

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE & BIOCHIMIE

N°:



DOMAINE : SCINCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

FILIERE : SCIENCES BIOLOGIQUES

OPTION : BIOCHIMIE APPLIQUEE

**Mémoire présenté pour l'obtention**

**Du diplôme de Master Académique**

Par : - Bourenane Hanine

- Hadjari Hadda

- Hadla soad

- Saidi Wissam

**Intitulé**

**Activité antioxydante et antibactérienne**

***d'Oxalis pes caprae***

Soutenu devant le jury composé de :

Benkhaled Abderrahim

Université Mohamed Boudiaf M'sila

Président

Boudjelal Amel

Université Mohamed Boudiaf M'sila

Rapporteur

Chabane Sarra

Université Mohamed Boudiaf M'sila

Examineur

Année

universitaire :

2023

/2024

## **Sommaire**

<b>Résumé</b> .....	i
<b>Liste des abréviations</b> .....	ii
<b>Liste des figures</b> .....	iii
<b>Liste des tableaux</b> .....	iv
<b>Introduction</b> .....	1
<b>I. Présentation de la plante</b> .....	3
I.1. Description botanique .....	3
I.2. Distribution géographique .....	3
I.3. Systématique .....	4
I.4. Usages traditionnels .....	5
I.5. Composition chimique .....	5
<b>II. Le stress oxydatif</b> .....	6
II.1. Les radicaux libres .....	6
II.2. Les espèces réactives de l'oxygène .....	6
II.2.1. Production des espèces réactives de l'oxygène .....	6
II.3. Les antioxydantes .....	7
<b>III. L'infection bactérienne</b> .....	8
III.1. Les bactéries .....	8
III.2. L'infection bactérienne .....	8
III.3. Les antibiotiques .....	8
III.3.1. Mécanismes d'action des antibiotiques .....	9
III.3.2. Résistance bactérienne aux antibiotiques .....	10
<b>IV. Matériels et méthodes</b> .....	12
IV.1. Matériel végétal .....	12
IV.2. Etude phytochimique .....	12
IV.2.1. Préparation de l'extrait méthanolique .....	12

IV.2.1.1. . Calcul du rendement d'extraction .....	13
IV.2.2. Analyses phytochimique de l'extrait méthanolique.....	13
IV.2.2.1. Dosage des polyphénols totaux .....	13
IV.2.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux.....	13
IV.3. Évaluation <i>in vitro</i> de l'activité antioxydante .....	13
IV.3.1. Test au DPPH (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyle .....	13
IV.4. Evaluation de l'activité antibactérienne .....	14
IV.4.1. Microorganismes utilisés .....	14
IV.4.2. Evaluation de l'activité antibactérienne .....	14
IV.5. Analyse statistique des résultats.....	15
<b>V. Résultats et discussion.....</b>	<b>16</b>
V.1. Rendement de l'extraction.....	16
V.2. Dosage des polyphénols totaux .....	16
V.3. Dosage des flavonoïdes .....	17
V.4. Évaluation <i>in vitro</i> de l'activité antioxydante .....	17
V.5. Evaluation de l'activité antibactérienne .....	18
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>20</b>
<b>Références .....</b>	<b>23</b>

## ملخص

*Oxalis pes-caprae* المعروف باسم "الحميضة" في الجزائر، هو نبات معمر بصلي الشكل يستخدم في الطهي لنكهته المنعشة. في الطب التقليدي، تستخدم الأوراق في الطب التقليدي لخصائصها المدرة للبول والمضادة للسكري والالتهابات. كان الهدف من هذه الدراسة هو تحديد التركيب الكيميائي النباتي لمستخلص الميثانولي من الجزء الهوائي للنبات وتقييم أنشطته المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا في المختبر.

وقد تم تحديد إجمالي محتويات البوليفينول والفلافونويد باستخدام طريقتي فولن-سيوكالتو وكلوريد الألومنيوم على التوالي. تم اختبار المستخلص الميثانولي لمعرفة قدرته المضادة للأكسدة تجاه الجذور الحرة DPPH، في حين تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا ضد الكائنات الدقيقة المسببة للأمراض الجرامية باستخدام طريقة الآبار.

أظهرت دراسة الكيمياء النباتية أن المستخلص الميثانولي يحتوي على مستويات منخفضة من البوليفينول والفلافونويد، في حدود  $0.035 \pm 40.23$  ميكروغرام/EAG غرام من المادة الكيميائية النباتية و  $0.052 \pm 32.95$  ميكروغرام/EQ غرام من المادة الكيميائية النباتية على التوالي. كانت قدرة المستخلص النباتي على مقاومة الأكسدة منخفضة مقارنةً بالمستخلص القياسي BHT ( $135.70 \pm 0.025$  ميكروغرام/مل و  $3.95 \pm 25.73$  ميكروغرام/مل على التوالي). كان للمستخلص الميثانولي نشاط مضاد للجراثيم منخفض جداً ضد السلالات المستخدمة. تشير النتائج مجتمعةً إلى أن القدرة المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا لمستخلص الميثانول من نبتة *Oxalis pes-caprae* ترتبط ارتباطاً وثيقاً بمحتواها من البوليفينول.

## الكلمات المفتاحية:

*Oxalis pes-caprae*، الحميضة، استخلاص، مستخلص ميثانولي، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد للبكتيريا.

## Abstract

*Oxalis pes-caprae*, known as "Homeida" in Algeria, is a bulbous perennial used in cooking for its tangy flavor. In traditional medicine, the leaves are used for their diuretic, antidiabetic and inflammatory properties. The aim of this study was to determine the phytochemical composition of the methanolic extract of the aerial part of the plant, and to evaluate its antioxidant and antibacterial activities in vitro.

Total polyphenol and flavonoid contents were determined using the Folin-Ciocalteu and aluminum chloride methods respectively. The methanolic extract was tested for its antioxidant capacity towards the DPPH free radical, while antibacterial activity was assessed against Gram+ and Gram- pathogenic microorganisms (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus subtilis*) using the sink method.

The phytochemical study showed that the methanolic extract had low polyphenol and flavonoid contents, in the order of  $40.23 \pm 0.035$  mg EAG/g ES and  $32.95 \pm 0.052$  mg EQ/g ES respectively. The antioxidant capacity of the plant extract was low compared with that of standard BHT ( $135.70 \pm 0.025$   $\mu$ g/mL and  $25.73 \pm 3.95$   $\mu$ g/mL respectively). The methanolic extract had very low antibacterial activity against the strains used. Taken together, the results suggest that the antioxidant and antibacterial potential of the methanolic extract of *Oxalis pes-caprae* is strongly linked to its polyphenol content.

### Key words:

*Oxalis pes-caprae*, extraction, methanolic extract, antioxidant activity, antibacterial activity.

## Résumé

*Oxalis pes-caprae* connu sous le nom de "Homeida" en Algérie est une plante vivace bulbeuse utilisée en culinaire à cause de sa saveur acidulée. En médecine traditionnelle les feuilles sont utilisées pour leurs propriétés diurétiques, antidiabétique et inflammatoires. L'objectif de cette étude est de déterminer la composition phytochimique de l'extrait méthanolique de la partie aérienne de la plante et d'évalué *in vitro* les activités antioxydante et antibactérienne.

Les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux ont été déterminées à l'aide des méthodes du Folin-Ciocalteu et de chlorure d'aluminium respectivement. L'extrait méthanolique a été testé pour sa capacité antioxydante envers le radical libre DPPH, tandis que l'activité antibactérienne a été évaluée contre des microorganismes pathogènes Gram+ et Gram- (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus subtilis*) en utilisant la méthode des puits.

L'étude phytochimique a montré que l'extrait méthanolique a de faible teneurs en polyphénols et flavonoïdes, de l'ordre de  $40.23 \pm 0.035$  mg EAG/g ES et  $32.95 \pm 0.052$  mg EQ/g ES respectivement. La capacité antioxydante de l'extrait de la plante était faible par rapport à celle du standard BHT ( $135.70 \pm 0.025$  µg/mL et  $25.73 \pm 3,95$  µg/mL respectivement). L'extrait méthanolique a une très faible activité antibactérienne vis-à-vis des souches utilisées. L'ensemble des résultats, suggèrent que le potentiel antioxydant et antibactérien de l'extrait méthanolique d'*Oxalis pes-caprae* serait fortement lié à son contenu en polyphénols.

### Mots-clés :

*Oxalis pes-caprae*, extraction, extrait méthanolique, activité antioxydante, activité antibactérienne.

## Liste des abréviations

**ABTS** : L'acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)

**AlCl<sub>3</sub>**: Chlorure d'aluminium

**ATCC**: American type culture collection

**BHT**: Hydroxy toluène butyle

**DPPH** : 2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyle

***E. coli*** : *Escherichia coli*

**EAG** : Equivalent Acide Gallique

**EM** : Extrait méthanolique

**EQ** : Equivalent Quercetin

**IC<sub>50</sub>** : Concentration permettant d'inhiber 50 % du radical DPPH

**MLS** : Macrolides lincosamides streptogrammes

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** : carbonate de Sodium

***O. pes-caprae*** : *Oxalis pes-caprae*

**PSC** : piégeage des radicaux pyroxyles

**ROS** : espèces réactives d'oxygène

**UFC** : Unité faisant colonie

**UV** : Ultra-Violette

## Liste des figures

<b>Figure I-1.</b> <i>Oxalis pes caprae</i> .....	3
<b>Figure I-2.</b> Distribution d' <i>O. pes-caprae</i> dans l'Europe, l'Asie et l'Afrique .....	4
<b>Figure III-1.</b> Cible de l'action des antibiotiques .....	9
<b>Figure III-2.</b> Mode d'action des antibiotiques.....	10
<b>Figure III-3.</b> Schéma général des mécanismes de résistance aux antibiotiques .....	11
<b>Figure IV-1.</b> Extraction au soxhlet et évaporation de l'extrait méthanolique.....	12
<b>Figure V-1.</b> Courbe d'étalonnage de l'acide gallique .....	16
<b>Figure V-2.</b> Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	17

## Liste des tableaux

**Tableau V-1.** Résultat de test DPPH de l'extrait Méthanolique d'*O. pes caprae*..... 18

**Tableau V-2.** Zone d'inhibition de l'EM d' *O. pes caprae*..... 19

# **Introduction**

## Introduction

Le règne végétal demeure une source majeure de composés chimiques essentiels pour la découverte de nouveaux médicaments. Les riches traditions de la phytothérapie, explorées au fil des années, révèlent des informations biomédicales précieuses, prouvées grâce aux méthodes scientifiques modernes (**Li et al., 2017**). Presque toutes les parties des plantes médicinales, y compris les racines, les tiges, les feuilles et les graines, possèdent un potentiel thérapeutique et peuvent être utilisées pour traiter diverses infections (**Sharifi-Rad et al., 2020**).

Les métabolites secondaires sont des composés naturels omniprésents dans le règne végétal. Ils sont reconnus pour leurs propriétés antioxydante, anti-inflammatoires, antimicrobiennes, anticancéreuses et cardioprotectrices. Ces molécules, biologiquement actives pourraient constituer des sources prometteuses pour la découverte de médicaments (**Güçlütürk, 2012**).

Plusieurs espèces d'*Oxalis* ont été utilisées dans la médecine populaire, notamment les racines pour leurs propriétés diurétiques et les feuilles pour leurs effets antihypertenseurs (**Gaspar et al., 2018**). Certaines espèces d'*Oxalis* sont cultivées comme plantes ornementales, tandis que d'autres sont considérées comme des mauvaises herbes (**Barrett, 2015**).

*Oxalis pes-caprae*, appartenant à la famille des *Oxalidacées*, est une espèce invasive retrouvée dans diverses régions du monde au climat méditerranéen à cause de sa grande capacité d'adaptation et de propagation (**Kabach et al., 2023**).

Plusieurs composés bioactifs ont été identifiés à partir des extraits d'*O. pes-caprae*. Ces molécules ont montré des propriétés biologiques très intéressantes telles qu'antioxydante, antibactériennes, antidiabétiques, anticancéreuses, et inhibitrices d'enzymes.

Notre travail a pour objectif principal l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante et antibactérienne de l'extrait méthanolique de d'*O. pes-caprae*.

Les travaux concernent principalement:

- ✓ Une extraction par soxhlet à partir de la partie aérienne de la plante.
- ✓ Un dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux.
- ✓ Une évaluation du potentiel antioxydante de l'extrait méthanolique par le test DPPH.
- ✓ Une évaluation de l'activité antibactérienne.

Le mémoire est organisé en plusieurs parties :

- ✓ Une partie bibliographique consacrée à l'*O. pes-caprae*, le stress oxydant et l'infection bactérienne.
- ✓ Une partie expérimentale résumant les méthodes de l'extraction par soxhlet, le dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux, le test au DPPH et l'évaluation de l'activité antibactérienne.
- ✓ Une partie réservée à la description et la discussion des résultats obtenus.
- ✓ Enfin, une conclusion et des perspectives de ce travail.

**Partie bibliographique :**  
**Chapitre I**  
*Oxalis pes caprae*

## I. Présentation de la plante

### I.1. Description botanique

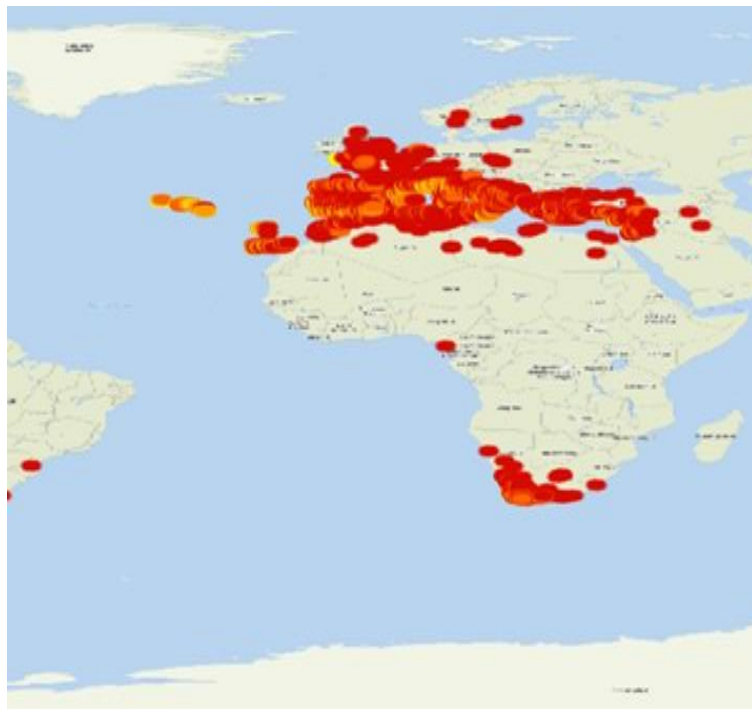
*Oxalis pes-caprae* L. ou Oxalis pied-de-chèvre, appelé aussi "Homeida" est une plante bulbeuse vivace, modérément pubescente et profondément enfouie, qui produit une tige annuelle 2-8 cm ascendante avec des bulbes d'où émerge une rosette basale de feuilles. Les feuilles ont des pétioles allant jusqu'à 20 cm de long, 3 folioles de 8 à 20 par 12 à 30 mm, opposées et fortement arquées. Les fleurs apparaissent dans les inflorescences inférieures. Le calice est composé de 5 sépales libres en forme de lance et la corolle de 5 pétales, de 20 à 25 cm de long, de couleur jaune. Le fruit est une capsule courte et concave qui expulse violemment les graines lorsqu'elle est ouverte, **(Figure I-1)**. **(Menéndez-Valdery, 2016)**.



**Figure I-1.** *Oxalis pes caprae* (originale , 2024)

### I.2. Distribution géographique

*Oxalis* (*Oxalidaceae*) est distribué mondialement et comprend environ 800 espèces **(Castro et al., 2007)**. *Oxalis pes-caprae* L., une espèce originaire d'Afrique australe, a été introduite comme plante ornementale dans plusieurs régions du monde, notamment dans les zones au climat méditerranéen à la fin du XVIIIe siècle, **(Figure I-2)**. **(Henqueenz, 1974)**.



**Figure I-2.** Distribution d'*O. pes-caprae* dans l'Europe, l'Asie et l'Afrique (UK C , 2014)

### I.3. Systématique

Le nom "*Oxalis*," dérivé du grec "oxys," signifie "aigre" ou "piquant," tandis que "*pes-caprae*" signifie "pied de chèvre," suggérant que la forme de la feuille ressemble à un pied de chèvre (Peirce, 1997). La plante est connue sous divers noms tels que homeida, soursob, buttercup, renoncule des Bermudes ou herbe acide (Herbert & Dittmer, 2017). Selon (Quezel et Santa ,1963), *Oxalis pes-caprae* L. est classée comme suit :

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Sous règne</b>	Viridiaeplantae
<b>Classe</b>	Equisetopsida
<b>Sous classe</b>	Magnoliidae
<b>Ordre</b>	Oxalidales
<b>Famille</b>	Oxalidaceae
<b>Genre</b>	<i>Oxalis</i> L.
<b>Espèce</b>	<i>Oxalis pes-caprae</i> L.

#### **I.4. Usages traditionnels**

*Oxalis pes-caprae* L, est utilisée en culinaire à cause de sa saveur acidulée, notamment dans les salades. Depuis des siècles, les racines d'*Oxalis* sont utilisées dans la médecine traditionnelle pour leurs propriétés diurétiques tandis que les feuilles fraîches mâchées sont efficaces contre les ulcérations de bouche ; les feuilles cuites en cataplasme sont utilisées contre les abcès (**Adouane, 2016**). La plante est aussi utilisée pour le traitement du diabète, les troubles dermatologiques et circulatoires, la grippe, la bronchite et la pharyngite (**Kabach et al., 2023**).

#### **I.5. Composition chimique**

L'*oxalis* contient des vitamines C et B, ainsi que de l'acide oxalique qui, en réagissant avec le calcium et le magnésium sanguins, forme des oxalates insolubles. Les oxalates formés sont des poisons systémiques et peuvent être corrosifs pour les reins (**Frikha, 1980**). La plante est riche en polyphénols, flavonoïdes (glycosides de flavonol et flavan-3-ols), tocophérols, xanthophylles, bêta-carotène et acide ascorbique (**Sircelj et al., 2010**). Ces composés sont doués de propriétés antioxydants, neuroprotectrices, antidiabétiques, anticancéreuses, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, analgésiques et antipyrétiques (**Naila & Ibrar, 2018**).

# **Chapitre II**

## **Le stress oxydatif**

## II. Le stress oxydatif

Le stress oxydatif est caractérisé par un déséquilibre entre la production d'espèces radicalaires libres (ou réactives) de l'oxygène et les capacités cellulaires antioxydantes, résultant soit d'un excès d'espèces radicalaires, soit d'une réponse antioxydante diminuée. La majorité des radicaux libres qui endommagent les systèmes biologiques sont des radicaux libres d'oxygène, généralement appelés "espèces réactives de l'oxygène" (ERO) (Ray *et al.*, 2012).

### II.1. Les radicaux libres

Dans le domaine de la biologie, il existe diverses espèces radicalaires qui peuvent se former dans les cellules. Parmi celles-ci, un groupe restreint de composés radicalaires, nommé les radicaux primaires, joue un rôle spécifique en physiologie. D'autres radicaux libres, qualifiés de radicaux secondaires, se forment à partir de la réaction de ces radicaux primaires avec des composés biochimiques présents dans la cellule (Favier, 2003). Les radicaux primaires sont principalement dérivés de l'oxygène par réduction d'un électron, tels que l'anion superoxyde, le radical hydroxyle ou l'azote. En plus de ces radicaux primaires, il existe d'autres espèces dérivées de l'oxygène, bien que ces espèces ne soient pas des radicaux libres, elles sont également réactives et peuvent agir comme précurseurs de radicaux. Les radicaux libres et leurs précurseurs sont souvent regroupés sous le terme d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Favier, 2003).

### II.2. Les espèces réactives de l'oxygène

Les ERO sont les principaux sous-produits formés dans les cellules des organismes aérobies. Ils peuvent initier des réactions autocatalytiques, convertissant les molécules avec lesquelles ils réagissent en radicaux libres, propageant ainsi la chaîne des dommages (Cadenas *et al.*, 1998). Les ERO cellulaires sont générés principalement soit par la phosphorylation oxydative, soit par la réponse cellulaire aux xénobiotiques, aux cytokines et à l'invasion bactérienne (Ray *et al.*, 2012). Les ERO ont longtemps été considérées comme des sous-produits toxiques du métabolisme normal de l'oxygène, ils provoquent des dommages aux composants cellulaires et sont impliquées dans de nombreuses pathologies (Schieber *et al.*, 2014 ; Han *et al.*, 2019). Les principaux types des ERO, le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), le superoxyde ( $O_2^-$ ), les radicaux hydroxyles ( $OH^-$ ) et l'oxygène singulet ( $^1O_2$ ) (Sánchez Macarro *et al.*, 2021).

#### II.2.1. Production des espèces réactives de l'oxygène

Des facteurs environnementaux tels que la pollution atmosphérique, les radiations ionisantes, les produits chimiques toxiques et les rayonnements ultraviolets peuvent induire la production

d'ERO. Ces facteurs environnementaux peuvent perturber l'équilibre redox dans les cellules, entraînant une production accrue de radicaux superoxydes, de peroxyde d'hydrogène et de radicaux hydroxyles (**Cadenas et al., 1998**). Les ERO sont principalement produites dans les mitochondries et les peroxysomes. Ces organites génèrent à la fois des radicaux H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et O<sub>2</sub><sup>-</sup> dans le cadre du métabolisme normal. D'autres organites et types de cellules, tels que le réticulum endoplasmique, les membranes plasmiques, les membranes nucléaires, les macrophages et les cellules polymorphonucléaires, sont également capables de générer des ERO (**Inoue et al., 2003**).

### II.3. Les antioxydants

Les antioxydants agissent comme une forme de défense contre les oxydants. Ils sont définis comme des substances naturelles ou synthétiques qui peuvent prévenir ou retarder les dommages cellulaires causés par les oxydants tels que les espèces réactives de l'oxygène (ERO), les espèces réactives de l'azote (RNS), les radicaux libres et autres molécules instables (**Azeez et al., 2017**). Pour être considérée comme un antioxydant, une substance doit avoir une activité à faible concentration, car les antioxydants phénoliques peuvent parfois agir comme des pro-oxydants à forte concentration. De plus, sa quantité doit être suffisamment élevée pour neutraliser la molécule cible. Elle doit réagir avec les radicaux libres d'oxygène ou d'azote, et le produit final de la réaction doit être moins toxique que le radical éliminé. Il n'existe pas d'antioxydant universel, car différents antioxydants réagissent avec différentes espèces réactives par divers mécanismes, ciblant diverses molécules (**Jing et al., 2011**).

Généralement, la défense antioxydante peut être activée soit par des processus in vivo, tels que la synthèse d'enzymes intracellulaires, soit sous forme de défenses antioxydantes extracellulaires (transferrine, érythrocytes, albumine,...), ou en fournissant les substances nécessaires par l'alimentation, telles que les vitamines C, E, A, D, la riboflavine, la thiamine, la niacine, la pyridoxine, les caroténoïdes, les flavonoïdes, les polyphénols, les acides aminés, l'acide folique, le sélénium, le fer, le zinc et le magnésium (**Halliwell et al., 2015**).

# **Chapitre III**

## **L'infection bactérienne**

### III. L'infection bactérienne

#### III.1. Les bactéries

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires classés parmi les procaryotes, car elles ne possèdent pas de membrane nucléaire, les distinguant ainsi des autres organismes unicellulaires eucaryotes tels que les champignons, les algues et les protozoaires. Elles sont divisées en deux groupes principaux : les bactéries proprement dites (Bacteria) et les bactéries primitives (Archaea). Toutes les bactéries rencontrées en pathologie appartiennent au groupe des Bacteria. Les bactéries ont généralement un diamètre inférieur à 1  $\mu\text{m}$  et peuvent être observées au microscope optique, à l'état frais ou après coloration. Leur forme peut être sphérique (cocci), en bâtonnet (bacilles), incurvée (vibrions) ou spiralée (spirochètes). Les détails de leur structure ne sont visibles qu'à l'aide de la microscopie électronique (**Boudjouref, 2011**).

#### III.2. L'infection bactérienne

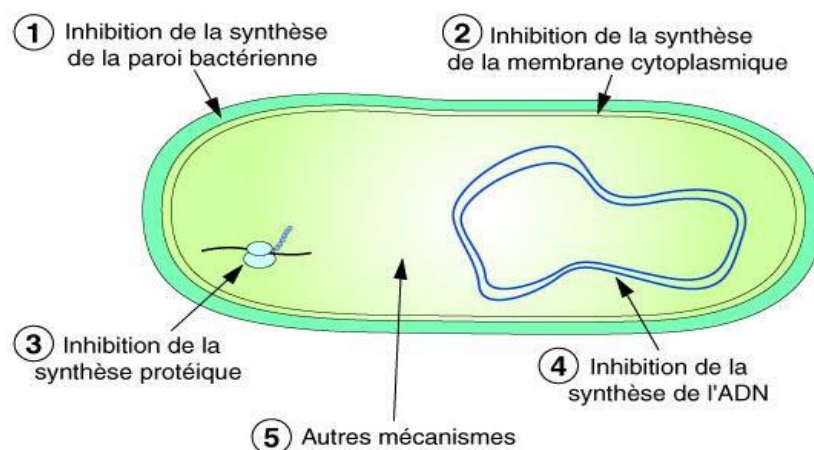
Les infections bactériennes ont été une réalité omniprésente dans la vie humaine depuis des millénaires. Avant la découverte des antibiotiques au 20<sup>e</sup> siècle, les infections bactériennes représentaient une menace majeure pour la santé humaine. L'invention et la découverte des antibiotiques ont été une avancée majeure dans la lutte contre les infections bactériennes. Les antibiotiques sont des médicaments qui inhibent la croissance ou détruisent les bactéries pathogènes, permettant ainsi de prévenir et de traiter efficacement ces infections. Ils ont révolutionné la pratique médicale et ont considérablement amélioré la survie des patients atteints d'infections bactériennes (**Khan & Rasool, 2023**).

#### III.3. Les antibiotiques

"Antibiotique" (du grec anti : contre, biôtikos : qui concerne la vie) se définit comme toute substance chimique produite par un micro-organisme qui, dans une solution diluée, a la capacité d'inhiber sélectivement la croissance ou même de détruire d'autres micro-organismes. Les composés utilisés à des fins thérapeutiques pour traiter les maladies bactériennes chez l'homme et l'animal sont souvent appelés antibiotiques par les professionnels de la santé et le grand public. Toutefois, la définition stricte du mot antibiotique fait référence uniquement aux substances antimicrobiennes d'origine naturelle (**Mainil, 2013**). Chaque antibiotique possède un spectre d'action, qui est la flore microbienne sur laquelle il exerce son activité bactéricide ou bactériostatique, il est d'autant plus large, ou étendu, que le nombre des espèces microbiennes sensibles est grand. Le spectre d'action varie d'un antibiotique à l'autre (**Singh & Barrett, 2006**).

### III.3.1. Mécanismes d'action des antibiotiques

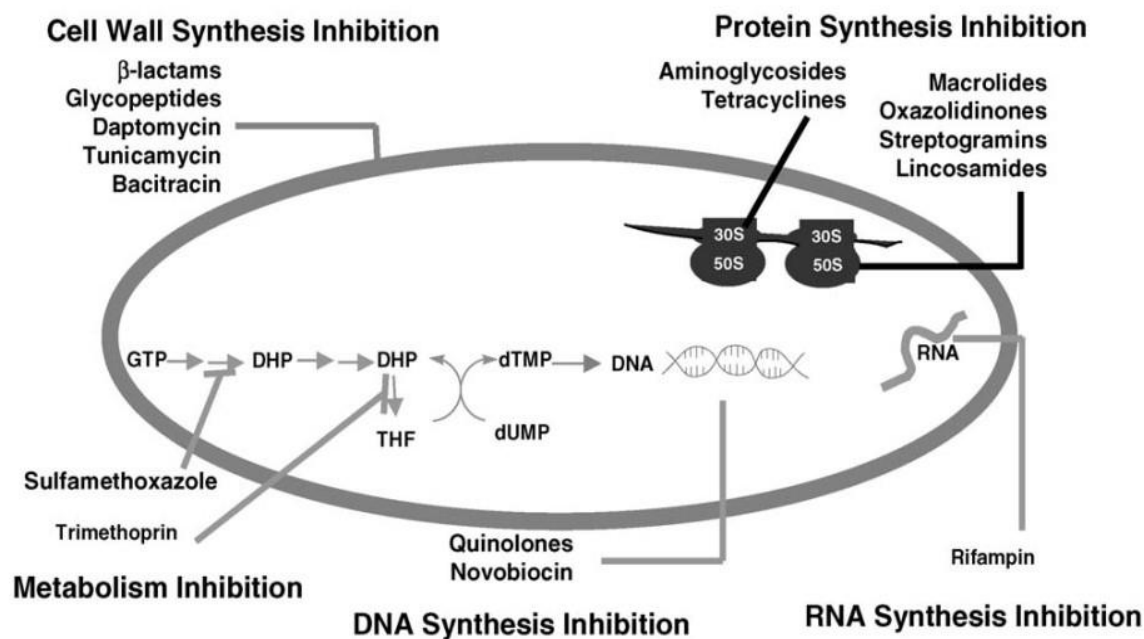
Un antibiotique est une substance chimique, d'origine naturelle ou synthétique, qui a la capacité d'inhiber la croissance ou de tuer des micro-organismes tels que les bactéries, les champignons, les parasites ou les virus (Newman *et al.*, 2003). Les antibiotiques sont utilisés pour traiter les infections bactériennes en interférant avec les processus vitaux des micro-organismes ciblés ; le mode d'action implique généralement de nombreuses cibles selon la **figure**



**Figure III-1.** Cible de l'action des antibiotiques (Singh & Barrett, 2006)

#### III-1. (Singh & Barrett, 2006).

Le mode d'action des antibiotiques peut être soit bactériostatique, empêchant le développement des micro-organismes (comme les tétracyclines, les pénicillins, et les macrolides), soit bactéricide, détruisant les germes (comme les bêta-lactamines, les aminosides et les polypeptides). Chaque antibiotique possède un spectre d'action, qui correspond à la flore microbienne sur laquelle il exerce son activité bactéricide ou bactériostatique, (**Figure III-2**). Ce spectre est d'autant plus large que le nombre d'espèces microbiennes sensibles est grand, et il varie d'un antibiotique à l'autre. La recherche de nouveaux antibiotiques se poursuit et actuellement, environ 16 500 antibiotiques efficaces ont été décrits (Felton, 2016).



**Figure III-2.** Mode d'action des antibiotiques (Singh & Barrett, 2006).

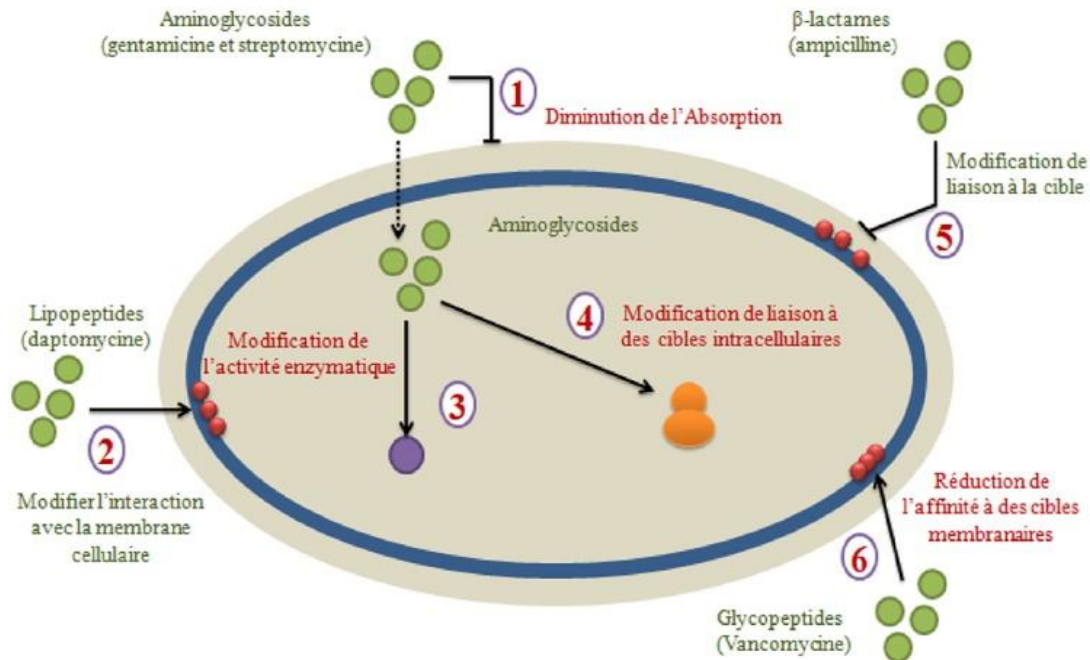
**DHP** : dihydroptéroate ; **DHF** : dihydrofolate ; **THF** : tétrahydrofolate

### III.3.2. Résistance bactérienne aux antibiotiques

L'utilisation abusive des antibiotiques a entraîné une augmentation du développement de microbes multi résistants aux antibiotiques, appelés "super bactéries". On estime que ces super bactéries sont responsables d'au moins 700 000 décès par an dans le monde, et d'ici 2050, les projections prévoient que ce chiffre pourrait s'élever à plus de 10 millions de décès (McCulloch *et al.*, 2022). Cette situation constitue un problème majeur de santé publique, car les super bactéries sont capables de résister à de nombreux antibiotiques couramment utilisés, rendant le traitement des infections de plus en plus difficile voire impossible. Le problème est aggravé par la présence de sous-populations de cellules bactériennes persistantes qui peuvent tolérer de faibles doses d'antibiotiques, augmentant ainsi le risque de résistance (WHO, 2018).

La résistance aux antibiotiques se développe principalement via des mécanismes génétiques qui permettent aux bactéries de survivre et de se multiplier malgré l'exposition aux médicaments. Ces mécanismes incluent la production d'enzymes capables d'inactiver les antibiotiques, la modification de la structure des cibles des antibiotiques, la substitution des cibles, la modification de la perméabilité aux antibiotiques, la formation de biofilms et le déclenchement du processus d'efflux actif, (Figure III-3) (Lemaoui *et al.*, 2017). La résistance aux antibiotiques peut se propager entre les bactéries par diverses voies, notamment la transmission

de gènes de résistance entre différentes souches bactériennes, l'utilisation inappropriée d'antibiotiques, la mauvaise observance des traitements antibiotiques et la transmission directe de bactéries résistantes d'une personne à une autre (**Blair et al., 2015**).



**Figure III-3.** Schéma général des mécanismes de résistance aux antibiotiques (**Bouyahya et al., 2017**).

# **Chapitre IV**

## **Matériel et méthodes**

## IV. Matériels et méthodes

### IV.1. Matériel végétal

La plante, *Oxalis pes caprae*, a été récoltée en période de floraison en février 2024 dans la région de Ouled Badira, commune de M'sila. L'identification botanique de la plante a été faite par le Pr R. Bounar (Département des Sciences de la Nature et de la Vie/ Université de M'sila). Après lavage, la plante a été séchée à température ambiante dans l'obscurité, finement broyée puis conservée dans un sac en papier pour son utilisation ultérieure.

### IV.2. Etude phytochimique

#### IV.2.1. Préparation de l'extrait méthanolique

L'extrait méthanolique de la partie aérienne de la plante a été préparé en utilisant une extraction continue au Soxhlet. Pour cela, 40 g de poudre de plante ont été mis en contact avec 800 mL de méthanol 85% pendant 4 heures (Boudjelal et al., 2020). L'extrait méthanolique obtenu a été filtré, puis soumis à une évaporation sous basse pression à 35 °C dans un rotavapor (Buchi R-210) selon la figure IV-1.



**Figure IV-1.** Extraction au soxhlet et évaporation de l'extrait méthanolique (Photo originale, 2024).

#### IV.2.1.1. . Calcul du rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est calculé selon (Mahmoudi *et al.*, 2013) :

$$R (\%) = [(M_{\text{Extrait}} / M_{\text{Plante sèche}})] \times 100$$

R : Rendement d'extraction (%)

$M_{\text{Extrait}}$  : Masse de l'extrait (g)

$M_{\text{Plante sèche}}$  : Masse de la poudre de plante (g).

### IV.2.2. Analyses phytochimique de l'extrait méthanolique

#### IV.2.2.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux a été déterminé à l'aide du réactif Folin-Ciocalteu, en utilisant l'acide gallique comme standard. 200 µl d'extraits ont été mélangé à 1 mL du réactif Folin-Ciocalteu 10%. Après 5 minutes, 800 µl Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (7.5%) sont ajoutés au mélange. La solution finale est gardée à la température ambiante pendant 30 minutes. L'absorbance du mélange a été mesurée à 760 nm. La teneur en polyphénols totaux a été exprimée en mg d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g ES). Toutes les mesures ont été réalisées en triple (Siddiqui *et al.*, 2017).

#### IV.2.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux

Les taux des flavonoïdes totaux dans l'extrait méthanolique ont été mesurés selon la méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium. Pour cela, 1mL d'extraits méthanoliques ont été mélangés avec 1mL d'une solution de méthanol à 2% d'AlCl<sub>3</sub>. Après 30 minutes, l'absorbance a été mesurée à 430 nm. Les résultats ont été exprimés en mg d'équivalent quercétine par gramme d'extraits secs (mg EQ / g ES). Toutes les mesures ont été effectuées en triple (Djeridane *et al.*, 2006).

### IV.3. Évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante

#### IV.3.1. Test au DPPH (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyle

Le dosage du 2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyle (DPPH) est l'un des tests colorimétriques les plus populaires pour estimer la capacité de piégeage des radicaux des extraits des plantes. Cette méthode est précise, facile à réaliser et économique. Elle permet d'évaluer l'activité générale des antioxydants et repose sur un radical stable et synthétique. Lorsque le DPPH réagit avec un

composé antioxydant, il perd sa propriété de radical libre et sa couleur passe du violet au jaune (Chabane, S et al., 2020).

Ce test est réalisé selon (Tepe et al., 2005) ; dans une microplaque, 100 µl de l'extrait méthanolique et BHT à différentes concentrations ont été mélangées avec 100 µl de DPPH (0,1 mM fraîchement préparé dans du méthanol). Le mélange a été laissé à température ambiante dans l'obscurité pendant 30 minutes et l'absorbance a été enregistré à 517 nm. Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (I %) estimée selon l'équation suivante (KECHAR et al., 2016).

$$I (\%) = ([A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}}] / A_{\text{contrôle}}) \times 100$$

Où :

$A_{\text{contrôle}}$  : Absorbance du contrôle DPPH (contenant tous les réactifs sauf l'extrait)

$A_{\text{extrait}}$  : Absorbance de l'extrait à différentes concentrations.

Toutes les mesures ont été effectuées en triple.

L'IC<sub>50</sub> (concentration inhibitrice de 50 %) est la concentration de l'extrait testée nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH. Les IC<sub>50</sub> ont été calculées graphiquement par les régressions linéaires (pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés).

#### IV.4. Evaluation de l'activité antibactérienne

##### IV.4.1. Microorganismes utilisés

Quatre souches bactériennes issues des lots de l'ATCC (American Type Culture Collection) ont été utilisées :

1. Bactérie Gram négatif : *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 25853).
2. Bactérie à Gram positif : *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Bacillus subtilis* (ATCC 14579).

##### IV.4.2. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de l'EM *d'O. pes caprae* a été testée vis-à-vis de quatre souches bactériennes par la méthode de diffusion sur gélose.

En utilisant un emporte-pièce stérile, des puits d'environ 6 mm de diamètre ont été créés dans la gélose MHensemencé par la bactérie. Dans chaque puits, 80 µl l'extrait a différentes concentrations ont été ajoutés (100 µg/mL, 200 µg/mL et 400 µg/mL). Les boîtes de Pétri ont été incubées à 37 °C pendant 18 à 24 heures après 30 minutes de diffusion à la température du laboratoire (**Bssaibis et al., 2009**) . Après incubation, la lecture des résultats s'effectue par la mesure des diamètres des zones d'inhibitions autour des puits. Pefloxacine est utilisé comme control positive. Toutes les mesures ont été effectuées en triple.

#### **IV.5. Analyse statistique des résultats**

Les résultats sont représentés sous la forme de moyenne  $\pm$  SD et les différences ont été considérées significatives à  $P \leq 0,05$ . Les calculs ont été effectués à l'aide du logiciel GRAPH PAD d'analyse et de traitement statistique des données. La différence entre le contrôle et les différents tests a été déterminée par le test de Student pour les comparaisons simples.

# **Chapitre V**

## **Résultats et discussion**

## V. Résultats et discussion

### V.1. Rendement de l'extraction

La préparation de l'EM à partir de la poudre *d'O. pes caprae* a été réalisée grâce à une extraction en continue en utilisant le soxhlet avec le méthanol 85 % comme solvant d'extraction. Cette extraction a donné un rendement de 25 %.

Le résultat obtenu diffère de ceux obtenus par (Naila *et al.*, 2018), où le rendement d'extraction varie selon le type de solvant utilisé et la méthode d'extraction. Des rendements de 5,31% avec l'éthanol, de 20,6% avec le méthanol et de 8,43% avec le chloroforme ont été obtenus respectivement. Selon (Halouani *et al.*, 2021), le rendement d'extraction augmente de la racine à la partie aérienne. En effet, des rendements d'extraction variant entre 1% et 3,5% pour les feuilles et les fleurs. Les rendements les plus faibles sont observés pour les racines, entre 0,11% et 0,33%, suivis par les tiges, dont les rendements varient entre 0,45% et 1,7%. Ces résultats sont nettement inférieurs au résultat obtenu lors de notre étude.

### V.2. Dosage des polyphénols totaux

La détermination de la quantité des composés phénoliques a été réalisée selon la méthode de Folin-Ciocalteu. Les teneurs en polyphénols sont exprimées en mg EAG/g d'extraits secs en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (Figure V-1).

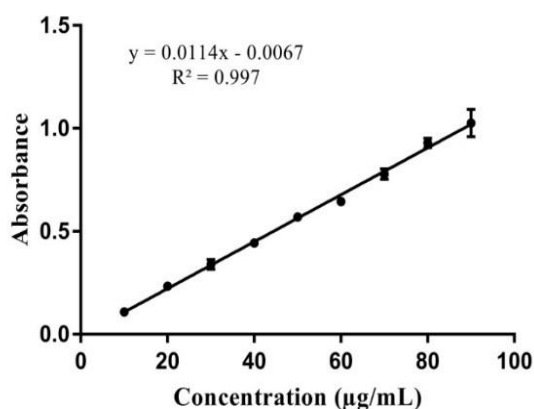


Figure V-1. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

La quantité en phénols totaux de l'EM d'*O. pes caprae* obtenue était de  $40.23 \pm 0.035$  mg EAG/g ES. Une teneur de 173.5 mg EAG/g ES, nettement supérieur à la nôtre a été obtenue par (Kabach *et al.*, 2023) avec l'extrait méthanolique de la partie aérienne de la même plante.

Les teneurs en composés phénoliques peuvent être influencées par l'origine de la plante et les conditions climatiques qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols. Ainsi des teneurs de  $38.55 \pm 1.72$  mg/g EAG/g ES, inférieurs aux notre, ont été obtenus avec le même type d'extrait de la plante du Pakistan (Gul *et al.*, 2022).

### V.3. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes a été quantifiée par le dosage direct grâce au trichlorure d'aluminium en utilisant la quercétine comme standard (Figure V-2). Elle est exprimée en mg EQ/g ES.

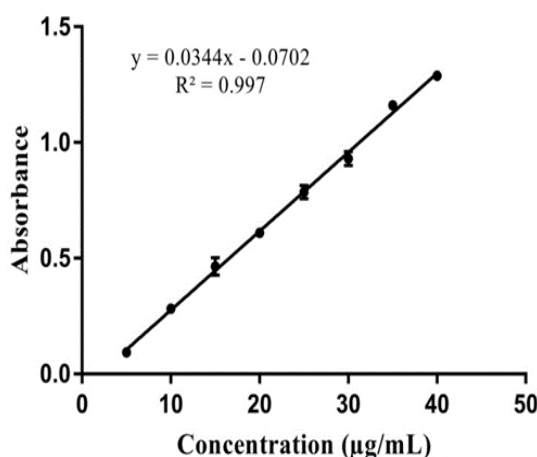


Figure V-2. Courbe d'étalonnage de la quercétine

(Gul *et al.*, 2022), ont rapporté que la teneur totale en flavonoïdes de l'extrait méthanolique d'*O. pes caprae* du Pakistan, était de  $24.75 \pm 1.80$  mg EQ/g ES. En comparaison avec nos résultats, les teneurs de notre extrait, sont supérieures et sont de  $32.95 \pm 0.052$  mg EQ /g ES.

Selon les données de la littérature, nous notons que la teneur en flavonoïdes totaux varie pour la même plante en fonction du solvant d'extraction et de la région de provenance.

### V.4. Évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante

Le test DPPH est l'un des tests les plus utilisés à cause de sa simplicité et sa reproductibilité. Une faible valeur d'IC50 indique une forte activité antioxydante (Baali *et al.*, 2019). Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau V-1.

Extraits/Standard	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
EM	135.70 ± 0.025***
BHT	25.73 ± 3,95

Chaque valeur représente la moyenne ± SD (n = 3).

\*\*\* : p ≤ 0.001, comparée avec le contrôle positif (BHT).

**Tableau V-1.** Résultat de test DPPH de l'extrait Méthanolique d'*O. pes caprae*.

L'IC<sub>50</sub> de l'extrait méthanolique est très significativement ( $p \leq 0.001$ ) supérieur à celle du BHT (135.70 ± 0.025 µg/mL et 25.73 ± 3,95 µg/mL respectivement). Cela indique la faible activité antioxydante de l'EM a piégé le radical libre DPPH.

Nos résultats sont différents et ne concordent pas avec plusieurs études ayant prouvée l'importante activité anti radicalaire de la plante avec des IC<sub>50</sub> qui varient de 13.4 à 24.75 µg/mL (**Gaspar et al., 2018 ; Gul et al., 2022 ; Kabach et al., 2023**).

En général, L'activité anti radicalaire des extraits est dépendant de la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes (**Baali et al., 2019**)

9)et les résultats obtenus dans notre étude indiquent que la faible activité antioxydante de l'EM est en corrélation avec le faible taux de polyphénols et flavonoïdes totaux.

### V.5. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'EM de la plante est basée sur la méthode de diffusion en milieu gélosé Mueller Hinton. La lecture des résultats se fait par la mesure des diamètres des zones d'inhibition, qui sont représentés par une auréole claire formé auteurs de chaque puit. Les résultats sont exprimés selon quatre niveaux d'activité :

1. (-) souche résistante ( $D < 8$  mm).
2. (+) souche sensible ( $9 \text{ mm} \leq D \leq 14$  mm).
3. (++) souche très sensible ( $15 \text{ mm} \leq D \leq 19$  mm).
4. (+++) souche extrêmement sensible ( $D > 20$  mm).

Les résultats obtenus pour le test antibactérien sont représentés dans le **tableau V-2**.

Souches testées	Zone d'inhibition (mm)			
	100 mg/mL	200 mg/mL	400 mg/mL	Pefloxacine
<i>E. coli</i>	15.33 ± 2.08 */++	16.00 ± 1.73 */++	14.00 ± 1.00 */+	25.00 ± 0.00
<i>P. aeruginosa</i>	16.66 ± 7.23 */++	21.33 ± 3.05 +++	7.66 ± 2.08 **/-	25.00 ± 0.00
<i>B. subtilis</i>	6.00 ± 0.00 ***/-	6.00 ± 0.00 ***/-	12.00 ± 0.00 **/+	25.00 ± 0.00
<i>S. aureus</i>	23.33 ± 3.05 +++	6.66 ± 3.51 **/-	11.66 ± 2.88 */+	25.00 ± 0.00

Chaque valeur représente la moyenne ± SD (n = 3). \* :  $p \leq 0.05$  ; \*\* :  $p \leq 0.01$  ; \*\*\* :  $p \leq 0.001$ , comparée avec le contrôle positif (Pefloxacine). ( $p < 0.05$ , test de Student). Le symbole + représente le degré de sensibilité : Résistante (-) ; sensible (+) ; très sensible (++) ; extrêmement sensible (+++).

**Tableau V-2.** Zone d'inhibition de l'EM de *O. pes caprae*.

La sensibilité des bactéries envers l'EM est classée selon les diamètres des zones d'inhibition. De manière générale, des effets antibactériens variables ont été obtenus, aussi bien sur les bactéries Gram-négatives que Gram-positives. Ainsi, l'analyse des données a montré que l'effet antibactérien est parfois dose-dépendant selon la bactérie. D'une manière générale, malgré l'augmentation des doses, l'extrait de la plante n'a montré aucun effet antibactérien, sauf vis-à-vis de *S. aureus* et *P. aeruginosa* ( $23.33 \pm 3.05$  mm et  $21.33 \pm 3.05$  mm respectivement). Ces résultats sont nettement supérieurs de ceux rapportés par (Gul *et al.* 2022), où la zone maximale d'inhibition par l'EM d'*O. pes-caprae* a été observée contre *S. aureus* et *P. aeruginosa* ( $13.00 \pm 0,23$  mm et  $14.00 \pm 0,65$  mm respectivement).

# **Conclusion et perspectives**

## **Conclusion et perspectives**

Le premier objectif de ce travail a été de contribuer à la valorisation *Oxalis pes caprae*, une plante invasive dans la région de M'sila.

Le second objectif portait sur la valorisation biologique de la plante. Le choix de cette plante était basé sur une recherche bibliographique approfondie qui certifie que cette plante est une source de molécules bioactives douées de propriétés antioxydante et antibactérienne.

Le dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux a montré que l'extrait méthanolique de la partie aérienne de la plante renferme de faibles teneurs ( $40.23 \pm 0.035$  mg et  $32.95 \pm 0.052$  respectivement). Ce résultat est en corrélation avec la capacité antioxydante de l'extrait méthanolique qui a montré un résultat très faible par rapport au BHT.

L'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique a montré un résultat faible en comparaison avec le contrôle positif, pefloxacine. Ce résultat est en corrélation avec la teneur de l'extrait en polyphénols et flavonoïdes.

En perspective, étant donné qu'*Oxalis pes-caprae* a démontré sa richesse et son potentiel biologique aussi bien in vitro qu'in vivo, il serait judicieux de tester d'autres méthodes d'extraction ainsi que différents solvants extracteurs pour évaluer ses activités biologiques et pharmacologiques.

# **Reference bibliographique**

**A**

Adouane, Selma 2016., Etude ethnobotanique es plantes médicinales dans la région méridionale des Aurés, these p157.

Asghar, A., Liu, C. G., Ali, I., Khan, A. Z., Zhu, H., Wang, N., ... & Rasool, R. T. (2023). Bioenergy potential of *Saccharum bengalense* through pyrolysis, reaction kinetics, TG-FTIR-GCMS analysis of pyrolysis products, and validation of the pyrolysis data through machine learning. *Chemical Engineering Journal*, 465, 142930.

Azeez, L., Lateef, A., & Adebisi, S. A. (2017). Silver nanoparticles (AgNPs) biosynthesized using pod extract of *Cola nitida* enhances antioxidant activity and phytochemical composition of *Amaranthus caudatus* Linn. *Applied Nanoscience*, 7, 59-66.

**B**

Baali, F., Boumerfeg, S., Napoli, E., Boudjelal, A., Righi, N., Deghima, A., ... & Ruberto, G. (2019). Chemical composition and biological activities of essential oils from two wild Algerian medicinal plants: *Mentha pulegium* L. and *Lavandula stoechas* L. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 22(3), 821-837.

Barrett, M., Davidson, E., Prabhu, J., & Vargo, S. L. (2015). Service innovation in the digital age. *MIS quarterly*, 39(1), 135-154.

Boudjouref, M.,(2011). Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Mémoire pour l'obtention de diplôme de Magister , UFA-Sétif, Algérie.

Boudjelal, A., Smeriglio, A., Ginestra, G., Denaro, M., & Trombetta, D. (2020). Phytochemical profile, safety assessment and wound healing activity of *Artemisia absinthium* L. *Plants*, 9(12), 1744.

Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., ... & Dakka, N. (2017). Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*, 16(S1), 173-183.

Bovei, B. ANNEXE: Plantes potentiellement dangereuses pour les ruminants en Algérie (nomenclature, répartition, habitat et abondance selon QUÉZEL et SANTA, 1962-1963).

Bssaibis F., Gmira N. et Meziane M., Activité antibactérienne de *Dittrichia viscoa* (L.) W. Greuter. *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn*, 3 (1), (2009), 44-45.

**C**

Cadenas E, Sies H. 1998. The lag phase. *Free Rad Res*, 28:601–9.

Castro, L. F. C., Lima, D., Machado, A., Melo, C., Hiromori, Y., Nishikawa, J., ... & Santos, M. M. (2007). Imposex induction is mediated through the Retinoid X Receptor signalling pathway in the neogastropod *Nucella lapillus*. *Aquatic Toxicology*, 85(1), 57-66.

Chabane, S., Boudjelal, A., Napoli, E., Benkhaled, A., & Ruberto, G. (2021). Phytochemical composition, antioxidant and wound healing activities of *Teucrium polium* subsp. *capitatum* (L.) Briq. essential oil. *Journal of Essential Oil Research*, 33(2), 143-151.

## D

Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds.

## F

Food chemistry, 97(4), 654-660.

Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.

Felton, L. A. (2016). *Aqueous polymeric coatings for pharmaceutical dosage forms*. CRC Press.

Frikha, M. (1980). Toxicologie des oxalates. Contribution à l'étude de l'intoxication par l'oxalis chez les ruminants en Tunisie.

## G

Gaspar, M. C., Fonseca, D. A., Antunes, M. J., Frigerio, C., Gomes, N. G., Vieira, M., ... & Campos, M. G. (2018). Polyphenolic characterisation and bioactivity of an *Oxalis pes-caprae* L. leaf extract. *Natural product research*, 32(6), 732-738.

Güçlütürk, I., Detsi, A., Weiss, E. K., Ioannou, E., Roussis, V., & Kefalas, P. (2012). Evaluation of anti-oxidant activity and identification of major polyphenolics of the invasive weed *Oxalis pes-caprae*. *Phytochemical analysis*, 23(6), 642-646.

Gul, F., Khan, I., Iqbal, J., Abbasi, B. A., Shahbaz, A., Capasso, R., ... & Mahmood, T. (2022). Phytochemistry, biological activities and in silico molecular docking studies of *Oxalis pes-caprae* L. compounds against SARS-CoV-2. *Journal of King Saud University-Science*, 34(6), 102136.

## H

Halliwell, B. (2015). *Antioxidant and anti-inflammatory components of foods* (pp. 34-pp).

Halouani, A., Abdelli, M., Abdelli, M., Slama, I., Aouf, I., Mastouri, M., & Jaïdane, H. (2021). Assessment of the Phenolic Contents, Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Oxalis Pes-Caprae*. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, 38(2), 30115-30124.

Han, S. B., Yun, J., Yeo, I. J., Ham, Y. W., Kim, S. H., ... & Hong, J. T. (2019). Bee venom phospholipase A2 ameliorates amyloidogenesis and neuroinflammation through inhibition of signal transducer and activator of transcription-3 pathway in Tg2576 mice. *Translational neurodegeneration*, 8, 1-16

Henquinez P,1974. Annales l'institut national agronomique El-Harrach note sur l'oxalis cernua thunb.<http://dspace.ensa.dz.8080/jspui/bitstream/123456789/671/ia00.p134>.

Herbert, E. W., & Dittmer, K. E. (2017). Acute and chronic oxalate toxicity in Miniature Horses associated with soursob (*Oxalis pes-caprae*) ingestion. *Equine Veterinary Education*, 29(10), 549-557.

## I

Inoue, M., Sato, E. F., Nishikawa, M., Park, A. M., Kira, Y., Imada, I., & Utsumi, K. (2003). Mitochondrial generation of reactive oxygen species and its role in aerobic life. *Current medicinal chemistry*, 10(23), 2495-2505.

## J

Jing, H., Yap, M., Wong, P. Y., & Kitts, D. D. (2011). Comparison of physicochemical and antioxidant properties of egg-white proteins and fructose and inulin Maillard reaction products. *Food and Bioprocess Technology*, 4, 1489-1496.

## K

Kabach, I., Bouchmaa, N., Zouaoui, Z., Ennoury, A., El Asri, S., Laabar, A., ... & Mrid, R. B. (2023). Phytochemical profile and antioxidant capacity,  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities of *Oxalis pes-caprae* extracts in alloxan-induced diabetic mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 160, 114393.

KECHAR, K. (2016). Etude ethnobotanique et phytochimique de *Ballota hirsuta* Benth du mont de Tessala (Sidi Bel'Abbes) (Doctoral dissertation).

## M

Mahmoudi, S., Khali, M., & Mahmoudi, N. (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Nature & Technology*, (9), 35.

Mainil (Eds.), *Medical Tourism and Transnational Health Care*. Basingstoke: Palgrave

Mainil, T. Commers, M., Michelsen, K., 2013. Cross-border mobility within the European

McCulloch, J. A., Davar, D., Rodrigues, R. R., Badger, J. H., Fang, J. R., Cole, A. M., ... & Dzutsev, A. K. (2022). Intestinal microbiota signatures of clinical response and immune-related adverse events in melanoma patients treated with anti-PD-1. *Nature medicine*, 28(3), 545-556.

Menéndez-Valderrey, J. L. 2016. "Oxalis pes-caprae L." .Asturnauta.com [en línea]. Num. 123 09/04/07. Consultado en septiembre de 2016 en: <http://www.asturnatura.com/especie/oxalis-pes-caprae.html>.

## N

Naila, S., & Ibrar, M. (2018). Pharmacological Studies of *Oxalis pes-caprae* L. *Pharmacognosy Journal*, 10(4).

Naila, S., & Ibrar, M. (2018). Pharmacological Studies of Oxalis pes-caprae L. *Pharmacognosy Journal*, 10(4).

Newman, K., Ponsky, T., Kittle, K., Dyk, L., Throop, C., Giesecker, K., ... & Gilbert, J. (2003). Appendicitis 2000: variability in practice, outcomes, and resource utilization at thirty pediatric hospitals. *Journal of pediatric surgery*, 38(3), 372-379.

## P

Peirce, C. S. (1997). *Pragmatism as a principle and method of right thinking: The 1903 Harvard lectures on pragmatism*. Suny Press.

## R

Ray, P. D., Huang, B. W., & Tsuji, Y. (2012). Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cellular signalling*, 24(5), 981-990.

## S

Sánchez Macarro, M., Ávila-Gandía, V., Pérez-Piñero, S., Cánovas, F., García-Muñoz, A. M., Abellán-Ruiz, M. S., ... & López-Román, F. J. (2021). Antioxidant effect of a probiotic product on a model of oxidative stress induced by high-intensity and duration physical exercise. *Antioxidants*, 10(2), 323.

Schieber, M., & Chandel, N. S. (2014). ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Current biology*, 24(10), R453-R462

Sfm, C., Van Cauwenberg, J., Maenhout, L., Cardon, G., Lambert, E. V., & Van Dyck, D. (2020). Inequality in physical activity, global trends by income inequality and gender in adults. *International Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity*, 17, 1-8

Sharifi-Rad, M., Anil Kumar, N. V., Zucca, P., Varoni, E. M., Dini, L., Panzarini, E., ... & Sharifi-Rad, J. (2020). Lifestyle, oxidative stress, and antioxidants: back and forth in the pathophysiology of chronic diseases. *Frontiers in physiology*, 11, 694.

Siddiqui, N., Rauf, A., Latif, A., & Mahmood, Z. (2017). Spectrophotometric determination of the total phenolic content, spectral and fluorescence study of the herbal Unani drug Gul-e-Zoofa (*Nepeta bracteata* Benth). *Journal of Taibah university medical sciences*, 12(4), 360-363.

Singh, A. K., Karimpour, S. E., Savani, B. N., Guion, P., Hope, A. J., Mansueti, J. R., ... & Barrett, A. J. (2006). Pretransplant pulmonary function tests predict risk of mortality following fractionated total body irradiation and allogeneic peripheral blood stem cell transplant. *International Journal of Radiation Oncology\* Biology\* Physics*, 66(2), 520-527.

Sircelj, H., PETKOVSEK, M. M., Veberic, R., Hudina, M., & Slatnar, A. (2018). Lipophilic antioxidants in edible weeds from agricultural areas. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 42(1), 1-10.

## T

Tepe, B., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M., & Polissiou, M. (2005). Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food chemistry*, 90(3), 333-340.

**U**

UK, C. (2014). *Oxalis pes-caprae* (L. (1753)), Bermuda buttercup.[pest/pathogen]. *Oxalis pes-caprae* (L. (1753)), Bermuda buttercup.[pest/pathogen]., (AQB CPC record).

Union: from international to transnational health systems? In D. Botterill, G. Pennings and T.

**W**

World Health Organization. (2018). WHO report on surveillance of antibiotic consumption: 2016-2018 early implementation.