de soutien à la qualité des soins. Thèse de doctorat. Université du Droit et de la Santé-Lille II.
- Fertout-Mouri, N., Latreche, A., Mehdadi, Z., & Bengherraz, Z. (2016). Activité antibactérienne de quatre extraits de *Teucrium polium* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale). Antibacterial activity of four extracts of *Teucrium polium* L. of Tessala mount (western Algeria). *Bulletin de la Société royale des Sciences de Liège*, 85, 253-262.
- Finney, D. J. (1971). Probit analysis: 3d ed., Cambridge University Press. Cambridge, UK.

« G »

- Garcia-Salas, P., Morales-Soto, A., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2010). Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples. *Molecules*, 15(12), 8813-8826.
- GBIF. Global Biodiversity Information Facility. (2023). *Dianthus aristidis* Batt. Checklist dataset. <https://www.gbif.org/fr/occurrence/1424544781> (Consulté 17 Février 2023)
- Gęgotek, A., & Skrzydlewska, E. (2022). Antioxidative and anti-Inflammatory activity of ascorbic acid. *Antioxidants*, 11(10), 1993.

Références bibliographiques

- Gong, C.-F., Wang, Y.-X., Wang, M.-L., Su, W.-C., Wang, Q., Chen, Q.-X., & Shi, Y. (2019). Evaluation of the Structure and Biological Activities of Condensed Tannins from *Acanthus ilicifolius* Linn and Their Effect on Fresh-Cut Fuji Apples. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 189(3), 855-870.
- Gouzi, H., & Benmansour, A. (2007). Partial Purification and Characterization of Polyphenol Oxidase Extracted from *Agaricus bisporus* (J.E.Lange) Imbach. *International Journal of Chemical Reactor Engineering*, 5(1).
- Granier, F. (2003). Antifongiques : Classes thérapeutiques, mécanismes d'action, problèmes de résistance. *Antibiotiques (Paris)*, 5(1), 39-48.
- Greuter, W., & Raus, T. (1982). Med-checklist notulae, 6. *Willdenowia*, 183-199.
- Gülçin, İ. (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxicology*. 86, 345-391.
- Guillot, J., & Dannaoui, E. (2015). La résistance aux antifongiques : Importance en Médecine humaine et vétérinaire. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, 168(4), 314-319.

« H »

- Hajji, H. (2016). Evaluation in vitro de l'activité antifongique de quatre plantes médicinales marocaines sur cinq champignons phytopathogènes. *Revue Marocaine de Protection des Plantes*, 10.
- Hamel, T., & Boulemtafes, A. (2017). Nouvelle station de *Sixalix farinosa* (Coss.) Greuter et Burdet dans la péninsule de l'Edough (Nord-Est algérien). *Le Bulletin de la Société linnéenne de Provence*, 68, 93-100.
- Hamel, T., Sadou, S., Seridi, R., Boukhdar, S., & Boulemtafes, A. (2018). Pratique traditionnelle d'utilisation des plantes médicinales dans la population de la péninsule de l'edough (nord-est algérien). *Ethnopharmacologia*, 59, 75-81.
- Hikino, H., Ohsawa, T., Kiso, Y., & Oshima, Y. (1984). Analgesic and Antihepatotoxic Actions of Dianosides, Triterpenoid Saponins of *Dianthus superbus* var. *Longicalycinus* Herb; *Planta Medica*, 50(04), 353-355.

Références bibliographiques

Huang, W.-Y., Cai, Y.-Z., & Zhang, Y. (2009). Natural Phenolic Compounds From Medicinal Herbs and Dietary Plants : Potential Use for Cancer Prevention. *Nutrition and Cancer*, 62(1), 1-20.

Hulin, A., Deguillaume, A. M., Bretagne, S., & Bézie, Y. (2005). Bon usage des antifongiques dans le traitement des candidoses et aspergilloses invasives. *Journal de Pharmacie Clinique*, 24(3), 125-138.

« I »

IBM Corp. Released (2017). IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp.

« J »

Jakimiuk, K., Wink, M., & Tomczyk, M. (2022). Flavonoids of the Caryophyllaceae. *Phytochemistry Reviews*, 21(1), 179-218.

Jalal, K. C. A., Akbar John, B., Kamaruzzaman, B. Y., & Kathiresan, K. (2012). Emergence of Antibiotic Resistant Bacteria from Coastal Environment-A Review. Antibiotic Resistant Bacteria-A Continuous Challenge in the New Millennium. *IntechOpen*, 143-158.

Jenderek, M. M., & Reed, B. M. (2017). Cryopreserved storage of clonal germplasm in the USDA National Plant Germplasm System. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 53(4), 299-308.

Jokić, S., Velić, D., Bilić, M., Bučić-koJić, A., PLANiNić, M., & ToMAS, S. (2010). Modelling of solid-liquid extraction process of total polyphenols from soybeans. *Czech Journal of Food Sciences*, 28(3), 206-212.

Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellogg, E. A., & Stevens, P. (2002). Botanique systématique- Une perspective phylogénétique : 467p. *De Boeck Université, Paris & Bruxelles*.

« K »

Kafarski, P., & Talma, M. (2018). Recent advances in design of new urease inhibitors : A review. *Journal of advanced research*, 13, 101-112.

Références bibliographiques

- Kameda, E., Langone, M. A. P., & Coelho, M. A. Z. (2006). Tyrosinase Extract from *Agaricus bisporus* Mushroom and its in Natura Tissue for Specific Phenol Removal. *Environmental Technology*, 27(11), 1209-1215.
- Kamelé, K. Y., Clémentine, K.-K. A., Carole, K. A., Mesmin, K. Y., Honora, T. B. F., & Kablan, T. (2019). Activité Antifongique *In Vitro* des Extraits de Cinq Plantes Locales sur *Colletotrichum Higginsianum*, *Fusarium Oxysporum* et *Rhizopus Stolonifer*, Agents Pathogènes de la Papaye (*Carica Papaya* L.) et de la Tomate (*Solanum Lycopersicum* L.). *European Scientific Journal*, ESJ, 15(9), 304-321.
- Kapoor, S., Lawless, D., Kennepohl, P., Meisel, D., & Serpone, N. (1994). Reduction and Aggregation of Silver Ions in Aqueous Gelatin Solutions. *Langmuir*, 10(9), 3018-3022.
- Kazeem, M. I., & Ashafa, A. O. T. (2015). *In-vitro* antioxidant and antidiabetic potentials of *Dianthus basuticus* Burt Davy whole plant extracts. *Journal of Herbal Medicine*, 5(3), 158-164.
- Khan, M., Alam, A., Khan, K. M., Salar, U., Chigurupati, S., Wadood, A., Ali, F., Mohammad, J. I., Riaz, M., & Perveen, S. (2018). Flurbiprofen derivatives as novel α -amylase inhibitors : Biology-oriented drug synthesis (BIODS), *in vitro*, and in silico evaluation. *Bioorganic chemistry*, 81, 157-167.
- Kim, D. H., Park, G. S., Nile, A. S., Kwon, Y. D., Enkhtaivan, G., & Nile, S. H. (2019). Utilization of *Dianthus superbus* L and its bioactive compounds for antioxidant, anti-influenza and toxicological effects. *Food and Chemical Toxicology*, 125, 313-321.
- Kubo, I., & Kinst-Hori, I. (1999). Flavonols from Saffron Flower : Tyrosinase Inhibitory Activity and Inhibition Mechanism. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(10), 4121-4125.
- Kumaran, A., & Karunakaran, R. J. (2007). *In vitro* antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *LWT-Food Science and Technology*, 40(2), 344-352.

« L »

- Lama-Muñoz, A., & Contreras, M. del M. (2022). Extraction Systems and Analytical Techniques for Food Phenolic Compounds : A Review. *Foods*, 11(22), 3671.

Références bibliographiques

- Lamula S. N., & Ashafa, A.T. 2014. Antimicrobial and cytotoxic potential of *Dianthus basuticus* used in Basotho traditional practice, *Bangladesh Journal of Pharmacology*, **9(1)**: 105-111.
- Latha, M. S., Martis, J., Shobha, V., Shinde, R. S., Bangera, S., Krishnankutty, B., Bellary, S., Varughese, S., Rao, P., & Kumar, B. N. (2013). Sunscreening agents : A review. *The Journal of clinical and aesthetic dermatology*, *6(1)*, 16.
- Lawal, O. A., & Ogunwande, I. A. (2013). Essential oils from the medicinal plants of Africa. In *Medicinal Plant Research in Africa* (p. 203-224). Elsevier.
- Lou, Z., Wang, H., Rao, S., Sun, J., Ma, C., & Li, J. (2012). p-Coumaric acid kills bacteria through dual damage mechanisms. *Food control*, *25(2)*, 550-554.
- Lim, S., Choi, A.-H., Kwon, M., Joung, E.-J., Shin, T., Lee, S.-G., Kim, N.-G., & Kim, H.-R. (2019). Evaluation of antioxidant activities of various solvent extract from *Sargassum serratifolium* and its major antioxidant components. *Food chemistry*, *278*, 178-184.
- Liu, Q., Zang, E.-H., Wang, C.-C., Liu, Y.-C., Niu, H., Gao, Y., & Li, M.-H. (2022). Dianthi herba : A comprehensive review of its botany, traditional use, phytochemistry, and pharmacology. *Chinese Medicine*, *17(1)*, 15.
- Liu, R., & Mabury, S. A. (2020). Synthetic Phenolic Antioxidants : A Review of Environmental Occurrence, Fate, Human Exposure, and Toxicity. *Environmental Science & Technology*, *54(19)*, 11706-11719.
- López-Jaén, A., Codoñer-Franch, P., & Valls-Bellés, V. (2016). Free radicals : A review. *Journal of Pediatric Biochemistry*, *03(03)*, 115-121.
- Luna-Guevara, M. L., Luna-Guevara, J. J., Hernández-Carranza, P., Ruíz-Espinosa, H., & Ochoa-Velasco, C. E. (2018). Phenolic compounds : A good choice against chronic degenerative diseases. *Studies in natural products chemistry*, *59*, 79-108.

« M »

- Mabberley, D. J. (2008). *The Plant Book : A portable dictionary of plants, their classification and uses*. Cambridge University Press, Cambridge.

Références bibliographiques

- Mackenzie, D. W. R. (1962). Serum tube identification of *Candida albicans*. *Journal of Clinical Pathology*, 15(6), 563-565.
- Magder, S. (2006). Reactive oxygen species: toxic molecules or spark of life?. *Critical Care*, 10(1), 1-8.
- Maire, R. (1963). Flore de l'Afrique du Nord, Dicotyledonae, vol 10. Édité. Paul Lechevalier, Paris.
- Maisch, N. A., Bereswill, S., & Heimesaat, M. M. (2022). Antibacterial effects of vanilla ingredients provide novel treatment options for infections with multidrug-resistant bacteria—A recent literature review. *European Journal of Microbiology and Immunology*, 12(3), 53–62
- Manso, T., Lores, M., & de Miguel, T. (2021). Antimicrobial activity of polyphenols and natural polyphenolic extracts on clinical isolates. *Antibiotics*, 11(1), 46.
- Mansur, J. de S., Breder, M. N. R., Mansur, M. C. d'Ascensão, & Azulay, R. D. (1986). Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 121-124.
- Martínez, A., Estévez, J. C., & Silva-Pando, F. J. (2012). Antioxidant activity, total phenolic content and skin care properties of 35 selected plants from Galicia (NW Spain). *Frontiers in Life Science*, 6(3-4), 77-86.
- Masum, M. N., Yamauchi, K., & Mitsunaga, T. (2019). Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic sources as skin-lightening agents. *Reviews in Agricultural Science*, 7, 41-58.
- Mazzei, L., Cianci, M., Musiani, F., Lente, G., Palombo, M., & Ciurli, S. (2017). Inactivation of urease by catechol : Kinetics and structure. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 166, 182-189.
- Mechchate, H., Es-Safi, I., Louba, A., Alqahtani, A. S., Nasr, F. A., Noman, O. M., Farooq, M., Alharbi, M. S., Alqahtani, A., & Bari, A. (2021). *In vitro* alpha-amylase and alpha-glucosidase inhibitory activity and *in vivo* antidiabetic activity of *Withania frutescens* L. Foliar extract. *Molecules*, 26(2), 293.

Références bibliographiques

- Meyer, B., Ferrigni, N., Putnam, J., Jacobsen, L., Nichols, D., & McLaughlin, J. (1982). Brine Shrimp : A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Medica*, 45(05), 31-34.
- Mirmortazavi, S. S., Farvandi, M., Ghafouri, H., Mohammadi, A., & Shourian, M. (2019). Evaluation of novel pyrimidine derivatives as a new class of mushroom tyrosinase inhibitor. *Drug Design, Development and Therapy*, 13, 2169-2178.
- Moradi, M., Farbood, Y., Mard, S. A., Dianat, M., Goudarzi, G., Khorsandi, L., & Seyedian, S. S. (2023). p-Coumaric acid has pure anti-inflammatory characteristics against hepatopathy caused by ischemia-reperfusion in the liver and dust exposure. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 26(2), 164.
- Mouffouk, C. (2019). Evaluation des activités biologiques et étude de la composition chimique de la plante *Scabiosa stellata* L. [Doctoral, Université de Batna 2]. <http://eprints.univ-batna2.dz/1703/>.
- Mostafa, A. A., Al-Askar, A. A., Almaary, K. S., Dawoud, T. M., Sholkamy, E. N., & Bakri, M. M. (2018). Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial strains causing food poisoning diseases. *Saudi journal of biological sciences*, 25(2), 361-366.
- Müller, L., Gnoyke, S., Popken, A. M., & Böhm, V. (2010). Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT-Food Science and Technology*, 43(6), 992-999.
- Murray, C. J., Ikuta, K. S., Sharara, F., Swetschinski, L., Aguilar, G. R., Gray, A., Han, C., Bisignano, C., Rao, P., & Wool, E. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019 : A systematic analysis. *The Lancet*, 399(10325), 629-655.
- Mutlu, K., Sarikahya, N. B., Nalbantsoy, A., & Kirmizigul, S. (2018). Chemical constituents and biological activities of *Dianthus elegans* var. *Elegans*. *Natural Product Research*, 32(11), 1245-1253.
- Muzaffer, U., Paul, V. I., Prasad, N. R., Karthikeyan, R., & Agilan, B. (2018). Protective effect of *Juglans regia* L. against ultraviolet B radiation induced inflammatory responses in human epidermal keratinocytes. *Phytomedicine*, 42, 100-111.

Myszczyzyn, A., Krajewski, R., Ostapów, M., & Hirnle, L. (2019). Folic acid—role in the body, recommendations and clinical significance. *Pielęgniarstwo XXI wieku/Nursing in the 21st Century*, 18(1), 50-59.

« N »

Nair, S. S., Kavrekar, V., & Mishra, A. (2013). *In vitro* studies on alpha amylase and alpha glucosidase inhibitory activities of selected plant extracts. *European journal of experimental biology*, 3(1), 128-132.

Newman, D. J., Cragg, G. M., & Snader, K. M. (2003). Natural Products as Sources of New Drugs over the Period 1981–2002. *Journal of Natural Products*, 66(7), 1022-1037.

Nguyen, V. B., Nguyen, A. D., Nguyen, Q. V., & Wang, S.-L. (2017). Porcine pancreatic α -amylase inhibitors from *Euonymus laxiflorus* Champ. *Research on Chemical Intermediates*, 43(1), 259-269.

Nishimura, F. de C. Y., De Almeida, A. C., Ratti, B. A., Ueda-Nakamura, T., Nakamura, C. V., Ximenes, V. F., & Silva, S. de O. (2013). Antioxidant effects of quercetin and naringenin are associated with impaired neutrophil microbicidal activity. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013.

Nostro, A., Germano, M. P., D'angelo, V., Marino, A., & Cannatelli, M. A. (2000). Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. *Letters in applied microbiology*, 30(5), 379-384.

« O »

Obmann, A., Purevsuren, S., Zehl, M., Kletter, C., Reznicek, G., Narantuya, S., & Glasl, S. (2012). HPLC Determination of Flavonoid Glycosides in Mongolian *Dianthus versicolor* Fisch. (Caryophyllaceae) Compared with Quantification by UV Spectrophotometry: Quantification of Flavonoid Glycosides in *Dianthus versicolor*. *Phytochemical Analysis*, 23(3), 254-259.

OpenStax. (2019). Allied Health Microbiology. Oregon State University. Available at: <https://open.oregonstate.edu/microbiology/> (Accessed: 28 September 2024).

OriginLab Corporation (2021). Origin software, Northampton, MA 01060 USA.

Références bibliographiques

Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese journal of nutrition and dietetics*, 44(6), 307-315.

Özçelik, B., Kartal, M., & Orhan, I. (2011). Cytotoxicity, antiviral and antimicrobial activities of alkaloids, flavonoids, and phenolic acids. *Pharmaceutical Biology*, 49(4), 396-402.

Özyürek, M., Güngör, N., Baki, S., Güçlü, K., & Apak, R. (2012). Development of a Silver Nanoparticle-Based Method for the Antioxidant Capacity Measurement of Polyphenols. *Analytical Chemistry*, 84(18), 8052-8059.

«P»

Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2, 270-278.

Pandino, G., Lombardo, S., Mauromicale, G., & Williamson, G. (2011). Profile of polyphenols and phenolic acids in bracts and receptacles of globe artichoke (*Cynara cardunculus* var. *scolymus*) germplasm. *Journal of food composition and analysis*, 24(2), 148-153.

Pappas P.G., Kauffman C.A., Andes D.R., Clancy C.J., Marr K.A., Ostrosky-Zeichner L., Reboli A.C., Schuster M.G., Vazquez J.A., Walsh T.J., et al. (2016) Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical infectious diseases*, 62 (4):e1–e50.

Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Del Rio, D., Salvatore, S., Bianchi, M., & Brighenti, F. (2003). Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different *in vitro* assays. *The Journal of nutrition*, 133(9), 2812-2819.

Pham-Huy, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International journal of biomedical science: IJBS*, 4(2), 89.

Philippon, A., & Arlet, G. (2006). Beta-lactamases of Gram negative bacteria : Never-ending clockwork! *Annales de biologie clinique*, 64(1), 37-51.

Pieper-Bigelow, C., Strocchi, A., & Levitt, M. D. (1990). Where does serum amylase come from and where does it go? *Gastroenterology Clinics of North America*, 19(4), 793-810.

Références bibliographiques

- Pohanka, M., Pejchal, J., Snopková, S., Havlickova, K., Z Karasova, J., Bostik, P., & Pikula, J. (2012). Ascorbic acid: an old player with a broad impact on body physiology including oxidative stress suppression and immunomodulation: a review. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 12(1), 35-43.
- 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-Food Science and Technology*, 36(7), 679-684.
- POWO. (2023). Plants of the World Online. *Dianthus sylvestris* Wulfen. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:153945-1> (Consulté le 23 September 2023).
- Pratyusha, S. (2022). Phenolic compounds in the plant development and defense: an overview. *Plant stress physiology-perspectives in agriculture*, 125-140.

« Q »

- Qu, Y., Zhan, Q., Du, S., Ding, Y., Fang, B., Du, W., Wu, Q., Yu, H., Li, L., & Huang, W. (2020). Catalysis-based specific detection and inhibition of tyrosinase and their application. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 10(5), 414-425.
- Quézel, P. (1964). L'endémisme dans la flore de l'Algérie. *Comptes Rendus de la Société de Biogéographie*, 361, 137-149.
- Quezel, P., & Santa, S. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Edit. Centre National de la Recherche Scientifique, Paris. *Revue D'Ecologie Terre Vie*, 16, 459-459

« R »

- Rasouli, H., Hosseini-Ghazvini, S. M.-B., Adibi, H., & Khodarahmi, R. (2017a). Differential α -amylase/ α -glucosidase inhibitory activities of plant-derived phenolic compounds : A virtual screening perspective for the treatment of obesity and diabetes. *Food & function*, 8(5), 1942-1954.
- Rasouli, H., Farzaei, M. H., & Khodarahmi, R. (2017b). Polyphenols and their benefits : A review. *International Journal of Food Properties*, 20(2), 1700-1741.

Références bibliographiques

- Rauha, J.-P., Remes, S., Heinonen, M., Hopia, A., Kähkönen, M., Kujala, T., Pihlaja, K., Vuorela, H., & Vuorela, P. (2000). Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. *International journal of food microbiology*, 56(1), 3-12.
- Recommandation de la Commission Européenne. (2006). Relative aux produits de protection solaire et aux allégations des fabricants quant à leur efficacité. *Journal Officiel de l'Union Européenne*, 10, 39–43. ELI: <http://data.europa.eu/eli/reco/2006/647/oj> (dernier accès le 17/02/2024).
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- Richardson, M. (1978). Flavonols and C-glycosylflavonoids of the Caryophyllales. *Biochemical Systematics and Ecology*, 6(4), 283-286.
- Rigano, D., Formisano, C., Basile, A., Lavitola, A., Senatore, F., Rosselli, S., & Bruno, M. (2007). Antibacterial activity of flavonoids and phenylpropanoids from *Marrubium globosum* ssp. *Libanoticum*. *Phytotherapy Research*, 21(4), 395-397.
- Riu, F., Ruda, A., Ibba, R., Sestito, S., Lupinu, I., Piras, S., Widmalm, G., & Carta, A. (2022). Antibiotics and carbohydrate-containing drugs targeting bacterial cell envelopes : An overview. *Pharmaceuticals*, 15(8), 942.
- « S »
- Saewan, N., & Jimtaisong, A. (2013). Photoprotection of natural flavonoids. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3(9), 129-141.
- Sakhraoui, N., Chefrou, A., Zohra, C., & Hadeif, A. (2021). *Nouvelle station de Dianthus sylvestris subsp. aristidis (Batt.) Greuter et Burdet dans la région de Skikda (Nord – Est algérien)*. *Bulletin de la Société linnéenne de Provence*, 72, 81-84.
- Saleem, M., Deters, B., de la Bastide, A., & Korzen, M. (2019). Antibiotics overuse and bacterial resistance. *Annals of Microbiology and Research*, 3(1), 93.
- Salvador, A., & Chisvert, A. (2007). *Analysis of cosmetic products*. Elsevier.

Références bibliographiques

- Sapkota, J., Sharma, M., Jha, B., Bhatt, CP. (2019). Prevalence of *Staphylococcus aureus* Isolated from Clinical Samples in a Tertiary Care Hospital: A Descriptive Cross-sectional Study. *Journal of Nepal Medical Association*, 57(220):398-402.
- Sass, P. (2017). Antibiotics : Precious goods in changing times. *Antibiotics: Methods and Protocols*, 1520, 3-22
- Sax, B. W. (2000). Educating Consumers about sun protection. *Pharmacy Times*, 66(5), 48-54.
- Sayre, R. M., Agin, P. P., LeVee, G. J., & Marlowe, E. (1979). A comparison of *in vivo* and *in vitro* testing of suncreening formulas. *Photochemistry and Photobiology*, 29(3), 559-566.
- Sebbar, E.-H., Naji, I., El Mezgueldi, I., & Choukri, M. (2023). Le stress oxydatif, une agression cellulaire. *Actualités Pharmaceutiques*, 62(626), 36-37.
- Sharma, A., Chandraker, S., Patel, V. K., & Ramteke, P. (2009). Antibacterial activity of medicinal plants against pathogens causing complicated urinary tract infections. *Indian journal of pharmaceutical sciences*, 71(2), 136.
- Sharma, A., Gupta, V. K., & Pathania, R. (2019). Efflux pump inhibitors for bacterial pathogens : From bench to bedside. *The Indian journal of medical research*, 149(2), 129.
- Shen, Y., Song, X., Li, L., Sun, J., Jaiswal, Y., Huang, J., Liu, C., Yang, W., Williams, L., & Zhang, H. (2019). Protective effects of p-coumaric acid against oxidant and hyperlipidemia-an *in vitro* and *in vivo* evaluation. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 111, 579-587.
- Shin, J.-E., Kim, J.-M., Bae, E.-A., Hyun, Y.-J., & Kim, D.-H. (2005). *In Vitro* Inhibitory Effect of Flavonoids on Growth, Infection and Vacuolation of *Helicobacter pylori*. *Planta Medica*, 71(3), 197-201.
- Singh, S. B., & Barrett, J. F. (2006). Empirical antibacterial drug discovery—Foundation in natural products. *Biochemical pharmacology*, 71(7), 1006-1015.
- Singla, R. K., Dubey, A. K., Garg, A., Sharma, R. K., Fiorino, M., Ameen, S. M., Haddad, M. A., & Al-Hiary, M. (2019). Natural polyphenols : Chemical classification, definition of

- classes, subcategories, and structures. *Journal of AOAC International*, 102 (5), 1397-1400.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Slobodníková, L., Fialová, S., Rendeková, K., Kováč, J., & Mučaji, P. (2016). Antibiofilm activity of plant polyphenols. *Molecules*, 21(12), 1717.
- Srief, M., Bani, M., Mokrani, E. H., Mennai, I., Hamdi, M., Boumechhour, A., Abou Mustapha, M., Derdour, M., Kerkatou, M., & El-Shazly, M. (2023). Evaluation of *In Vitro* and *In Silico* Anti-Alzheimer Potential of Nonpolar Extracts and Essential Oil from *Mentha piperita*. *Foods*, 12(1), 190.
- Sripad, G., Prakash, V., & Rao, M. S. N. (1982). Extractability of polyphenols of sunflower seed in various solvents. *Journal of Biosciences*, 4(2), 145-152.
- Stanojević, L., Stanković, M., Nikolić, V., Nikolić, L., Ristić, D., Čanadanovic-Brunet, J., & Tumbas, V. (2009). Antioxidant activity and total phenolic and flavonoid contents of *Hieracium pilosella* L. extracts. *sensors*, 9(7), 5702-5714.
- Stevanato, R., Bertelle, M., & Fabris, S. (2014). Photoprotective characteristics of natural antioxidant polyphenols. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 69(1), 71-77.
- Syahmi, A. R. M., Vijayaratna, S., Sasidharan, S., Latha, L. Y., Kwan, Y. P., Lau, Y. L., Shin, L. N., & Chen, Y. (2010). Acute oral toxicity and brine shrimp lethality of *Elaeis guineensis* Jacq. (Oil palm leaf) methanol extract. *Molecules*, 15(11), 8111-8121.
- Szydłowska-Czeraniak, A., Dianoczki, C., Recseg, K., Karlovits, G., & Szlyk, E. (2008). Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta*, 76(4), 899-905.
- « **T** »
- Taha M, Ullah H, Al Muqarrabun LMR, Khan MN, Rahim F, Ahmat N, Khan K M. (2018). Bisindolylmethane thiosemicarbazides as potential inhibitors of urease: Synthesis and molecular modeling studies. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 26(1), 152-160.

Références bibliographiques

- Tawaha, K., Alali, F. Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M., & El-Elimat, T. (2007). Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food chemistry*, 104(4), 1372-1378.
- Tenover, F. C. (2006). Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *The American journal of medicine*, 119(6), S3-S10.
- Terlević, A., & Rešetnik, I. (2020). Inventory of the historical *Dianthus sylvestris* herbarium materials from Herbarium Croaticum and Herbarium Ivo and Marija Horvat. *Glasnik Hrvatskog botaničkog društva*, 8(1), 8-14.
- Topçu, G., Ay, M., Bilici, A., Sarıkürkcü, C., Öztürk, M., & Ulubelen, A. (2007). A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food chemistry*, 103(3), 816-822.
- Tresserra-Rimbau, A., Arranz, S., & Vallverdu-Queralt, A. (2017). New insights into the benefits of polyphenols in chronic diseases. In *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017.

« U »

- Upton, T. M., Grayer, R. J., Greenham, J. R., Williams, C. A., Al-Ghamdi, F., & Chen, F.-H. (2000). Leaf flavonoids as systematic characters in the genera *Lavandula* and *Sabaudia*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 28(10), 991-1007.
- Uysal, S., Aktumsek, A., Picot-Allain, C. M., Unuvar, H., Mollica, A., Georgiev, M. I., Zengin, G., & Mahomoodally, M. F. (2018). Biological, chemical and in silico fingerprints of *Dianthus calocephalus* Boiss.: A novel source for rutin. *Food and Chemical Toxicology*, 113, 179-186.

« V »

- Véla, E. (2018). *De l'inventaire de la biodiversité aux priorités de conservation dans le hotspot du bassin méditerranéen : Peut-on combler les déficits de connaissance ?* Thèse de doctorat. Université Montpellier.
- Véla, E., Telailia, S., Telailia, L. B., & de Bélair, G. (2012). 182. Découverte de *sixalix farinosa* (coss.) Greuter & Burdet (Dipsacaceae) en Algérie. *Lagascalia*, 32(1), 284-290.

« W »

Références bibliographiques

- Wang, L., Pan, X., Jiang, L., Chu, Y., Gao, S., Jiang, X., Zhang, Y., Chen, Y., Luo, S., & Peng, C. (2022). The biological activity mechanism of chlorogenic acid and its applications in food industry : A review. *Frontiers in Nutrition*, 9, 943911.
- Wanyoike, G. N., Chhabra, S. C., Lang'at-Thoruwa, C. C., & Omar, S. A. (2004). Brine shrimp toxicity and antiplasmodial activity of five Kenyan medicinal plants. *Journal of ethnopharmacology*, 90(1), 129-133.
- Weatherburn, M. W. (1967). Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. *Analytical Chemistry*, 39(8), 971-974.
- Wellington, E. M., Boxall, A. B., Cross, P., Feil, E. J., Gaze, W. H., Hawkey, P. M., Johnson-Rollings, A. S., Jones, D. L., Lee, N. M., & Otten, W. (2013). The role of the natural environment in the emergence of antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. *The Lancet infectious diseases*, 13(2), 155-165.
- WFO. (2023). World Flora Online. *Dianthus sylvestris* Wulfen. Published on the Internet; <https://wfoplantlist.org/plant-list/taxon/wfo-0000644358-2023-06?page=1>. Last accessed on 14 September 2023.
- Woods, R. J., Barbosa, C., Koepping, L., Raygoza Garay, J. A., Mwangi, M., & Read, A. F. (2021). Genetic determinants of antibiotic resistance and the evolution of trade-offs during adaptation in a single patient. *bioRxiv*, 2021-10.
- Wresdiyati, T., Sa'diah, S., Winarto, A. D. I., & Febriyani, V. (2015). Alpha-glucosidase inhibition and hypoglycemic activities of *Sweetenia mahagoni* seed extract. *HAYATI Journal of Biosciences*, 22(2), 73-78.
- Wroblewski, L. E., Peek, R. M., & Wilson, K. T. (2010). *Helicobacter pylori* and Gastric Cancer : Factors That Modulate Disease Risk. *Clinical Microbiology Reviews*, 23(4),
- Wu, D.-W., Yu, X.-D., Xie, J.-H., Su, Z.-Q., Su, J.-Y., Tan, L.-R., Huang, X.-Q., Chen, J.-N., & Su, Z.-R. (2013). Inactivation of jack bean urease by scutellarin : Elucidation of inhibitory efficacy, kinetics and mechanism. *Fitoterapia*, 91, 60-67.

Wulfen, F.X. 1786. *Plantae rariores carinthiacae*. Pp. 237–239 In: Jacquin, N.J., *Collectanea ad botanicam, chemiam, et historiam naturalem spectantia*, vol. 1. Vindobonae [Vienna]: ex officina Wappleriana <https://bibdigital.rjb.csic.es/idurl/1/11956>

« **Y** »

Yapar, N. (2014). Epidemiology and risk factors for invasive candidiasis. *Therapeutics and clinical risk management*, 95-105.

Yefrida, Suyan, H., Aziz, H., & Efdi, M. (2018). Comparison of Iron Reduction Methods on the Determination of Antioxidants Content in Vegetables Sample. *Oriental Journal of Chemistry*, 34(5), 2418-2424.

Yu, J.-Q., Yin, Y., Lei, J.-C., Zhang, X.-Q., Chen, W., Ding, C.-L., Wu, S., He, X.-Y., Liu, Y.-W., & Zou, G.-L. (2012). Activation of apoptosis by ethyl acetate fraction of ethanol extract of *Dianthus superbis* in HepG2 cell line. *Cancer Epidemiology*, 36(1), 40-45.

Yucel, T. B., & Yayli, N. (2018). GC/MS analysis and antimicrobial activity of the volatile compounds from *Dianthus carmelitarum* Reut. Ex Boiss and *Dianthus calocephalus* Boiss. Grown in Turkey. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 55(1), 89-94.

Yusupova, U., Usmanov, D., Azamatov, A., Ramazonov, N., & Rejepov, J. (2020). Phytochemical constituents and biological activities of *Dianthus helenae* Vved., growing in Uzbekistan. *Natural Product Research*, 36(13), 3480-3484.

« **Z** »

Zahnit, W., Smara, O., Bechki, L., Bensouici, C., Messaoudi, M., Benchikha, N., Larkem, I., Awuchi, C. G., Sawicka, B., & Simal-Gandara, J. (2022). Phytochemical Profiling, Mineral Elements, and Biological Activities of *Artemisia campestris* L. Grown in Algeria. *Horticulturae*, 8(10), 914.

Zengin, G., Sarikurcu, C., Aktumsek, A., Ceylan, R., & Ceylan, O. (2014). A comprehensive study on phytochemical characterization of *Haplophyllum myrtifolium* Boiss. Endemic to Turkey and its inhibitory potential against key enzymes involved in Alzheimer, skin diseases and type II diabetes. *Industrial Crops and Products*, 53, 244-251.

Références bibliographiques

Zhou, Y.; Zhou, Z.; Zheng, L.; Gong, Z.; Li, Y.; Jin, Y.; Huang, Y.; Chi, M. (2023). Urinary Tract Infections Caused by Uropathogenic Escherichia coli: Mechanisms of Infection and Treatment Options. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(13), 10537.

Les références Web

Web1: Skikda in Algeria 2019.svg.
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Skikda_in_Algeria_2019.svg. Modifié le: 17/03/2020. Consulté le 27/09/2024

Web2: Google earth. 2023.
<https://earth.google.com/web/@36.88080677,6.92743552,28.76748252a,364.43367886d,35y,-115.46192388h,59.51640372t,360r>. Consulté le 2/04/2023

Annexes

Annexe 1

Tableau1: Analyse de la variance à 1 facteur de différents extraits (MeOH, EtOAc et n-BuOH) appliqués sur différentes souches bactériennes à Gram +étudiées

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob>F
Model	2	7216,52083	3608,26042	0,49802	0,6099
Error	69	499919,44792	7245,20939		
Total	71	507135,96875			

Tableau2: Analyse de la variance à 1 facteur de différents extraits (MeOH, EtOAc et n-BuOH) appliqués sur différentes souches bactériennes à Gram - étudiées

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob>F
Model	2	36404,63325	18202,31662	0,48957	0,6134
Error	285	1,05963E7	37179,96206		
Total	287	1,06327E7			

Tableau3: Analyse de la variance à 1 facteur de différents extraits (MeOH, EtOAc et n-BuOH) appliqués sur différentes levures étudiées

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob>F
Model	2	18705,4122	9352,7061	0,71881	0,49041
Error	81	1053917,5067	13011,32724		
Total	83	1072622,9189			

Tableau 4: Analyse de la variance à 1 facteur de différents extraits (MeOH, EtOAc et n-BuOH) appliqués sur différentes souches d'*A. niger* étudiées

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob>F
Model	2	1355	677,5	0,4913	0,61719
Error	27	37232,5	1378,98148		
Total	29	38587,5			

Résumé

Le présent travail est consacré à la caractérisation phytochimique et l'évaluation des activités biologiques, *in vitro*, de l'extrait hydro-méthanolique (MeOH), acétate d'éthyle (EtOAc) et butanolique (n-BuOH) des feuilles de la plante endémique *Dianthus sylvestris* subsp. *aristidis* (Batt.) Greuter & Burdet. Les méthodes utilisées comprennent: le dosage des composés phénoliques par le réactif de Folin-Ciocalteu, des flavonoïdes et flavonols par la méthode de chlorure d'aluminium, l'analyse phytochimique en utilisant la technique LC-ESI-MS/MS, l'évaluation de la cytotoxicité par le test de létalité des nauplii d'*Artemia salina*, l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur milieu solide et par la détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI sur milieu liquide, l'activité antioxydante en utilisant cinq tests différents, l'inhibition enzymatique de trois des enzymes α -amylase, urease et tyrosinase et l'évaluation du facteur de protection solaire (SPF). Les résultats ont révélé que l'extrait n-BuOH était riche en polyphénols et en flavonoïdes ($121,45 \pm 1,87 \mu\text{g GAE/mg}$ d'extrait et $57,09 \pm 0,14 \mu\text{g QE/mg}$ d'extrait, respectivement), tandis que l'extrait EtOAc était riche en flavonols ($41,90 \pm 0,98 \mu\text{g QE/mg}$ d'extrait). L'analyse par LC-ESI-MS/MS des extraits EtOAc et n-BuOH a permis d'identifier 14 composés, parmi lesquels des acides phénoliques, des flavonoïdes et des vitamines représentées majoritairement par l'acide p-coumarique, l'héspértine et l'acide ascorbique, respectivement. Aucun des trois extraits n'a présenté d'effet cytotoxique vis-à-vis les nauplii d'*Artémia salina*, avec une $CL_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$. Un effet antibactérien intéressant vis-à-vis de la plupart des bactéries testées a été noté avec des diamètres des zones d'inhibition (DI) qui varient entre 10 et 20 mm et des CMI entre 31,25 et 1000 $\mu\text{g/mL}$. Une activité antifongique importante a été observée, notamment contre *Candida albicans* et *Aspergillus niger* avec des pourcentages d'inhibition allant jusqu'à 100% pour ce dernier. Les extraits EtOAc et n-BuOH ont présenté la plus forte activité antioxydante avec le test de la phénanthroline ($A_{0,5}$: $17,75 \pm 0,72 \mu\text{g/mL}$ et $A_{0,5}$: $21,02 \pm 0,43 \mu\text{g/mL}$, respectivement). L'extrait n-BuOH a montré une activité d'inhibition de l'enzyme α -amylase supérieure à celle du standard Acarbose (IC_{50} de $307,08 \pm 1,13 \mu\text{g/mL}$). Les valeurs du facteur de protection solaire des extraits EtOAc ($45,19 \pm 0,73$) et n-BuOH ($43,81 \pm 0,59$) appartiennent à la catégorie de haute protection. Ces résultats suggèrent que *Dianthus sylvestris* subsp. *aristidis* pourrait être une source prometteuse de molécules bioactives pour l'industrie pharmaceutique.

Mots-clés: Activités biologiques, Caractérisation phytochimique, *Dianthus sylvestris* subsp. *aristidis*, plante endémique.