

Étude in vitro des propriétés antioxydante, antiproliférative et antimicrobienne de *Salvia clandestina* du Maroc

Study of In Vitro Antioxidant, Antiproliferative and Antimicrobial Properties of *Salvia clandestina* from Morocco

A. Et-Touys · A. Bouyahya · I. Bourais · N. Dakka · Y. Bakri

© Lavoisier SAS 2019

Résumé L'objectif de cette étude vise l'évaluation in vitro de l'activité antioxydante, antiproliférative et antimicrobienne des extraits organiques *Salvia clandestina* du Maroc. L'effet antioxydant est estimé par le test de balayage du radical DPPH. L'activité antiproliférative est évaluée sur deux lignées cellulaires cancéreuses en utilisant le test MTT. L'activité antimicrobienne est évaluée contre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Listeria monocytogenes*. L'extrait d'hexane et de dichlorométhane ont montré des capacités antioxydantes à l'IC₅₀ = 118,28 ± 2,108 et 191,36 ± 2,72 µg/ml, respectivement. Alors que l'extrait méthanolique a montré une remarquable activité antiproliférative contre la lignée RD (IC₅₀ = 86,24 µg/ml). Concernant l'activité antimicrobienne, les extraits hexanique et méthanolique sont plus actifs, alors que *Staphylococcus aureus* s'est montré la plus sensible. Vu les résultats obtenus, *Salvia clandestina* pourrait être considérée comme une source importante de molécules bioactives. Cependant, d'autres investigations sont nécessaires regardant les principes actifs responsables des effets pharmacologiques obtenus ainsi que l'investigation de l'action antibactérienne et anticancéreuse.

Mots clés *Salvia clandestina* · Activité antioxydante · Activité antiproliférative · Activité antimicrobienne

Abstract The aim of this study is the in vitro determination of antioxidant, antiproliferative and antimicrobial activities of organic extracts of *Salvia clandestina* collected in Morocco. Antioxidant effect was estimated by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyle (DPPH) radical scavenging method anti-

proliferative activity was checked on two cancer cells lines according to MTT assay and antimicrobial activities of *Salvia* extracts were tested against pathogen strains including *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. Hexane and dichloromethane extracts showed best antioxidant activities according to their IC₅₀ values equal to 118.28 ± 2.108 and 191.36 ± 2.72 µg/ml, respectively. While, methanolic extract exhibits noteworthy antiproliferative effect on RD line (IC₅₀ = 86.24 µg/ml). Regarding the antimicrobial assays, results showed the sensitivity of *Staphylococcus aureus* to *Salvia* extracts and the highest activities were noticed by both hexanic and methanolic extracts. According to the results obtained from the present study, *Salvia clandestina* could be considered as an important source of biologically active compounds. However, other investigations are necessary to screen the molecules with targeted effects allowing the understanding of the antibacterial and anticancer action.

Keywords *Salvia clandestina* · Antioxidant · Antiproliferative · Antibacterial activity

Introduction

Le cancer est une maladie résultant d'une prolifération non contrôlée des cellules suite à leur désobéissance aux mécanismes normaux de régulation cellulaire. Selon l'OMS, il est considéré comme la deuxième cause de mortalité au monde après les pathologies cardiovasculaires. L'apparition du cancer est très complexe et peut être liée à plusieurs facteurs. Les infections microbiennes et les maladies liées au stress oxydatif sont considérées comme des facteurs de promotion et d'initiation de nombreuses maladies humaines y compris le cancer. En effet, il a été montré aussi que le stress oxydant et l'inflammation ne sont pas seulement la conséquence du cancer, mais ils en sont la cause [1–5].

A. Et-Touys · A. Bouyahya (✉) · I. Bourais · N. Dakka · Y. Bakri

Laboratoire de biologie des pathologies humaines, département de biologie, faculté des sciences, centre de génomique des pathologies humaines, faculté de médecine et de pharmacie, université Mohammed-V, Rabat, Maroc
e-mail : boyahyaa-90@hotmail.fr

En chimiothérapie et en radiothérapie, une toxicité systémique élevée et une résistance aux médicaments limitent les stratégies thérapeutiques pour le cancer. De même, l'utilisation de médicaments anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens dans le traitement de l'inflammation aiguë s'accompagne d'effets secondaires inéluctables. Par conséquent, des traitements fondés sur l'utilisation de médicaments anti-inflammatoires et anticancéreux sont recherchés comme nouvelles thérapeutiques [6,7]. Les propriétés biologiques de certains produits naturels encouragent l'utilisation de ces substances pour le traitement de diverses maladies. Depuis l'Antiquité, de nombreuses plantes contenant une grande variété de composés biologiquement actifs ont été utilisées en pharmacopée traditionnelle pour le traitement de nombreux troubles métaboliques [8]. Parmi ces constituants, les flavonoïdes présentent diverses propriétés biologiques, notamment des activités anticancéreuses, antimicrobiennes, antivirales, anti-inflammatoires, de suppression tumorale et de cytotoxicité [9–12].

Le royaume du Maroc, en raison de sa position géographique et de son paysage spécifique, est connu pour sa richesse en plantes utilisées en médecine traditionnelle [13,14]. Des extraits de plantes ont été utilisés pour le traitement de diverses maladies grâce à leurs vertus thérapeutiques. *Salvia clandestina* Batt. non L. est une espèce de la famille des Lamiaceae répandue dans la région méditerranéenne. Les applications traditionnelles des espèces de *Salvia* sont fondées sur la guérison de divers troubles tels que les rhumatismes, les troubles cardiovasculaires et gastro-intestinaux et l'hypertension artérielle [15]. Des travaux de recherche ont mis en évidence certaines de leurs activités biologiques, notamment antibactérienne, antifongique, d'inhibition enzymatique et de cytotoxicité [16,17]. L'utilisation de cette espèce végétale en particulier et des plantes médicinales en général est due à de nombreuses raisons. Le faible coût et la simplicité des préparations médicamenteuses à base de plantes médicinales ainsi que l'efficacité de ces plantes historiquement enregistrées dans le traitement traditionnel restent les grands atouts de la phytothérapie. Dans ce contexte, le présent travail a pour objectif la mise en évidence des propriétés antioxydante, antiproliférative et antimicrobienne des extraits de *Salvia clandestina*.

Matériel et méthodes

Préparation des extraits organiques

La plante a été récoltée dans la région de Rabat, la ville de Skhirat (34°0'47 N et -6°49'57 W), au mois de mars 2014. Les feuilles ont été coupées et séchées à l'abri de la lumière puis broyées grossièrement dans un moulin électrique. La poudre obtenue a été assujettie à l'extraction par Soxhlet en

utilisant trois solvants organiques (méthanol, hexane et dichlorométhane). L'extracteur de Soxhlet permet le traitement de solides (poudre) avec des solvants en phase liquide ou partiellement vaporisés. Le corps de l'extracteur contient une cartouche en cellulose remplie de matériel végétal. Cette cartouche est fixée sur un réservoir de solvant (ballon) et est surmontée d'un réfrigérant. Le solvant est vaporisé puis condensé tout en restant en contact avec le matériel végétal. La solution collectée dans le ballon s'enrichit de plus en plus en soluté à chaque cycle d'extraction, et le matériel végétal est toujours en contact avec du solvant fraîchement distillé. L'extraction est terminée lorsque le solvant d'extraction devient de plus en plus clair, c'est-à-dire sans proportion significative de soluté. Finalement, les solvants utilisés sont éliminés par évaporation sous pression réduite à l'aide d'un rotavapor.

Activité antiproliférative

Pour étudier l'effet de l'activité cytotoxique des extraits de *Salvia clandestina* sur la viabilité cellulaire, des cellules tumorales sélectionnées ont été incubées avec différentes concentrations d'extraits de la plante étudiée. Les lignées cellulaires tumorales testées dans cette étude ont été fournies par l'Institut national d'hygiène (INH), Rabat-Maroc. Les lignées cellulaires cancéreuses testées RD (ATCC N° CCL-136) rhabdomyosarcome embryonnaire humain et Vero (ATCC N° CCL-81) du rein de singe ont été préalablement cultivées comme décrit par Bouyahya et al. [18]. Brièvement, les cellules ont été cultivées sous forme de monocouches dans un milieu (MEM) additionné de 10 % de sérum de veau fœtal inactivé à la chaleur et de 1 % de mélange de pénicilline–streptomycine. Les cultures ont été maintenues à 37 °C dans une atmosphère à 5 % de CO₂ et à 100 % d'humidité relative. Avant d'évaluer l'activité antiproliférative, la densité cellulaire de chaque espèce a été évaluée au microscope. Lorsque la densité cellulaire atteint un seuil de subconfluence, les cellules ont été attaquées par la trypsine-EDTA 25 % pendant trois minutes, lavées deux fois avec un tampon phosphate (PBS) et centrifugées à 150 rpm pendant 15 minutes (à 4 °C). Les cellules ont été mises en suspension dans le milieu MEM frais. Les cellules ont été dénombrées en utilisant la cellule de Malassez.

Pour la culture cellulaire, 100 µl de milieu MEM à une concentration de 4×10^6 cellules/ml ont été placés dans chaque puits et incubés pendant 24 heures à 37 °C dans des conditions de CO₂ à 5 % et d'air humidifié. Après incubation, les cellules ont été traitées avec les trois extraits de *Salvia clandestina*. Ainsi, 100 µl de chaque concentration (de 31,25 à 500 µg/ml) préparée à partir des extraits dissous dans du DMSO ont été ajoutés à chaque puits. Le DMSO a été utilisé à une concentration finale n'excédant pas 1 % afin d'éviter la mort cellulaire. Les microplaques ont ensuite été incubées à 37 °C pendant 48 heures dans les mêmes conditions citées précédemment.

Pour évaluer la viabilité cellulaire, nous avons fait appel au test MTT (bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2,5-diphényl tétrazolium)) [18]. Le test est fondé sur l'aptitude cellulaire à convertir le MTT en formazan. Le formazan produit est quantifié par spectrophotométrie à 550 nm. Les valeurs d'absorbance (Abs) obtenues sont proportionnelles au nombre de cellules vivantes. Sur le plan pratique, 20 µl de solution MTT (5 mg/ml) ont été ajoutés à chaque micropuits et incubés à 37 °C dans une atmosphère à 5 % de CO₂. Après trois heures d'incubation, la conversion du MTT est arrêtée par addition de 100 µl d'isopropanol (50 % v/v) et de dodécylsulfate de sodium (SDS) [10 % v/v] dans chaque puits afin de dissoudre le formazan insoluble. La réduction du colorant au tétrazolium. Après 30 minutes de réaction à température ambiante, l'absorbance a été mesurée en utilisant un lecteur de plaques Elisa. Tous les essais ont été réalisés en trois répétitions.

La viabilité cellulaire a été évaluée en calculant le pourcentage de cytotoxicité en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ de cytotoxicité} = 100 - \left(\frac{\text{Abs contrôle} - \text{Abs extrait}}{\text{Abs contrôle}} \times 100 \right)$$

Les valeurs d'IC₅₀ ont été déterminées pour tous les extraits de *Salvia clandestina*. Elles correspondent aux concentrations responsables de l'inhibition des 50 % des cellules tumorales testées.

Test du piégeage du radical DPPH

L'évaluation de l'activité de piégeage des radicaux libres des extraits de *Salvia clandestina* a été réalisée selon la méthode décrite par Kubola et Siriamornpun [19] avec quelques modifications. Ainsi, un volume de 1,8 ml de diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) [0,1 mM] a été mélangé à 0,2 ml de chaque extrait à différentes concentrations et laissé réagir à température ambiante pendant 30 minutes. Les réactions ont été effectuées en trois répétitions. Les différents extraits de la plante étudiée ont été préalablement préparés dans le méthanol dans la plage de concentration jusqu'à 1 000 µg/ml et conservés à température ambiante dans l'obscurité. L'acide ascorbique a été utilisé comme composé de référence standard dans les mêmes concentrations. L'absorbance a été mesurée par spectrophotomètre UV-Vis à 517 nm. Les valeurs d'absorbance enregistrées ont été converties en pourcentage d'activité antioxydante en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ de piégeage du radical DPPH} = \frac{\text{Abs contrôle} - \text{Abs extrait}}{\text{Abs contrôle}} \times 100$$

Activité antibactérienne

Souches testées

L'activité antimicrobienne de *Salvia clandestina* a été évaluée contre des bactéries pathogènes, notamment *Escheri-*

chia coli, *Staphylococcus aureus* et *Listeria monocytogenes*. Les germes *Staphylococcus aureus* CECT 976 et *Listeria monocytogenes* sérovar 4b CECT 4032 ont été obtenus auprès de la Collection espagnole des cultures (CECT) et *Escherichia coli* K12 MBLA a été recueillie auprès du laboratoire de microbiologie nutritionnelle, Belgique.

Test de diffusion en puits

Les tests antimicrobiens ont été réalisés en utilisant la méthode de diffusion en puits sur gel [20,21] en utilisant les différents extraits de *Salvia* à une concentration égale à 2,5 mg/ml. Les cultures de bactéries ont été préalablement préparées dans un milieu Luria-Bertoni (LB) contenant 0,8 % d'Agar. Les concentrations bactériennes finales utilisées pour le test correspondent à 10⁶ UFC/ml. Dans des boîtes de Pétri stérilisées, 10 ml du milieu Muller-Hinton Agar (MHA) ont été coulés et laissés se solidifier. Des cylindres stériles en verre ont été déposés, puis le milieu LB enrichi de bactéries a été délicatement coulé au-dessus de la gélose solide MHA. Dans des conditions aseptiques, les cylindres ont été retirés, et les puits formés (diamètre de 8 mm) ont été remplis avec 50 µl d'extraits de *Salvia*. L'eau stérile a été utilisée comme témoin négatif. Les plaques ont été conservées à 4 °C pendant deux heures avant d'être incubées à 37 °C pendant 24 heures. Les résultats sont exprimés par la moyenne du diamètre des zones d'inhibition développées autour des puits.

Détermination des concentrations minimales inhibitrice et bactéricide

La plus faible concentration des extraits inhibant la croissance des bactéries testées a été définie étant la concentration minimale inhibitrice (CMI). L'essai de microdilution en plaque de 96 puits a été utilisé pour déterminer les valeurs CMI relatives aux extraits testés. À cet effet, des dilutions successives des extraits EHSC, EMSC, EDSC ont été réalisées pour obtenir les concentrations appliquées. Les puits de chaque colonne ont été remplis avec 50 µl de milieu LB stérilisé (0,15 %) contenant la bactérie testée (10⁶ UFC/ml) en présence de différentes concentrations d'extraits de *Salvia clandestina*. Ensuite, les microplaques ont été incubées à 37 °C pendant 18 heures. Les contrôles correspondent aux tests effectués en absence d'extrait [20,21].

Finalement, 10 µl de résazurine ont été ajoutés à chaque puits, et les changements de couleur ont été observés et notés. La concentration d'extrait la plus faible, où aucun changement de couleur n'a été observé, correspond à la valeur CMI. La concentration minimale bactéricide (CMB) correspond à la plus faible concentration à laquelle les bactéries n'ont pas pu se développer sur le milieu LB et sur le milieu gélosé (PCA) où elles étaient inoculées. Dix

microlitres ont été prélevés de chacun des puits de culture où la résazurine n'a pas été métabolisée par les bactéries puis inoculés sur du milieu PCA. Les boîtes de Pétri ont été incubées à 37 °C pendant 24 heures [20,21] puis contrôlées afin d'identifier les cultures échouées.

Résultats

Activité antiproliférative

Les activités antioxydantes des composés naturels sont fréquemment accompagnées d'une propriété antiproliférative. Dans ce travail, nous étudions les effets cytotoxiques de trois extraits de *Salvia clandestina* sur les lignées cellulaires cancéreuses RD et Vero. Le test MTT a été utilisé à cette fin, et les résultats obtenus ont été respectivement rapportés (Figs 1, 2). Nous avons pu démontrer que les extraits testés présentaient différentes activités cytotoxiques contre les cellules testées. La croissance des lignées cancéreuses est affectée par la nature de l'extrait. EMSC a montré un effet cytotoxique plus élevée contre les cellules RD en comparaison avec d'autres extraits. Cependant, EHSC inhibe la croissance des cellules Vero plus que d'autres extraits. Les valeurs IC_{50} obtenues montrent que l'inhibition de la croissance des cellules cancéreuses dépend de la dose des extraits de la plante testée (Tableau 1). Les extraits EMSC et EHSC ont respectivement enregistré les plus grandes inhibitions exprimées contre les lignées cellulaires RD et Vero avec des valeurs d' IC_{50} respectives égales de 86,24 et 253,62 $\mu\text{g/ml}$.

Activité antioxydante

Le DPPH est une méthode rapide et sensible pour évaluer la capacité antioxydante des extraits de plantes. Il est fondé sur

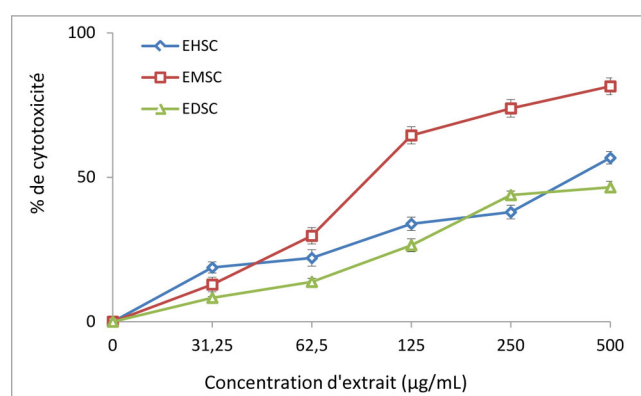


Fig. 1 Activité cytotoxique des différentes concentrations des extraits organiques de *Salvia clandestina* (EHSC, EMSC et EDSC) contre la lignée cellulaire RD par le test MTT. Les résultats sont des moyennes des valeurs \pm écart-type de trois essais

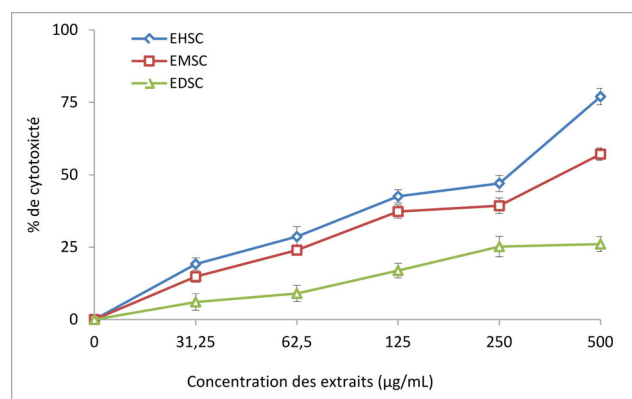


Fig. 2 Activité cytotoxique des différentes concentrations des extraits organiques de *Salvia clandestina* (SCHE, SCME et SCDE) contre la lignée cellulaire Vero par le test MTT. Les résultats sont des moyennes des valeurs \pm écart-type de trois essais

Tableau 1 Valeurs d' IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$) de l'activité cytotoxique des différents extraits de *Salvia clandestina* (EHSC, EMSC et EDSC) contre les lignées cellulaires testées

Lignées cellulaires cancéreuses	EHSC	EMSC	EDSC
RD	432,78	86,24	> 500
VERO	253,62	474,92	> 500

la décoloration du DPPH en présence d'antioxydants dans l'échantillon testé. Le changement de couleur du violet au jaune montre la forte capacité antioxydante d'un échantillon. L'activité antioxydante de *Salvia clandestina* a été évaluée à des concentrations allant de 30 à 1 000 $\mu\text{g/ml}$ de chaque extrait (Fig. 3). L'acide ascorbique et le trolox ont donné des activités antioxydantes élevées avec une valeur d' IC_{50} de 27,20 et 43,72 $\mu\text{g/ml}$ (Fig. 4), respectivement. Les résultats obtenus à partir de l'extrait hexanique (EHSC) ont montré une activité antioxydante importante avec une IC_{50} égale à $118,28 \pm 2,108$ $\mu\text{g/ml}$, bien qu'elle reste plus faible comparativement aux deux standards. Pour les extraits EDSC et EMSC, les valeurs d' IC_{50} obtenues ont été respectivement égales à $191,36 \pm 2,72$ et $413,62 \pm 4,34$ $\mu\text{g/ml}$.

Activité antibactérienne

Dans la présente étude, des extraits réalisés avec l'hexane, le méthanol et le dichlorométhane à partir de *Salvia* ont été testés contre des souches bactériennes. Les diamètres des zones d'inhibition obtenues avec les différents extraits sont rapportés dans le tableau 2. La plupart des extraits ont montré une activité antibactérienne, et les zones d'inhibition étaient comprises entre 10 et 19 mm de diamètre. L'extrait

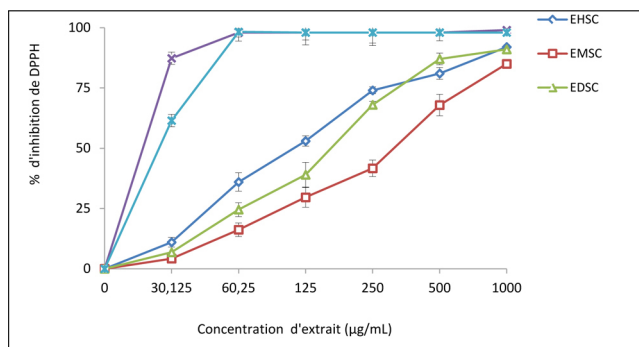


Fig. 3 Piégeage du radical DPPH (%) des extraits organiques de *Salvia clandestina* et des antioxydants standard

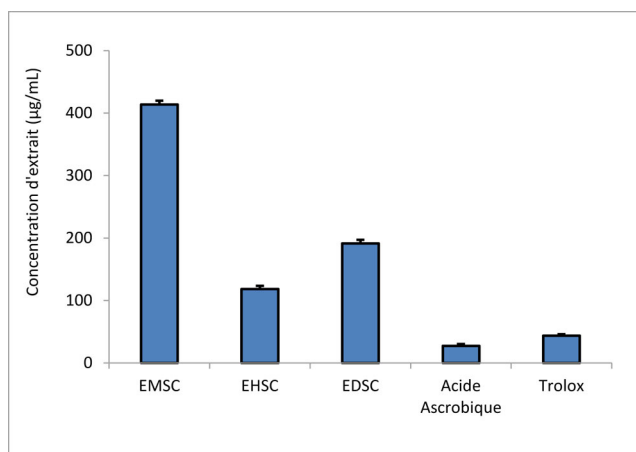


Fig. 4 Valeurs d'IC₅₀ en µg/ml de l'activité antioxydante des extraits organiques de *Salvia clandestina* et des antioxydants standard

Tableau 2 Diamètres de la zone d'inhibition des extraits de <i>Salvia clandestina</i> (EHSC, EMSC et EDSC) contre les souches bactériennes utilisées			
Micro-organismes	Diamètres de la zone d'inhibition (mm)		
	EHSC	EDSC	EMSC
<i>Escherichia coli</i>	10 ± 0,5	Na	Na
<i>Staphylococcus aureus</i>	16 ± 1	13 ± 1,5	19 ± 1,5
<i>Listeria monocytogenes</i>	18 ± 0,5	10 ± 1,5	11 ± 0,33

EHSC présentait l'activité antibactérienne la plus élevée contre *Listeria monocytogenes* avec une zone d'inhibition de 18 ± 0,5 mm de diamètre. Les extraits méthanolique et de dichlorométhane ont montré des zones d'inhibition moyennes de 10 ± 1,5 et 11 ± 0,33 mm de diamètre respectivement. Cependant, aucun effet antibactérien n'a été

observé en utilisant à la fois des extraits dichlorométhanoliques et méthanoliques contre *Escherichia coli*.

Les tests de microdilution sur microplaque ont permis de déterminer des concentrations minimales provoquant l'inhibition et la croissance de différentes bactéries testées en utilisant trois extraits de *Salvia clandestina*. Les résultats obtenus sont reportés dans le tableau 3. La plus faible CMI obtenue correspond à l'extrait d'hexane. Un milligramme par millilitre d'EHSC était capable d'inhiber *Staphylococcus aureus*. Tandis que *Listeria monocytogenes* était inhibée à 2 mg/ml du même extrait. Avec cet extrait, la CMI était égale à la valeur CMB contre *Listeria monocytogenes*.

Discussion

Au Maroc, les plantes médicinales sont largement utilisées dans les préparations traditionnelles pour traiter plusieurs maladies. Environ 80 % de la population fait appel à la phytothérapie pour faire face à plusieurs pathologies [15,22,23]. Le paysage marocain est riche de diverses espèces avec de nombreuses applications. Les activités les plus rencontrées sont dues à la présence de nombreux composés phytochimiques dans les extraits de plantes.

Le cancer est une cause majeure de mortalité dans le monde entier. Aujourd'hui, la recherche de molécules alternatives aux traitements existants, capables de cibler les cellules tumorales, est un défi majeur. Les plantes médicinales traditionnellement connues pour leurs vertus thérapeutiques variées seraient une bonne source de médicaments antitumoraux. Dans ce travail, nous avons mis en évidence des effets antiprolifératifs des extraits de *Salvia clandestina*. Ces effets cytotoxiques pourraient être attribués à la présence de polyphénols et de flavonoïdes qui sont des composés phytochimiques majeurs [24]. Une étude récente a montré une activité cytotoxique importante des extraits de *Salvia verbenaca* [25]. Les effets cytotoxiques ont été attribués également aux composés phénoliques présents dans ces extraits [25]. En effet, plusieurs travaux ont montré que les composés phénoliques, en particulier les flavonoïdes, expriment des propriétés anticancéreuses intéressantes [26]. Les mécanismes d'action de ces composés sur les cellules cancéreuses sont multiples et très spécifiques. Ils comprennent l'inhibition du cycle cellulaire, l'induction d'apoptose et d'autophagie et l'inhibition de l'angiogenèse [26].

Le stress oxydatif est fortement impliqué dans plusieurs maladies telles que le cancer, l'inflammation et le diabète. Les métabolites secondaires des plantes médicinales tels que les polyphénols et les flavonoïdes ont montré des effets antioxydants importants. Dans notre étude, les extraits de *Salvia clandestina* ont montré une capacité importante à piéger le radical libre DPPH. Comme rapporté dans de récents travaux de recherche, les fortes concentrations d'acides

Tableau 3 Valeurs de CMI et CMB ($\mu\text{g/ml}$) des extraits de <i>Salvia clandestina</i> (EHSC, EMSC et EDSC) contre les souches bactériennes testées						
Bactéries	EHSC		EDSC		EMSC	
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
<i>Escherichia coli</i>	4	8	> 8	ND	> 8	ND
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	4	8	> 8	8	> 8
<i>Listeria monocytogenes</i>	2	2	4	8	4	4

phénoliques et de divers dérivés flavonoïdes révélés dans différents extraits de plantes du genre *Salvia* pourraient expliquer leurs activités biologiques. En effet, les mêmes extraits des organiques de *Salvia clandestina* ont été révélés riches en composés phénoliques, en particulier les polyphénols et les flavonoïdes (Tableau 4). L'extrait méthanolique a montré une teneur importante en polyphénols totaux ($107,52 \pm 3,12$ mg EAG/g extrait) par rapport aux extraits d'hexane et de dichlorométhane. Cependant, l'extrait hexanique a révélé la concentration la plus élevée en flavonoïdes totaux ($24,64 \pm 3,65$ mg EQ/g extrait) [24].

Par ailleurs, il a été reporté que les extraits de *Salvia officinalis* ont exercé également une activité antioxydante avec une corrélation nettement positive entre les teneurs en flavonoïdes et polyphénols totaux et l'effet antioxydant contre le radical DPPH [27]. D'autres travaux ont mis en évidence les activités antioxydantes importantes des plantes appartenant à la famille des Lamiacées [28–31].

Les infections microbiennes peuvent également être à l'origine de l'apparition de plusieurs maladies, entre autres le cancer. La résistance développée contre les antibiotiques et les infections bactériennes pose un problème sérieux pour la santé dans le monde entier, en particulier en Afrique. Dans cette étude, nous avons montré que les extraits de *Salvia clandestina* inhibent la croissance bactérienne à de faibles concentrations. Cette activité est certainement due à la présence de composés bioactifs induisant une action bactériostatique ou bactéricide. En effet, l'action antibactérienne est certainement due aux composés phénoliques contenant

dans ces extraits tels que les polyphénols et les flavonoïdes [24]. Ce résultat a été également reporté dans notre étude sur l'activité antibactérienne des extraits de *Salvia officinalis* [24]. Il a été également démontré qu'*Escherichia coli* semble être la bactérie la plus résistante à l'effet inhibiteur de l'extrait de *Salvia*. En effet, les bactéries Gram négatif sont plus résistantes aux inhibiteurs phytochimiques que les bactéries Gram positif [31,32]. Cela revient certainement à la différence structurale entre la paroi des bactéries à Gram– et celle des bactéries à Gram+. En effet, la présence de deux membranes de lipopolysaccharides chez les bactéries à Gram– prévient la pénétration des agents antibactériens [33]. Cependant, d'autres mécanismes pourraient aider à la compréhension de la capacité de certaines bactéries à échapper de l'effet inhibiteur de certains extraits de plantes [32,33]. Cependant, à ce jour, ces mécanismes associés à cette résistance sont encore mal élucidés.

Conclusion

Le Maroc possède une grande variété d'espèces végétales qui pourraient être une source importante de composés dotés d'importantes activités biologiques. Ces composés sont capables, entre autres, de lutter contre les souches pathogènes et, par conséquent, d'éviter les infections et le processus d'initiation du cancer. Le présent travail a porté sur *Salvia clandestina* ; une plante largement utilisée en médecine traditionnelle du Maroc. Les activités antioxydante, antibactérienne et cytotoxique de ses différents extraits ont été mises en évidence. Cette étude s'inscrit dans la recherche de nouvelles sources naturelles de molécules aux vertus thérapeutiques comme alternatives aux médicaments de synthèse aux nombreux inconvénients (résistance et effets secondaires). En effet, dans ce travail, nous avons pu montrer que les extraits de *Salvia clandestina* présentent des activités antioxydantes et antibactériennes en plus des propriétés cytotoxiques contre des lignées cellulaires cancéreuses. Toutes les activités mises en évidence dépendent de la concentration et de la nature des extraits testés. Les résultats obtenus restent très encourageants et ouvrent l'opportunité à la réalisation d'autres études sur les plantes de la famille des

	Extraits		
	EMS	EDSC	EHSC
Polyphénols (mg EAG/g extrait)	$107,52 \pm 3,12$	$74,41 \pm 4,96$	$95,34 \pm 2,35$
Flavonoïdes (mg EQ/g extrait)	$23,60 \pm 1,42$	$16,31 \pm 3,69$	$24,64 \pm 3,65$
EAG : équivalent acide gallique ; EQ : équivalent quercétine			

Lamiaceae, aussi bien sur leurs extraits organiques que sur leurs huiles essentielles, afin de définir les composés responsables des différentes activités exprimées. Ces études permettraient de mieux valoriser les plantes médicinales puisque, à ce jour, les travaux de recherches réalisés dans cette optique restent limités.

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

Références

- Santangelo C, Vari R, Scaccocchio B, et al (2007) Polyphenols, intracellular signalling and inflammation. *Ann Ist Super Sanita* 43:394–405
- Coussens LM, Werb Z (2002) Inflammation and cancer. *Nature* 420:860–7
- Shacter E, Weitzman SA (2002) Chronic inflammation and cancer. *Oncology* 16:217–26
- Fox JG, Wang TC (2007) Inflammation, atrophy and gastric cancer. *J Clin Invest* 117:60–9
- Dobrovolskaia MA, Kozlov SV (2005) Inflammation and cancer: when NF-kappaB amalgamates the perilous partnership. *Curr Cancer Drug Targets* 5:325–44
- Zhuang H, Jiang W, Cheng W, et al (2010) Down-regulation of HSP27 sensitizes TRAIL-resistant tumor cell to TRAIL-induced apoptosis. *Lung Cancer* 68:27–38
- Yoon JH, Baek SJ (2005) Molecular targets of dietary polyphenols with anti-inflammatory properties. *Yonsei Med J* 46:585–96
- Aggarwal BB, Shishodia S (2006) Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. *Biochem Pharmacol* 71:1397–421
- Abdel-salam AA, Ghazy NM, Sallam SM, et al (2018) Flavonoids of *Alcea rosea* L. and their immune stimulant, antioxidant and cytotoxic activities on hepatocellular carcinoma HepG-2 cell line. *Nat Prod Res* 32:702–6
- Srivastava AK, Singh D, Roy BK (2017) Structural interactions of curcumin biotrans formed molecules with the N-terminal residues of cytotoxic-associated gene A protein provide insights into suppression of oncogenic activities. *Interdiscip Sci* 9:116–29
- Ren J, Zheng Y, Lin Z, et al (2017) Macroporous resin purification and characterization of flavonoids from *Platyclus orientalis* (L.) Franco and their effects on macrophage inflammatory response. *Food Funct* 8:86–95
- Wang X, Ouyang YY, Liu J, et al (2014) Flavonoid intake and risk of CVD: a systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *Br J Nutr* 111:1–11
- Salhi N, Bouyahya A, Fettach S, et al (2019) Ethnopharmacological study of medicinal plants used in the treatment of skin burns in occidental Morocco (area of Rabat). *S Afr J Bot* 121:128–42
- Bouyahya A, Abrini J, Et-Touys A, et al (2017) Indigenous knowledge of the use of medicinal plants in the North-West of Morocco and their biological activities. *Eur J Integ Med* 13:9–25
- Eddouks M, Ajbli M, Hebi M (2017) Ethnopharmacological survey of medicinal plants used in Daraa-Tafilalet region (province of Errachidia), Morocco. *J Ethnopharmacol* 198:516–30
- Alimpić A, Knežević A, Milutinović M, et al (2017) Biological activities and chemical composition of *Salvia amplexicaulis* Lam. extracts. *Ind Crops Prod* 105:1–9
- Tan N, Yazıcı-Tütüniş S, Yeşil Y, et al (2017) Antibacterial activities and composition of the essential oils of *Salvia sericeotomentosa* varieties. *Nat Prod* 11:456–61
- Bouyahya A, Bakri Y, Et-Touys A, et al (2018) In vitro antiproliferative activity of selected medicinal plants from the North-West of Morocco on several cancer cell lines. *Eur J Integ Med* 18:23–9
- Kubola J, Siriamornpun S (2008) Phenolic contents and antioxidant activities of bitter melon (*Momordica charantia* L.) leaf, stem and fruit fraction extracts in vitro. *Food Chem* 110:881–90
- Bouyahya A, Dakka N, Talbaoui A, et al (2017) Correlation between phenological changes, chemical composition and biological activities of the essential oil from Moroccan endemic *Origanum compactum* Benth). *Ind Crop Prod* 108:729–37
- Bouyahya A, Dakka N, Bourais I, et al (2019) Could volatile compounds from leaves and fruits of *Pistacia lentiscus* constitute a novel source of anticancer, antioxidant, antiparasitic and antibacterial drugs? *Ind Crop Prod* 128:62–9
- Fakhich J, Elachouri M (2014) Ethnobotanical survey of medicinal plants used by people in Oriental Morocco to manage various ailments. *J Ethnopharmacol* 154:76–87
- Salhi S, Fadli M, Zidane L, et al (2010) Études floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville de Kénitra (Maroc). *Lazaroa* 31:133–46
- Et-Touys A, Fellah H, Sebti F, et al (2016) In vitro antileishmanial activity of extracts from endemic Moroccan medicinal plant *Salvia verbenaca* (L.) Briq. ssp *verbenaca* Maire (*Salvia clandestina* Batt. non L.) *Eur J Med Plant* 16:1–8
- Guaouguaou FE, Bebaha MAA, Taghzouti K, et al (2018) Cytotoxicological investigation of the essential oil and the extracts of *Cotulacina* and *Salvia verbenaca* from Morocco. *Biomed Res Int* 7163961:5
- El Bairi K, El-Meghawry El-Kenawy A, Heshu R, et al (2016) Natural products against cancer angiogenesis. *Tumor Biol* 37:14513–36
- Et-Touys A, Fellah H, Mniouil M, et al (2016) Screening of antioxidant, antibacterial and antileishmanial activities of *Salvia officinalis* L. extracts from Morocco. *Br Microbiol Res J* 16:1–10
- Bouyahya A, Et-Touys A, Bakri Y, et al (2017) Chemical composition of *Mentha pulegium* and *Rosmarinus officinalis* essential oils and their antileishmanial, antibacterial and antioxidant activities. *Microb Pathog* 111:41–9
- Bouyahya A, Abrini J, Bakri Y, et al (2017) Screening phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'*Origanum compactum*. *Phytothérapie* 15:379–83
- Bouyahya A, Et-Touys A, Abrini J, et al (2017) *Lavandula stoechas* essential oil from Morocco as novel source of antileishmanial, antibacterial and antioxidant activities. *Biocatal Agric Biotechnol* 12:179–84
- Bouhdid S, Skali SN, Idaomar M, et al (2008) Antibacterial and antioxidant activities of *Origanum compactum* essential oil. *Afr J Biotechnol* 7:1563–70
- Bouyahya A, Dakka N, Et-touysA, et al (2017) Medicinal plant products targeting quorum sensing for combating bacterial infections. *Asian Pacif J Trop Med* 10:729–43
- Bouyahya A, Guaouguaou FE, Dakka N, et al (2018) Quorum sensing : une nouvelle cible anti-infectieuse des plantes médicinales. *Phytothérapie* 16:365–73