

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 بلحاج بوشعيب عين تموشنت  
Université–Ain Temouchent- Belhadj Bouchaib  
Faculté des Sciences et de Technologie  
Département Science de la Nature et la Vie



Projet de Fin d'Etudes  
Pour l'obtention du diplôme de Master en : Biochimie  
Domaine : Science de la Nature et la Vie  
Filière : Sciences biologiques  
Spécialité : Biochimie  
Thème

**Recherche d'activités biologiques dans les graines de  
*Salvia hispanica***

**Présenté Par :**

- 1) Melle HASSINI Yamna Amouna
- 2) Melle Horch Achouak

**Devant le jury composé de :**

Dr. Ouassila BENHABIB	(M C A) UAT.B.B (Ain Temouchent)	Président
Dr. Meryem ABI-AYAD	(M C B) UAT.B.B (Ain Temouchent)	Examineur
Dr. Sofiane Mourad BENYAMINA	(M C B) UAT.B.B (Ain Temouchent)	Encadrant

*Année Universitaire 2021/2022*

# **Remerciements**

*Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux qui nous a donné la force, le courage, la santé et la patience d'accomplir ce mémoire.*

*Nous remercions notre encadrant, Mr.Sofiane Mourad BENYAMINA pour avoir accepté de nous encadrer et d'assurer la direction de ce travail, pour nous avoir apporté la rigueur scientifique nécessaire à son bon déroulement, pour la confiance qui nous a accordé.*

*Nous exprimons notre gratitude à Dr. Ouassila BENHABIB de nous avoir honoré en président le jury.*

*Nous adressons aussi notre sincère remerciement à Dr. Meryem ABI-AYAD d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nos vifs remerciements à nos chers parents et à notre famille qui attendaient avec impatience notre succès et pour leurs soutiens et leurs encouragements.*

*Nous tenons également à remercier l'ensemble des nos enseignants de l'Université Belhadj Bouchaib Ain Témouchent qui ont contribué à notre formation durant les 5 années.*

*Enfin, nous adressons nos remerciements à tous nos proches et amis, et aux personnes qui ont participés de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

## ***Je dédie ce travail***

*A mes parents la lumière de ma vie, mon source de joie et bonheur, qui m'ont encouragé et soutenu dans les moments les plus difficile, qui m'ont tout donné sans rien en retour et pour leur amour, sacrifice et patience. Merci pour l'éducation et de m'avoir accompagné tout au long de ces années d'études.*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, et le respect que j'ai toujours eu pour vous. J'espère qu'un jour je pourrai rendre une partie du travail qu'ils ont fait pour moi, que dieu vous prête bonheur, longue vie et bonne santé, un grand merci*

***papa et maman.***

*A mon très cher frère **Amine**, qui a été toujours à mes cotés, je le souhaite tout le bonheur et la réussite dans sa vie.*

*A toute ma famille.*

*A ma chère binôme **Amouna** et toute sa famille. Merci.*

*A celles avec qui j'ai partagé des merveilleux moments et de joies dans ma vie, **Imene, Ouassila, Amel, Samia, Fatna, Fadia et Kawter.***

*A tous ceux que j'aime et à toutes personnes qui m'ont encouragé ou aidé tout au long de mes études.*

*A tous ceux qui m'ont aidé d'une façon ou d'une autre, de près ou de loin dans ce travail, je leur suis reconnaissante du fond du cœur, merci ! Que Dieu vous réserve de très belles surprises dans votre vie.*

***Achouak***

## ***Je dédie ce travail***

*A ma très chère mère, la source de mes efforts, tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse qui n'a pas cessé de m'encourager. Aucune dédicace ne saurait exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices et les efforts que tu n'as jamais cessé de me donner.*

*A la mémoire de mon cher père.*

*A mes grands-parents qui m'ont toujours soutenu dans ma vie et pour leur amour, sacrifice, soutien et patience durant toute ma vie.*

*Que dieu vous bénisse et vous accorde une longue vie pleine de santé et de bonheur.*

*A ma chère tante **Fatima**, mon exmple, qui m'a toujours encouragé et soutenu, je la souhaite tout le bonheur.*

*A mon chère uncle, mes chères tantes et mes cousins.*

*A mes chères sœurs **Dounia** et **Maroua** que je les souhaite le bonheur et la réussite dans leur vie.*

*A toute ma famille et la famille **Bouazza Marouf** en particulier mon confident **Mohamed Amine**.*

*A ma chère binôme **Achouak** et sa famille.*

*A celles avec qui j'ai partagé des merveilleuses années d'études, de joies, mes chères amies, **Fadia**, **Fatna** et **Kawter**.*

*A tous ceux qui m'ont aidé d'une façon ou d'une autre, de près ou de loin dans ce travail, je leur suis reconnaissante du fond du cœur, merci ! Que Dieu vous réserve de très belles surprises dans votre vie.*

***Yamna Amouna***

# Sommaire

Remerciements

Dédicace

LISTE DES ABRIVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

<b>Introduction générale</b> .....	1
<b>Synthèses bibliographique</b>	
1. Les propriétés biologiques .....	2
1.1 Les propriétés antioxydantes.....	3
1.2 Les propriétés anti-inflammatoires.....	5
1.3 Les propriétés enzymatiques .....	8
1.4 Autres propriétés biologiques .....	11
2.Importance des propriétés biologiques .....	12
3.Les différentes sources des propriétés biologiques .....	13
4.La plante <i>Salvia hispanica</i> .....	16
4.1 Les caractéristiques de la plante <i>Salvia hispanica</i> .....	17
<b>Matériel et méthodes</b>	
1. Récolte du matériel végétal.....	20
2. Préparation de la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> .....	20
3. Détermination du pH de la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> .....	21
4. Dosage des protéines .....	21
5. Recherche d'activité antioxydante dans la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> .....	21
5.1 Recherche d'activité catalasique dans la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> .....	21
5.2 La méthode de piégeage du DPPH .....	22
6. Recherche d'activité anti-inflammatoire dans la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> .....	24
7. Recherche d'activité enzymatique dans la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> .....	25
7.1 Recherche d'activité amylasiques dans la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> .....	25
7.2 Recherche d'activité lipasique dans la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> .....	26
7.3 Recherche d'activité gélatinasiqye dans la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> .....	27
7.4 Influence du pH et de la température sur l'activité des 3 enzymes testés.....	28
7.4.1 Influence du pH sur l'activité des 3 enzymes testés .....	28
7.4.2 Influence de la température sur l'activité des 3 enzymes testés.....	29
7.5 Influence du traitement pH et du traitement thermique sur la stabilité des 3enzymes testés .....	29
7.5.1 Influence du traitement pH sur la stabilité des 3 enzymes testés.....	29
7.5.2 Influence du traitement thermique sur la stabilité des 3 enzymes testés.....	29

## **Résultats et discussion**

1. Le matériel biologique.....	30
2. Détermination du pH de la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> .....	30
3. Dosage des protéines de la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> .....	30
4. Recherche d'activité antioxydante dans la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> . ....	31
4.1 Recherche d'activité catalasique dans la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> .....	31
4.2 Recherche d'activité anti-radicalaire chez la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> par la méthode de piégeage du DPPH.....	32
5. Recherche d'activité anti-inflammatoire dans la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> .....	36
6. Recherche d'activité enzymatique dans la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> .....	39
6.1 Recherche d'activité amylasiques, lipasique et gélatinasiqye dans la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> .....	39
6.2 Influence du pH et de la température sur l'activité amylasique et lipasique.....	44
6.3 Influence du pH et du traitement thermique sur la stabilité des amylases et des lipases de la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> .....	47
<b>Discussion générale</b> .....	52

## **Conclusion et prescriptives**

## **Références**

## **Résumé**

## LISTE DES ABRIVIATIONS

<b>%</b> : pourcentage	<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b> : peroxyde d'hydrogène
<b>°C</b> : DegréCelsius	<b>HCl</b> : chlorure d'hydrogène
<b>ADN</b> :Acide désoxyribonucléique	<b>IKI</b> : iode/potassium iodure
<b>AINS</b> :anti-inflammatoires non stéroïdiens	<b>M</b> :Molaire
<b>AIS</b> :anti-inflammatoires stéroïdiens	<b>mg</b> :milligramme
<b>AMP</b> : lespeptidesantimicrobiens	<b>min</b> : minute
<b>APX</b> :l'ascorbate peroxydase	<b>mm</b> :millimètre
<b>AsA</b> : l'acide ascorbique	<b>mM</b> : milli molaire
<b>CAT</b> : la catalase	<b>mL</b> :millilitre
<b>cm</b> : centimètre	<b>μL</b> :microlitre
<b>COX</b> : cyclooxygénase	<b>NaOH</b> :d'hydroxy de sodium
<b>DO</b> : densité optique	<b>nm</b> :nanomètre
<b>DPPH</b> : α-DiPhényle-βPicrylHydrazyl	<b>L</b> : Litre
<b>EC</b> : enzyme commission	<b>OH•</b> :radical hydroxyl
<b>ERO</b> : espèces réactives de l'oxygène	<b>O<sub>2</sub></b> :molécule d'oxygène
<b>g</b> : gramme	<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b> l'anionsuperoxyde
<b>GPX</b> : glutathion peroxydase	<b>pH</b> : potentiel d'Hydrogène
<b>GR</b> : glutathion réductase	<b>PG</b> : lesprostaglandines
<b>GSH</b> : le glutathion	<b>SOD</b> : la superoxydedismutase
<b>GSSG</b> : disulfurede glutathion	<b>COX</b> : cyclooxygénase
<b>h</b> : heure	<b>μg</b> : microgramme
<b>H<sub>2</sub>O</b> : moléculed'eau	

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1:</b> Schéma de la réaction inflammatoire et la biosynthèse des prostaglandines adapté selon Ricciotti et FitzGerald, (2011) ; Patil <i>et al.</i> ,(2019). .....	6
<b>Figure 2 :</b> Représentation de la liaison du substrat au site actif d'une molécule d'enzyme (Robinson, 2015).....	8
<b>Figure 3:</b> La plante <i>Salvia hispanica</i> , (A) fleurs de couleur blanche, (B) fleurs de couleur violette (Grimes <i>et al.</i> , 2012 ; Ayerza, 2013).....	18
<b>Figure 4 :</b> Les graines de <i>Salvia hispanica</i> (Motyka <i>et al.</i> , 2022) .....	18
<b>Figure 5 :</b> Matériel biologique utilisé, (A) les graines de <i>Salvia hispanica</i> , (B) la poudre des graines de <i>Salvia hispanica</i> . .....	20
<b>Figure 6 :</b> Résultat de la mesure du pH de la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> . .....	30
<b>Figure 7 :</b> Courbe étalon de l'hémoglobine. ....	30
<b>Figure 8 :</b> Courbe étalon de l'H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	31
<b>Figure 9 :</b> Capacité de dégradation de l'H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> par la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> .(A) : Cinétique de la dégradation de l'H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , (B) : Pourcentage de dégradation de l'H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> en fonction du temps. ....	32
<b>Figure 10 :</b> Courbe étalon du DPPH.....	33
<b>Figure 11:</b> Influence de la concentration de la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> sur la dégradation du DPPH.....	33
<b>Figure 12 :</b> Pourcentage de dégradation du DPPH par les différentes concentrations de la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> .....	34
<b>Figure 13 :</b> Dégradation du DPPH et détermination de l'IC <sub>50</sub> par la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> à différentes concentrations. ....	35
<b>Figure 14 :</b> Courbes étalons de l'ovalbumine. ....	36
<b>Figure 15:</b> Résultats de l'inhibition de la dégradation de l'albumine de l'œuf, par la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> suite au traitement thermique.....	38
<b>Figure 16 :</b> Dégradation de l'ovalbumine et détermination de l'IC <sub>50</sub> par la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> à différentes concentrations .....	38
<b>Figure 17 :</b> Courbe étalon de l'amidon. ....	40
<b>Figure 18 :</b> Courbe de la cinétique de la dégradation de l'amidon en fonction de temps.....	41
<b>Figure 19 :</b> Courbe de la cinétique de la libération des acides gras en fonction de temps. ....	42
<b>Figure 20 :</b> Résultat de recherche de l'activité gélatinasiqye dans les graines de <i>Salvia hispanica</i> .....	43
<b>Figure 21:</b> Détermination du pH optimal (A) et de la température optimale (B) de l'activité amyliasiqye de la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> .....	44

<b>Figure 22:</b> Détermination du pH optimal (A) et de la température optimale (B) de l'activité lipasique de la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> . .....	46
<b>Figure 23:</b> l'influence du traitement pH (A) et du traitement thermique (B) sur la stabilité des amylases des graines de <i>Salvia hispanica</i> après 1h de traitement. ....	47
<b>Figure 24 :</b> Influence du traitement pH (A) et du traitement thermique (B) sur la stabilité des lipases des graines de <i>Salvia hispanica</i> après 1h de traitement.....	49

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1</b> : Classification taxonomique de <i>Salvia hispanica</i> (Divyapriya <i>et al.</i> ,2016 ; KnezHrnčič <i>et al.</i> , 2019 ; Grancieri <i>et al.</i> , 2019).....	16
<b>Tableau 2</b> : la gamme d'étalon pour la préparation du courbe étalon de l'hémoglobine.....	21
<b>Tableau 3</b> : la gamme d'étalon pour la préparation du courbe étalon de l'H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	22
<b>Tableau 4</b> : la gamme d'étalon pour la préparation du courbe étalon du DPPH .....	23
<b>Tableau 5</b> : la gamme d'étalon pour la préparation du courbe étalon de l'albumine.....	24
<b>Tableau 6</b> : la gamme d'étalon pour la préparation du courbe étalon de l'amidon. ....	26
<b>Tableau 7</b> : Tableau récapitulatif des résultats de la caractérisation enzymatique de l'activité et de la stabilité des amylases et des lipases des graines de <i>Salvia hispanica</i> . ....	51

# ***I**ntroduction générale*

L'être humain a toujours essayé de rechercher pour ses besoins fondamentaux comme par exemple pour se soigner (Henderson, 1960) et pour sa santé, des propriétés biologiques importantes telles que les propriétés antimicrobiennes (Mayer et Jacobs, 1988), les propriétés antioxydantes (Arulselvan *et al.*, 2016), et les propriétés anti-inflammatoires (Chen *et al.*, 2020). Ces propriétés peuvent être trouvées chez les différents organismes vivants telles que les micro-organismes (Gisilin *et al.*, 2018), les animaux (Mahawar et Jaroli, 2006) et les plantes (Kheroda *et al.*, 2019).

Les plantes ont une capacité à biosynthétiser une large gamme de molécules ayant des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires (Kasote *et al.*, 2015 ; Bencheikh *et al.*, 2021) telles que les flavonoïdes et les composés phénoliques qui exercent un rôle efficace en tant que facteurs antioxydants et anti-inflammatoires (Ravipati *et al.*, 2012), et des molécules enzymatiques telles que les lipases qui interviennent dans la dégradation des lipides, afin de fournir de l'énergie nécessaire à la germination de la graine et au développement de la jeune plante (Fickers *et al.*, 2008).

Les plantes sont utilisées en médecine pour traiter ou prévenir certaines maladies (Ming *et al.*, 2003), comme par exemple, la plante de *Salvia hispanica* qui a été traditionnellement utilisée dans le traitement de la tuberculose, du diabète, de la bronchite, des infections et pour maintenir un niveau sain de lipides sériques (Güzel *et al.*, 2020). La plante *Salvia hispanica* présente plusieurs propriétés biologiques, telles que des propriétés antioxydantes (Coates, 2011), des propriétés anti-inflammatoires (Chan-Zapata *et al.*, 2019), et d'autres propriétés telles que antihypertensives et hypoglycémiantes (Grancieri *et al.*, 2019). Les graines de *Salvia hispanica* possèdent aussi plusieurs propriétés biologiques importantes telles que des propriétés antioxydantes (Sargi *et al.*, 2013), anticancéreuses (Craig, 2004) et anti-inflammatoires (Roohi, 2020).

Vu l'importance des propriétés biologiques, l'objectif de notre travail est de rechercher 3 activités biologiques au niveau des graines de *Salvia hispanica*. Des antioxydantes (Catalases et piégeage du DPPH), anti-inflammatoire (Inhibition de la dénaturation de l'ovalbumine) et enzymatiques (Caractérisation des amylases, lipases et gélatinases).

# *Synthèse bibliographique*

## **1. Les propriétés biologiques**

L'homme a toujours essayé de rechercher pour ses besoins fondamentaux comme par exemple pour se soigner (Henderson, 1960) et pour sa santé, des propriétés biologiques importantes telles que des propriétés antioxydantes (Arulselvan *et al.*, 2016), des propriétés enzymatiques (Gurung *et al.*, 2013) et des propriétés anti-inflammatoires (Chen *et al.*, 2020). La nature et ce qui la constitue sont des sources importantes en propriétés biologiques, pour cela les scientifiques et les spécialistes de ce domaine ont développé de nouveaux médicaments à partir de l'utilisation de sources naturelles, en raison des propriétés thérapeutiques qu'elles possèdent (Maciel *et al.*, 2002).

Certains médicaments sont dotés de propriétés biologiques importantes, sont issues de métabolites secondaires isolés de sources naturelles différentes, comme les microorganismes (Vijayakumar *et al.*, 2016; Mi *et al.*, 2017 ; Zheng *et al.*, 2021) et les plantes (Teoh, 2016). Les métabolites secondaires peuvent provenir de produits naturels provenant de diverses sources, comme les plantes terrestres, les animaux, les organismes marins et les microorganismes (Chin *et al.*, 2006). Ces molécules sont diverses et agissent comme une classe thérapeutique, pour soigner plusieurs maladies et pour améliorer la santé humaine (Siddiqui *et al.*, 2014).

Compte tenu des succès historiques des métabolites secondaires des produits naturels, de grandes sociétés pharmaceutiques ont investi dans ce domaine traditionnel (Maher, 2020), ce qui a permis aux chercheurs de découvrir les effets biologiques de ces composés naturels sur l'être humain, afin de développer de nouvelles thérapies (Ji *et al.*, 2009). Et on parle ainsi de phytothérapie, lorsque cette thérapie est développée à partir de végétaux (Niero, 2010), et de zoothérapie, lorsque cette thérapie est développée à partir des animaux (Alves et Rosa 2005).

Les propriétés biologiques permettent aux organismes de disposer d'un vaste réseau de défense (Pincemail *et al.*, 2009), comme par exemple, la défense antioxydante pour faire face à un stress oxydatif (Gill et Tuteja, 2010 ; Hasanuzzaman *et al.*, 2012 ; Kaur *et al.*, 2019).

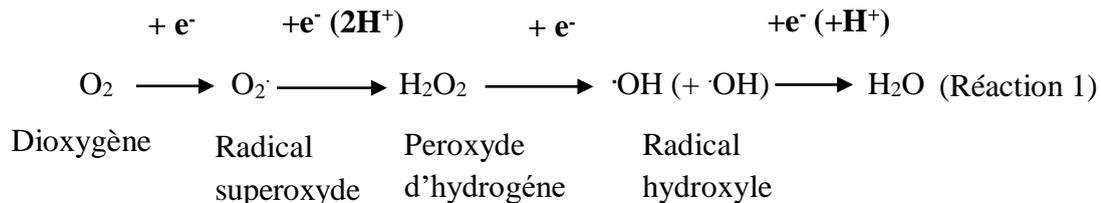
Parmi les propriétés biologiques les plus importantes on peut citer les propriétés antioxydantes, les propriétés anti-inflammatoires et les propriétés enzymatiques.

## 1.1 Les propriétés antioxydantes

Le stress oxydatif est un déséquilibre profond de la balance entre la production des oxydants et les antioxydants en faveur des premiers (Pincemail *et al.*, 1999), pouvant entraîner des altérations moléculaires et cellulaires irréversibles (Gutteridge, 1993 ; Pincemail *et al.*, 1999).

Dans les conditions normales, la balance antioxydants/production-d'oxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou suite à une surproduction de radicaux libres, ça conduit à un stress oxydatif (Gutteridge, 1993 ; Favier, 2001). Un radical libre est une entité chimique qui contient un électron non apparié (électron libre) (Forrester *et al.*, 1968 ; Chechik et Murphy, 2016), produit par une réaction chimique appelée l'oxydation (Chandrasekara et Shahidi, 2011).

Lors du métabolisme normal, la réduction tétravalente de l'oxygène en eau (Réduction mono-électronique) se fait en plusieurs étapes successives qui donnent naissance à des intermédiaires, l'anion superoxyde ( $O_2^-$ ), le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), le radical hydroxyle ( $\cdot OH$ ) qui sont les radicaux primaires (Gardés-Albert *et al.*, 2003) (réaction 1).



La formation de ces radicaux est une conséquence normale du métabolisme aérobie chez l'homme (Dröge, W. 2002), et aussi chez de nombreuses espèces vivantes (animaux, plantes, bactéries) (Mazat *et al.*, 2010). De ce fait, au sein de la cellule, tous les processus utilisant de l'oxygène dans les différents compartiments subcellulaires sont capables de produire des espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Gutteridge, 1994 ; Hasanuzzaman *et al.*, 2020 ; Gutteridge, 1989). Ces espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont beaucoup plus toxiques que ne l'est l'oxygène lui-même (Klein, 2003).

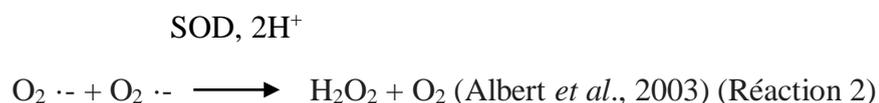
Les ERO, en fonction de leur concentration, peuvent activer des voies de signalisation comme elles peuvent perturber l'homéostasie redox (Purohit *et al.*, 2019). En effet, à de faibles concentrations, ces ERO sont essentielles à la régulation des voies de signalisation

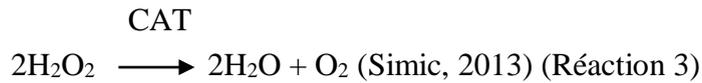
(Thannickal et Fanburg 2000) par contre un excès de ces ERO, sans qu'elles ne soient neutralisées par les antioxydants, peut entraîner un stress oxydatif (Rahal *et al.*, 2014).

Pour cela des niveaux élevés des ERO, et en raison de leur nature hautement réactive (Raja *et al.*, 2017), perturbent les processus cellulaires en attaquant de manière non spécifique (Zahra *et al.*, 2021), les composants cellulaires nécessaires (Sies, 1997) notamment les glucides, les protéines par une oxydation massive irréversible causée une perte de fonctions (Finkel *et al.*, 2000), les lipides par la peroxydation lipidiques ce qui conduit à une altération des membranes (Droge *et al.*, 2002; Juan, 2021), et l'ADN dont son oxydation peut entraîner, entre autres, des mutations et des délétions (Jackson *et al.*, 2001).

Un bon équilibre entre la génération et l'élimination des ERO peut être maintenu par les systèmes de défense antioxydantes (Paciolla *et al.*, 2016; Chang *et al.*, 2021) qui fait appel aux antioxydants. Ces antioxydants sont produits par le système de protection des divers organismes afin de contrer les effets destructeurs des radicaux libres (Flieger *et al.*, 2021) en empêchant leurs formation ou en interrompant leurs réactions radicalaires (Fang *et al.*, 2002). Les molécules antioxydantes peuvent être enzymatiques ou non enzymatiques, endogènes ou exogènes (Kurutas, 2016).

Les antioxydants enzymatiques, tels que, la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), l'ascorbate peroxydase (APX), glutathion réductase (GR), glutathion peroxydase (GPX) (Sies *et al.*, 1997; Gill et Tuteja, 2010; Hasanuzzaman *et al.*, 2012; Kaur *et al.*, 2019). Ces enzymes permettent la catalyse la réduction des molécules oxydées. La SOD, par exemple, est la première ligne de défense contre la toxicité de  $\bullet\text{O}_2^-$ , cette enzyme permet la disparition  $\bullet\text{O}_2^-$  par sa dismutation en catalysant la conversion du radical libre anion superoxyde ( $\bullet\text{O}_2^-$ ) en peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) et en oxygène moléculaire  $\text{O}_2$  (Rosa *et al.*, 2021) (Réaction 2), ensuite l' $\text{H}_2\text{O}_2$  formé est convertie en  $\text{H}_2\text{O}$  et  $\text{O}_2$  par l'enzyme CAT (Fotopoulos *et al.*, 2010; Hasanuzzaman *et al.*, 2019) (Réaction 3).





Les antioxydants non-enzymatiques, tels que, le glutathion (GSH) (Prasad *et al.*, 2011), l'acide ascorbique (AsA) (Akram *et al.*, 2017), acides phénoliques, alcaloïdes, flavonoïdes, caroténoïdes,  $\alpha$ -tocophérol (Gill et Tuteja, 2010 ; Hasanuzzaman *et al.*, 2012 ; Kaur *et al.*, 2019). Ces antioxydants permettent la réduction des molécules oxydées, par exemple, le GSH réagit très rapidement contre les ERO pour former le GSSG (Haleng *et al.*, 2007 ; Apostolova *et al.*, 2015), ce qui permet de réduire les molécules oxydantes (Réaction 4).

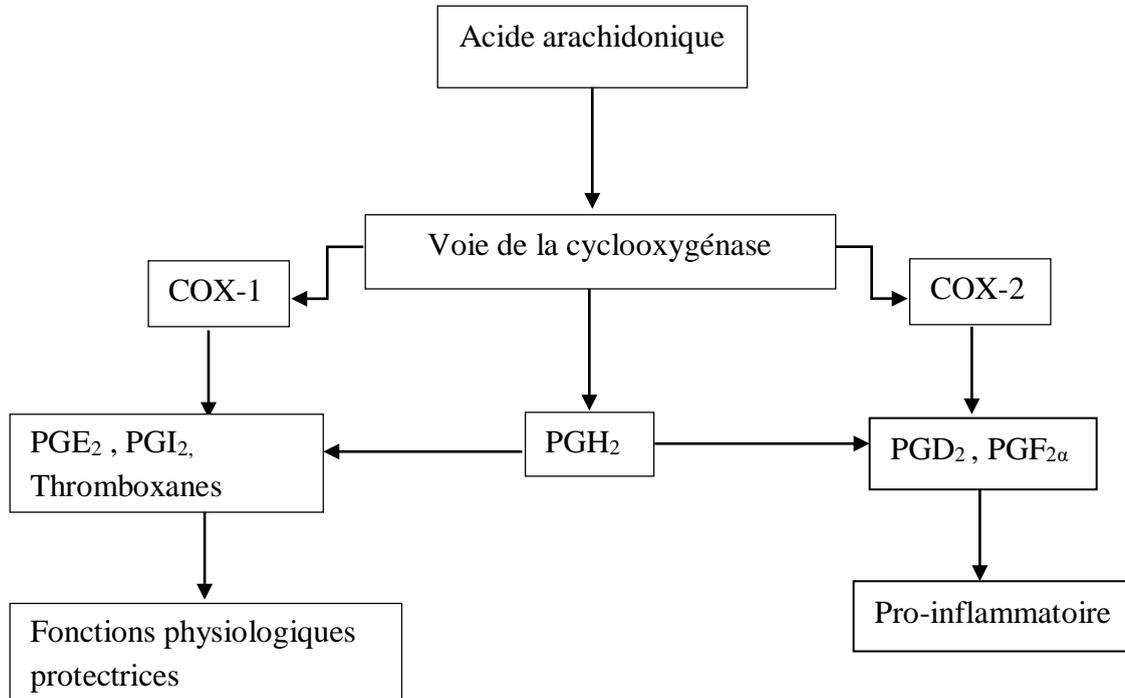


## 1.2 Les propriétés anti-inflammatoires

L'inflammation est un processus de protection et un mécanisme de survie qui a été conservé au cours de l'évolution (Liu *et al.*, 2017). Ce processus de protection est induit par l'organisme contre des signaux nocifs (Parikh *et al.*, 2020), qui peuvent être causées par des agents infectieux ou des substances issues de leur métabolisme (microorganismes et toxines), des produits chimiques (substances caustiques). (Fialho *et al.*, 2018 ; Jang *et al.*, 2016), ou des agents physiques (brûlures) (Dharmadeva *et al.*, 2018). Lors la réponse inflammatoire causé par ces agents, de nombreux médiateurs inflammatoires sont synthétisés et sécrétés, qui déclenchent le processus d'inflammation (Vignali, 2012 ; Levine et Levine, 2012 ) tels que les eicosanoïdes (les prostaglandines), les cytokines (Les interleukines)(Azab *et al.*, 2016). La surproduction de ces médiateurs inflammatoires conduit à différents types de dommages cellulaires(Levine et Levine, 2012).

La cascade inflammatoire est le seul mécanisme identifié pour la restauration des tissus après une blessure ou une infection (Arulselvan *et al.*, 2016) caractérisée par l'afflux rapide des granulocytes dans le tissu lésé capables de produire des médiateurs inflammatoires, comme les cytokines pro-inflammatoires (l'accumulation des cytokines) (Li *et al.*, 2017), les médiateurs lipidiques constitués par les prostanoïdes comme par exemple les prostaglandines (Tilley *et al.*, 2001) et des espèces de radicaux oxygénés (Eltzschig et collard., 2004). Les prostaglandines (PG) jouent un rôle clé dans la génération de la réponse inflammatoire (Ricciotti et FitzGerald, 2011). La voie de synthèse des PG commence par la génération d'acide arachidonique, ensuite

l'acide arachidonique est converti en PG par l'enzyme cyclooxygénase (COX) (Goetzl *et al.*, 1995 ; Ricciotti et FitzGerald, 2011) qui existe sous des isoformes distinctes appelées COX-1 et COX-2 (Smith *et al.*, 2000) (Figure 1)



**Figure 1:** Schéma de la réaction inflammatoire et la biosynthèse des prostaglandines adapté selon Ricciotti et FitzGerald, (2011) ; Patil *et al.*,(2019).

PGE<sub>2</sub> : La prostaglandine E<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub> : Laprostacycline, PGH<sub>2</sub> : La prostaglandine H<sub>2</sub>, PGD<sub>2</sub> : La prostaglandine D<sub>2</sub>, PGF<sub>2α</sub> : La prostaglandine F<sub>2α</sub>

Cette réponse complexe qui conduit à la restauration de l'homéostasie (Ashley *et al.*, 2012 ; Liu *et al.*, 2017) via une longue chaîne de réactions moléculaires et d'activité cellulaire qui permettent l'élimination de la cause initiale de la lésion cellulaire, l'élimination des cellules endommagées et l'initiation de la réparation des tissus (Kohler *et al.*,2016).

Les inflammations en fonction de divers processus inflammatoires et de divers mécanismes cellulaires, peuvent être divisées principalement, en inflammation aiguë et inflammation chronique (Arulselvan *et al.*, 2016). Une inflammation aiguë, comme par exemple lors d'une infection bactérienne, et une inflammation chronique, qui reste présente pendant plusieurs années (Anthony *et al.*, 2012 ; Sokol et Luster,2015).

L'inflammation aiguë est une inflammation qui est arrêtée dès que les facteurs incriminés sont éliminés (Ricciotti et FitzGerald.,2011). Cette inflammation peut se produire, par exemple, suite à des lésions tissulaires, à une invasion microbienne, à des réactions immunologiques (Gruys *et al.*, 1998 ; Gabay et Kushner, 1999 ).

Dans des circonstances normales, le système immunitaire produit à la fois des médiateurs pro- et anti-inflammatoires (Jiang, 2014). Cependant, lorsque les médiateurs anti-inflammatoires ne sont pas capables d'inhiber la réponse pro-inflammatoire, celle-ci peut évoluer vers une réaction inflammatoire chronique (Yao et Narumiya,2019).

L'inflammation chronique elle se produit généralement lorsque les réponses inflammatoires sont induits en l'absence d'un stimulus réel ou par réponse à des infections qui ne sont éliminées, que ce soit par des mécanismes de protection endogènes que par un autre mécanisme de résistance des défenses de l'hôte (Eaves-Pyles *et al.*, 2008 ).

L'inflammation peut être traitée à l'aide d'anti-inflammatoires synthétiques (Bian *et al.*, 2021) qui peuvent être classés en anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS), et anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) (Howard *et al.*, 2014) ces anti-inflammatoires diffèrent par leur mode d'action (Patil *et al.*,2019).

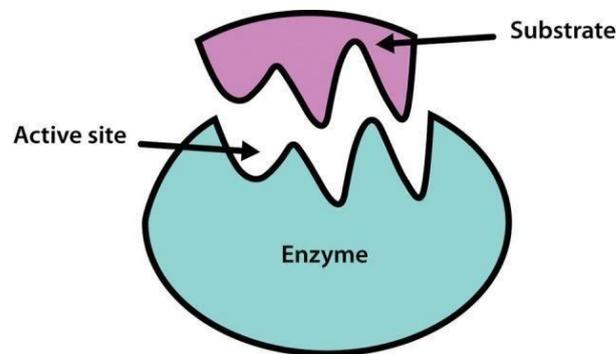
Les anti-inflammatoires stéroïdiens(AIS) tels que les glucocorticoïdes agissent en inhibant les prostaglandines (PG) et les protéines impliquées dans les processus inflammatoires (voir Figure 1) comme par exemple les corticostéroïdes (Nunes *et al.*, 2020). Parmi ces anti-inflammatoires, on peut citer la dexaméthasone, la prednisone et l'hydrocortisone, qui permettent de traiter de nombreuses maladies inflammatoires (Ericson-Neilsen et Kaye, 2014 ; Adinoff et Hollister, 1983).

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) inhibent les premières étapes de la biosynthèse des prostaglandines par l'inhibition des isoenzymes cyclooxygénases (COX) (voir Figure 1)(Pereira-Leite *et al.*,2016 ; Sandoval *et al.*,2017). Parmi ces anti-inflammatoires, on peut citer l'acide acétylsalicylique qui, agit en désactivant de manière irréversible les enzymes COX pour bloquer la cascade (Fitzgerald, 2004), le célécoxib (Celebrex) (Clemett et Goa , 2000), l'ibuprofène et le naproxène (Vane et Botting, 1998 ; Llorens *et al.*,2002).

### 1.3 Les propriétés enzymatiques

Les enzymes sont des protéines dotées de propriétés catalytiques (biocatalyseurs) (Robinson, 2015) qui accélèrent les réactions biochimiques dans les organismes vivants (Kaul et Asano, 2012).

Les enzymes présentent généralement des spécificités de substrat élevées (Beigi *et al.*, 2016). Au cours la réaction catalytique, une enzyme E qui se lie à un substrat (S) au site de liaison du substrat appelé site actif ou site catalytique, formant un complexe enzyme-substrat (ES)(Figure 2)(Srinivasan,2021).



**Figure 2 :** Représentation de la liaison du substrat au site actif d'une molécule d'enzyme (Robinson, 2015).

L'enzyme convertit alors le substrat (S) en produit (P) (Réaction 5) qui est ensuite retiré du système et ne peut pas revenir à son état d'origine en tant que substrat (Robinson, 2015 ; Einav *et al.*, 2016 ).



(E) : Enzyme, (S) : Substrat, (ES): Complexe Enzyme-Substrat, (P): Produit

Les propriétés catalytiques des enzymes leur permettent d'être utilisées dans divers domaines, notamment la fabrication d'aliments, la nutrition animale, le domaine cosmétique, le domaine des médicaments (Li *et al.*, 2012 ; Panke et Wubbolts,2005).

Les enzymes sont des catalyseurs très efficaces (Richard, 2013) et essentiels pour les animaux, les plantes et les microorganismes, puisqu'elles permettent de catalyser et de coordonner des réactions complexes du métabolisme cellulaire (Robinson, 2015), elles sont responsables de la catalyse des réactions dans une variété de processus biologiques essentiels

à la vie et chez toutes les cellules vivantes tels que la réplication et la transcription de l'ADN, la synthèse des protéines, le métabolisme et la transduction du signal (Li *et al.*, 2012) et aussi dans des réactions de régulation des processus cellulaires (Einav *et al.*, 2016) telles que la voie de la glycolyse (Cuesta *et al.*, 2015) qui est une séquence des réactions enzymatiques transformant le glucose en pyruvate, qui s'accompagne d'une libération d'énergie sous forme d'ATP selon le besoin de la cellule (Grandjean *et al.*, 2016).

Les enzymes sont aussi impliquées dans la décomposition des molécules complexes comme par exemple l'amidon hydrolysé par les amylases (Tanyildizi *et al.*, 2005 ; Afiukwa *et al.*, 2009) et les protéines hydrolysées par les protéases (Rao *et al.*, 1998).

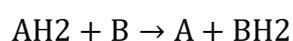
Divers facteurs environnementaux sont capables d'influencer les réactions catalysées par les enzymes, tels que le pH et la température (Kulig *et al.*, 2013 ; Cao et Wang, 2016 ; Adam et Sohl, 2022).

Les changements structuraux de l'enzyme sont aussi connus pour être capables de modifier la vitesse et/ou le résultat de la réaction catalysée par une enzyme défectueuse et non fonctionnelle (Nagel *et al.*, 2013 ; Agarwal, 2018). En effet, pour être fonctionnelles, les enzymes doivent se replier de manière stable dans la conformation tridimensionnelle correcte et elles doivent afficher avoir les résidus catalytiques, qui remplissent la fonction biochimique, correctement positionné dans leurs sites actifs (Jack *et al.*, 2016).

Le Comité de nomenclature de l'Union internationale de biochimie et de biologie moléculaire (NC-IUBMB) a classé les enzymes en fonction de leurs capacités de la transformation chimique des substrats en produits (Tipton et Boyce, 2000 ; Mohammed et Guda, 2015) en 6 classes (Omelchenko *et al.*, 2010) puis en 2018, en 7 classes principales (Tao *et al.*, 2020) qui sont EC1, EC2, EC3, EC4, EC5, EC6, EC7 (EC pour Enzyme Commission).

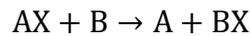
EC1 : Les oxydo-réductases, sont des enzymes qui catalysent des réactions dans lesquelles un substrat cède un ou plusieurs électrons à un autre (Cornish-Bowden, 2014).

Exemple : Xanthine oxydoréductase (Battelli *et al.*, 2016), malate déshydrogénase (McDonald et Tipton, 2014).



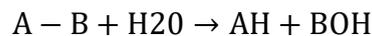
EC2 : Les transférases, sont des enzymes qui catalysent des réactions dans lesquelles un groupement chimique est transféré d'un substrat donneur à un substrat accepteur (Cornish-Bowden, 2014).

Exemple : phényléthanolamine *N*- méthyl- transférase (Georgieva et al., 2009), glycosyltransférase (Mestrom *et al.*, 2019 ), glucokinase (Hussain *et al.*, 2015).



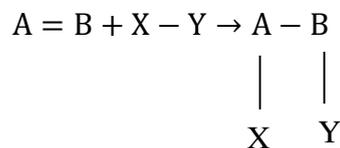
EC3 : Les hydrolases, sont des enzymes qui catalysent des réactions dans lesquelles des liaisons dans un substrat sont hydrolysées (Cornish-Bowden, 2014).

Exemple :  $\alpha$ -amylase (Rodríguez-Viera *et al.*, 2021) l'époxyde hydrolase (Morisseau et Hammock, 2013), phosphatase alcaline (McDonald et Tipton ,2014).



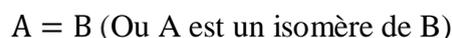
EC4 : Les lyases, sont des enzymes qui catalysent des réactions non hydrolytiques dans lesquelles un groupement chimique est retiré d'un substrat pour former une double liaison (Cornish-Bowden, 2014).

Exemple : fructose-bisphosphatealdolase ( Tipton et Boyce, 2000), ferrochelatase (Söderberg *et al.*, 2016 ), la pectine lyase ( Sathiyaraj *et al.*, 2011).



EC5 : Les isomérases, sont des enzymes qui catalysent les changements géométriques et structurels dans une molécule (Tao *et al.*,2020).

Exemple : racémases, épimérases (Cai *et al.*, 2003 ), xylose isomerase (El-Gendi *et al.*, 2021).



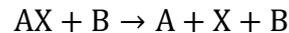
EC6 : Les ligases, sont des enzymes qui catalysent l'union de deux ou plusieurs molécules couplée à l'hydrolyse de l'ATP ou d'une analogue molécule (Cornish-Bowden, 2014).

Exemple : 4-chlorobenzoate : CoA ligase (Boyce et Tipton, 2000), aminoacyl-ARNt synthétase (Rubio Gomez et Ibba, 2020).



EC7 : Les translocases, sont des enzymes qui catalysent le mouvement des molécules ou des ions à travers les membranes ou leur séparation à l'intérieur des membranes (Tao *et al.*, 2020).

Exemple: quinol oxydase ( Duc *et al.*, 2020 ), ascorbateferriréductase (Sherman *et al.*, 2018 ).



#### **1.4 Autres propriétés biologiques**

En plus des propriétés biologiques qu'on a vu précédemment il existe aussi d'autres propriétés biologiques importantes comme les propriétés antimicrobiennes, anticancéreuses, anti-convulsivante, analgésiques (Mayer et Jacobs, 1988), anti-diabétique et anti-spasmodique (Coté *et al.*, 2017).

Toutes ces propriétés sont importantes pour l'homme et pour sa santé, par exemple en raison des problèmes de la résistance accrue aux antimicrobiens et ce qui engendre comme maladies infectieuses et la propagation du cancer à travers la population, il existe toujours des demandes pour le développement de nouveaux médicaments antimicrobiens et anticancéreux efficaces et accessibles (Coseri, 2009 ; Salehi *et al.*, 2019 ).

Les propriétés antimicrobiennes permettent le traitement des infections microbiennes causées par des microorganismes (comme les bactéries, les virus, les champignons et les protozoaires) (Leekha *et al.*, 2011 ; Zachary, 2017). Pour lutter contre ces infections les organismes vivants produisent des molécules antimicrobiennes naturelles telles que les peptides antimicrobiens (AMP), qui se retrouvent comme défense de l'hôte (Egorov *et al.*, 2005) qui exercent une cytotoxicité sur les microorganismes pathogènes envahisseurs (Zanetti, 2004). La résistance aux agents antimicrobiens menace la capacité de traiter les maladies infectieuses (McEwen et Collignon, 2018), les antibiotiques traditionnels deviennent inefficaces et les nouvelles maladies, notamment virales, restent intraitables par ce type de médicaments (Lewis et Elvin-Lewis, 1995), ce qui pousse les chercheurs à trouver de nouvelles propriétés antimicrobiennes (Rončević *et al.*, 2019), généralement à partir de sources naturelles.

Il existe aussi une autre propriété importante qui permet la diminution de la croissance des tumeurs en inhibant la viabilité des cellules cancéreuses (Sioud *et al.*, 2020) et en modulant ainsi des voies de signalisation dans les cellules cancéreuses (Chen *et al.*, 2019) c'est les propriétés anti-cancéreuses. Malgré les progrès, il n'existe pas réellement un traitement anticancéreux efficace à 100 % contre le cancer disséminé (Gottesman, 2002), l'option la plus prometteuse pour le traitement du cancer est la chimiothérapie (Goodman *et al.*, 1946). Pour cela y a eu d'énormes progrès dans la découverte de thérapies et des agents anti-cancéreux (Maru *et al.*, 2016) tels que les polyphénols (Sioud *et al.*, 2020). Certains polyphénols d'origine végétale possèdent des propriétés anticancéreuses telles que l'inhibition de la prolifération cellulaire, la croissance tumorale, l'angiogenèse, les métastases, l'inflammation et l'apoptose (Fantini *et al.*, 2015 ).

Les autres propriétés biologiques sont aussi importantes et elles font intervenir des molécules biologiques comme les propriétés analgésiques, pour le traitement des douleurs et qui font intervenir par exemple la morphine (Braenden *et al.*, 1955), les propriétés anti-diabétiques pour le traitement du diabète qui font intervenir par exemple l'insuline (Li *et al.*, 2017), les propriétés anti-spasmodique, pour réduire l'anxiété, la tension émotionnelle et musculo-squelettique et l'irritabilité qui font intervenir par exemple l'histamine et la dopamine (Martínez-Pérez *et al.*, 2018 ).

## **2. Importance des propriétés biologiques**

Ces propriétés biologiques décrites précédemment représentent une grande importance au niveau des différents secteurs tels que le secteur industriel par exemple dans la fabrication des produits alimentaires (Gurung *et al.*, 2013), le secteur médicinal dans le diagnostic et le traitement des maladies (Flieger *et al.*, 2021), le secteur pharmaceutique dans la fabrication des médicaments (Asong *et al.*, 2019), et le secteur agro-alimentaire pour la production de l'alimentation animale (Choct, 2006 ; Dougnon *et al.*, 2017).

Parmi ces propriétés utilisées dans ces différents secteurs, les propriétés enzymatiques. Les enzymes sont devenues des molécules importantes qui ont été largement utilisées à différentes fins industrielles, la demande globale d'enzymes industrielles sur le marché mondial a été estimée à 3,3 milliards de dollars en 2010 (Gurung *et al.*, 2013). Ces enzymes ont été utilisées dans différents secteurs, telles que les protéases utilisées dans l'industrie alimentaire

(Horikoshi,1999) et l'industrie de cuir (Kumar *et al.*, 2004; Patel *et al.*, 2005 ; Prakash *et al.*,2013),les pectinases utilisées dans l'industrie alimentaire (Jacob *et al.*,2008) les lipases utilisées dans l'industrie des détergents (Li *et al.*, 2012 ; Chauhan *et al.*, 2012), les chondroïtinases utilisées dans l'industrie du cosmétique(Gurung *et al.*, 2013 ; Cho *et al.*, 2012 ;Chandra *et al.*,2020), les cellulases et les xylanases utilisés dans l'industrie du papier (Jones *et al.*, 2004 ; Fagerstrom *et al.*,2008) et les enzymes telles que les amylases et les transaminases utilisées dans l'industrie pharmaceutique (Souza, 2010 ; Nannemann *et al.*, 2013).

De même, les propriétés antioxydantes ont aussi importantes et sont de plus en plus utilisés comme conservateurs dans les produits alimentaires (Caleja *et al.*, 2015) ou comme ingrédients d'emballage pour les aliments (Dicastillo *et al.*, 2016). Dans l'industrie alimentaire,les antioxydants peuvent aussi augmenter la stabilité des huiles comestibles et des colorants caroténoïdes et l'arôme des jus de fruits (Wibowo *et al.*, 2015 ; Bodoira *et al.*, 2017 ; Galanakis *et al.*, 2018). Au niveau pharmaceutique, les antioxydants sont proposés comme complément pour réduire l'incidence du cancer et des maladies vasculaires ischémiques (Herberg *et al.*, 2004 ; Kuršvietienė *et al.*, 2016 ). Dans le secteur cosmétique les antioxydants sont incorporés dans les produits anti-âge pour prévenir et atténuer les signes du vieillissement cutané (Hoang *et al.*, 2021) et exercent aussi une action protectrice sur la peau (Cunha *et al.*, 2008).

Les autres propriétés biologiques présentent aussi une forte utilisation dans les différents secteurs mentionnés précédemment, par exemple, les antimicrobiens sont utilisés dans les industries alimentaires comme conservateurs naturels (Mataragas *et al.*, 2003). Dans l'industrie pharmaceutique, par exemple, les propriétés anticancéreuses sont utilisées pour la fabrication des médicaments antiprolifératifs des cellules cancéreuses (Ciavatta *et al.*, 2017), les propriétés anti-diabétiques utilisées pour la fabrication des médicaments hypoglycémiantes et anti hyperglycémiantes( Arumugam *et al.*, 2013 ; Ríos *et al.*, 2015 ), et des propriétés anti-inflammatoires qui sont utilisées en médecine traditionnelle pour traiter différentes affections inflammatoires( Andrade *et al.*, 2014 ).

### **3. Les différentes sources des propriétés biologiques**

Ces propriétés biologiques, présentées précédemment, peuvent être trouvées chez les

différentes sources d'organismes vivants, par exemple, chez les microorganismes (Gisilin *et al.*, 2018), les animaux (Mahawar et Jaroli, 2006) et chez les végétaux (Kheroda *et al.*, 2019).

Les microorganismes, tels que les bactéries, les champignons et les actinomycètes ont été utilisés, par exemple, pour leurs activités enzymatiques dans l'industrie alimentaire, du textile et du papier (Konsoula *et al.*, 2007). Aussi, il a été montré que de nombreux composés bioactifs telles que les flavonoïdes et polysaccharides, présentent chez un champignon de l'espèce *Cantharellus cibarius*, possèdent des propriétés anti-inflammatoires importantes (Elsayed *et al.*, 2014). Les microorganismes produisent aussi divers composés bioactifs aux propriétés antioxydantes (Sen *et al.*, 2019) qui leur permet d'être utilisés dans les industries alimentaires et pharmaceutiques (Rani *et al.*, 2021). Ces propriétés antioxydantes peuvent être produites par des champignons tels que l'espèce *Aspergillus niger* (Meyer *et al.*, 2020), ce qui lui permet d'être utilisé dans une variété d'applications, dans les industries alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques (Cairns *et al.*, 2021). Cette espèce d'*Aspergillus niger* a aussi une capacité à produire des enzymes telles que les amylases et les lipases, qui sont utilisées dans les industries alimentaires, médicales et pharmaceutiques (Steiger *et al.*, 2013 ; Akhtar *et al.*, 2014 ; Odoni *et al.*, 2017 ; Adeleke *et al.*, 2017). Des propriétés antimicrobiennes produites par des actinomycètes (Darisipudi *et al.*, 2011) telles que *Streptomyces natalensis* permet la production industrielle de piméricine comme produit pharmaceutique et dans l'industrie alimentaire comme conservateur du fromage (Okudoh et Wallis, 2007 ; Aparicio *et al.*, 2016). De même les bactéries telles que *Bacillus amylolique faciens* peut être une puissante source d'antibiotiques, possède une capacité de produire divers peptides antimicrobiens (Arias et Murray, 2009 ; Jeong *et al.*, 2015 ; Boottanun *et al.*, 2017) .

Les animaux ou leurs dérivés peuvent être aussi une source importantes de propriétés biologiques, par exemple, des animaux tels que les mammifères qui produit le lait initial ou le colostrum (Vollmer *et al.*, 2018), possèdent diverses propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et anticancéreuses utilisés dans les industries alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques (Kazimierska, 2021). D'autres animaux peuvent être une source d'enzymes comprennent la pepsine et la rénine (Prakash *et al.*, 2013) et d'autres enzymes telles que les amylases pour être utilisées dans les industries alimentaires et pharmaceutiques (Souza et Paula, 2010).

Comme chez les microorganismes et les animaux, les végétaux sont aussi une source de diverses propriétés biologiques. En médecine traditionnelle, les plantes à épices sont décrites

pour leurs propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et analgésiques (Kheroda *et al.*, 2019) parmi elles *Cinnamomum Zeylanicum* (la cannelle vraie) qui a été utilisée pour traiter diverses maladies digestives, respiratoires et gynécologiques (Kumar *et al.*, 2019).

Aussi, il a été montré par exemple, que les plantes ont une capacité à biosynthétiser une large gamme d'antioxydants (Kasote *et al.*, 2015), comme ceux qu'on trouve dans les composés phénoliques, les vitamines et les caroténoïdes (Jayaprakasha *et al.*, 2001 ;Sikora *et al.*, 2008 ; Dorman *et al.*, 2003). Parmi les espèces végétales productrices d'antioxydants on trouve *Mangifera indica*, utilisée dans l'industrie cosmétique (des crèmes cosmétique) et *Mentha piperita*, utilisée dans l'industrie pharmaceutique (des sirops) (Maury *et al.*, 2020) et *Vitisvinifera* utilisée dans l'industrie alimentaire (Brezoiu *et al.*, 2020). D'autres espèces de plantes possèdent des propriétés anti-diabétique, et qui sont utilisées dans l'industrie médicale afin de traiter la maladie de diabète (Arumugam *et al.*, 2013) comme par exemple, l'espèce *Alangium lamarckii* (Kumar *et al.*, 2012) et l'espèce *Albiziaod oratissima* (Kumar *et al.*, 2011).

Les extraits et les huiles dérivés de plantes ont aussi conduit à la découverte et au développement d'agents thérapeutiques utiles (Mechchate *et al.*,2021),Ces dérivés de plantes sont considérés comme des agents alternatifs prometteurs ( Mushtaq *et al.*, 2018), en raison de leurs large spectre d'activités biologiques signalées (Marino *et al.*, 1999 in Sanchez-Suarez *et al.*, 2013 ; Rhayour *et al.*, 2003). Par exemple les glandes odoriférantes de diverses plantes produisent des huiles essentielles (HE), qui possèdent de nombreuses propriétés biologiques telles que propriétés anti-inflammatoires,antioxydantes et antimicrobiennes (Bencheikh *et al.*, 2021). Aussi, les huiles extraites par exemple de l'espèce de thym, *Thymus zygis L.* sont utilisées dans les industries alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques (Radi *et al.*, 2021). Il est à noter que l'espèce *Clinopodiumsuaveolens*, riche en huiles essentielles qui sont utilisées en raison de leurspropriétés anti-inflammatoires et antimicrobiennes dans l'industrie pharmaceutique *et alimentaire* (Demirci *et al.*, 2011 ; Božović et Rango,2017 ; Perrino *et al.*, 2021).

D'autres dérivés de plantes, des composés naturels extraits des feuilles d'*Origanum majorana L.*, les polyphénols, qui possèdent plusieurs propriétés bénéfiques telles que la réduction du risque de maladies cardiaques, des propriétés anti-cancéreuses et des propriétés

antioxydantes (Amagnouje *et al.*, 2020) utilisées dans des applications médicinales et dans l'industrie pharmaceutique (Hossain *et al.*, 2014).

La médecine est de plus en plus réceptive quant à l'utilisation de ces plantes pour traiter ou prévenir les maladies (Ming *et al.*, 2003 ; Willis, 2017). Ces plantes possèdent diverses propriétés importantes telles que les propriétés antioxydantes (Hasanuzzaman *et al.*, 2020), anti-inflammatoires (Ribeiro *et al.*, 2018) et antibactériennes (Chassagne *et al.*, 2021) qui peuvent être trouvées dans les racines, les feuilles, les fruits, les tiges et les graines (McKay et Blumberg, 2006 ; Andriana *et al.*, 2019 ; Nunes *et al.*, 2020 ).

Vu l'importance de ces propriétés biologiques, l'objectif de notre travail est de rechercher des activités biologiques, antioxydantes, anti-inflammatoire et enzymatiques au niveau des graines de *Salvia hispanica*. Cette plante fait partie des plantes médicinales et comestibles (Valdivia et Tecante, 2015). Leurs métabolites sont également utilisés dans différentes industries, alimentaire, médicales, cosmétiques et pharmaceutiques (Muñoz *et al.*, 2013). En raison de ses caractéristiques, qui seront développées après, cette plante a été choisie dans notre étude pour identifier ces propriétés biologiques

#### **4. La plante *Salvia hispanica***

*Salvia hispanica* L. (communément appelée sauge espagnole, chia mexicaine et chia noire) est une plante herbacée annuelle qui fleurit en été appartenant au genre *Salvia* famille des *Lamiaceae* (*Labiatae*) (Lu et Foo, 2002 ; Ayerza et Coates, 2005 ; Uribe *et al.*, 2011). Letableau suivant montre la classification taxonomique de *Salvia hispanica*.

**Tableau 1** : Classification taxonomique de *Salvia hispanica* (Divyapriya *et al.*, 2016 ; KnezHrnčič *et al.*, 2019 ; Grancieri *et al.*, 2019)

Règne	Plante
Super division	Spermatophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées ( <i>labiatae</i> )
Sous famille	<i>Nepetoideae</i>
Genre	<i>Salvia</i>
Espèce	<i>Salvia hispanica</i>

Le genre *Salvia* comprend environ 1000 espèces (Kahraman *et al.*, 2018), présentes dans presque toutes les régions du monde (Amérique du Nord, centrale et du Sud, Afrique du Sud, Asie du Sud-Est et Europe) (Segura-Campos *et al.*, 2014 ; Ivanovski *et al.*, 2019 ; Enes *et al.*, 2020 ). Ce genre comprend de nombreuses espèces avec une importance économique, par exemple la *Salvia miltiorrhiza* (Hu *et al.*, 2018), *Salvia glutinosa*, *Salvia transsylvanica* (Mocan *et al.*, 2020), *Salvia nemorosa* et *Salvia pratensis* (Merviç *et al.*, 2022).

*Salvia hispanica* était une plante médicinale à l'époque précolombienne (Hu *et al.*, 2018). Elle a été traditionnellement utilisée dans le traitement de la tuberculose, le diabète, de la bronchite, les infections et pour maintenir un niveau sain de lipides sériques (Güzel *et al.*, 2020). *Salvia hispanica* était aussi un élément central dans l'alimentation de base mésoaméricain et par de nombreuses civilisations précolombiennes (Martínez *et al.*, 2014). Au Mexique, les graines de chia sont utilisées pour leur valeur nutritive et propriétés médicinales et comme agent d'amaigrissant et de contrôle de la glycémie et de la régulation intestinale (Martínez *et al.*, 2014).

#### 4.1 Les caractéristiques de la plante *Salvia hispanica*

*Salvia hispanica* peut atteindre 1m de hauteur avec un pétiole inversé et des feuilles dentelées (3 à 5cm de large ; 4 à 8cm de long) (Motyka *et al.*, 2022). Elle a des fleurs hermaphrodites (3 à 4 mm) avec de petites corolles et des parties florales fusionnées, qui contribuent à un taux d'autopollinisation élevé, de couleur blanche ou violette, disposées en verticilles (Ali *et al.*, 2012). (voir figure 3).



(A)

(B)

**Figure 3:** La plante *Salvia hispanica*, (A) fleurs de couleur blanche, (B) fleurs de couleur violette (Grimes *et al.*, 2012 ; Ayerza, 2013)

Ses graines sont de forme ovale (1 à 2 mm de long), qui peuvent apparaître uniformes ou mélangés et mouchetés (Ullah *et al.*, 2016)(voir figure 4).



**Figure 4 :** Les graines de *Salvia hispanica* (Motyka *et al.*, 2022)

*Salvia hispanica* L. est la plus riche en macro et micronutriments de la famille des Lamiacées et elle possède de précieuses propriétés nutritionnelles (Motyka *et al.*, 2022), caractérisée par une quantité élevée d'acides gras essentiels (29%-32% extractibles), un rapport d'acides gras oméga-6 à oméga-3 favorable, et une teneur élevée en fibres mucilagineuses (27% du graine) (Baginsky *et al.*, 2016). Ses graines fournissent des protéines, des glucides, des acides gras et des fibres (Ixtaina *et al.*, 2008). Il a été décrit que ses composés phénoliques protègent les humains contre plusieurs maladies dégénératives chroniques (Corona-Jiménez *et al.*, 2016) et selon des études précédentes, les graines de *Salvia hispanica* ce sont des sources alimentaires riches d'antioxydants naturels pour la

prévention des maladies causées par le stress oxydatif (Oliveira *et al.*, 2017), ainsi que des sources naturelles importantes d'activités anti-inflammatoires et anticancéreuses (Ixtaina *et al.*, 2011).

Chaque partie de la plante de *Salvia hispanica* peut servir en raison de leurs compositions bénéfiques, par exemple ses feuilles contiennent diverses huiles essentielles, dont entre autre le  $\beta$ -caryophyllène, le globulol et le  $\gamma$ -murolo, qui sont connus pour avoir des propriétés insectifuges ou insecticides (Amato *et al.*, 2015 ; Elshafie *et al.*, 2018 ), et des polyphénols dont, entre autres, l'acide rosmarinique, l'acide caféique, et la vitexine, qui sont utilisées par rapport à leurs potentiels antioxydants et antimicrobiens (Amato *et al.*, 2015 ). Les constituants nutritionnels de haut niveaux d'acides gras polyinsaturés et des huiles essentielles ont été trouvés dans les pousses, qui ont donc été proposées comme aliments pour les animaux (Jamshidi *et al.*, 2019 ; Peiretti, 2009).

Bien que différentes parties de la plante aient été utilisées, la partie la plus attrayante de la plante est la graine (Ullah *et al.*, 2016). De nombreuses études ont démontré une forte activité biologique des graines de chia (Teoh *et al.*, 2018). Des études ont suggéré que l'utilisation de peptides bioactifs dérivés de graines de chia pourrait avoir des applications bénéfiques dans la prévention des maladies neurodégénératives grâce à leurs activités anti-inflammatoires et antioxydantes (Martínez *et al.*, 2020).

Les constituants nutritionnels et phytochimiques tels que les acides gras polyinsaturés, les fibres alimentaires, les vitamines, les minéraux et les substances bioactives, graines de *Salvia hispanica*, ont été étudiés pour leurs propriétés thérapeutiques et pharmacologiques (Roohi, 2020) et peuvent être considérées comme source d'huile à usage médical (Oliveira *et al.*, 2017).

# *Matériel et méthodes*

Ce travail a été réalisé au niveau du Laboratoire de Biochimie de l'Université Belhadj Bouchaib- Ain Témouchent (UBBAT), durant le second semestre du Master 2 de l'année universitaire 2021/2022. Ce travail a pour but de rechercher des activités biologiques dans les graines de *Salvia hispanica*.

### **1. Récolte du matériel végétal**

Les graines de *Salvia hispanica* (chia) (Figure 5A), ont été achetées au niveau du commerce de la ville d'Ain Témouchent. Ces graines ont été séchées à l'air libre pendant quelques jours, ensuite elles ont été broyées pour être utilisées sous forme de poudre (Figure 5 B).



(A)

(B)

**Figure 5 :** Matériel biologique utilisé, (A) les graines de *Salvia hispanica*, (B) la poudre des graines de *Salvia hispanica*.

### **2. Préparation de la solution des graines de *Salvia hispanica***

Afin de rechercher les activités biologiques dans la poudre des graines de *Salvia hispanica*, 2g de la poudre de cette dernière ont été dissoutes dans 50 mL d'eau distillée pour être mises, par la suite, sous agitation pendant 1h30min à 2h à température ambiante. La solution obtenue à raison de 40 mg/mL est ensuite centrifugée à 6000 tours/min pendant 5 min, le surnageant obtenu a été récupéré pour être utilisé comme extrait brut dans la recherche des activités biologiques.

### 3. Détermination du pH de la solution des graines de *Salvia hispanica*

Le pH du surnageant obtenu dans l'étape précédente, a été mesuré en utilisant les bandelettes de mesure du pH.

### 4. Dosage des protéines

Afin de connaître les concentrations des protéines dans l'extrait des graines de *Salvia hispanica*, la méthode de Bradford, (1976) a été utilisée. Pour cela une courbe étalon DO = f ([hémoglobine]) a été préparée à partir d'une gamme étalon (0,5 , 1 , 2,5 et 5 mg/mL) de solutions d'hémoglobine préparées à partir d'une solution mère à 50mg/mL (Tableau 2).

Pour déterminer la quantité des protéines présentes, une gamme de solution étalon d'un volume final 1 mL contenant 0,2 mL du réactif de Bradford et 0,8 mL de chaque solution de la gamme étalon. La DO est ensuite mesurée à 595 nm.

Afin de quantifier les protéines présentes dans l'extrait des graines de *Salvia hispanica*, 0,2 mL du réactif de Bradford ont été ajoutés à 0,8 mL de cet extrait, puis la DO a été mesurée à 595 nm.

**Tableau 2 :** la gamme d'étalon pour la préparation du courbe étalon de l'hémoglobine

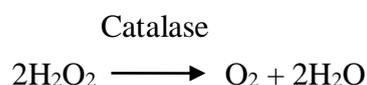
[C] (mg/mL)	0	0,5 mg/ mL	1 mg/ mL	2,5 mg/ mL	5 mg/ mL
Volume (mL) de la solution mère d'hémoglobine à 50mg/mL	0	0,1	0,2	0,5	1
Volume (mL) H <sub>2</sub> O	1	0,9	0,8	5	0

## 5. Recherche d'activité antioxydante dans la solution des graines de *Salvia hispanica*

### 5.1 Recherche d'activité catalasique dans la solution des graines de *Salvia hispanica*

Afin de rechercher la présence d'activité catalasique chez les graines *Salvia hispanica*, la méthode d'Aebi (1984) a été utilisée par la mesure de la diminution de l'absorbance d'une solution H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, cette diminution étant due à l'hydrolyse du peroxyde d'hydrogène par la catalase (Nciri *et al.*, 2008).

Les catalases sont des enzymes qui permettent la dégradation de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en molécule d'H<sub>2</sub>O et en O<sub>2</sub> (Simic, 2013), comme montré dans la réaction suivante :



Le mélange réactionnel contient une solution de 2mL du mélange de 0,75mL de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 0,25mM, préparé dans 1mL de tampon phosphate pH 7 à 50mM à laquelle 0,25mL de l'extrait de solution des graines de *Salvia hispanica* ont été ajoutée. La disparition de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sera suivie par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 240 nm.

Pour déterminer les quantités d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dégradées par les catalases, une courbe étalon DO = f ([H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>]) a été préparée à partir d'une gamme étalon (5, 10 et 20mM) de solutions d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, préparées à partir d'une solution mère à 50 mM d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Tableau 3). La DO est ensuite mesurée à 240 nm.

**Tableau 3 :** la gamme d'étalon pour la préparation du courbe étalon de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

[C](mM)	0	5 mM	10 mM	20 mM
Volume (mL) de la solution mère d'H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> à 50mM	0	0.3	0.6	1.2
Volume (mL) H <sub>2</sub> O	3	2.7	2.4	1.8

## 5.2 La méthode de piégeage du DPPH

Afin de rechercher les activités antioxydantes, dans l'extrait des graines de *Salvia hispanica*, la méthode développée par Blois, (1958) a été utilisée. Cette méthode utilise comme substrat un radical libre le  $\alpha, \alpha$ -DiPhényle- $\beta$  PicrylHydrazyl (DPPH), et elle se base sur la réduction du DPPH (C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>) par un antioxydant. (Kedare et Singh,2011).

Le DPPH est un composé chromogénique initialement (DPPH•) violet sa réduction (DPPH-H) provoque un changement de sa couleur jaune pâle, ce changement peut être suivi par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 517nm (Molyneux, 2004, Ionita., 2021, Flieger *et al.*, 2021).

Le DPPH a été proposé pour la détection et le dosage des antioxydantes des matériaux biologiques en raison de sa stabilité et de son potentiel redox suffisamment élevé pour oxyder les antioxydants naturels (Blois, 1985).

La capacité d'un antioxydant (AH) à réduire le DPPH• en DPPH-H<sup>+</sup>, se fait par transfert d'un hydrogène de l'antioxydant (AH) vers le DPPH•, et qui sera plus ou moins rapide selon la nature de cet antioxydant (AH) (Martinčić *et al.*, 2015). La quantité du DPPH-H formée dépendra de la concentration en antioxydant (Martinčić *et al.*, 2015). Cette réaction de piégeage du DPPH se fait comme suit :



**DPPH•** : Un radical libre utilisé comme substrat, **AH** : Une molécule antioxydante donneuse de proton, **DPPH-H<sup>+</sup>** : Un produit de la réaction de réduction du DPPH• avec un antioxydant (AH), **A•** : Un radical libre (Brand, 1995 ; Molyneux, 2004 ; Flieger *et al.*, 2021).

Dans notre étude, l'évaluation de l'activité antioxydante a été effectuée en utilisant, une solution de DPPH à 0,1 Mm préparée dans de l'éthanol pur.

Le milieu réactionnel est constitué de 1 mL de la solution du DPPH à 0,1 mM et 1 mL de la solution des graines de *Salvia hispanica* à différentes concentrations (1,25, 1,5, 2, 2,25, 2,5 mg/mL). La DO est ensuite mesurée à 517 nm après 0 et 30 min d'incubation.

Pour déterminer les quantités de DPPH consommées, une courbe étalon DO= f ([DPPH]) a été préparée à partir d'une gamme étalon (0,0125, 0,025, 0,05 et 0,1 mM) de solutions de DPPH, préparées à partir d'une solution mère à 0.1mM de DPPH (Tableau 4). La DO est ensuite mesurée à 517 nm.

**Tableau 4** : la gamme d'étalon pour la préparation du courbe étalon du DPPH

[C] (mM)	0	0,0125 mM	0,025 mM	0,05 mM	0,1 mM
Volume (mL) de la solution mère de DPPH à 0.1 mM	0	0,25	0,5	1	2
Volume (mL) H <sub>2</sub> O	2	1,75	1,5	1	0

## 6. Recherche d'activité anti-inflammatoire dans la solution des graines de *Salvia hispanica*

Afin de rechercher des propriétés anti-inflammatoires dans la solution des graines de *Salvia hispanica*, la méthode d'inhibition de la dénaturation de l'albumine a été effectuée (Kedi., 2018). La dénaturation des protéines tissulaires est un marqueur d'inflammation (Angel *et al.*, 2013 ). Par conséquent, en inhibant la dénaturation des protéines, l'activité inflammatoire peut être inhibée (Sangeetha et Vidhya, 2016 ), ce qui signifie que l'inhibition de la dénaturation des protéines est considérée comme action anti-inflammatoire.

Dans notre étude, l'inhibition de la dénaturation de l'albumine d'œuf (révélatrice de la présence d'une activité anti-inflammatoire), par l'action de la solution des graines de *Salvia hispanica*, a été déterminée par la méthode de Kedi *et al.*, (2018), et de Dharmadeva, (2018) légèrement modifié.

Pour ce test, on a utilisé l'albumine de l'œuf (ovalbumine) qui a été préparé en diluant un blanc d'œuf dans 200mL de l'eau distillée puis le chauffée sur une plaque chauffante jusqu'à avoir un aspect laiteux. L'albumine d'oeuf est ensuite récupérée par centrifugation à 6000 tours/min pendant 5 min.

Le mélange réactionnel est constitué de 50  $\mu$ L l'albumine de l'œuf (ovalbumine) à 200 mg/mL, de 700  $\mu$ L de tampon phosphate à pH 6.4 et 0.1 M, et 500  $\mu$ L de la solution des graines de *Salvia hispanica* à des différentes concentrations (10 et 20mg/mL). Le mélange réactionnel est, ensuite, incubés à 37° C pendant 15min puis traité au bain marié à 70° C pendant 5min.

La DO est ensuite mesurée à une longueur d'onde de 660 nm contre un blanc afin d'évaluer les capacités d'inhibition de la dénaturation de l'albumine d'oeuf, révélatrice de la présence d'activités anti-inflammatoires dans les graines de *Salvia hispanica*.

Pour déterminer la quantité de l'albumine protégée, par l'action de la solution des graines de *Salvia hispanica*, contre le traitement thermique, une courbe étalon,  $DO = f([Ovalbumine])$  a été préparées en utilisant une gamme étalon, à partir d'une solution mère de 200 mg/mL, de l'ovalbumine (Tableau 5 ). La DO est ensuite mesurée à 660 nm.

**Tableau 5 :** la gamme d'étalon pour la préparation du courbe étalon de l'albumine d'œuf (l'ovalbumine).

[C] µg/mL	0	6 µg/mL	8 µg/mL	10 µg/mL
Volume (mL) de la solution mère d'ovalbumine à 200mg/ mL	0	0,06	0,08	0,1
Volume (mL) H <sub>2</sub> O	2	1,94	1,92	1,96

## 7. Recherche d'activité enzymatique dans la solution des graines de *Salvia hispanica*

### 7.1 Recherche d'activité amylasiques dans la solution des graines de *Salvia hispanica*

Afin de rechercher l'activité amylasique dans la solution des graines de *Salvia hispanica*, la méthode de Carvi-Somogyi iodure/potassium iodure (IKI) a été utilisée (Fatema *et al.*, 2017). L'iodure de potassium iodé réactif (IKI) (Lugol) peut être utilisé pour identifier la présence d'amidon qui a été utilisé comme substrat en déterminant l'activité d'amylase.

L'activité amylasique est capable de catalyser l'hydrolyse des liaisons 1,4-glycosidiques de l'amidon (Yan et Wu, 2016).



$\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$  : Amidon

$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$  : Glucose

Cette activité peut être influencée par les effets de variations de pH et de température, ces effets ont également été étudiés selon la méthode effectuée par Afiukwa *et al.*, (2009) et Fatema *et al.*, (2017).

La préparation de la solution d'amidon (substrat) consiste à ajouter 40 mL d'une solution d'amidon à 1%, à 50 mL d'eau distillée en ébullition et sous agitation. Après refroidissement est complété jusqu'à 100 mL avec de l'eau distillée. Un volume de cette solution est récupéré pour être dilué 10 fois.

Le mélange réactionnel contient de 0,1 mL de cette solution d'amidon préparée, de 0,750 mL de tampon phosphate à 0,1 M et à pH 7 et de 0,4 mL de la solution des graines

de *Salvia hispanica*. Le mélange réactionnel est incubé à 30°C et à différents temps pour déterminer le temps d'incubation optimal, permettant la disparition de l'amidon.

Puis, 0,750 mL de la solution de Lugol sont ajoutés au mélange réactionnel.

Ensuite, 1,5 mL d'HCl à 10 % sont ajoutés au mélange réactionnel pour stopper la réaction enzymatique, et les DO sont mesurées à 620nm (Afiukwa *et al.*, 2009 ; Fatema *et al.*, 2017 ).

Pour déterminer la quantité d'amidon dégradée par l'activité amylasique de la solution des graines de *Salvia hispanica*, une courbe étalon DO = f ([Amidon]) a été préparée en utilisant une gamme étalon (20, 40, 60, 80 et 100 µg/mL) de l'amidon (Tableau 6). La DO est ensuite mesurée à 620nm.

**Tableau 6** : la gamme d'étalon pour la préparation du courbe étalon de l'amidon.

[C] µg/mL	0 µg/mL	20 µg/mL	40 µg/mL	60 µg/mL	80 µg/ mL	100 µg/mL
Volume (mL) de la solution mère d'amidon à 400 µg/mL	0	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25
Volume (mL) H <sub>2</sub> O	1	0.95	0.9	0.85	0.8	0.75

## 7.2 Recherche d'activité lipasique dans la solution des graines de *Salvia hispanica*

Afin de rechercher l'activité lipasique dans la solution des graines de *Salvia hispanica*, la méthode de titration acido-basique (Deeth et Touch, 2000 ; Stoytcheva *et al.*, 2012) a été appliquée pour la détermination de la quantité d'acides gras libres, en utilisant d'huile d'olive comme substrat (Chandra *et al.*, 2020). C'est un protocole de dosage de la lipase le plus utilisé en raison de sa simplicité, de son exactitude et de sa reproductibilité (Prim *et al.*, 2003 ; Singh et Mukhopadhyay, 2012) avec une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium (NaOH) (Sugihara *et al.*, 1990) en présence d'un indicateur coloré phénolphtaléine.

L'activité lipasique peut catalyser l'hydrolyse des triglycérides à longue chaîne en acides gras (Moraleda et Shimkets, 2007), elle peut être évaluée en suivant la libération d'acides gras (Sri *et al.*, 2018).



Le mélange réactionnel contient de 0,750mL de l'huile d'olive (substrat), de 0,650 mL de l'eau distillée puis 0,250mL de tampon phosphate à 0,2 M et à pH 7,2 et de 0,250mL de la solution des graines de *Salvia hispanica*. Le mélange réactionnel est ensuite incubé à 30°C à différents temps pour déterminer le temps d'incubation optimal, permettant la quantification des acides gras libérés par l'activité lipasique.

Puis, 0,750 mL de l'éthanol à 95 % sont ajoutés au mélange réactionnel afin de stopper la réaction enzymatique (Rashid *et al.*, 2001).

Après l'ajout de 4 gouttes de phénophtaléine, la quantité des acides gras libérés par l'activité lipasique de la solution des graines de *Salvia hispanica*, est mesurée par ajout du NaOH à 300 mM jusqu'à virage de la couleur. Le blanc a été préparé dans la même condition que le test sauf que l'extrait des graines de *Salvia hispanica* a été ajouté après que la réaction enzymatique soit arrêtée par l'éthanol.

Le volume du NaOH ajouté permet de calculer la concentration des acides gras libérés par l'activité lipasique selon l'équation suivante :  $C_a V_a = C_b V_b$

$C_a$  : La concentration des acides gras.

$V_a$  : Le volume du milieu réactionnel.

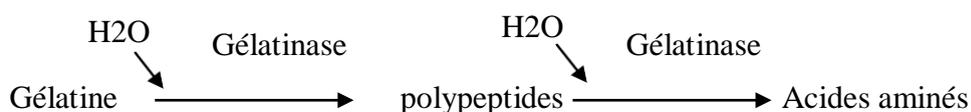
$C_b$  : La concentration du NaOH.

$V_b$  : Le volume du NaOH ajouté pour atteindre le virage de la couleur.

### **7.3 Recherche d'activité gélatinasiqne dans la solution des graines de *Salvia hispanica***

Afin de détecter l'activité gélatinasiqne dans la solution des graines de *Salvia hispanica*, le protocole d'essai d'hydrolyse de gélatine a été réalisé en milieu réactionnel préparé dans un tube à essai constitué de tampon phosphate à 0.2 M et pH 7, gélatinisé à 15%. La gélatine sert comme substrat pour l'activité gélatinasiqne.

La gélatinase est une enzyme qui hydrolyse gélatine en polypeptides qui seront par la suite converti en acides aminés, selon la réaction suivante (Leboffe et Pierce, 2010).



Le mélange réactionnel est constitué de 1mL de l'extrait des graines de *Salviahispanica* ajouté au milieu gélatiné et incubé à 30 °C pendant 30 minutes et 1h, contre un blanc incubé dans les mêmes conditions sauf que les 1 mL d'extrait des graines de *Salviahispanica* sont remplacés par 1 mL d'eau distillée.

La gélatine hydrolysée (dans notre cas l'extrait des graines de *Salvia hispanica*) donnera un milieu liquide, par contre la gélatine non hydrolysée restera solide (de la Cruz et Torres, 2012).

La gélatine se liquéfie à 28°C (de la Cruz et Torres, 2012), pour confirmer que la liquéfaction est due à l'activité de la gélatinase et non à la température d'incubation, les tubes sont incubés à 4°C pendant 30 minutes.

#### 7.4 Influence du pH et de la température sur l'activité des 3 enzymes testés

Divers facteurs environnementaux sont capables d'influencer la vitesse des réactions catalysées par les enzymes, les effets du pH et de la température sont généralement inclus (Robinson, 2015).

Pour cela l'influence de ces 2 facteurs, sur les activités amylasique, lipasique et gélatinasiq ue de la solution des graines de *Salvia hispanica*, ont été étudiées.

##### 7.4.1 Influence du pH sur l'activité des 3 enzymes testés

L'effet du changement de pH sur les activités amylasique, lipasique et gélatinasiq ue de la solution des graines de *Salvia hispanica*, est déterminé par remplacement du tampon phosphate à pH 7 (neutre) des milieux réactionnels (des 3 enzymes), décrit précédemment, par un tampon phosphate à pH 5.5 (acide) et tampon glycine-NaOH à pH 8,5 (basique). Les activités des 3 enzymes seront déterminées comme décrit précédemment.

#### **7.4.2 Influence de la température sur l'activité des 3 enzymes testés**

L'étude de l'effet de la température sur les activités amylasique, lipasique et gélatinasiq ue de la solution des graines de *Salvia hispanica*, sont déterminée par incubation des mélanges réactionnels décrits précédemment, à différentes températures (20, 30, 40 et 50°C). Les activités des 3 enzymes seront déterminées comme décrit précédemment.

#### **7.5 Influence du traitement pH et du traitement thermique sur la stabilité des 3enzymes testés**

##### **7.5.1 Influence du traitement pH sur la stabilité des 3 enzymes testés**

Afin de déterminer l'effet du pH sur la stabilité des enzymes, la solution des graines de *Salvia hispanica* est traitée en présence du HCl et du NaOH à 1 M à température ambiante pendant 1h et 2h.

##### **7.5.2 Influence du traitement thermique sur la stabilité des 3 enzymes testés**

Afin de déterminer l'effet du traitement thermique sur la stabilité des enzymes, la solution des graines de *Salvia hispanica* est traitée dans un bain marie à une température de 90°C pendant 1h et 2h.

Après ces traitements pH et thermique, les activités résiduelles des 3 enzymes testées sont mesurées en suivant le même protocole décrit précédemment, sauf que la solution des graines de *Salvia hispanica* non traitée est remplacée par la solution des graines de *Salvia hispanica* traitée.

# ***Résultats et discussion***

### 1. Le matériel biologique

Les graines de *Salvia hispanica* ont été achetées du commerce d'Ain Témouchent en Février 2022. Le but de ce travail est de rechercher des propriétés biologiques (antioxydantes, anti-inflammatoires et enzymatiques) au niveau de ces graines.

### 2. Détermination du pH de la solution des graines de *Salvia hispanica*

Pour déterminé le pH de notre solution, des bandelettes de pH ont été utilisées. Le résultat obtenu (Figure 6) montre que la solution des graines de *Salvia hispanica* à un pH de 6.

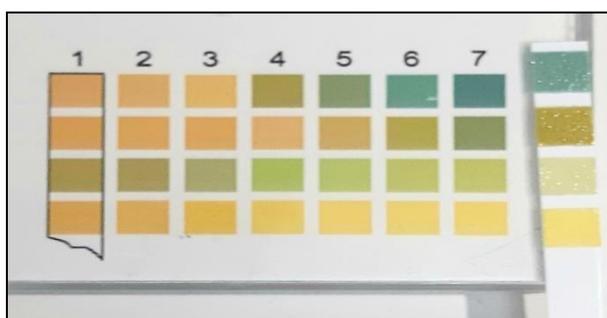


Figure 6 : Résultat de la mesure du pH de la solution des graines de *Salvia hispanica*.

### 3. Dosage des protéines de la solution des graines de *Salvia hispanica*

Afin de connaître les concentrations des protéines dans l'extrait des graines de *Salvia hispanica*, une courbe d'étalon DO = f([hémoglobine]) a été préparée (Figure 7).

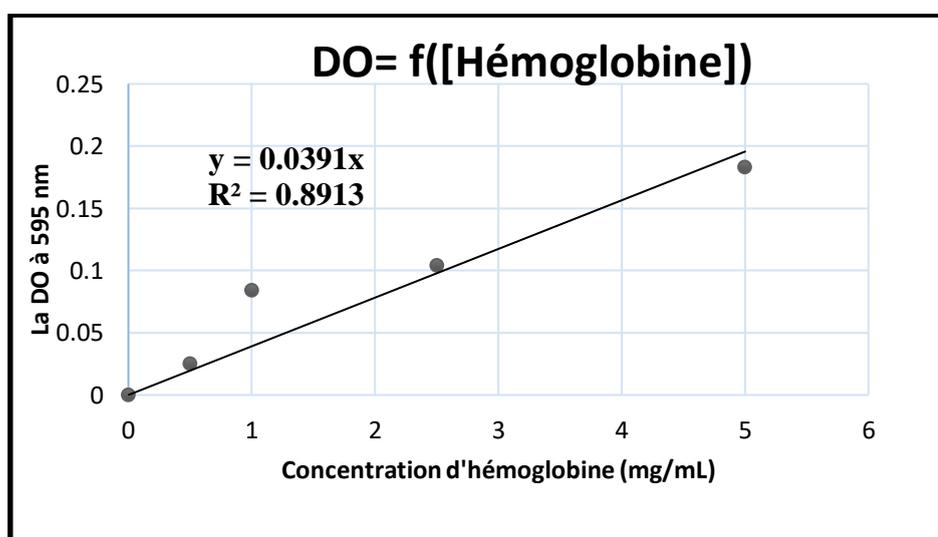


Figure 7 : Courbe étalon de l'hémoglobine.

Le résultat du dosage des protéines a montré la présence de 6,777 mg par mL de solution des graines de *Salvia hispanica* ce qui représente 16,94% de protéines au niveau de ces graines.

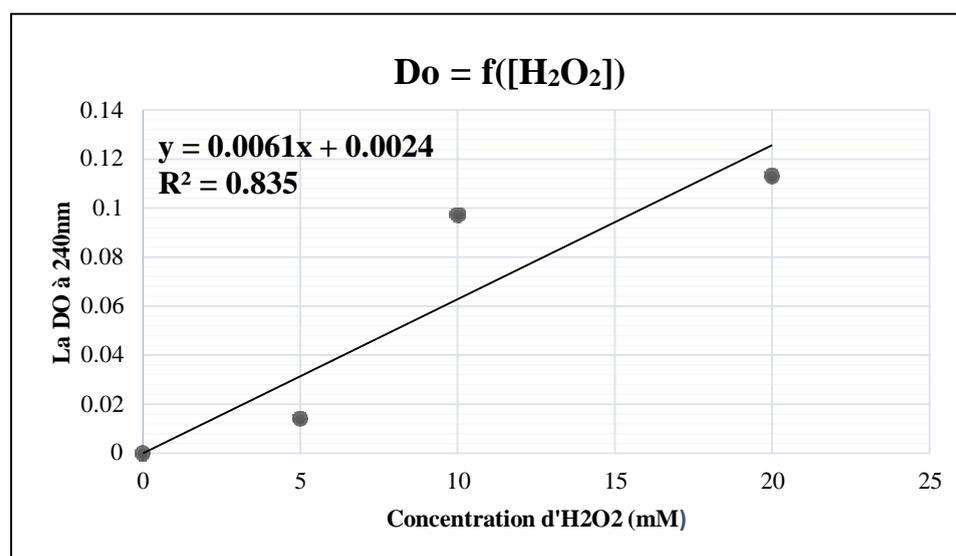
Notre résultat est en accord avec l'étude de Ivanovski *et al.*, (2019) qui ont rapporté que la teneur en protéines des graines de *Salvia hispanica* est d'environ 17%. D'autres études ont montré que les graines de *Salvia hispanica* sont composées de protéines (15–25%) (Ali *et al.*, 2012). Cette quantité de protéines dans les graines de *Salvia hispanica* dépend principalement de facteurs environnementaux et agronomiques (Ullah *et al.*, 2016).

#### **4. Recherche d'activité antioxydante dans la solution des graines de *Salvia hispanica*.**

##### **4.1 Recherche d'activité catalasique dans la solution des graines de *Salvia hispanica*.**

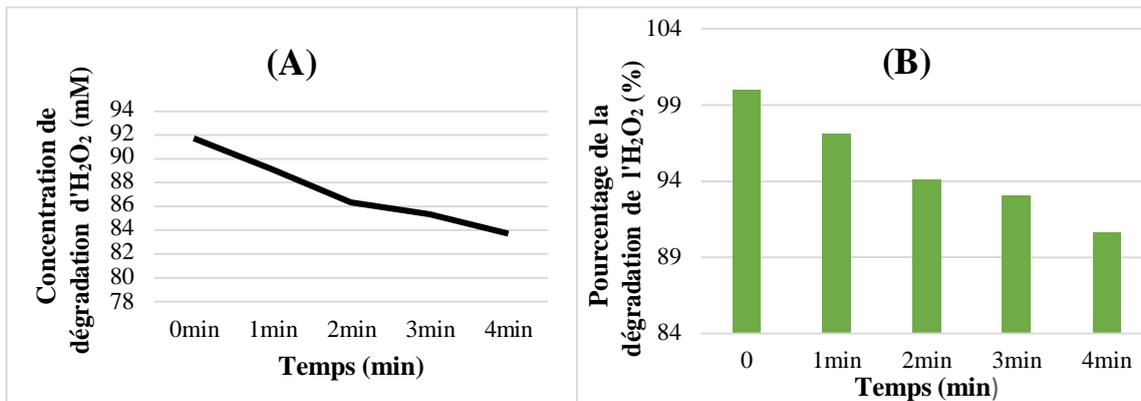
Afin de rechercher la présence d'activité catalasique chez les graines *Salvia hispanica*, la méthode d'Aebi,(1984) a été utilisée par la mesure de la diminution de l'absorbance d'une solution H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Pour déterminer les quantités d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dégradées par les catalases, une courbe étalon DO = f ([H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>]) a été préparée (Figure 8).



**Figure 8** : Courbe étalon de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

La recherche d'activité catalasique a été réalisée par un suivi de la disparition de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en fonction du temps, par la solution des graines de *Salvia hispanica* (Figure 9).



**Figure 9** : Capacité de dégradation de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> par la solution des graines de *Salvia hispanica*.(A) :Cinétique de la dégradation de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, (B) : Pourcentage de dégradation de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en fonction du temps.

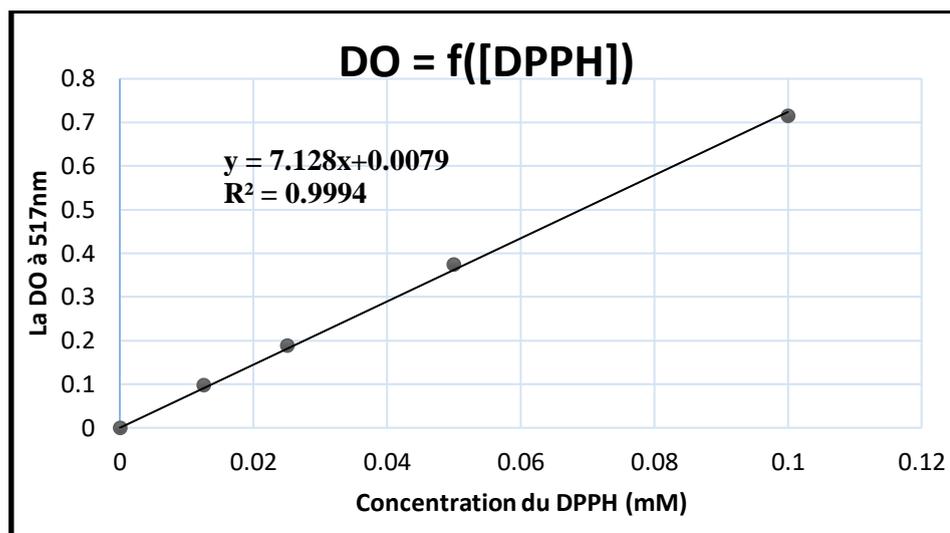
Les résultats obtenus (Figure 9) montrent que la solution des graines de *Salvia hispanica* présente une propriété antioxydante due à sa capacité à dégrader l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. La présence d'activités antioxydantes dans les graines de *Salvia hispanica* a été déjà montré par les travaux de Firtin *et al.*, (2020).

La solution des graines de *Salvia hispanica* à 40mg/mL, a permis de dégrader, entre 0 et 4min, à une concentration de 8,56 mM d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Figure 9A) ce qui correspond à 9,34% d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(Figure 9B). L'étude de Abdel *et al.*, ( 2021 ) a montré aussi que les graines de *Salvia hispanica* présente une activité catalasique qui permet la consommation de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

#### 4.2 Recherche d'activité anti-radicalaire chez la solution des graines de *Salvia hispanica* par la méthode de piégeage du DPPH.

En plus de la recherche des catalases, les capacités de la solution des graines de *Salvia hispanica* à piéger le DPPH (2,2-dyphényl-1-picrylhydrazyl) ont été évaluées.

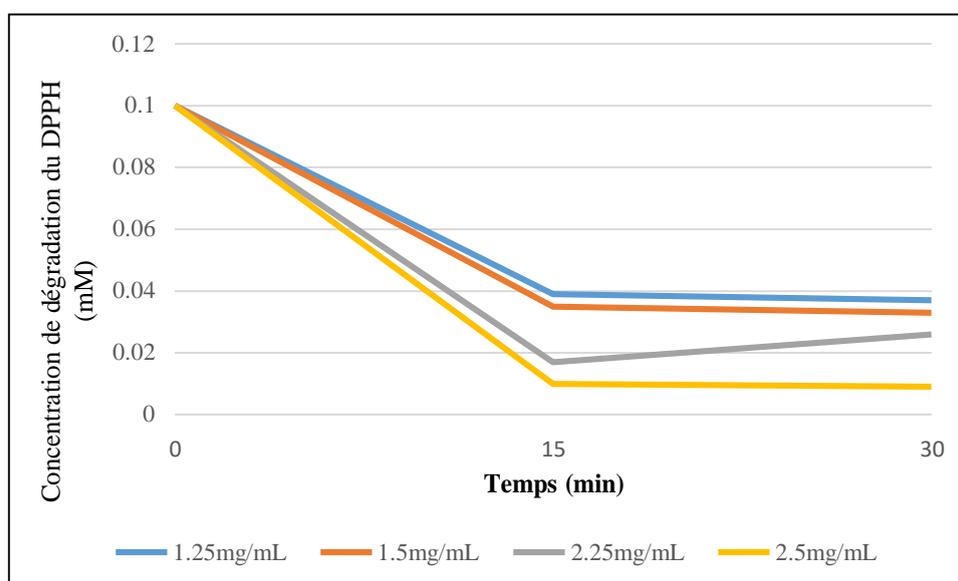
Pour déterminer les quantités de DPPH consommées, une courbe étalon DO=f([DPPH]) a été préparée (Figure 10).



**Figure 10 :** Courbe étalon du DPPH

Selon les résultats obtenus (Figure 10), la solution des graines de *Salvia hispanica*, possède une capacité à piéger les radicaux DPPH. Ces résultats sont en accord avec l'étude de Sargi *et al.*, (2013), qui a montré que les graines de *Salvia hispanica* présentent une capacité à piéger les radicaux DPPH.

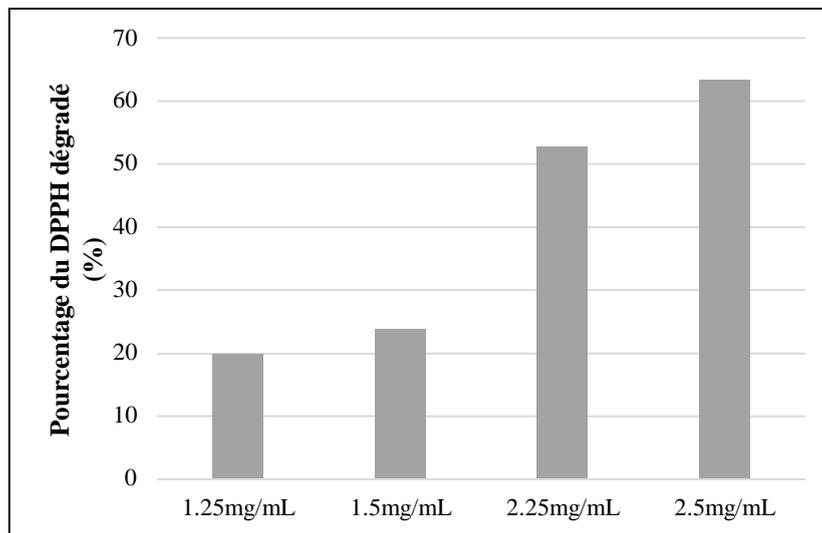
Les résultats obtenus montrent que les concentrations (1,25, 1,5 ,2,25 et 2,5 mg/mL) de la solution des graines de *Salvia hispanica* influencent les capacités de disparition du DPPH (Figure 11). Cette capacité arrive à son maximum au bout de 15min puis elle reste stable.



**Figure 11:** Influence de la concentration de la solution des graines de *Salvia hispanica* sur la dégradation du DPPH

Les résultats du calcul des pourcentages de dégradation du DPPH (Figure 12) montrent que plus la concentration de la solution des graines de *Salvia hispanica* augmente, et plus la quantité du DPPH dégradée augmente, ce qui est en accord avec des études effectuées sur les capacités de piégeage du DPPH par des échantillons biologiques (Ali *et al.*, 2013 ; Chu *et al.*, 2018).

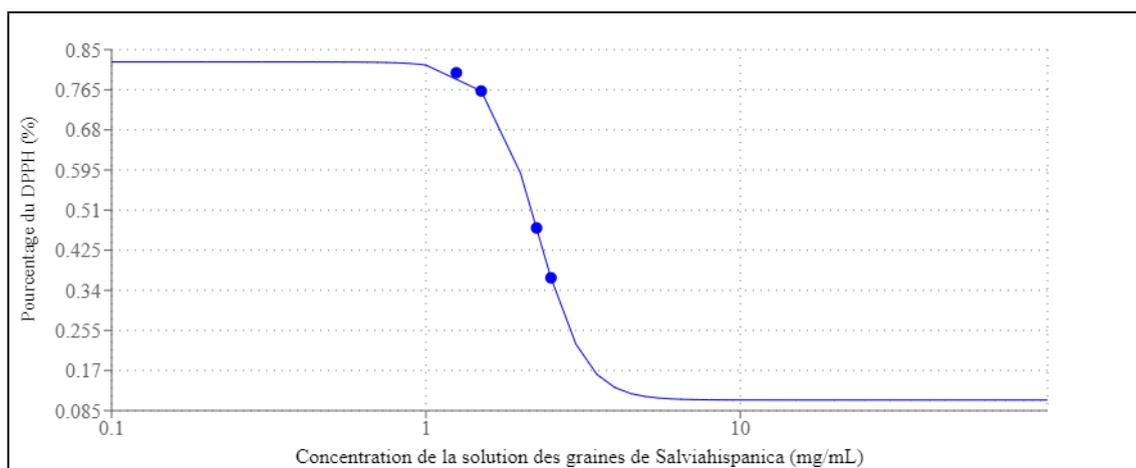
Cette augmentation des pourcentages de piégeage du DPPH (19,89%, 23,76%, 52,78% et 63,35%), est proportionnelle à l'augmentation des concentrations de la solution des graines de *Salvia hispanica* (1,25, 1,5, 2,25 et 2,5mg/mL) (Figure 12).



**Figure 12 :** Pourcentage de dégradation du DPPH par les différentes concentrations de la solution des graines de *Salvia hispanica*.

Une fois la présence d'activité de piégeage du DPPH a été détecté au niveau des graines de *Salvia hispanica* l'IC<sub>50</sub> (concentration inhibitrice médiane, disparition de 50% du DPPH) a été calculé en utilisant le logiciel ATT Bioquest (ATT Bioquest, 2019). L'IC<sub>50</sub> est la mesure la plus largement utilisée (Aykul et Hackert, 2016) pour mesurer l'activité antioxydante des échantillons (Shen *et al.*, 2018). Plus la valeur IC<sub>50</sub> est faible, plus l'activité antioxydante est forte (Antolovich *et al.*, 2002).

Les résultats obtenus ont montré que la valeur IC<sub>50</sub> (concentration nécessaire pour inhiber 50% des radicaux du DPPH) de la solution des graines de *Salvia hispanica*, est de 2,2643mg/mL (Figure 13).



**Figure 13** : Dégradation du DPPH et détermination de l'IC<sub>50</sub> par la solution des graines de *Salvia hispanica* à différentes concentrations.

Afin de savoir si notre solution des graines de *Salvia hispanica* possède une activité antioxydante faible, moyenne ou forte, les résultats obtenus ont été comparés avec les résultats d'autres travaux sur le piégeage du DPPH.

Les résultats d'étude de Scapin *et al.*, (2016) sur l'activité antioxydante présente dans les graines de *Salvia hispanica* à partir de l'extrait hydro-éthanolique, ont montré une valeur d'IC<sub>50</sub> de 3,841 mg/mL, supérieure à l'IC<sub>50</sub> à ce qu'on a obtenu dans notre étude (2,2643 mg/mL). Les capacités de piégeage du DPPH qu'on a obtenu semblent être supérieures à celle obtenue dans l'étude de Scapin *et al.*, (2016).

D'autres travaux sur l'activité antioxydantes, comme par exemple sur les extraits d'huile des graines de *Salvia hispanica*, avec l'utilisation de deux méthodes d'extractions, des extraits d'hexane (HE) et de Bligh-Dyer (BDE), l'IC<sub>50</sub> de chacune sont, respectivement, 79,23 mg/mL et 51,88 mg/mL (Rodrigues *et al.*, 2018), ce que signifie que les capacités de piégeage du DPPH obtenues dans l'étude Rodrigues *et al.*, (2018) sont plus faible que les capacités de piégeage du DPPH obtenues dans notre étude et aussi celles obtenues dans l'étude de Scapin *et al.*, (2016) (IC<sub>50</sub> = 3,841 mg/mL de l'extrait hydro-éthanolique des graines de *Salvia hispanica*). Cette différence de valeur de l'IC<sub>50</sub> peut être due à la différence de l'extrait, Des résultats ont montré que la graine de *Salvia hispanica* a une teneur élevée en fibres alimentaires, en lipides et en protéines (Ivanovski *et al.*, 2019). Les extraits obtenus ont un potentiel antioxydant en raison des molécules qui sont récupérées, par exemple, ce qui est obtenu dans le cas de macération dans de l'eau, est riche et avec une forte concentration

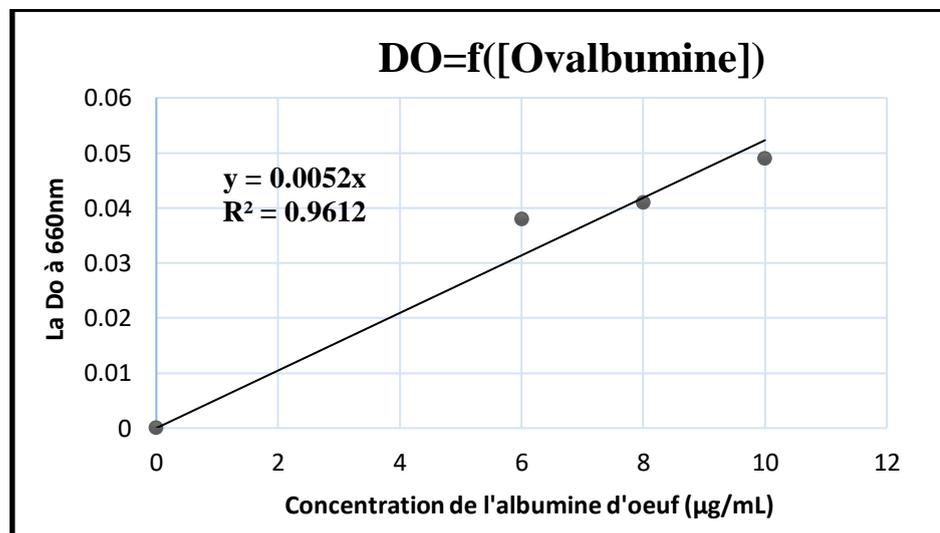
d'acide alpha linoléique (ALA), fibres alimentaires, protéines, vitamines, minéraux et composés phytochimiques, tels que les composés phénoliques (daSilva *et al.*, 2017), ces composants sont responsable de l'amélioration, entre autres, de l'activité antioxydante (Scapin *et al.*, 2016).

Par contre, des niveaux les plus élevés de composés phénoliques, de flavonoïdes et d'activité antioxydante ont été obtenus en utilisant la méthode d'agitation avec une concentration d'éthanol (Scapin *et al.*, 2016). De plus, il existe une relation entre la teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes, et la capacité antioxydante *in vitro*, montrant que ces composés sont les principaux responsables du potentiel antioxydant des extraits de graines de *Salvia hispanica* (Scapin *et al.*, 2016).

### **5. Recherche d'activité anti-inflammatoire dans la solution des graines de *Salvia hispanica***

Afin de rechercher des propriétés anti-inflammatoires, les capacités de la solution des graines de *Salvia hispanica* à inhiber la dénaturation de l'albumine d'œuf (ovalbumine) par la température élevée a été évaluée.

Pour déterminer les quantités de l'ovalbumine dégradées par la chaleur, une courbe étalon DO= f ([Albumine]) a été préparée (Figure x).



**Figure 14 :** Courbe étalon de l'ovalbumine.

Les résultats obtenus (Figure 14) de la recherche des propriétés anti-inflammatoires montrent que la solution des graines de *Salvia hispanica*, possède une capacité à inhiber la

dénaturation de l'albumine d'œuf. En effet, on remarque qu'en présence de la solution des graines de *Salvia hispanica*, la quantité de l'ovalbumine non dégradée par le traitement thermique est plus grande, par rapport à la quantité en son absence.

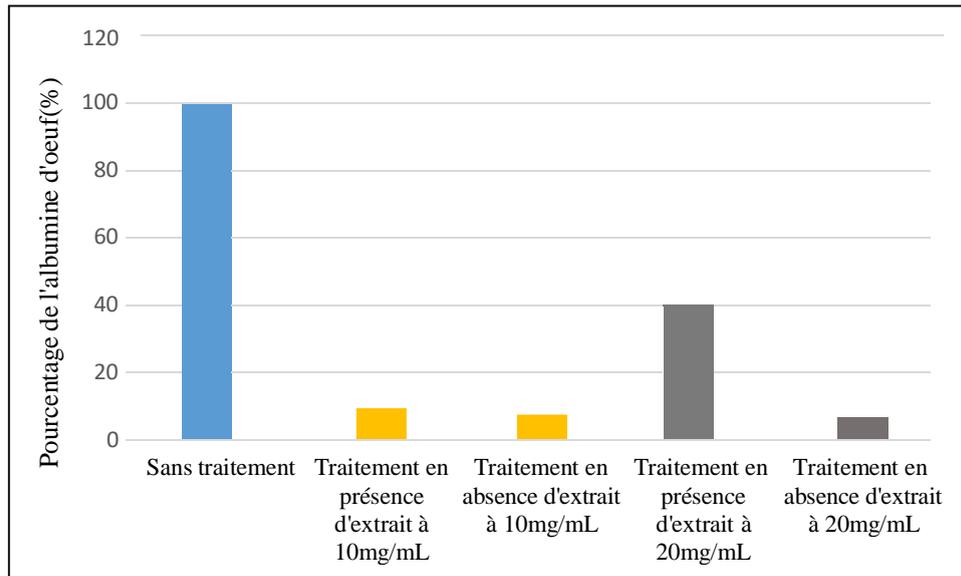
Ces résultats sont en accord avec l'étude de Chan-Zapata *et al.*, (2019), qui a montré que les graines de *Salvia hispanica* présentent une capacité à inhiber la dénaturation de l'albumine, dont ils ont conclu que les graines de *Salvia hispanica* possèdent une activité anti-inflammatoire.

La dénaturation des protéines est un marqueur d'inflammation (Angel *et al.*, 2013). Par conséquent, en inhibant la dénaturation des protéines, l'activité inflammatoire peut être inhibée (Sangeetha et Vidhya, 2016 ), c'est pour cela que l'inhibition de la dénaturation des protéines est considérée comme une action anti-inflammatoire, ce qui signifie que la solution des graines de *Salvia hispanica*, sont dotées de propriétés anti-inflammatoires. Ces résultats sont en accord avec l'étude de Rubavathi *et al.*, (2020) et l'étude de Aléman *et al.*,(2021) qui ont montré que les graines de *Salvia hispanica* possèdent une activité anti-inflammatoires.

Les résultats du calcul des pourcentages de l'inhibition de dégradation de l'albumine de l'œuf (Figure 15) montrent que plus la concentration de la solution des graines de *Salvia hispanica* augmente, et plus la quantité de l'albumine de l'œuf protégée contre la dégradation augmente, ce qui est en accord avec des études effectuées sur les capacités de l'inhibition de dégradation de l'albumine de l'œuf par des échantillons biologiques (Henneh *et al.*,2018 ; Dharmadeva *et al.*,2018).

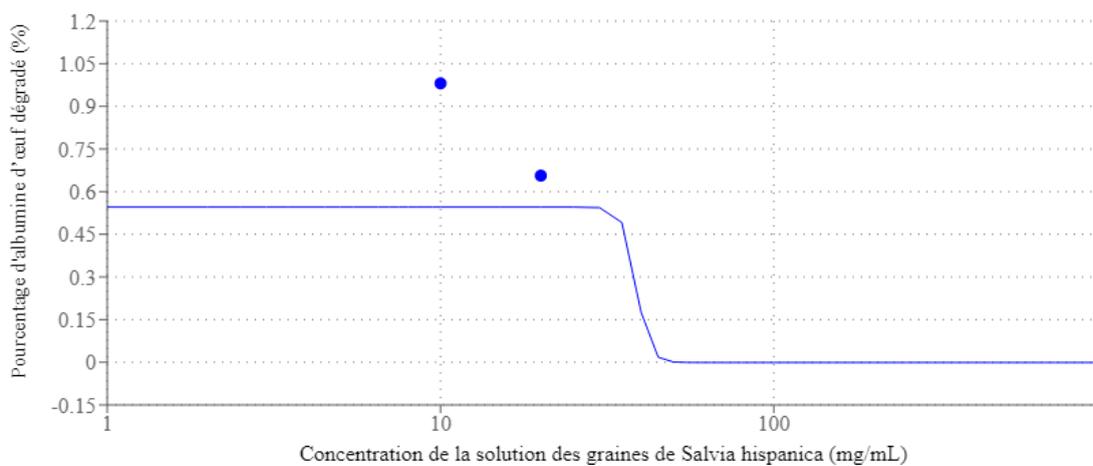
Cette augmentation des pourcentages d'inhibition de la dégradation de l'albumine de l'œuf (1.92% et 34.37%) est proportionnelle à l'augmentation des concentrations de la solution des graines de *Salvia hispanica* (10mg/mL et 20mg/mL)(Figure 15).

Les résultats de dégradation de l'albumine de l'œuf (Figure 15) montrent qu'en absence d'extrait des graines de *Salvia hispanica*, l'albumine de l'œuf n'est pas protégée, ce qui augmente sa quantité dégradée par le traitement thermique.



**Figure 15:** Résultats de l'inhibition de la dégradation de l'albumine de l'œuf, par la solution des graines de *Salvia hispanica* suite au traitement thermique

En utilisant le logiciel ATT Bioquest (ATT Bioquest, 2019), les résultats obtenus ont montré que la solution des graines de *Salvia hispanica* a une activité anti-inflammatoire avec un IC<sub>50</sub> de 38.6765 mg/mL (Figure 16).



**Figure 16 :** Dégradation de l'ovalbumine et détermination de l'IC<sub>50</sub> par la solution des graines de *Salvia hispanica* à différentes concentrations.

Afin de savoir si notre solution des graines de *Salvia hispanica* possède une activité anti-inflammatoire faible, moyenne ou forte, les résultats obtenus ont été comparés avec les résultats d'autres travaux sur l'inhibition de la dénaturation de l'albumine.

Les résultats d'étude de Dharmadeva *et al.*, (2018) sur l'activité anti-inflammatoire présente dans l'extrait de l'écorce de *Ficus racemosa*, qui a été évaluée par rapport à la méthode de dénaturation de l'albumine d'œuf avec l'utilisation de l'extrait d'eau froide, ont montré que la valeur de l'IC<sub>50</sub> est de 3,6919 mg/mL, qui est inférieure à l'IC<sub>50</sub> de notre solution des graines de *Salvia hispanica* (38.6765 mg/mL), ce qui signifie que l'écorce de *Ficus racemosa* possède une forte activité anti-inflammatoire de celle de la solution des graines de *Salvia hispanica*.

Les différents extraits obtenus à partir des échantillons biologiques ont un potentiel anti-inflammatoire en raison des molécules qui sont récupérées, par exemple leur teneur élevée en acides gras, oméga-3 et en fibres alimentaires, en protéines, en acide alpha linoléique (ALA), vitamines et minéraux (Marineli *et al.*, 2014). Ces composants sont responsables de l'amélioration, entre autres, de l'activité anti-inflammatoire (Martínez et Segura,2020).

L'étude de Grancieri *et al.*, (2019), a montré dans un sous-produit d'huiles de *Salvia hispanica*, possède une portion protéique, qui est une source prometteuse de peptides bioactifs, avec application dans la prévention des inflammations (Martínez et Segura,2020). Aussi, des fractions peptidiques obtenues de *Salvia hispanica* ont montré un effet anti-inflammatoire (Chan-Zapata *et al.*, 2019). De plus, il existe une relation entre la teneur élevée en protéines, et la capacité anti-inflammatoire *in vitro*, montrant que ces composés sont les principaux responsables du potentiel anti-inflammatoire des extraits de graines de *Salvia hispanica* (Martínez et Segura,2020). En effet les protéines sont responsables du potentiel anti-inflammatoire, dont elles réduisent l'expression et la sécrétion de marqueurs liés aux voies de l'inflammation par exemple la glutéline des graines de *Salvia hispanica* (Grancieri *et al.*,2019).

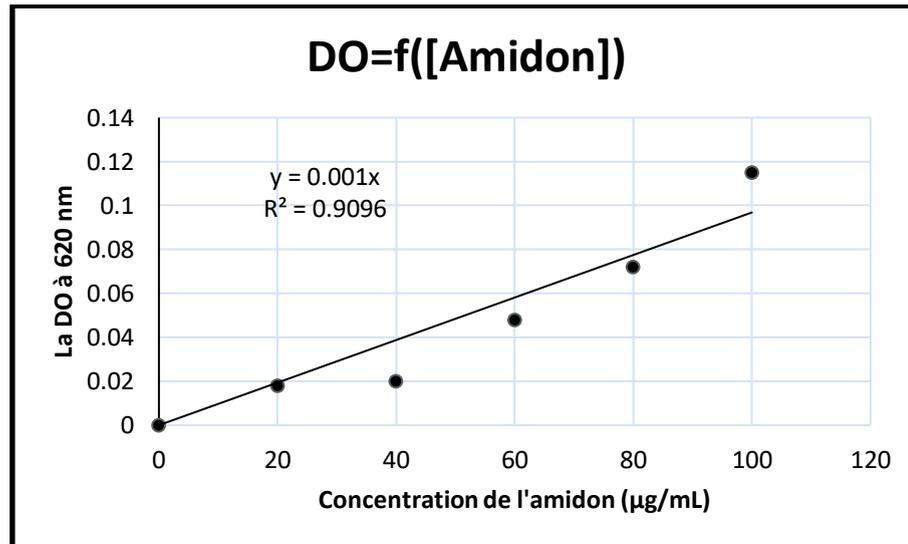
## **6. Recherche d'activité enzymatique dans la solution des graines de *Salvia hispanica***

### **6.1 Recherche d'activité amylasiques, lipasique et gélatinasiqque dans la solution des graines de *Salvia hispanica***

La méthode de Carvi-Somogyiiodure/potassium iodure (IKI) a été réalisée (Fatema *et al.*,2017). L'activité amylasique est évaluée en fonction de la capacité des amylases de la

solution des graines de *Salvia hispanica* à dégrader l'amidon qui se trouve dans le milieu réactionnel.

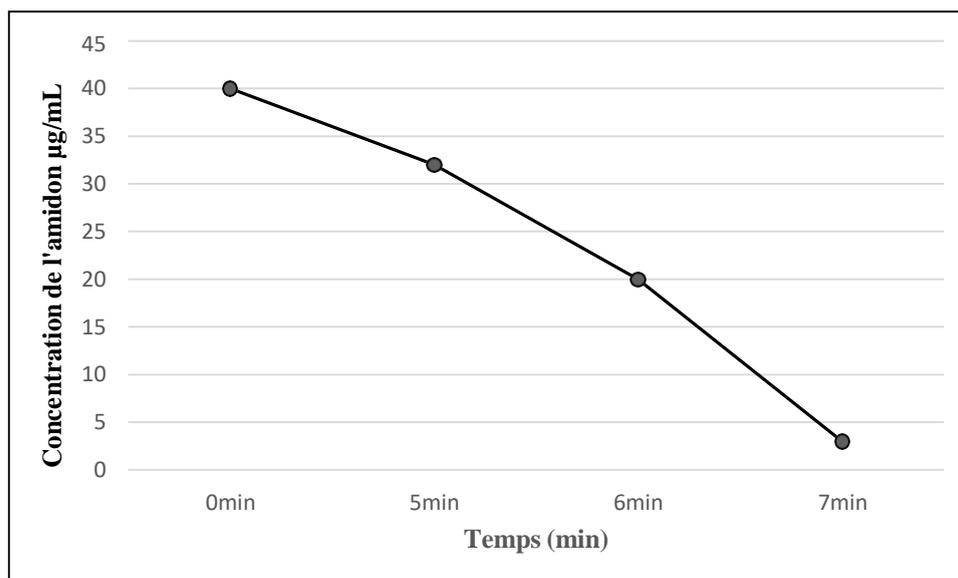
Pour déterminer la quantité d'amidon dégradée par l'activité amylasique de la solution des graines de *Salvia hispanica*,) une courbe étalon DO = f ([Amidon]) a été préparée. (Figure 17).



**Figure 17** : Courbe étalon de l'amidon.

Les résultats obtenus sur l'activité amylasique, mesurée selon la capacité à dégrader l'amidon, ont indiqué la présence d'activité amylasique dans l'extrait des graines de *Salvia hispanica*.

L'étude de l'influence du temps sur l'activité amylasique de la solution des graines de *Salvia hispanica*, qui a été évaluée à différents temps (0min, 5min, 6min, 7min) (Figure 18), montre que la quantité de l'amidon diminue en fonction du temps, ce qui signifie que l'activité amylasique augmente (proportionnelle à la quantité d'amidon dégradée) en fonction du temps, jusqu'à ce qu'elle arrive à son maximum après 7min d'incubation (Figure 18).



**Figure 18** : Courbe de la cinétique de la dégradation de l'amidon en fonction de temps.

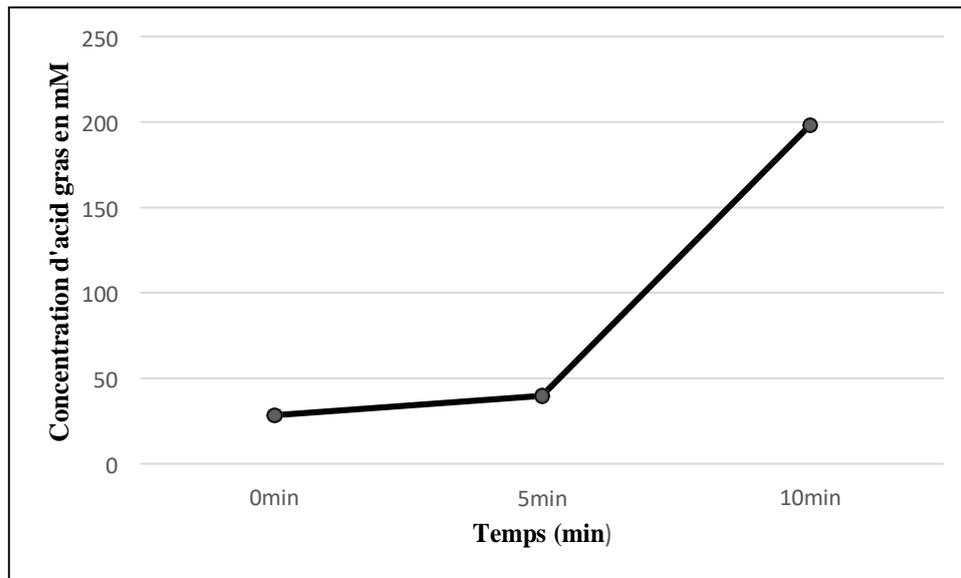
Des études ont montré que les graines de *Salvia hispanica* peuvent être utilisées dans de nombreuses applications industrielles utilisées pour produire de l'amylase (Abdel *et al.*, 2021).

Plusieurs études ont montré la présence d'activité amylasique au niveau des graines. L'étude de Afiukwa *et al.*, (2009) sur les graines de *Mangifera oraphila*, montre que la concentration de l'amidon diminue en fonction du temps, passant d'environ 17 µg/MI à 2,9µg/MI en 60 min, alors que les résultats qu'on a trouvé montre que la concentration de l'amidon passe de 40µg/MI à 3µg/MI en 7 min (Figure 18), ce qui signifie que les graines de *Salvia hispanica* possèdent une meilleure activité que celle des graines de *Mangifera oraphila*.

Aussi, la présence d'activité amylasique au niveau des graines a été aussi montré par Mahakham *et al.*, (2017), sur les graines de *Oryzasativa* qui possédaient des degrés et des capacité élevés à hydrolyser l'amidon. Ce qui donnent aux graines un rôle important dans l'hydrolyse de l'amidon par les amylases (Mahakham *et al.*, 2017).

Afin de rechercher l'activité lipasique dans la solution des graines de *Salvia hispanica*, la méthode de titration acido-basique (Deeth et Touch,2000 ; Stoytcheva *et al.*, 2012) a été appliquée pour la détermination de la quantité d'acides gras libérés, et qui sera mesurée par ajout du NaOH jusqu'à virage de la couleur vers le rose. Le volume du NaOH ajouté, permet de calculer la concentration des acides gras libérés par l'activité lipasique selon l'équation suivante :  $C_aV_a = C_bV_b$ .

L'étude de l'influence du temps sur l'activité lipasique de la solution des graines de *Salvia hispanica*, qui a été évaluée à différents temps (0min, 5min, 10min) (Figure 19), montre que la quantité d'acide gras libérés augmente en fonction du temps, ce qui signifie que l'activité lipasique augmente en fonction du temps (Figure 19).



**Figure 19 :** Courbe de la cinétique de la libération des acides gras en fonction de temps.

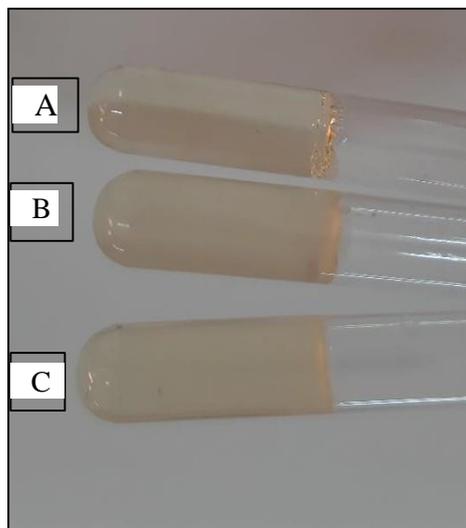
La présence d'activité lipasique au niveau *Salvia hispanica* a été montrée par les études de Rodrigues *et al.*, (2018). Ces études ont été faites sur l'huile essentielle extraite de *Salvia hispanica* et qui ont montré une capacité à réduire les triglycérides et les lipides ce qui signifie la présence d'une activité lipasique.

Plusieurs études ont montré la présence d'activité lipasique au niveau des graines, comme par exemple au niveau des graines de *Zeamays* (maïs) (Lin *et al.*, 1986 ; Huang *et al.*, 1988), des graines de *Helianthus annuus*. (Sadeghipour et Bhatla, 2003), des graines de *Brassica napus* (Sana *et al.*, 2004), des graines de *Pentaclethra macrophylla Benth* (Enujiugha *et al.*, 2004) des graines de *Linum usitatissimum* (Sammour, 2005) et des graines de *Panchira aquatica Bombacaceae* (Polizelli *et al.*, 2008 ).

Afin de rechercher l'activité gélatinasiqne dans la solution des graines de *Salvia hispanica*, le test qui se base sur les capacités de l'hydrolyse de la gélatine a été réalisé.

L'étude de l'influence du temps sur l'activité gélatinasiqne de la solution des graines de *Salvia hispanica*, qui a été évaluée à différents temps (0 min, 30 min et 60 min) (Figure 20),

montre que la gélatine est restée solide, c'est-à-dire non hydrolysée, ce qui signifie l'absence d'activité gélatinase (Figure 20).



**Figure 20** : Résultat de recherche de l'activité gélatinase dans les graines de *Salvia hispanica*.

Tube A : Tube de contrôle, Tube B : Tube incubé 30min, Tube C : Tube incubé 1h

Les protéases apparaissent une fois la germination commencée dans les graines (Gurung *et al.*, 2013) et les protéases ont été détecté au niveau des graines, comme par exemple les graines de *Oryza sativa* (riz) (Sreedhar et Kaul, 2016). Ce test de gélatinase, ne peut pas conclure sur la présence d'activité protéasique au niveau des graines de *Salvia hispanica*, pour cela d'autres tests de recherche d'activité protéasiques doivent être effectués comme celui de dosage de libération par spectrophotométrie des acides aminés et en utilisant aussi d'autres substrats protéiques, comme la caseine, l'azocaseine, ou l'azocoll.

Les enzymes sont synthétisées et accumulées au cours du développement des graines (Giese et Hejgaard, 1984). Les deux (2) hydrolases trouvées dans notre étude, les amylases et les lipases, permettent l'hydrolyse, respectivement, de l'amidon et des lipides. Ces substrats sont des sources de réserves d'énergie pour les graines et des réserves nutritives majeures, utilisées lors de la germination (Paques and Macedo, 2006 ; Hellyer *et al.*, 1999).

Les enzymes amyliques telles que les  $\alpha$ -amylases sont essentielles pour la formation du granule de stockage d'amidon, pendant la maturation des graines, ce qui permet de nourrir le semis en développement pendant la germination des graines, jouant un rôle directement sur la croissance de la plante (Damaris *et al.*, 2019). Aussi, les enzymes lipolytiques catalysent la première étape de la mobilisation des lipides, pour fournir de l'énergie nécessaire à la croissance embryonnaire pendant et après la période de germination (Borgston et Brockman, 1984 ; Quettier et Eastmond, 2009).

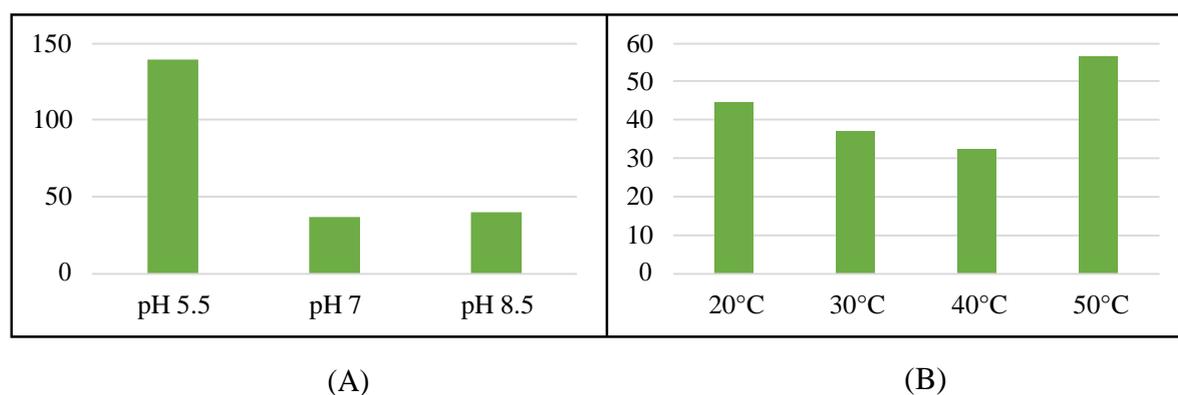
## 6.2 Influence du pH et de la température sur l'activité amyliques et lipasique

Afin de détecter l'influence du pH et de la température sur l'activité amyliques et lipasique un test a été réalisé en incubant le milieu réactionnel à différents pH 5.5 (acide), 7 (neutre), 8.5 (basique) et à différentes températures (20, 30, 40, 50°C).

Les résultats de caractérisation de l'activité amyliques, montrent que le pH (Figure 21 A) et la température d'incubation (Figure 21 B), influencent sur cette activité catalytique de cette enzyme. En effet, ces résultats montrent que le pH optimal pour l'activité amyliques est de 5.5, et la température optimale est de 50°C (Figure 21 A et B).

A pH 8.5 (basique), notre solution des graines de chia présente une très faible activité amyliques par rapport au pH optimal 5.5 (acide) mais presque similaire à celle trouvée à pH 7 (Figure 21A).

La solution des graines de *Salvia hispanica* présente aussi une activité amyliques à différentes température 20°C, 30°C et 40°C mais plus faible que l'activité détecter à la température optimale 50°C.( Figure xB)



**Figure 21:** Détermination du pH optimal (A) et de la température optimale (B) de l'activité amyliques de la solution des graines de *Salvia hispanica*.

Les amylases présentes dans les graines telles que les graines de *Oryza sativa* (riz) (Damaris *et al.*, 2019), et les graines de céréales, jouent un rôle important dans l'hydrolyse de l'amidon (Kaneko *et al.*, 2002). Les études de Tindall, (1996) ont montré que les amylases de graines de *Mangifera oraphila* agissent dans une gamme de pH de 5, 6, 7 et 8, alors que dans notre étude l'activité amyliasique ne possédait pas une bonne activité à pH 7 et 8.5 (Figure 21A).

L'étude de Afiukwa *et al.*, (2009) ont trouvé que le pH optimal des amylases des graines de *Mangifera oraphila* est de pH 6 (acide), ce qui est en accord avec le résultat trouvé dans notre étude, qui a montré un pH optimal de 5.5 (acide).

Selon Michelin *et al.*, (2010), les amylases de la plupart des champignons sont connues pour avoir des pH optimaux dans une gamme de pH acide à neutre, similaire avec des amylases de *Bacillus amylolique faciens* d'un pH optimal entre 5 et 7.5 (Igarashi *et al.*, 1998).

Les résultats qu'on a trouvés sur le pH des amylases des graines *Salvia hispanica* sont en accord avec ces résultats qui ont aussi un pH d'activité optimale, acide.

Concernant la température optimale des amylases des graines *Salvia hispanica* qu'on a trouvée (50°C) est similaire à celle trouvée dans l'étude de Srivastava et Kayastha, (2014) et qui montre que la  $\beta$ -amylase des graines de *Trigonella Foenum-Graecum*, possède une température optimale d'activité de 50°C, de même que la température optimale de l' $\alpha$ -amylase observée chez les graines de *Lolium rigidum* (ray-grass) est de 53°C (Goggin et Powles, 2012).

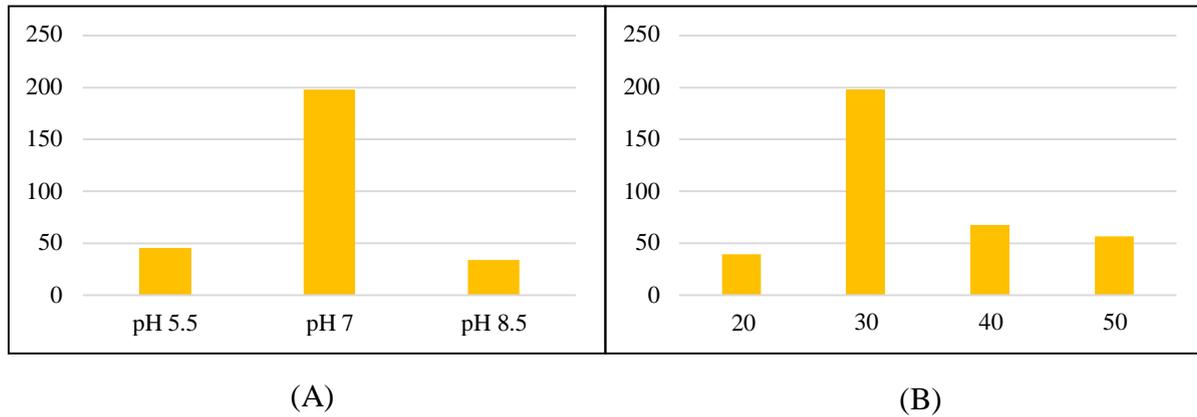
Aussi, l'étude de Igarashi *et al.*, (1998), sur l'amylase chez *Bacillus*, a montré que sa température optimale d'activité est de 55°C.

Toujours par rapport aux températures optimales élevées des activités amyliasiques, les études faites par Afiukwa *et al.*, (2009) ont montré que la température optimale de l'amylase des graines de *Mangifera oraphila* est de 60°C, similaire avec l'étude de Egwim et Oloyede, (2006) qui a montré aussi que la température optimale de l' $\alpha$ -amylase des graines de *Zeamays* (maïs) et de (*Oryza sativa*) (riz) est 60°C.

Les résultats de caractérisation de l'activité lipasique, obtenus après 10 min d'incubation, montrent que le pH optimal pour l'activité lipasique est de 7, et la température optimale est de 30°C (Figure 22 A et B).

A pH 5.5 (acide) et pH 8.5 (basique), l'activité lipasique de la solution des graines *Salvia hispanica* est plus faible que l'activité présente au pH optimal 7 (Figure 22A).

Concernant l'influence de la température, la solution de *Salvia hispanica* présente une activité lipasique à différentes température 20°C, 40°C et 50°C mais plus faible par rapport à l'activité présente à sa température optimale de 30°C (Figure 22B).



**Figure 22:** Détermination du pH optimal (A) et de la température optimale (B) de l'activité lipasique de la solution des graines de *Salvia hispanica*.

Les études de Sana *et al.*, (2004) ont montré que le pH optimal des lipases des graines de *Brassica napus* est de 7 (neutre), et les études de Kermasha *et al.*, (1986) ont montré aussi un pH optimal à 7 pour les lipases des graines de *Phaseolus vulgaris* et Kawinski *et al.*, (2021) a montré une activité lipasique a pH optimal 7 pour les graines de jojoba, ce qui est en accord avec notre résultat sur les graines de *Salvia hispanica* avec un pH optimal 7( neutre).

Concernant la température, l'étude d'Enujiugha *et al.* (2004) a montré que l'activité lipasique chez les graines de *Pentaclethra macrophylla Benth* présente une température optimale de 30°C similaire à la température optimale de notre étude. De même que la température optimale de l'activité lipasique détectée chez les graines de *Ricinus communis* (ricin) est de 30°C (Eastmond, 2004).

Les résultats de caractérisation de l'activité gélatinasiq, obtenus après 30 min et 60 min d'incubation à différents pH (5.5, 7, et 8.5) et à différentes températures (20, 30, 40, et 50°C), montrent que la gélatine est restée solide, c'est-à-dire non hydrolysée, ce qui signifié l'absence d'activité gélatinasiq chez notre solution des graines de *Salvia hispanica*.

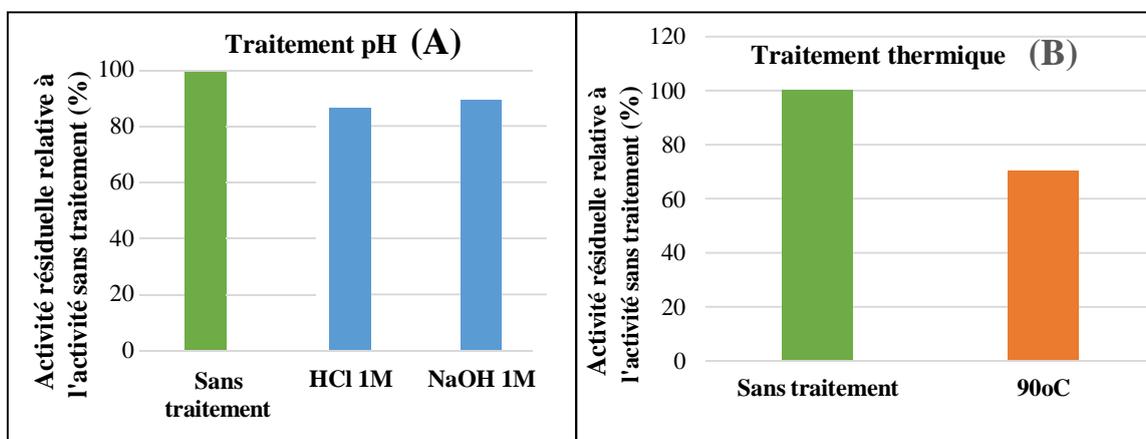
Comme on vient de le voir, l'activité enzymatique peut être influencée par le pH du tampon et par la température d'incubation. Les propriétés catalytiques des enzymes sont exploitées pour effectuer des bioconversions efficaces et rentables (Rigoldi *et al.*,2018) et pour

une utilisation efficace, il est souvent souhaitable que ces enzymes possèdent une forte activité catalytique sur une large gamme de températures et de pH (Furukawa *et al.*, 2020).

La plupart des enzymes sont sensibles au pH, elles ont une plage de pH spécifique et un pH d'activité optimale (Iheme *et al.*, 2017). Lorsque le pH change, l'ionisation des groupements, à la fois sur le site actif de l'enzyme que sur le substrat, peuvent changer, influençant le taux de liaison du substrat au site actif (Robinson, 2015), ce qui peut influencer l'activité enzymatique. Aussi la température peut avoir un effet sur l'activité enzymatique et peut influencer la vitesse catalytique (Peterson *et al.*, 2007). Lorsque la température augmente, la vitesse de mouvement moléculaire et donc la vitesse de réaction augmentent, mais en même temps, il y a une inactivation progressive causée par la dénaturation de la protéine enzymatique (Robinson, 2015). Ce qui explique ces variations d'activité en fonction du pH et de la température d'incubation.

### 6.3 Influence du pH et du traitement thermique sur la stabilité des amylases et des lipases de la solution des graines de *Salvia hispanica*

Les résultats de l'étude de l'influence du traitement pH et du traitement thermique sur la stabilité des amylases présentes dans la solution des graines de *Salvia hispanica*, sont présentés dans la figure suivante.



**Figure 23:** l'influence du traitement pH (A) et du traitement thermique (B) sur la stabilité des amylases des graines de *Salvia hispanica* après 1h de traitement.

Dans l'étude de l'influence du pH sur la stabilité des amylases, les résultats obtenus (Figure 23A) après 1h de traitement montrent que l'enzyme maintient sa stabilité en gardant

83.78% de son activité résiduelle suite au traitement HCl (1M) et 89.18% de son activité résiduelle suite au traitement NaOH (1M) (Figure xA).

Les amylases sont des enzymes extrêmozymes, qui est connue pour résister à des conditions extrêmement acides *et* alcaline (Rigoldi *et al.*, 2018), par exemple, les graines de *Canavalia gladiata* (haricot sabre) possèdent une activité amylasique stable dans un pH acide et pH alcalin et peuvent conserver jusqu'à 50% de leur activité résiduelle (Posoongnoen et Thummavongsa, 2020).

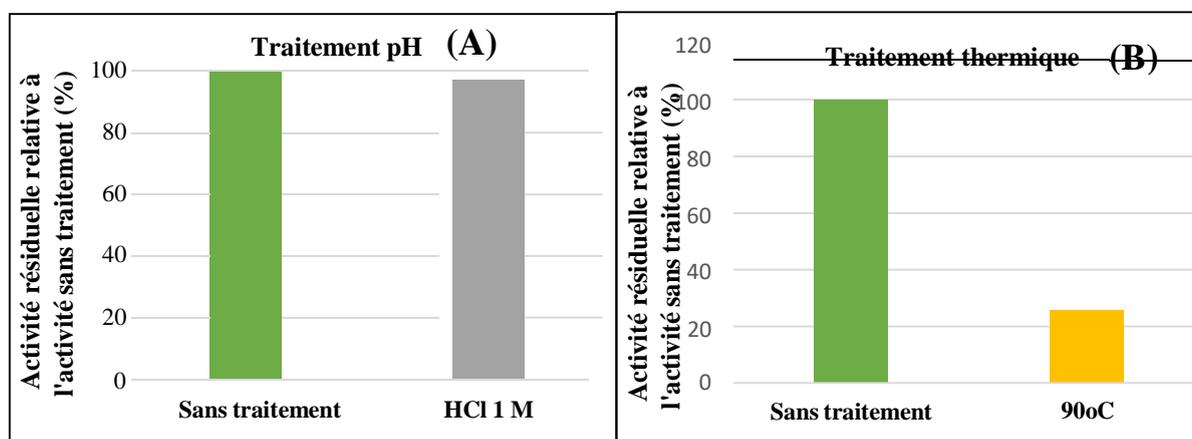
Les résultats qu'on a obtenus sur le traitement à pH acide (HCl 1M) des amylases présentent dans la solution des graines de *Salvia hispanica*, sont en accord avec ce qui a été trouvé pour l' $\alpha$  amylase de *Bacillus sp*, qui a conservé 80% de son activité d'origine à pH acide de 3.5 après 1h de traitement (Sajedi *et al.*, 2005). C'est le cas aussi des amylases des acidophiles de *Streptomyces erumpens* qui maintiennent jusqu'à 82% de leur activités initiales à un pH acide (Ammar *et al.*, 2002).

Pour le traitement alcalin nos résultats montrent que les amylases présentent dans la solution des graines de *Salvia hispanica*, sont moins stables que l' $\alpha$  amylase de *Bacillus licheniformis* qui maintient 100% de son activité d'origine à une plage de pH alcalin entre 8 et 10 (Hmidet *et al.*, 2009), mais nos résultats sont proches de ceux de Hmidet *et al.*, (2009) quia montré que l' $\alpha$  amylase de *Bacillus licheniformis*, a conservé environ 81% de son activité initiale à un pH de 10.

Concernant le traitement thermique à 90°C, les résultats obtenus montrent que l'activité amylasique présente dans l'extrait des graines de *Salvia hispanica*, reste active après 1h de traitement avec une activité résiduelle de 70.27%, et une perte de 29.73% de l'activité enzymatique initiale (Figure 23B). Les résultats obtenus montrent que les amylases présentent dans la solution des graines de *Salvia hispanica*, sont plus stables que l' $\alpha$ -amylase des graines de *Canavalia gladiata* (haricot sabre) qui a conservé que 50% de son activité d'origine après 1h d'incubation à des températures de 40 à 60°C (Posoongnoen et Thummavongsa, 2020).

Aussi, les amylases présentent dans la solution des graines de *Salvia hispanica*, sont plus stables que l'amylase de *Pergularia tomentosa* qui a perdue 38% (maintient de 62%) de l'activité initiale après 90min d'incubation enzymatique à 60°C (Lahmar *et al.*, 2017).

Les résultats de l'étude de l'influence du traitement pH et du traitement thermique sur la stabilité des lipases présentes dans la solution des graines de *Salvia hispanica*, sont présentes dans la figure suivante.



**Figure 24** : Influence du traitement pH (A) et du traitement thermique (B) sur la stabilité des lipases des graines de *Salvia hispanica* après 1h de traitement.

Les résultats obtenus (Figure 24A) après 1h de traitement montrent que l'enzyme maintient sa stabilité en gardant 97.71% de son activité résiduelle suite au traitement HCl à 1M.

Les lipases sont des enzymes acidophiles, qui sont connue pour résister à des conditions extrêmement acides (Branco *et al.*, 2015). Les résultats qu'on a obtenus sur le traitement à pH acide (HCl, 1M) des lipases présentes dans la solution des graines de *Salvia hispanica*, sont en accord avec ce qui a été trouvé pour les lipases de *Bacillus sp*, qui sont stable à pH acide (pH 5) après 1h de traitement (Barbosa *et al.*, 2012). C'est le cas aussi des lipases de la bactérie *Micrococcus luteus* à une forte stabilité à pH 3 et pH 5 a entraîné la rétention de plus de 85% de l'activité initiale après 2h de traitement (Adina *et al.*, 2021).

Les lipases des graines de *Salvia hispanica* sont plus stables que les lipases étudiées par Mobarak-Qamsari *et al.*, (2011) chez *Pseudomonas aeruginosa* qui possèdent une faible stabilité à pH acide.

Pour le traitement alcalin n'était pas évaluée due à la méthode de mesure utilisée initialement qui est basé sur la titration acido-basique avec une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium (NaOH) (permis le virage de couleur avant la titration) qui se trouve en condition d'alcalinité avant même le dosage.

Concernant le traitement thermique à 90°C montrent que l'activité lipasique présente dans la solution des graines de *Salvia hispanica*, sont moins stables et ne garde que 25.71% (réduction de 74.29% de l'activité initiale) après un traitement de 1h à 90°C.(Figure 24B).

Pour comparaison, la lipase présente dans les graines de *laurus nobilisa* conservé 68% de son activité d'origine après un traitement de 1h à 60°C, 59% après un traitement de 1h à 70°C et 40% de son activité d'origine après un traitement de 1h à 80°C a été conservé (Isbilir *et al.*, 2008).

Les enzymes peuvent présenter une stabilité variable en présence de pH extrêmes et températures élevées (Morishima *et al.*, 2009). Les enzymes appelées extrémozymes peuvent fonctionner dans des conditions d'extrême alcalinités (alcalozymes), et dans des conditions d'extrême acidité (acidozymes), et intrinsèquement stables et actives à haute température (thermozymes) (Geiger-Schuller *et al.*, 2018).

Le processus d'inactivation thermique irréversible des enzymes, à des températures élevées, est connu comme défavorable pour la stabilité des enzymes du fait qu'il favorise les modifications des acides aminés, et l'hydrolyse et/ou l'agrégation des peptides (Vieille et Zeikus, 2001). D'autre part, les enzymes qui résistent à l'inactivation irréversible à haute température sont plus stables que leurs homologues mésophiles (Vieille et Zeikus, 2001). Cette stabilité provient de la formation d'une quantité de liaisons covalentes, ce qui permet de réduire la flexibilité conformationnelle, qui à son tour inhibe l'agrégation et le déploiement de l'enzyme (Ahmed *et al.*, 2020).

Les enzymes sont caractérisées par un pH de stabilité maximale, et un changement de ce pH peut influencer la structure spatiale et la fonction de l'enzyme par un changement de la charge électrique des groupes des acides aminés (influence la capacité des interactions électrostatiques des groupements ionisables acides ou basiques dans le centre actif de l'enzyme) (Kumar *et al.*, 2004).

La résistance des extrémozymes aux conditions extrêmes pendant les processus industriels, permet leurs utilisations comme biocatalyseurs (Węgrzyn et Żukrowski, 2014).

Concernant la caractérisation de l'activité et la stabilité des enzymes des graines de *Salvia hispanica*, on remarque une diversité de comportement de ces enzymes (Tableau 7). Les résultats obtenus montrent que les enzymes amylase sont un optimum pH d'activité à 5.5 et une

température optimale de 50°C, alors que les lipases ont un optimum pH d'activité à 7 et une température optimale de 30°C. Par contre aucune activité gélatinasiq, n'a été détectée.

Pour le test de stabilité, les amylases des graines de *Salvia hispanica* gardent 83.78% de leur activité d'origine après 1h de traitement à pH acide, et 89.18% à pH basique, alors que les lipases ont gardé 97.71% de leur activité après 1h de traitement au pH acide.

Pour le test de stabilité thermique, le traitement à 90°C, les amylases et les lipases de la solution des graines de *Salvia hispanica* après 1h de traitement ont conservé, respectivement, 70.27% et 25.71% de leurs activité d'origine.

Le tableau suivant récapitule notre résultat obtenu sur la caractérisation enzymatique des amylases, des lipases des graines de *Salvia hispanica*.

**Tableau 7 :** Tableau récapitulatif des résultats de la caractérisation enzymatique de l'activité et de la stabilité des amylases et des lipases des graines de *Salvia hispanica*.

	Activité enzymatique		Stabilité enzymatique (activité résiduelle)		
	pH optimal	Température optimale	Après 1h de traitement		
			Stabilité à 90°C	Stabilité à pH acide (1M)	Stabilité à pH alcalin (1M)
Amylase	5.5	50 °C	Fort e	For te	Forte
Lipase	7.0	30 °C	Faib le	For te	
Gélatina se	Aucune activité gélatinasiq n'a été détectée		Stabilité enzymatique ne peut être étudiée du fait qu'aucune activité gélatinasiq n'a été détectée		

## **Discussion générale**

Comme il a été cité dans la partie de synthèse bibliographique, les plantes ont la capacité de synthétiser diverses formes de composés phytochimiques en tant que métabolites secondaires tels que les composés phénoliques (Shazhni *et al.*, 2018), dont beaucoup ont été identifiés et continuent d'être utilisés dans le traitement des maladies, par leur contribution à réduire les ERO et par conséquent les maladies liées au stress oxydatif (Nardi *et al.*, 2016). De même ces composés synthétiques, possèdent une action anti-inflammatoire peuvent interférer dans le processus physiopathologique et le processus inflammatoire, afin de minimiser les lésions tissulaires (Maroon *et al.*, 2010 ; Nunes *et al.*, 2020 ). Par conséquent, et d'après les résultats obtenus de la présente étude, on constate que les graines de *Salvia hispanica* possèdent des activités antioxydantes et anti-inflammatoires, due à la présence de source de composés bioactifs, notamment des polyphénols et des flavonoïdes, des protéines, des fibres alimentaires, qui sont responsables des effets bénéfiques des graines (Nardi *et al.*, 2016). De plus des propriétés antioxydantes, des propriétés anti-inflammatoires, les plantes possèdent aussi des propriétés enzymatiques (Kaul et Asano, 2012), ce qui a été montré dans notre étude sur les graines de *Salvia hispanica*. En effet, ces dernières possèdent des activités amylasiques qui permettent de dégrader l'amidon, et des activités lipasiques, qui permettent de dégrader les lipides (la libération des acides gras). Ces activités sont de plus en plus utilisées dans plusieurs processus industriels (Raveendran *et al.*, 2018).

*Conclusion et  
prescriptives*

## *Conclusion et prescriptives*

L'objectif de notre travail est de rechercher et caractériser les activités biologiques présentes dans la solution des graines de *Salvia hispanica*. Pour cela des activités antioxydante, anti-inflammatoire et enzymatique (amylasique, lipasique et gélatinasiq) ont été recherchées et caractérisées chez l'extrait des graines de *Salvia hispanica*.

Le résultat du dosage des protéines a montré la présence de 16,94% de protéines au niveau de la solution des graines de *Salvia hispanica*.

La recherche d'activités antioxydantes a montré que la solution des graines de *Salvia hispanica* possède un potentiel de dégradation d' $H_2O_2$  de 8,56 mM au bout de 4 min d'incubation et une activité anti-radicalaire avec une valeur d'IC<sub>50</sub> de 2,264 mg/mL.

La solution des graines de *Salvia hispanica* possède aussi une capacité d'inhiber la dénaturation d'ovalbumine par le traitement thermique, ce qui signifie qu'elle possède une activité anti-inflammatoire avec une valeur d'IC<sub>50</sub> de 38,6765 mg/mL.

En plus de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire, la solution des graines de *Salvia hispanica* possèdent aussi une activité amylasique et lipasique. Les résultats des tests de l'influence du pH sur les deux enzymes ont montré, que l'activité amylasique à un pH optimal de 5.5 et celle de l'activité lipasique est de 7. L'influence de la température d'incubation sur les deux enzymes a montré, que la température optimale de l'activité amylasique est de 50°C et celle de l'activité lipasique est de 30°C.

Concernant les tests de stabilité des deux enzymes aux conditions extrêmes, les résultats du traitement au pH pendant 1h à pH acide ( HCl à 1M) montrent que les amylases et les lipases de la solution des graines de *Salvia hispanica* possèdent une forte stabilité et gardent, respectivement, 83,78% et 97,71% de leurs activité d'origine. Après un traitement avec du NaOH à 1M, les amylases ont retenu 89.18% de leur activité initiale. Pour les lipases le traitement avec du NaOH à 1M n'a pu être réalisé comme expliqué précédemment.

Les résultats du traitement thermique de 1h à 90°C ont montré, que les amylases et les lipases ont retenu, respectivement, 70,27% et 25,71% de leur activité d'origine.

D'après les résultats obtenus, les amylases et les lipases ont montré une stabilité face au traitement à des conditions extrêmes du pH et température, ce qui leur permet d'être utilisées dans des processus qui nécessite l'utilisation des enzymes stable à des conditions extrêmes du pH et température.

Pour mieux caractériser les graines de *Salvia hispanica*, d'autres travaux doivent être effectués comme par exemple :

La détermination de leur compositions en acide gras saturé et polyinsaturé, leur teneur en fibres alimentaires et leur teneur en lipides.

La recherche d'autres propriétés comme les propriétés antimicrobienne, les propriétés antidiabétiques (hypoglycémiantes) et des propriétés hypotenseur.

*Références  
bibliographique*

AAT Bioquest, Inc. (2022, May 19). *Quest Graph™ IC50 Calculator*. AAT Bioquest.

**Abdel-Aty, A. M., Elsayed, A. M., Salah, H. A., Bassuiny, R. I., & Mohamed, S. A. (2021).** Egyptian chia seeds (*Salvia hispanica* L.) during germination: Upgrading of phenolic profile, antioxidant, antibacterial properties and relevant enzymes activities. *Food Science and Biotechnology*, 30(5), 723-734.

**Abima-Shazhni, J. R., Renu, A., & Vijayaraghavan, P. (2018).** Insights of antidiabetic, anti-inflammatory and hepatoprotective properties of antimicrobial secondary metabolites of cormextract from *Caladium x hortulanum*. *Saudi journal of biological sciences*, 25(8), 1755–1761.

**Adam, M. A. A., & Sohl, C. D. (2022).** Probing altered enzyme activity in the biochemical characterization of cancer. *Bioscience Reports*.

Adeleke, R., Nwangburuka, C., & Oboirien, B. (2017). Origins, roles and fate of organic acids in soils: A review. *South African Journal of Botany*, 108, 393-406.

**Adina, S. R., Suwanto, A., Meryandini, A., & Puspitasari, E. (2021).** Expression of novel acidic lipase from *Micrococcus luteus* in *Pichia pastoris* and its application in transesterification. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19(1), 1-11.

**Adinoff, A. D., & Hollister, J. R. (1983).** Steroid-induced fractures and bone loss in patients with asthma. *New England Journal of Medicine*, 309(5), 265-268.

**Aebi, H. (1984).** [13] Catalase in vitro. In *Methods in enzymology* (Vol. 105, pp. 121-126). Academic press.

**Afiukwa, C. A., Ibiam, U. A., Edeogu, C. O., Nweke, F. N., & Chukwu, U. E. (2009).** Determination of amylase activity of crude extract from partially germinated mango seeds (*Mangifera oraphila*) T. *African Journal of Biotechnology*, 8(14).

**Agarwal, P. K. (2018).** A biophysical perspective on enzyme catalysis. *Biochemistry*, 58(6), 438-449.

**Ahmed, S. A., Abdella, M. A., El-Sherbiny, G. M., Ibrahim, A. M., El-Shamy, A. R., Atalla, S. M., & Hassan, M. E. (2020).** Catalytic, kinetic and thermal properties of free and immobilized *Bacillus subtilis*-MK1  $\alpha$ -amylase on Chitosan-magnetic nanoparticles. *Biotechnology Reports*, 26, e00443.

- Akhtar, N., Shoaib, A., Munir, S., Ali, A., & Khurshid, S. (2014).** Isolation, identification and enzyme production profile of *A. niger*. *J. Anim. Plant. Sci*, 24, 1438-1443.
- Akram, N. A., Shafiq, F., & Ashraf, M. (2017).** Ascorbic acid-a potential oxidant scavenger and its role in plant development and abiotic stress tolerance. *Frontiers in plant science*, 8, 613.
- Alemán, A., Pérez-García, S., Fernández de Palencia, P., Montero, M. P., & Gómez-Guillén, M. D. C. (2021).** Physicochemical, Antioxidant, and Anti-Inflammatory Properties of Rapeseed Lecithin Liposomes Loading a Chia (*Salvia hispanica* L.) Seed Extract. *Antioxidants*, 10(5), 693.
- Ali, M. S., Amin, M. R., Kamal, C. M. I., & Hossain, M. A. (2013).** In vitro antioxidant, cytotoxic, thrombolytic activities and phytochemical evaluation of methanol extract of the *A. philippense* L. leaves. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(6), 464-469.
- Ali, N. M., Yeap, S. K., Ho, W. Y., Beh, B. K., Tan, S. W., & Tan, S. G. (2012).** The promising future of chia, *Salvia hispanica* L. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012.
- Alves, R., & Rosa, I. L. (2005).** Why study the use of animal products in traditional medicines?. *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*, 1(1), 1-5.
- Amaghnoouje, A., Mechchate, H., Es-Safi, I., Boukhira, S., S Aliqahtani, A., M Noman, O., ... & Boust, D. (2020).** Subacute assessment of the toxicity and antidepressant-like effects of *Origanum majorana* L. polyphenols in Swiss albino mice. *Molecules*, 25(23), 5653.
- Amato, M., Caruso, M. C., Guzzo, F., Galgano, F., Commisso, M., Bochicchio, R., ... & Favati, F. (2015).** Nutritional quality of seeds and leaf metabolites of Chia (*Salvia hispanica* L.) from Southern Italy. *European Food Research and Technology*, 241(5), 615-625.
- Ammar, Y. B., Matsubara, T., Ito, K., Iizuka, M., Limpaseni, T., Pongsawasdi, P., & Minamiura, N. (2002).** New action pattern of a maltose-forming  $\alpha$ -amylase from *Streptomyces* sp. and its possible application in bakery. *BMB Reports*, 35(6), 568-575.
- Andrade, L. N., Dos Reis Barreto de Oliveira, R., & De Sousa, D. P. (2014).** A review on anti-inflammatory activity of phenylpropanoids found in essential oils. *Molecules*, 19(2), 1459-1480.
- Andriana, Y., Xuan, T. D., Quy, T. N., Tran, H. D., & Le, Q. T. (2019).** Biological activities and chemical constituents of essential oils from *Piper cubeba* Bojer and *Piper nigrum* L. *Molecules*, 24(10), 1876.

- Angel, G. R., Vimala, B., & Nambisan, B. (2013).** Antioxidant and anti-inflammatory activities of proteins isolated from eight Curcuma species. *Phytopharmacology*, 4(1), 96-105.
- Anthony, D. C., Couch, Y., Losey, P., & Evans, M. C. (2012).** The systemic response to brain injury and disease. *Brain, behavior, and immunity*, 26(4), 534-540.
- Antolovich, M., Prenzler, P. D., Patsalides, E., McDonald, S., & Robards, K. (2002).** Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, 127(1), 183-198.
- Aparicio, J. F., Barreales, E. G., Payero, T. D., Vicente, C. M., de Pedro, A., & Santos-Aberturas, J. (2016).** Biotechnological production and application of the antibiotic pimaricin: biosynthesis and its regulation. *Applied microbiology and biotechnology*, 100(1), 61-78.
- Apostolova, N., & Victor, V. M. (2015).** Molecular strategies for targeting antioxidants to mitochondria: therapeutic implications. *Antioxidants & redox signaling*, 22(8), 686-729.
- Arias, C. A., & Murray, B. E. (2009).** Antibiotic-resistant bugs in the 21st century—a clinical super-challenge. *New England Journal of Medicine*, 360(5), 439-443.
- Arulselvan, P., Tan, W. S., Gothai, S., Muniandy, K., Fakurazi, S., Esa, N. M., ... & Kumar, S. S. (2016).** Anti-inflammatory potential of ethyl acetate fraction of *Moringa oleifera* in downregulating the NF- $\kappa$ B signaling pathway in lipopolysaccharide-stimulated macrophages. *Molecules*, 21(11), 1452.
- Arumugam, G., Manjula, P., & Paari, N. (2013).** A review: Anti diabetic medicinal plants used for diabetes mellitus. *Journal of Acute Disease*, 2(3), 196-200.
- Ashley, N. T., Weil, Z. M., & Nelson, R. J. (2012).** Inflammation: mechanisms, costs, and natural variation. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 43, 385-406.
- Asong, J. A., Amoo, S. O., McGaw, L. J., Nkadimeng, S. M., Aremu, A. O., & Otang-Mbeng, W. (2019).** Antimicrobial activity, antioxidant potential, cytotoxicity and phytochemical profiling of four plants locally used against skin diseases. *Plants*, 8(9), 350.

**Ayerza, R. (2013).** Seed composition of two chia (*Salvia hispanica* L.) genotypes which differ in seed color. *Emirates Journal of Food & Agriculture (EJFA)*, 25(7).

**Ayerza, R., & Coates, W. (2005).** Ground chia seed and chia oil effects on plasma lipids and fatty acids in the rat. *Nutrition Research*, 25(11), 995-1003.

**Aykul, S., & Martinez-Hackert, E. (2016).** Determination of half-maximal inhibitory concentration using biosensor-based protein interaction analysis. *Analytical biochemistry*, 508, 97-103.

**Azab, A., Nassar, A., & Azab, A. N. (2016).** Anti-inflammatory activity of natural products. *Molecules*, 21(10), 1321.

**Baginsky, C., Arenas, J., Escobar, H., Garrido, M., Valero, N., Tello, D., ... & Silva, H. (2016).** Growth and yield of chia (*Salvia hispanica* L.) in the Mediterranean and desert climates of Chile. *Chilean journal of agricultural research*, 76(3), 255-264.

**Barbosa, J. M. P., Souza, R. L., Melo, C. M. D., Fricks, A. T., Soares, C. M. F., & Lima, Á. S. (2012).** Biochemical characterisation of lipase from a new strain of *Bacillus* sp. ITP-001. *Quimica nova*, 35(6), 1173-1178.

**Battelli, M. G., Polito, L., Bortolotti, M., & Bolognesi, A. (2016).** Xanthine Oxidoreductase in Drug Metabolism: Beyond a Role as a Detoxifying Enzyme. *Current medicinal chemistry*, 23(35), 4027–4036.

**Beigi, M., Gauchenova, E., Walter, L., Waltzer, S., Bonina, F., Stillger, T., ... & Müller, M. (2016).** Regio- and Stereoselective Aliphatic–Aromatic Cross-Benzoin Reaction: Enzymatic Divergent Catalysis. *Chemistry–A European Journal*, 22(39), 13999-14005.

**Bencheikh, N., Bouhrim, M., Kharchoufa, L., Al Kamaly, O. M., Mechchate, H., Es-Safi, I., ... & Elachouri, M. (2021).** The nephroprotective effect of *Zizyphus lotus* L.(desf.) fruits in a gentamicin-induced acute kidney injury model in rats: a biochemical and histopathological investigation. *Molecules*, 26(16), 4806.

- Bian, M., Ma, Q. Q., Wu, Y., Du, H. H., & Guo-Hua, G. (2021).** Small molecule compounds with good anti-inflammatory activity reported in the literature from 01/2009 to 05/2021: a review. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 36(1), 2139-2159.
- Blois, M. S. (1958).** Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200.
- Bodoira R.M., Penci M.C., Ribotta P.D., Martinez M.L.** Chia (*Salvia hispanica* L.) oil stability: Study of the effect of natural antioxidants. *LWT*. 2017;75:107–113. doi: 10.1016/j.lwt.2016.08.031
- Boottanun, P., Potisap, C., Hurdle, J. G., & Sermswan, R. W. (2017).** Secondary metabolites from *Bacillus amyloliquefaciens* isolated from soil can kill *Burkholderia pseudomallei*. *AMB express*, 7(1), 1-11.
- Bordes-Richard, E., & Védrine, J. C. (2013).** Catalyse sélective redox. *Tech. Ingénieur*, 1215, 1-30.
- Borgston, B. and Brockman, H. L.,** Lipases. Amsterdam, Elsevier (1984).
- Božović, M., & Ragno, R. (2017).** *Calamintha nepeta* (L.) Savi and its main essential oil constituent pulegone: Biological activities and chemistry. *Molecules*, 22(2), 290.
- Bradford, M. M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- BRAENDEN, O. J., EDDY, N. B., & HALBACH, H. (1955).** Synthetic substances with morphine-like effect; relationship between chemical structure and analgesic action. *Bulletin of the World Health Organization*, 13(6), 937–998.
- Branco, R. V., Gutarra, M. L., Guisan, J. M., Freire, D. M., Almeida, R. V., & Palomo, J. M. (2015).** Improving the thermostability and optimal temperature of a lipase from the hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus furiosus* by covalent immobilization. *BioMed research international*, 2015.

- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995).** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Brezoiu, A. M., Bajenaru, L., Berger, D., Mitran, R. A., Deaconu, M., Lincu, D., ... & Negreanu-Pirjol, T. (2020).** Effect of Nanoconfinement of Polyphenolic Extract from Grape Pomace into Functionalized Mesoporous Silica on Its Biocompatibility and Radical Scavenging Activity. *Antioxidants*, 9(8), 696.
- Cai, C. Z., Han, L. Y., Ji, Z. L., Chen, X., & Chen, Y. Z. (2003).** SVM-Prot: web-based support vector machine software for functional classification of a protein from its primary sequence. *Nucleic acids research*, 31(13), 3692-3697.
- Cairns, T. C., Barthel, L., & Meyer, V. (2021).** Something old, something new: challenges and developments in *Aspergillus niger* biotechnology. *Essays in biochemistry*, 65(2), 213-224.
- Caleja C., Barros L., Antonio A.L., Ćirić A., Barreira J.C., Sokovic M., Oliveira M.B.P., Santos-Buelga C., Ferreira I.C.** Development of a functional dairy food: Exploring bioactive and preservation effects of chamomile (*Matricaria recutita* L.) *J. Funct. Foods*. 2015;16:114–124. doi: 10.1016/j.jff.2015.04.033
- Cao, Y., & Wang, Y. (2016).** Temperature-Mediated Regulation of Enzymatic Activity. *ChemCatChem*, 8(17), 2740-2747.
- Chandra, P., Singh, R., & Arora, P. K. (2020).** Microbial lipases and their industrial applications: a comprehensive review. *Microbial Cell Factories*, 19(1), 1-42.
- Chandrasekara, A., & Shahidi, F. (2011).** Determination of antioxidant activity in free and hydrolyzed fractions of millet grains and characterization of their phenolic profiles by HPLC-DAD-ESI-MSn. *Journal of Functional Foods*, 3(3), 144-158.
- Chauhan, P. S., Puri, N., Sharma, P., & Gupta, N. (2012).** Mannanases: microbial sources, production, properties and potential biotechnological applications. *Applied microbiology and biotechnology*, 93(5), 1817-1830.
- Chechik, V., & Murphy, D. M. (Eds.). (2016).** *Electron Paramagnetic Resonance: Volume 25*. Royal Society of Chemistry.
- Chen, C., Zhou, Y., & Wang, D. W. (2020).** SARS-CoV-2: a potential novel etiology of fulminant myocarditis. *Herz*, 45(3), 230-232.

**Chen, S., Gao, W., Zhang, M. J., Chan, J. Y. W., & Wong, T. S. (2019).** Curcumin enhances cisplatin sensitivity by suppressing NADPH oxidase 5 expression in human epithelial cancer. *Oncology letters*, 18(2), 2132-2139.

**Chin, Y. W., Balunas, M. J., Chai, H. B., & Kinghorn, A. D. (2006).** Drug discovery from natural sources. *The AAPS journal*, 8(2), E239-E253.

**Cho SA, Cho JC, Han SH (2012)** Cosmetic composition containing enzyme and amino acid. Amorepacific Corporation. No. 11/990,431

**Choct, M. (2006).** Enzymes for the feed industry: past, present and future. *World's Poultry Science Journal*, 62(1), 5-16.

**Chu, A., Schlecker, B., Lips, K., Ortmanns, M., & Anders, J. (2018, February).** An 8-channel 13GHz ESR-on-a-Chip injection-locked vco-array achieving 200 $\mu$ M-concentration sensitivity. In 2018 IEEE International Solid-State Circuits Conference-(ISSCC) (pp. 354-356). IEEE.

**Ciavatta, M. L., Lefranc, F., Carbone, M., Mollo, E., Gavagnin, M., Betancourt, T., ... & Kiss, R. (2017).** Marine Mollusk-Derived Agents with Antiproliferative Activity as Promising Anticancer Agents to Overcome Chemotherapy Resistance. *Medicinal Research Reviews*, 37(4), 702-801.

**Clemett, D., & Goa, K. L. (2000).** Celecoxib. *Drugs*, 59(4), 957-980.

**Coates, W. (2011).** Whole and ground chia (*Salvia hispanica* L.) seeds, chia oil—effects on plasma lipids and fatty acids. In *Nuts and seeds in health and disease prevention* (pp. 309-315). Academic Press.

**Cornish-Bowden, A. (2014).** Current IUBMB recommendations on enzyme nomenclature and kinetics. *Perspectives in Science*, 1(1-6), 74-87.

**Corona-Jiménez, E., Martínez-Navarrete, N., Ruiz-Espinosa, H., & Carranza-Concha, J. (2016).** Extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos de semillas de chia (*Salvia hispanica* L.) y su actividad antioxidante. *Agrociencia*, 50(4), 403-412.

- Coseri, S. (2009).** Natural products and their analogues as efficient anticancer drugs. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 9(5), 560-571.
- Coté, H., Boucher, M. A., Pichette, A., & Legault, J. (2017).** Anti-inflammatory, antioxidant, antibiotic, and cytotoxic activities of *Tanacetum vulgare* L. essential oil and its constituents. *Medicines*, 4(2), 34.
- Craig R (2004)** Application for approval of whole chia (*Salvia hispanica* L.) seed and ground whole seed as a novel food ingredient. Northern Ireland, Company Representative Mr D Armstrong.
- Cuesta, S. M., Rahman, S. A., Furnham, N., & Thornton, J. M. (2015).** The classification and evolution of enzyme function. *Biophysical journal*, 109(6), 1082-1086.
- Cunha, A. P., Silva, A. P., Roque, O. R., & Cunha, E. (2008).** Plantas e produtos vegetais em cosmética e dermatologia (2ª Edição). *Fundação Calouste Gulbenkian*.
- da Silva, C, de Mello, B. T. F., dos Santos Garcia, V. A., & (2017).** Ultrasound-assisted extraction of oil from chia (*Salvia hispânica* L.) seeds: Optimization extraction and fatty acid profile. *Journal of Food Process Engineering*, 40(1), e12298.
- Damaris, R. N., Lin, Z., Yang, P., & He, D. (2019).** The Rice Alpha-Amylase, Conserved Regulator of Seed Maturation and Germination. *International journal of molecular sciences*, 20(2), 450.
- Darisipudi, M. N., Allam, R., Rupanagudi, K. V., & Anders, H. J. (2011).** Polyene macrolide antifungal drugs trigger interleukin-1 $\beta$  secretion by activating the NLRP3 inflammasome. *PloS one*, 6(5), e19588.
- De Dicastillo C.L., Rodríguez F., Guarda A., Galotto M.J.** Antioxidant films based on cross-linked methyl cellulose and native Chilean berry for food packaging applications. *Carbohydr. Polym.* 2016;136:1052–1060. doi: 10.1016/j.carbpol.2015.10.013
- Deeth, H. C., & Touch, V. (2000).** Methods for detecting lipase activity in milk and milk products. *Methods*, 5(5), 555.

- dela Cruz, T. E. E., & Torres, J. M. O. (2012).** Gelatin hydrolysis test protocol. *Am Soc Microbiol*.
- Demirci, B., Temel, H. E., Portakal, T., Kırmızıbekmez, H., Demirci, F., & Başer, K. H. C. (2011).** Inhibitory effect of *Calamintha nepeta* subsp. *glandulosa* essential oil on lipoxygenase. *Turk. J. Biochem*, 36(4), 290-295.
- Dharmadeva, S., Galgamuwa, L. S., Prasadinie, C., & Kumarasinghe, N. (2018).** In vitro anti-inflammatory activity of *Ficus racemosa* L. bark using albumin denaturation method. *Ayu*, 39(4), 239.
- Divyapriya, G. K., Veeresh, D. J., & Yavagal, P. C. (2016).** Evaluation of antibacterial efficacy of chia (*Salvia hispanica*) seeds extract against *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*-an in-vitro study. *International Journal of Ayurveda and Pharma Research*.
- Dorman, H. J. D., Peltoketo, A., Hiltunen, R., & Tikkanen, M. J. (2003).** Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. *Food chemistry*, 83(2), 255-262.
- Dougnon, T. V., Déguénon, E., Fah, L., Lègba, B., Hounmanou, Y. M. G., Agbankpè, J., ... & Baba-Moussa, L. (2017).** Traditional treatment of human and animal salmonellosis in Southern Benin: Knowledge of farmers and traditherapists. *Veterinary world*, 10(6), 580.
- Dröge, W. (2002).** Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological reviews*.
- Duc, K. M., Kang, B. G., Lee, C., Park, H. J., Park, Y. M., Joung, Y. H., & Bang, I. S. (2020).** The Small Protein CydX Is Required for Cytochrome *bd* Quinol Oxidase Stability and Function in *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium: a Phenotypic Study. *Journal of bacteriology*, 202(2), e00348-19.
- Eastmond, P. J. (2004).** Cloning and characterization of the acid lipase from castor beans. *Journal of Biological Chemistry*, 279(44), 45540-45545.

- Eaves-Pyles, T., Allen, C. A., Taormina, J., Swidsinski, A., Tutt, C. B., Jezek, G. E., ... & Torres, A. G. (2008).** Escherichia coli isolated from a Crohn's disease patient adheres, invades, and induces inflammatory responses in polarized intestinal epithelial cells. *International Journal of Medical Microbiology*, 298(5-6), 397-409.
- Egorov, T. A., Odintsova, T. I., Pukhalsky, V. A., & Grishin, E. V. (2005).** Diversity of wheat anti-microbial peptides. *Peptides*, 26(11), 2064-2073.
- Egwim, E. C., & Oloyede, O. B. (2006).** Comparison of a-amylase activity in some sprouting Nigerian cereals. *Biokemistri*, 18(1).
- Einav, T., Mazutis, L., & Phillips, R. (2016).** Statistical mechanics of allosteric enzymes. *The Journal of Physical Chemistry B*, 120(26), 6021-6037.
- El-Gendi, H., Saleh, A. K., Badierah, R., Redwan, E. M., El-Maradny, Y. A., & El-Fakharany, E. M. (2021).** A Comprehensive Insight into Fungal Enzymes: Structure, Classification, and Their Role in Mankind's Challenges. *Journal of Fungi*, 8(1), 23.
- Elsayed, E. A., El Enshasy, H., Wadaan, M. A., & Aziz, R. (2014).** Mushrooms: a potential natural source of anti-inflammatory compounds for medical applications. *Mediators of inflammation*, 2014, 805841.
- Elshafie, H. S., Aliberti, L., Amato, M., De Feo, V., & Camele, I. (2018).** Chemical composition and antimicrobial activity of chia (*Salvia hispanica* L.) essential oil. *European Food Research and Technology*, 244(9), 1675-1682.
- Eltzschig, H. K., & Collard, C. D. (2004).** Vascular ischaemia and reperfusion injury. *British medical bulletin*, 70(1), 71-86.
- Enes, B. N., Moreira, L. P., Silva, B. P., Grancieri, M., Lúcio, H. G., Venâncio, V. P., ... & Martino, H. S. (2020).** Chia seed (*Salvia hispanica* L.) effects and their molecular mechanisms on unbalanced diet experimental studies: A systematic review. *Journal of food science*, 85(2), 226-239.

**Enujiugha, V. N., Thani, F. A., Sanni, T. M., & Abigor, R. D. (2004).** Lipase activity in dormant seeds of the African oil bean (*Pentaclethra macrophylla* Benth). *Food Chemistry*, 88(3), 405-410.

**Ericson-Neilsen, W., & Kaye, A. D. (2014).** Steroids: pharmacology, complications, and practice delivery issues. *Ochsner Journal*, 14(2), 203-207.

**Fagerstrom, R. T. Lahtinen, R. Lantto *et al.*, “Production and secretion of actinomycete xylanases in a filamentous trichoderma fungus,” EP 0876494 B1, 2008.**

**Fang, Y. Z., Yang, S., & Wu, G. (2002).** Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 18(10), 872-879.

**Fantini, M., Benvenuto, M., Masuelli, L., Frajese, G. V., Tresoldi, I., Modesti, A., & Bei, R. (2015).** In vitro and in vivo antitumoral effects of combinations of polyphenols, or polyphenols and anticancer drugs: Perspectives on cancer treatment. *International journal of molecular sciences*, 16(5), 9236-9282.

**Fatema, F., Khan, Z. H., Khan, N. D., & Mular, S. M. (2017).** Determination of amylase activity from germinated *Syzygium cumini* seed (jamun). *International Journal of Applied Research*, 3(1), 573-575.

**Favier, A. (2001).** Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique Review. *l'actualitechimique*, novembre, pp: 108-115. *GHESTEM A., SEGUIN E., PARIS M., ORECCHIONI AM.*

**Fialho, L., SANTA-MARIA, A. F., MADUREIRA, F. A., & IGLESIAS, A. C. (2018).** Comparative study of systemic early postoperative inflammatory response among elderly and non-elderly patients undergoing laparoscopic cholecystectomy. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*, 45.

**Fickers, P., Destain, J., & Thonart, P. (2008).** Les lipases sont des hydrolases atypiques: principales caractéristiques et applications. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, 12(2), 119-130.

- Finkel, T., & Holbrook, N. J. (2000).** Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *nature*, 408(6809), 239-247.
- Firtın, B., Yenipazar, H., Saygün, A., & Şahin-Yeşilçubuk, N. (2020).** Encapsulation of chia seed oil with curcumin and investigation of release behaviour & antioxidant properties of microcapsules during in vitro digestion studies. *LWT*, 134, 109947.
- FitzGerald, G. A. (2004).** Coxibs and cardiovascular disease. *New England Journal of Medicine*, 351(17), 1709-1711.
- Flieger, J., Flieger, W., Baj, J., & Maciejewski, R. (2021).** Antioxidants: Classification, natural sources, activity/capacity measurements, and usefulness for the synthesis of nanoparticles. *Materials*, 14(15), 4135.
- Forrester, A. R., Hay, J. M., & Thomson, R. H. (1968).** Organic chemistry of stable free radicals.
- Fotopoulos, V., Ziogas, V., Tanou, G., & Molassiotis, A. (2010).** Involvement of AsA/DHA and GSH/GSSG ratios in gene and protein expression and in the activation of defence mechanisms under abiotic stress conditions. In *Ascorbate-glutathione pathway and stress tolerance in plants* (pp. 265-302). Springer, Dordrecht.
- Furukawa, R., Toma, W., Yamazaki, K., & Akanuma, S. (2020).** Ancestral sequence reconstruction produces thermally stable enzymes with mesophilic enzyme-like catalytic properties. *Scientific reports*, 10(1), 1-13.
- Gabay, C., & Kushner, I. (1999).** Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *New England journal of medicine*, 340(6), 448-454.
- Galanakis C.M., Tsatalas P., Charalambous Z., Galanakis I.M., Charalambous Z.** Polyphenols recovered from olive mill wastewater as natural preservatives in extra virgin olive oils and refined olive kernel oils. *Environ. Technol. Innov.* 2018;10:62–70. doi: 10.1016/j.eti.2018.01.012.
- Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., & Jore, D. (2003).** Espèces réactives de l'oxygène. *L'actualité chimique*, 91.

- Geiger-Schuller, K., Sforza, K., Yuhás, M., Parmeggiani, F., Baker, D., & Barrick, D. (2018).** Extreme stability in de novo-designed repeat arrays is determined by unusually stable short-range interactions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *115*(29), 7539-7544.
- Georgieva, P., Wu, Q., McLeish, M. J., & Himo, F. (2009).** The reaction mechanism of phenylethanolamine N-methyltransferase: a density functional theory study. *Biochimica et biophysica acta*, *1794*(12), 1831–1837.
- Giese, H., & Hejgaard, J. (1984).** Synthesis of salt-soluble proteins in barley. Pulse-labeling study of grain filling in liquid-cultured detached spikes. *Planta*, *161*(2), 172-177.
- Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010).** Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry*, *48*(12), 909-930.
- Gislin, D., Sudarsanam, D., Antony Raj, G., & Baskar, K. (2018).** Antibacterial activity of soil bacteria isolated from Kochi, India and their molecular identification. *Journal, genetic engineering & biotechnology*, *16*(2), 287–294.
- Goetzl, E. J., An, S., & Smith, W. L. (1995).** Specificity of expression and effects of eicosanoid mediators in normal physiology and human diseases 1. *The FASEB Journal*, *9*(11), 1051-1058.
- Goggin, D. E., & Powles, S. B. (2012).** Selection for low dormancy in annual ryegrass (*Lolium rigidum*) seeds results in high constitutive expression of a glucose-responsive  $\alpha$ -amylase isoform. *Annals of botany*, *110*(8), 1641–1650.
- Gómez-Villegas, P., Vígara, J., Romero, L., Gotor, C., Raposo, S., Gonçalves, B., & León, R. (2021).** Biochemical characterization of the amylase activity from the new Haloarchaeal strain Haloarcula sp. Hs isolated in the Odiel Marshlands. *Biology*, *10*(4), 337.
- Goodman, L. S., Wintrobe, M. M., Dameshek, W., Goodman, M. J., Gilman, A., & McLENNAN, M. T. (1946).** Nitrogen mustard therapy: Use of methyl-bis (beta-chloroethyl) amine hydrochloride and tris (beta-chloroethyl) amine hydrochloride for hodgkin's disease, lymphosarcoma, leukemia and certain allied and miscellaneous disorders. *Journal of the American Medical Association*, *132*(3), 126-132.

- Gottesman, M. M. (2002).** Mechanisms of cancer drug resistance. *Annual review of medicine*, 53(1), 615-627.
- Grancieri, M., Martino, H. S. D., & de Mejia, E. G. (2019).** Digested total protein and protein fractions from chia seed (*Salvia hispanica* L.) had high scavenging capacity and inhibited 5-LOX, COX-1-2, and iNOS enzymes. *Food chemistry*, 289, 204-214.
- Grandjean, G., De Jong, P. R., James, B. P., Koh, M. Y., Lemos, R., Kingston, J., ... & Powis, G. (2016).** Definition of a novel feed-forward mechanism for glycolysis-HIF1 $\alpha$  signaling in hypoxic tumors highlights aldolase A as a therapeutic target. *Cancer research*, 76(14), 4259-4269.
- Grimes, S. J., Capezzone, F., Nkebiwe, P. M., & Graeff-Hönninger, S. (2020).** Characterization and Evaluation of *Salvia hispanica* L. and *Salvia columbariae* Benth. Varieties for Their Cultivation in Southwestern Germany. *Agronomy*, 10(12), 2012.
- Gruys E, Toussaint MJM, Landman WJM, Tivapasi M, Chamanza R, van Veen L.** Infection, inflammation and stress inhibit growth: mechanisms and non-specific assessment of the processes by acute phase proteins. In: Wensing T, editor. Production diseases in farm animals. 10th annual conference, 1998. Wageningen (The Netherlands): Wageningen Press; 1999. p. 72–87.
- Gurung, N., Ray, S., Bose, S., & Rai, V. (2013).** A broader view: microbial enzymes and their relevance in industries, medicine, and beyond. *BioMed research international*, 2013.
- Gutteridge, J. M. (1994).** Antioxidants, nutritional supplements and life-threatening diseases. *British Journal of Biomedical Science*, 51(3), 288-295.
- Gutteridge, J. M., & Halliwell, B. (1989).** 1 Iron toxicity and oxygen radicals. *Bailliere's clinical haematology*, 2(2), 195-256.
- Gutteridge, J. M., & Halliwell, B. (1993).** Invited review free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. *Free radical research communications*, 19(3), 141-158.

**Güzel, S., Ülger, M., & Yusuf, Ö. Z. A. Y. (2020).** Antimicrobial and antiproliferative activities of Chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. *International Journal of Secondary Metabolite*, 7(3), 174-180.

**Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007).** Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10), 628-38.

**Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. H. M., Anee, T. I., Parvin, K., Nahar, K., Mahmud, J. A., & Fujita, M. (2019).** Regulation of ascorbate-glutathione pathway in mitigating oxidative damage in plants under abiotic stress. *Antioxidants*, 8(9), 384.

**Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. H. M., Parvin, K., Bhuiyan, T. F., Anee, T. I., Nahar, K., ... & Fujita, M. (2020).** Regulation of ROS metabolism in plants under environmental stress: A review of recent experimental evidence. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(22), 8695.

**Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. H. M., Zulfqar, F., Raza, A., Mohsin, S. M., Mahmud, J. A., ... & Fotopoulos, V. (2020).** Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. *Antioxidants*, 9(8), 681.

**Hasanuzzaman, M., Hossain, M. A., Silva, J. A., & Fujita, M. (2012).** Plant response and tolerance to abiotic oxidative stress: antioxidant defense is a key factor. In *Crop stress and its management: perspectives and strategies* (pp. 261-315). Springer, Dordrecht.

**Hellyer, S. A., Chandler, I. C. and Bosley, J. A.,** Can the Fatty Acid Selectivity of Plant Lipases be Predicted from the Composition of the Seed Triglyceride? *Biochemica et Biophysica Acta*, 1440, No. 2-3, 215 (1999).

**Henderson V.** Les principes fondamentaux des soins infirmiers du CII. Genève: Conseil international des infirmières; 1960 première édition

**Henneh, I. T., Akrofi, R., Ameyaw, E. O., Konja, D., Owusu, G., Abane, B., ... & Tayman, F. (2018).** Stem bark extract of *Sterculia setigera* Delile exhibits anti-inflammatory properties through membrane stabilization, inhibition of protein denaturation and prostaglandin E2 activity. *J Pharm Res Int*, 22, 1-11.

- Hercberg, S., Galan, P., Preziosi, P., Bertrais, S., Mennen, L., Malvy, D., ... & Briançon, S. (2004).** The SU. VI. MAX Study: a randomized, placebo-controlled trial of the health effects of antioxidant vitamins and minerals. *Archives of internal medicine*, *164*(21), 2335-2342.
- Hmidet, N., Ali, N. E. H., Haddar, A., Kanoun, S., Alya, S. K., & Nasri, M. (2009).** Alkaline proteases and thermostable  $\alpha$ -amylase co-produced by *Bacillus licheniformis* NH1: Characterization and potential application as detergent additive. *Biochemical Engineering Journal*, *47*(1-3), 71-79.
- Hoang, H. T., Moon, J. Y., & Lee, Y. C. (2021).** Natural Antioxidants from Plant Extracts in Skincare Cosmetics: Recent Applications, Challenges and Perspectives. *Cosmetics*, *8*(4), 106.
- Horikoshi, K. (1999).** Alkaliphiles: some applications of their products for biotechnology. *Microbiology and molecular biology reviews*, *63*(4), 735-750.
- Hossain, M. B., Camphuis, G., Aguiló-Aguayo, I., Gangopadhyay, N., & Rai, D. K. (2014).** Antioxidant activity guided separation of major polyphenols of marjoram (*Origanum majorana* L.) using flash chromatography and their identification by liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of separation science*, *37*(22), 3205-3213.
- Howard, M. D., Hood, E. D., Zern, B., Shuvaev, V. V., Grosser, T., & Muzykantov, V. R. (2014).** Nanocarriers for vascular delivery of anti-inflammatory agents. *Annual review of pharmacology and toxicology*, *54*, 205.
- Hu, G. X., Takano, A., Drew, B. T., Liu, E. D., Soltis, D. E., Soltis, P. S., ... & Xiang, C. L. (2018).** Phylogeny and staminal evolution of *Salvia* (Lamiaceae, Nepetoideae) in East Asia. *Annals of botany*, *122*(4), 649-668.
- Huang, A. H. C., Lin, Y. H., Wang, S. M.,** Characteristics and Biosynthesis of Seed Lipases in Maize and Other Plant Species. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *65*, No. 6, 897 (1988).
- Hussain, S., Richardson, E., Ma, Y., Holton, C., De Backer, I., Buckley, N., Dhillon, W., Bewick, G., Zhang, S., Carling, D., Bloom, S., & Gardiner, J. (2015).** Glucokinase activity in the arcuate nucleus regulates glucose intake. *The Journal of clinical investigation*, *125*(1), 337-349.

**Igarashi, K., Hatada, Y., Hagihara, H., Saeki, K., Takaiwa, M., Uemura, T., ... & Ito, S. (1998).** Enzymatic properties of a novel liquefying  $\alpha$ -amylase from an alkaliphilic Bacillus isolate and entire nucleotide and amino acid sequences. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(9), 3282-3289.

**Iheme, C. I., Ukairo, D. I., Ibegbulem, C. O., Okorom, O. O., & Chibundu, K. (2017).** Analysis of Enzymes Activities on Domestic Waste Dump Sites. *J. Bioremed. Biodegrad*, 8, 1-6.

**Ionita, P. (2021).** The chemistry of dpph· free radical and congeners. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(4), 1545.

**Isbilir, S. S., Ozcan, H. M., & Yagar, H. (2008).** Some biochemical properties of lipase from bay laurel (*Laurus nobilis* L.) seeds. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 85(3), 227-233.

**Ivanovski, M., Cör, D., & Knez, Ž. (2019).** Chia Seeds (*Salvia hispanica* L.): An Overview- Phytochemical Profile, Isolation Methods, and Application. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(1).

**Ixtaina, V. Y., Martínez, M. L., Spotorno, V., Mateo, C. M., Maestri, D. M., Diehl, B. W., ... & Tomás, M. C. (2011).** Characterization of chia seed oils obtained by pressing and solvent extraction. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(2), 166-174.

**Ixtaina, V. Y., Nolasco, S. M., & Tomás, M. C. (2008).** Physical properties of chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. *Industrial crops and products*, 28(3), 286-293.

**Jack, B. R., Meyer, A. G., Echave, J., & Wilke, C. O. (2016).** Functional sites induce long-range evolutionary constraints in enzymes. *PLoS Biology*, 14(5), e1002452.

**Jackson, A. L., & Loeb, L. A. (2001).** The contribution of endogenous sources of DNA damage to the multiple mutations in cancer. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 477(1-2), 7-21.

Jacob, N., Poorna, C. A., & Prema, P. (2008). Purification and partial characterization of polygalacturonase from *Streptomyces lydicus*. *Bioresource Technology*, 99(14), 6697-6701.

- Jamshidi, A. M., Amato, M., Ahmadi, A., Bochicchio, R., & Rossi, R. (2019).** Chia (*Salvia hispanica* L.) as a novel forage and feed source: A review. *Italian Journal of Agronomy*, 14(1), 1-18.
- Jang, H. H., Cho, S. Y., Kim, M. J., Kim, J. B., Lee, S. H., Lee, M. Y., & Lee, Y. M. (2016).** Anti-inflammatory effects of *Salvia plebeia* R. Br extract in vitro and in ovalbumin-induced mouse model. *Biological research*, 49(1), 1-11.
- Jayaprakasha, G. K., Singh, R. P., & Sakariah, K. K. (2001).** Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. *Food chemistry*, 73(3), 285-290.
- Jeong, H., Park, S. H., & Choi, S. K. (2015).** Genome sequence of antibiotic-producing *Bacillus amyloliquefaciens* strain KCTC 13012. *Genome Announcements*, 3(5), e01121-15.
- Ji, Y., Scott, J. W., Schuster, D. J., & Maxwell, D. P. (2009).** Molecular mapping of Ty-4, a new Tomato yellow leaf curl virus resistance locus on chromosome 3 of tomato. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 134(2), 281-288.
- Jiang, Q. (2014).** Natural forms of vitamin E: metabolism, antioxidant, and anti-inflammatory activities and their role in disease prevention and therapy. *Free Radical Biology and Medicine*, 72, 76-90.
- Jones, B. E. A. H. Kleij Wilhelmus, P. Van Solingen, and W. Weyler,** “Cellulase producing actinomycetes, cellulase produced there from and method of producing same,” EP 1408108 B1, 2004.
- Juan, C. A., Pérez de la Lastra, J. M., Plou, F. J., & Pérez-Lebeña, E. (2021).** The chemistry of reactive oxygen species (ROS) revisited: outlining their role in biological macromolecules (DNA, lipids and proteins) and induced pathologies. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 4642.
- KAHRAMAN, A., BÜYÜKKARTAL, H. N., & DOĞAN, M. (2018).** Pericarp Ultrastructure of *Salvia* Section Hemisphace (Mentheae; Nepetoideae; Lamiaceae). *Commagene Journal of Biology*, 2(1), 1-7.
- Kasote, D. M., Katyare, S. S., Hegde, M. V., & Bae, H. (2015).** Significance of antioxidant potential of plants and its relevance to therapeutic applications. *International journal of biological sciences*, 11(8), 982–991.

- Kaul, P., & Asano, Y. (2012).** Strategies for discovery and improvement of enzyme function: state of the art and opportunities. *Microbial Biotechnology*, 5(1), 18-33.
- Kaur, N.; Kaur, J.; Grewal, S.K.; Singh, I.** Effect of Heat Stress on Antioxidative defense system and its amelioration by heat acclimation and salicylic acid pre-treatments in three pigeonpea genotypes. *Indian J. Agric. Biochem.* 2019, 32, 106–110.
- Kawiński, A., Miklaszewska, M., Stelter, S., Głab, B., & Banaś, A. (2021).** Lipases of germinating jojoba seeds efficiently hydrolyze triacylglycerols and wax esters and display wax ester-synthesizing activity. *BMC plant biology*, 21(1), 1-13.
- Kazimierska, K., & Kalinowska-Lis, U. (2021).** Milk Proteins—Their Biological Activities and Use in Cosmetics and Dermatology. *Molecules*, 26(11), 3253.
- Kedare, S. B., & Singh, R. P. (2011).** Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of food science and technology*, 48(4), 412-422.
- Kedi, P. B. E., Meva, F. E. A., Kotsedi, L., Nguemfo, E. L., Zangueu, C. B., Ntoumba, A. A., ... & Maaza, M. (2018).** Eco-friendly synthesis, characterization, in vitro and in vivo anti-inflammatory activity of silver nanoparticle-mediated *Selaginella myosurus* aqueous extract. *International journal of nanomedicine*, 13, 8537.
- Kedare, S. B., & Singh, R. P. (2011).** Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of food science and technology*, 48(4), 412.
- Kermasha, S., Van de Voort, F. R., & Metche, M. (1986).** Characterization of french bean (*Phaseolus vulgaris*) seed lipase. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 19(1), 23-27.
- Kheroda Devi, M., Thangjam, I., & Singh, W. (2019).** Phytochemical screening of selected twelve medicinal plants commonly used as spices and condiments in manipur, north-east India. *Int. J. Curr. Res. Life Sci*, 8, 2945-2947.
- Klein, J. A., & Ackerman, S. L. (2003).** Oxidative stress, cell cycle, and neurodegeneration. *The Journal of clinical investigation*, 111(6), 785-793.
- Purohit, V., Simeone, D. M., & Lyssiotis, C. A. (2019).** Metabolic regulation of redox balance in cancer. *Cancers*, 11(7), 955.

**Knez Hrnčič, M., Ivanovski, M., Cör, D., & Knez, Ž. (2019).** Chia Seeds (*Salvia hispanica* L.): an overview—phytochemical profile, isolation methods, and application. *Molecules*, 25(1), 11.

**Kohler, O., Krogh, J., Mors, O., & Eriksen Benros, M. (2016).** Inflammation in depression and the potential for anti-inflammatory treatment. *Current neuropharmacology*, 14(7), 732-742.

**Konsoula, Z., & Liakopoulou-Kyriakides, M. (2007).** Co-production of  $\alpha$ -amylase and  $\beta$ -galactosidase by *Bacillus subtilis* in complex organic substrates. *Bioresource Technology*, 98(1), 150-157.

**Kulig, J., Frese, A., Kroutil, W., Pohl, M., & Rother, D. (2013).** Biochemical characterization of an alcohol dehydrogenase from *Ralstonia* sp. *Biotechnology and bioengineering*, 110(7), 1838-1848.

**Kumar D, Kumar S, kohli S, Arya R, Gupta J.** Antidaibetic activity of methanolic bark extract of *Albizia odoratissima* Benth in alloxan induced diabetic albino mice. *Asian Pac J Trop Med* 2011; 4: 900-903.

**Kumar R, Patel DK, Prasad SK, Laloo D, Krishnamurthy S, Hemalatha S.** Type 2 antidiabetic activity of bergenin from the roots of *Caesalpinia digyna* Rottler. *Fitoterapia* 2012; 83(2): 395-401.

**Kumar, C. G., Joo, H. S., Koo, Y. M., Paik, S. R., & Chang, C. S. (2004).** Thermostable alkaline protease from a novel marine haloalkalophilic *Bacillus clausii* isolate. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20(4), 351-357.

**Kumar, D. P., Tiwari, A., & Bhat, R. (2004).** Effect of pH on the stability and structure of yeast hexokinase A: acidic amino acid residues in the cleft region are critical for the opening and the closing of the structure. *Journal of Biological Chemistry*, 279(31), 32093-32099

**Kumar, S., Kumari, R., & Mishra, S. (2019).** Pharmacological properties and their medicinal uses of *Cinnamomum*: A review. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 71(12), 1735-1761.

**Kuršvietienė, L., Stanevičienė, I., Mongirdienė, A., & Bernatoniene, J. (2016).** Multiplicity of effects and health benefits of resveratrol. *Medicina*, 52(3), 148-155.

**Kurutas, E. B. (2015).** The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. *Nutrition journal*, 15(1), 1-22.

- Lahmar, I., Belghith, H., Ben Abdallah, F., & Belghith, K. (2017).** Nutritional composition and phytochemical, antioxidative, and antifungal activities of *Pergularia tomentosa* L. *BioMed research international*, 2017
- Leboffe, M. J., & Pierce, B. E. (2010).** Microbiology Theory and Application. Morton Englewood, CO, 268-269.
- Leekha, S., Terrell, C. L., & Edson, R. S. (2011, February).** General principles of antimicrobial therapy. In *Mayo clinic proceedings* (Vol. 86, No. 2, pp. 156-167).
- Levine, T. B., & Levine, A. B. (2012).** Metabolic syndrome and cardiovascular disease. John Wiley & Sons.
- Lewis, W. H., & Elvin-Lewis, M. P. (1995).** Medicinal plants as sources of new therapeutics. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 16-24.
- Li, H., Yao, Y., & Li, L. (2017).** Coumarins as potential antidiabetic agents. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 69(10), 1253-1264.
- Li, S., Yang, X., Yang, S., Zhu, M. and Wang, X. (2012)** Technology prospecting on enzymes: application, marketing and engineering. *Comput. Struct. Biotechnol. J.* 2, e201209017.
- Lin, Y. H., Yu, C. and Huang, A. H.,** Substrate Specificities of Lipase from Corn and Other Seeds. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 244, No. 1, 346 (1986).
- Liu, C. H., Abrams, N. D., Carrick, D. M., Chander, P., Dwyer, J., Hamlet, M. R., ... & Vedamony, M. M. (2017).** Biomarkers of chronic inflammation in disease development and prevention: challenges and opportunities. *Nature immunology*, 18(11), 1175-1180.
- Llorens, O., Perez, J. J., Palomer, A., & Mauleon, D. (2002).** Differential binding mode of diverse cyclooxygenase inhibitors. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 20(5), 359-371.
- Lu, Y.; Foo, L.Y.** Polyphenolics in *Salvia*. *Phytochemistry* 2002, 59, 117–140.
- Maciel MAM, Pinto AC, Veiga Jr VF, Grynberg NF, Echevarria A.** Medicinal plants: the need for multidisciplinary scientific studies. *Quim Nova*. 2002;25(3):429-38.

**Mahakham, W., Sarmah, A. K., Maensiri, S., & Theerakulpisut, P. (2017).** Nanoprimering technology for enhancing germination and starch metabolism of aged rice seeds using phytosynthesized silver nanoparticles. *Scientific reports*, 7(1), 1-21.

**Mahawar, M. M., & Jaroli, D. P. (2006).** Animals and their products utilized as medicines by the inhabitants surrounding the Ranthambhore National Park, India. *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*, 2, 46.

**Maher, P. A. (2020).** Focus: Plant-based Medicine and Pharmacology: Using Plants as a Source of Potential Therapeutics for the Treatment of Alzheimer's Disease. *The Yale Journal of Biology and Medicine*, 93(2), 365.

**Marino, M., Bersani, C., & Comi, G. (1999).** Antimicrobial activity of the essential oils of *Thymus vulgaris* L. measured using a bioimpedometric method. *Journal of food protection*, 62(9), 1017-1023.

**Maroon, J. C., Bost, J. W., & Maroon, A. (2010).** Natural anti-inflammatory agents for pain relief. *Surgical neurology international*, 1.

**Martinčič, R., Mravljak, J., Švajger, U., Perdih, A., Anderluh, M., & Novič, M. (2015).** In silico discovery of novel potent antioxidants on the basis of pulvinic acid and coumarine derivatives and their experimental evaluation. *PloS one*, 10(10), e0140602.

**Martínez Leo, E. E., & Segura Campos, M. R. (2020).** Neuroprotective effect from *Salvia hispanica* peptide fractions on pro-inflammatory modulation of HMC3 microglial cells. *Journal of Food Biochemistry*, 44(6), e13207.

**Martínez-Cruz, O., & Paredes-López, O. (2014).** Phytochemical profile and nutraceutical potential of chia seeds (*Salvia hispanica* L.) by ultra high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1346, 43-48.

**Martínez-Pérez, E. F., Juárez, Z. N., Hernández, L. R., & Bach, H. (2018).** Natural Antispasmodics: Source, Stereochemical Configuration, and Biological Activity. *BioMed research international*, 2018, 3819714.

- Maru, G. B., Hudlikar, R. R., Kumar, G., Gandhi, K., & Mahimkar, M. B. (2016).** Understanding the molecular mechanisms of cancer prevention by dietary phytochemicals: From experimental models to clinical trials. *World journal of biological chemistry*, 7(1), 88
- Mataragas, M., Metaxopoulos, J., Galiotou, M., & Drosinos, E. H. (2003).** Influence of pH and temperature on growth and bacteriocin production by *Leuconostoc mesenteroides* L124 and *Lactobacillus curvatus* L442. *Meat Science*, 64(3), 265-271.
- Maury, G. L., Rodríguez, D. M., Hendrix, S., Arranz, J., Boix, Y. F., Pacheco, A. O., Díaz, J. G., Morris-Quevedo, H. J., Dubois, A. F., Aleman, E. I., Beenaerts, N., Méndez-Santos, I. E., Ratón, T. O., Cos, P., & Cuypers, A. (2020).** Antioxidants in Plants: A Valorization Potential Emphasizing the Need for the Conservation of Plant Biodiversity in Cuba. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 9(11), 1048.
- Mayer, A. M., Glaser, K. B., & Jacobs, R. S. (1988).** Regulation of eicosanoid biosynthesis in vitro and in vivo by the marine natural product manoalide: a potent inactivator of venom phospholipases. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 244(3), 871-878.
- Mazat, J. P., & Ransac, S. (2010).** The cytochrome bc1 complex in the mitochondrial respiratory chain functions according to the Q cycle hypothesis of Mitchell: the proof using a stochastic approach?. *Medecine Sciences: M/S*, 26(12), 1079-1086.
- McDonald, A. G., & Tipton, K. F. (2014).** Fifty-five years of enzyme classification: advances and difficulties. *The FEBS journal*, 281(2), 583-592.
- McEwen, S. A., & Collignon, P. J. (2018).** Antimicrobial resistance: a one health perspective. *Microbiology spectrum*, 6(2), 6-2.
- McKay, D. L., & Blumberg, J. B. (2006).** A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 20(8), 619-633.
- Mechchate, H., Es-Safi, I., Mohamed Al Kamaly, O., & Bousta, D. (2021).** Insight into gentisic acid antidiabetic potential using in vitro and in silico approaches. *Molecules*, 26(7), 1932.

- Merviċ, M., Bival Štefan, M., Kindl, M., Blažeković, B., Marijan, M., & Vladimir-Knežević, S. (2022).** Comparative Antioxidant, Anti-Acetylcholinesterase and Anti- $\alpha$ -Glucosidase Activities of Mediterranean Salvia Species. *Plants*, 11(5), 625.
- Mestrom, L., Przypis, M., Kowalczykiewicz, D., Pollender, A., Kumpf, A., Marsden, S. R., Bento, I., Jarzębski, A. B., Szymańska, K., Chruściel, A., Tischler, D., Schoevaart, R., Hanefeld, U., & Hagedoorn, P. L. (2019).** Leloir Glycosyltransferases in Applied Biocatalysis: A Multidisciplinary Approach. *International journal of molecular sciences*, 20(21), 5263.
- Meyer, V., Basenko, E. Y., Benz, J. P., Braus, G. H., Caddick, M. X., Csukai, M., ... & Wösten, H. A. (2020).** Growing a circular economy with fungal biotechnology: a white paper. *Fungal biology and biotechnology*, 7(1), 1-23.
- Mi, Y., Zhang, J., He, S., & Yan, X. (2017).** New peptides isolated from marine cyanobacteria, an overview over the past decade. *Marine Drugs*, 15(5), 132.
- Michelin, M., Silva, T. M., Benassi, V. M., Peixoto-Nogueira, S. C., Moraes, L. A. B., Leão, J. M., ... & Maria de Lourdes, T. M. (2010).** Purification and characterization of a thermostable  $\alpha$ -amylase produced by the fungus *Paecilomyces variotii*. *Carbohydrate Research*, 345(16), 2348-2353
- Ming, K. J., Khang, G. N., Sai, C. L., & Fatt, C. T. (2003).** Recent advances in traditional plant drugs and orchids. *Acta Pharmacol Sin*, 24(1), 7-21.
- Mobarak-Qamsari, E., Kasra-Kermanshahi, R., & Moosavi-Nejad, Z. (2011).** Isolation and identification of a novel, lipase-producing bacterium, *Pseudomonas aeruginosa* KM110. *Iranian journal of microbiology*, 3(2), 92.
- Mohammed, A., & Guda, C. (2015).** Application of a hierarchical enzyme classification method reveals the role of gut microbiome in human metabolism. *BMC genomics*, 16(7), 1-19.
- Molyneux, P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. sci. technol*, 26(2), 211-219.
- Moraleda-Munoz, A., & Shimkets, L. J. (2007).** Lipolytic enzymes in *Myxococcus xanthus*. *Journal of bacteriology*, 189(8), 3072-3080.

- Morishima, I., Babiker, E. E., Ahmed, I. A. M., & Mori, N. (2009).** Dubiumin, a chymotrypsin-like serine protease from the seeds of *Solanum dubium* Fresen. *Phytochemistry*, 70(4), 483-491.
- Morisseau, C., & Hammock, B. D. (2013).** Impact of soluble epoxide hydrolase and epoxyeicosanoids on human health. *Annual review of pharmacology and toxicology*, 53, 37–58.
- Motyka, S., Koc, K., Ekiert, H., Blicharska, E., Czarnek, K., & Szopa, A. (2022).** The Current State of Knowledge on *Salvia hispanica* and *Salviae hispanicae semen* (Chia Seeds). *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(4), 1207.
- Muñoz Hernández, L., Cobos, A., Díaz, O., & Aguilera, J. M. (2013).** Chia Seed (*Salvia hispanica*): An Ancient Grain and a New Functional Food.
- Mushtaq, S., Shah, A. M., Shah, A., Lone, S. A., Hussain, A., Hassan, Q. P., & Ali, M. N. (2018).** Bovine mastitis: An appraisal of its alternative herbal cure. *Microbial pathogenesis*, 114, 357-361.
- Nagel, Z. D., Cun, S., & Klinman, J. P. (2013).** Identification of a long-range protein network that modulates active site dynamics in extremophilic alcohol dehydrogenases. *Journal of Biological Chemistry*, 288(20), 14087-14097.
- Nannemann, D. P., Birmingham, W. R., Scism, R. A., & Bachmann, B. O. (2011).** Assessing directed evolution methods for the generation of biosynthetic enzymes with potential in drug biosynthesis. *Future medicinal chemistry*, 3(7), 809-819.
- Nardi, G. M., Farias Janeiro, A. G., Freire, C. G., Megiolaro, F., Schneider, K., Perazzoli, M. R., Do Nascimento, S. R., Gon, A. C., Mariano, L. N., Wagner, G., Niero, R., & Locatelli, C. (2016).** Anti-inflammatory Activity of Berry Fruits in Mice Model of Inflammation is Based on Oxidative Stress Modulation. *Pharmacognosy research*, 8(Suppl 1), S42–S49.
- Nciri, R., Allagui, M. S., Croute, F., Vincent, C., & Elfeki, A. (2008).** Effets chroniques de faibles doses de carbonate de lithium chez la souris. Relations entre statut oxydant et modifications fonctionnelles et structurales des reins et du cerveau. *Comptes Rendus Biologies*, 331(1), 23-31.

- Niero R. Fármacos, fitofármacos e fitoterápicos: abordagem econômica e de mercado.** In: Bresolin TMB, Cechinel Filho V, editors. *Fármacos e medicamentos. Uma abordagem multidisciplinar.* São Paulo: Editora Santos; 2010. p. 1-15.
- Nunes, C., Barreto Arantes, M., Menezes de Faria Pereira, S., Leandro da Cruz, L., de Souza Passos, M., Pereira de Moraes, L., Vieira, I., & Barros de Oliveira, D. (2020).** Plants as Sources of Anti-Inflammatory Agents. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(16), 3726.
- Odoni, D. I., van Gaal, M. P., Schonewille, T., Tamayo-Ramos, J. A., Martins dos Santos, V. A., Suarez-Diez, M., & Schaap, P. J. (2017).** *Aspergillus niger* secretes citrate to increase iron bioavailability. *Frontiers in microbiology*, 8, 1424.
- Okudoh, V. I., & Wallis, F. M. (2007).** Antimicrobial activity of rare actinomycetes isolated from natural habitats in KwaZulu-Natal, South Africa. *South African journal of science*, 103(5-6), 216-222.
- Oliveira-Alves, S. C., Vendramini-Costa, D. B., Cazarin, C. B. B., Júnior, M. R. M., Ferreira, J. P. B., Silva, A. B., ...& Bronze, M. R. (2017).** Characterization of phenolic compounds in chia (*Salvia hispanica* L.) seeds, fiber flour and oil. *Food Chemistry*, 232, 295-305.
- Omelchenko, M. V., Galperin, M. Y., Wolf, Y. I., & Koonin, E. V. (2010).** Non-homologous isofunctional enzymes: a systematic analysis of alternative solutions in enzyme evolution. *Biology direct*, 5(1), 1-20.
- Paciolla, C.; Paradiso, A.; de Pinto, M.C.** Cellular redox homeostasis as central modulator in plant stress response. In *Redox State as a Central Regulator of Plant-Cell Stress Responses*; Gupta, D., Palma, J., Corpas, F., Eds.; Springer: Cham, Switzerland, 2016; pp. 1–23
- Panke, S., & Wubbolts, M. (2005).** Advances in biocatalytic synthesis of pharmaceutical intermediates. *Current opinion in chemical biology*, 9(2), 188-194.
- Paques, F. W. and Macedo, G. A.,** Lipases de Látex Vegetais: Propriedades e Aplicações Industriais: A Review. *Química Nova*, 29, No. 1, 93 (2006).

- Parikh, N. S., Merkler, A. E., & Iadecola, C. (2020).** Inflammation, autoimmunity, infection, and stroke: epidemiology and lessons from therapeutic intervention. *Stroke*, 51(3), 711-718.
- Patel, R., Dodia, M., & Singh, S. P. (2005).** Extracellular alkaline protease from a newly isolated haloalkaliphilic *Bacillus* sp.: Production and optimization. *Process Biochemistry*, 40(11), 3569-3575.
- Patil, K. R., Mahajan, U. B., Unger, B. S., Goyal, S. N., Belemkar, S., Surana, S. J., ... & Patil, C. R. (2019).** Animal models of inflammation for screening of anti-inflammatory drugs: Implications for the discovery and development of phytopharmaceuticals. *International journal of molecular sciences*, 20(18), 4367.
- Peiretti PGF,** Fatty acid and nutritive quality of Chia (*Salvia hispanica* L.) seeds and plant during growth. *Anim Feed Sci Technol* 148:267–275 (2009).
- Pereira-Leite, C., Nunes, C., Jamal, S. K., Cuccovia, I. M., & Reis, S. (2017).** Nonsteroidal anti-inflammatory therapy: a journey toward safety. *Medicinal research reviews*, 37(4), 802-859.
- Perrino, E. V., Valerio, F., Gannouchi, A., Trani, A., & Mezzapesa, G. (2021).** Ecological and plant community implication on essential oils composition in useful wild officinal species: A pilot case study in Apulia (Italy). *Plants*, 10(3), 574.
- Peterson, M. E., Daniel, R. M., Danson, M. J., & Eisenthal, R. (2007).** The dependence of enzyme activity on temperature: determination and validation of parameters. *Biochemical Journal*, 402(2), 331-337.
- Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R., & Defraigne, J. O. (1999).** Méthodes d'évaluation du stress oxydatif chez l'homme: importance en matière de prévention. *Cancérologie*, 95, 1-4.
- Polizelli, P. P., Tiera, M. J., & Bonilla-Rodriguez, G. O. (2008).** Effect of surfactants and polyethylene glycol on the activity and stability of a lipase from oilseeds of *Pachira aquatica*. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 85(8), 749-753.
- Posoongnoen, S., & Thummavongsa, T. (2020).** Purification and characterization of thermostable  $\alpha$ -amylase from germinating Sword bean (*Canavalia gladiata* (Jacq.) DC.) seeds. *Plant Biotechnology*, 19-1209.

- Prakash, D., Nawani, N., Prakash, M., Bodas, M., Mandal, A., Khetmalas, M., & Kapadnis, B. (2013).** Actinomycetes: a repertory of green catalysts with a potential revenue resource. *BioMed research international*, 2013.
- Prasad, V., & Upadhyay, R. S. (2011).** Ascorbate and glutathione: saviours against oxidative stress. *Oxidative stress in plants: causes, consequences and tolerance*, 149-176.
- Prim, N., Sánchez, M., Ruiz, C., Pastor, F. J., & Diaz, P. (2003).** Use of methylumbelliferyl-derivative substrates for lipase activity characterization. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 22(5-6), 339-346.
- Quettier, A. L., & Eastmond, P. J. (2009).** Storage oil hydrolysis during early seedling growth. *Plant physiology and Biochemistry*, 47(6), 485-490.
- R. D. S. Marinelli, S.A. Lenquiste, E. A. Moraes, M. R. Marostica Jr.,** Antioxidant potential of dietary chia seed (*Salvia hispanica* L.) and oil in diet induced obese rats, *International Journal of Food Research*, 2015, doi: 10.1016/j.foodres.2015.07.039.
- Radi, F. Z., Bouhrim, M., Mechchate, H., Al-Zahrani, M., Qurtam, A. A., Aleissa, A. M., ... & Zair, T. (2021).** Phytochemical Analysis, Antimicrobial and Antioxidant Properties of *Thymus zygis* L. and *Thymus wilddenowii* Boiss. *Essential Oils. Plants*, 11(1), 15.
- Rahal, A., Kumar, A., Zoheb, S. M., Prakash, A., & Mandil, R. (2014).** Antioxidant role of ascorbic acid on oxidative stress induced by sub-acute exposure of lead and cypermethrin in erythrocytes of Wistar rats. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 96(8), 1248-1259.
- Raja, V., Majeed, U., Kang, H., Andrabi, K. I., & John, R. (2017).** Abiotic stress: Interplay between ROS, hormones and MAPKs. *Environmental and Experimental Botany*, 137, 142-157.
- Rani, A., Saini, K. C., Bast, F., Mehariya, S., Bhatia, S. K., Lavecchia, R., & Zuurro, A. (2021).** Microorganisms: A potential source of bioactive molecules for antioxidant applications. *Molecules*, 26(4), 1142.
- Rao, M. B., Tanksale, A. M., Ghatge, M. S., & Deshpande, V. V. (1998).** Molecular and Biotechnological Aspects of Microbial Proteases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62(3), 597

- Rashid, N., Shimada, Y., Ezaki, S., Atomi, H., & Imanaka, T. (2001).** Low-temperature lipase from psychrotrophic *Pseudomonas* sp. strain KB700A. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(9), 4064-4069.
- Chandra, P., Singh, R., & Arora, P. K. (2020).** Microbial lipases and their industrial applications: a comprehensive review. *Microbial Cell Factories*, 19(1), 1-42.
- Raveendran, S., Parameswaran, B., Ummalyima, S. B., Abraham, A., Mathew, A. K., Madhavan, A., ... & Pandey, A. (2018).** Applications of microbial enzymes in food industry. *Food technology and biotechnology*, 56(1), 16.
- Ravipati, A. S., Zhang, L., Koyyalamudi, S. R., Jeong, S. C., Reddy, N., Bartlett, J., Smith, P. T., Shanmugam, K., Münch, G., Wu, M. J., Satyanarayanan, M., & Vysetti, B. (2012).** Antioxidant and anti-inflammatory activities of selected Chinese medicinal plants and their relation with antioxidant content. *BMC complementary and alternative medicine*, 12, 173.
- Rhayour, K., Bouchikhi, T., Tantaoui-Elaraki, A., Sendide, K., & Remmal, A. (2003).** The mechanism of bactericidal action of oregano and clove essential oils and of their phenolic major components on *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. *Journal of essential oil research*, 15(5), 356-362.
- Ribeiro, V. P., Arruda, C., Abd El-Salam, M., & Bastos, J. K. (2018).** Brazilian medicinal plants with corroborated anti-inflammatory activities: a review. *Pharmaceutical biology*, 56(1), 253-268.
- Ricciotti, E., & FitzGerald, G. A. (2011).** Prostaglandins and inflammation. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 31(5), 986-1000.
- Rigoldi, F., Donini, S., Redaelli, A., Parisini, E., & Gautieri, A. (2018).** Engineering of thermostable enzymes for industrial applications. *APL bioengineering*, 2(1), 011501.
- Ríos, J. L., Francini, F., & Schinella, G. R. (2015).** Natural products for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Planta medica*, 81(12/13), 975-994.
- Robinson, P. K. (2015).** Enzymes: principles and biotechnological applications. *Essays in biochemistry*, 59, 1.
- Rodrigues, C. F., Salgueiro, W., Bianchini, M., Veit, J. C., Puntel, R. L., Emanuelli, T., ... & Ávila, D. S. (2018).** *Salvia hispanica* L.(chia) seeds oil extracts reduce lipid accumulation and produce stress resistance in *Caenorhabditis elegans*. *Nutrition & metabolism*, 15(1), 1-9.

- Rodríguez-Viera, L., Alpízar-Pedraza, D., Mancera, J. M., & Perera, E. (2021).** Toward a More Comprehensive View of  $\alpha$ -Amylase across Decapods Crustaceans. *Biology*, *10*(10), 947.
- Rončević, T., Puizina, J., & Tossi, A. (2019).** Antimicrobial Peptides as Anti-Infective Agents in Pre-Post-Antibiotic Era?. *International journal of molecular sciences*, *20*(22), 5713.
- Roohi, T. F. (2020).** Review on the miracle role of chia seeds (*Salvia hispanica* L.) nutritional and bioactive compounds in the treatment of cardiovascular disorder. *J. Biomed. Pharm. Res*, *9*, 42-49.
- Rosa, A. C., Corsi, D., Cavi, N., Bruni, N., & Dosio, F. (2021).** Superoxide dismutase administration: a review of proposed human uses. *Molecules*, *26*(7), 1844
- Rubavathi, S., Ayyappadasan, G., Sangeetha, N., Harini, T., Saranya, D., & Harshapradha, P. (2020).** Studies on Antioxidant and Anti-obesity Activity of *Salvia hispanica* (Chia) Seeds Extracts. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, *10*(3-s), 98-106.
- Rubio Gomez, M. A., & Ibba, M. (2020).** Aminoacyl-tRNA synthetases. *RNA (New York, N.Y.)*, *26*(8), 910–936.
- Sadeghipour, H. R., & Bhatla, S. C. (2003).** Light-enhanced oil body mobilization in sunflower seedlings accompanies faster protease action on oleosins. *Plant Physiology and Biochemistry*, *41*(4), 309-316.
- Sajedi, R. H., Naderi-Manesh, H., Khajeh, K., Ahmadvand, R., Ranjbar, B., Asoodeh, A., & Moradian, F. (2005).** A Ca-independent  $\alpha$ -amylase that is active and stable at low pH from the *Bacillus* sp. KR-8104. *Enzyme and Microbial Technology*, *36*(5-6), 666-671.
- Salehi, B., Shivaprasad Shetty, M., V Anil Kumar, N., Živković, J., Calina, D., Oana Docea, A., ... & Sharifi-Rad, J. (2019).** Veronica plants—Drifting from farm to traditional healing, food application, and phytopharmacology. *Molecules*, *24*(13), 2454.
- SAMMOUR, R. H. A. (2005).** Purification and partial characterisation of an acid lipase in germinating lipidbody linseedlings. *Turkish Journal of Botany*, *29*(3), 177-184.
- Sana, N. K., Hossin, I., Haque, E. M., & Shaha, R. K. (2004).** Identification, purification and characterization of lipase from germinating oil seeds (*Brassica napus* L.). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, *7*(2), 246-252.

- Sanchez-Suarez, J., Riveros, I., & Delgado, G. (2013).** Evaluation of the leishmanicidal and cytotoxic potential of essential oils derived from ten colombian plants. *Iranian journal of parasitology*, 8(1), 129–136.
- Sandoval, A. C., Fernandes, D. R., Silva, E. A. D., & Terra Júnior, A. T. (2017).** O uso indiscriminado dos anti-inflamatórios não esteroidais (AINES).
- Sangeetha, G., & Vidhya, R. (2016).** In vitro anti-inflammatory activity of different parts of *Pedaliium murex* (L.). *inflammation*, 4(3), 31-36.
- Sargi, S. C., Silva, B. C., Santos, H. M. C., Montanher, P. F., Boeing, J. S., Santos Júnior, O. O., ... & Visentainer, J. V. (2013).** Antioxidant capacity and chemical composition in seeds rich in omega-3: chia, flax, and perilla. *Food Science and Technology*, 33, 541-548.
- Sathiyaraj, G., Srinivasan, S., Kim, H. B., Subramaniam, S., Lee, O. R., Kim, Y. J., & Yang, D. C. (2011).** Screening and optimization of pectin lyase and polygalacturonase activity from ginseng pathogen *Cylindrocarpum destructans*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42(2), 794-806.
- Scapin, G., Schmidt, M. M., Prestes, R. C., & Rosa, C. S. (2016).** Phenolics compounds, flavonoids and antioxidant activity of chia seed extracts (*Salvia hispanica*) obtained by different extraction conditions. *International Food Research Journal*, 23(6).
- Segura-Campos, M. R., Ciau-Solís, N., Rosado-Rubio, G., Chel-Guerrero, L., & Betancur-Ancona, D. (2014).** Chemical and functional properties of chia seed (*Salvia hispanica* L.) gum. *International journal of food science*, 2014.
- Sen, A., Kurkcuoglu, M., Senkardes, I., Bitis, L., & Baser, K. H. C. (2019).** Chemical composition, antidiabetic, anti-inflammatory and antioxidant activity of *Inula ensifolia* L. essential oil. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 22(4), 1048-1057.
- Shen, S. G., Jia, S. R., Wu, Y. K., Yan, R. R., Lin, Y. H., Zhao, D. X., & Han, P. P. (2018).** Effect of culture conditions on the physicochemical properties and antioxidant activities of polysaccharides from *Nostoc flagelliforme*. *Carbohydrate polymers*, 198, 426-433.
- Sherman, H. G., Jovanovic, C., Stolnik, S., Baronian, K., Downard, A. J., & Rawson, F. J. (2018).** New perspectives on iron uptake in eukaryotes. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 97.

**Siddiqui, A. A., Iram, F., Siddiqui, S., & Sahu, K. (2014).** Role of natural products in drug discovery process. *Int J Drug Dev Res*, 6(2), 172-204.

**Sies H.** Oxidative stress: Oxidants and antioxidants. *Exp. Physiol.* 1997; 82:291–295.

doi:10.1113/expphysiol.1997.sp004024

**Sikora, E., Cieřlik, E., & Topolska, K. (2008).** The sources of natural antioxidants. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 7(1), 5-17.

**Simic, M. (Ed.). (2013).** Oxygen radicals in biology and medicine (Vol. 49). Springer Science & Business Media.

**Singh, A. K., & Mukhopadhyay, M. (2012).** Overview of fungal lipase: a review. *Applied biochemistry and biotechnology*, 166(2), 486-520.

**Sioud, F., Amor, S., Toumia, I. B., Lahmar, A., Aires, V., Chekir-Ghedira, L., & Delmas, D. (2020).** A new highlight of ephedra alata decne properties as potential adjuvant in combination with cisplatin to induce cell death of 4T1 breast cancer cells in vitro and in vivo. *Cells*, 9(2), 362.

**Smith, W. L., DeWitt, D. L., & Garavito, R. M. (2000).** CYCLOOXYGENASES: Structural, Cellular, and Molecular Biology. *Annu. Rev. Biochem*, 69, 145-82.

**Söderberg, C., Gillam, M. E., Ahlgren, E. C., Hunter, G. A., Gakh, O., Isaya, G., Ferreira, G. C., & Al-Karadaghi, S. (2016).** The Structure of the Complex between Yeast Frataxin and Ferrochelatase: CHARACTERIZATION AND PRE-STEADY STATE REACTION OF FERROUS IRON DELIVERY AND HEME SYNTHESIS. *The Journal of biological chemistry*, 291(22), 11887–11898

**Sokol, C. L., & Luster, A. D. (2015).** The chemokine system in innate immunity. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 7(5), a016303.

**Souza, P. M. D. (2010).** Application of microbial  $\alpha$ -amylase in industry-A review. *Brazilian journal of microbiology*, 41(4), 850-861.

- Sreedhar, R., & Kaul Tiku, P. (2016).** Cupincin: a unique protease purified from rice (*Oryza sativa* L.) bran is a new member of the cupin superfamily. *PLoS One*, *11*(4), e0152819.
- Sri Kaja, B., Lumor, S., Besong, S., Taylor, B., & Ozbay, G. (2018).** Investigating enzyme activity of immobilized *Candida rugosa* lipase. *Journal of Food Quality*, 2018.
- Srivastava, G., & Kayastha, A. M. (2014).** B-amylase from starchless seeds of *Trigonella foenum-graecum* and its localization in germinating seeds. *PloS one*, *9*(2), e88697.
- Steiger, M. G., Blumhoff, M. L., Mattanovich, D., & Sauer, M. (2013).** Biochemistry of microbial itaconic acid production. *Frontiers in Microbiology*, *4*, 23.
- Stoytcheva, M., Montero, G., Zlatev, R., A Leon, J., & Gochev, V. (2012).** Analytical methods for lipases activity determination: a review. *Current Analytical Chemistry*, *8*(3), 400-407.
- Sugihara, A., Shimada, Y., & Tominaga, Y. (1990).** Separation and characterization of two molecular forms of *Geotrichum candidum* lipase. *The Journal of Biochemistry*, *107*(3), 426-430.
- Tanyildizi, M. S., Özer, D., & Elibol, M. (2005).** Optimization of  $\alpha$ -amylase production by *Bacillus* sp. using response surface methodology. *Process biochemistry*, *40*(7), 2291-2296
- Tao, Z., Dong, B., Teng, Z. et Zhao, Y. (2020).** La classification des enzymes par apprentissage profond. *Accès IEEE* , *8* , 89802-89811.
- Teoh, E. S. (2016).** Secondary metabolites of plants. In *Medicinal orchids of Asia* (pp. 59-73).Springer, Cham.
- Teoh, S. L., Lai, N. M., Vanichkulpitak, P., Vuksan, V., Ho, H., & Chaiyakunapruk, N. (2018).** Clinical evidence on dietary supplementation with chia seed (*Salvia hispanica* L.): a systematic review and meta-analysis. *Nutrition reviews*, *76*(4), 219-242.

- Thannickal, V. J., & Fanburg, B. L. (2000).** Reactive oxygen species in cell signaling. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 279(6), L1005-L1028.
- Tilley, S. L., Coffman, T. M., & Koller, B. H. (2001).** Mixed messages: modulation of inflammation and immune responses by prostaglandins and thromboxanes. *The Journal of clinical investigation*, 108(1), 15-23.
- Tindall HD (1996).** Monitoring of tree growths in the arid regions. *J. Plant Physiol.* 9: 711-811.
- Tipton, K., & Boyce, S. (2000).** History of the enzyme nomenclature system. *Bioinformatics*, 16(1), 34-40.
- Ullah, R., Nadeem, M., Khalique, A., Imran, M., Mehmood, S., Javid, A., & Hussain, J. (2016).** Nutritional and therapeutic perspectives of Chia (*Salvia hispanica* L.): a review. *Journal of food science and technology*, 53(4), 1750-1758.
- Uribe, J. A. R., Perez, J. I. N., Kaul, H. C., Rubio, G. R., & Alcocer, C. G. (2011).** Extraction of oil from chia seeds with supercritical CO<sub>2</sub>. *The Journal of Supercritical Fluids*, 56(2), 174-178.
- Valdivia-López, M. Á., & Tecante, A. (2015).** Chia (*Salvia hispanica*): A review of native Mexican seed and its nutritional and functional properties. *Advances in food and nutrition research*, 75, 53-75.
- Vane, J. R., & Botting, R. M. (1998).** Anti-inflammatory drugs and their mechanism of action. *Inflammation Research*, 47(2), 78-87.
- Vieille, C., & Zeikus, G. J. (2001).** Hyperthermophilic enzymes: sources, uses, and molecular mechanisms for thermostability. *Microbiology and molecular biology reviews*, 65(1), 1-43.
- Vignali, D. A., & Kuchroo, V. K. (2012).** IL-12 family cytokines: immunological playmakers. *Nature immunology*, 13(8), 722-728.
- Vijayakumar, S., Manogar, P., & Prabhu, S. (2016).** Potential therapeutic targets and the role of technology in developing novel cannabinoid drugs from cyanobacteria. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 83, 362-371.

**Vollmer, D. L., West, V. A., & Lephart, E. D. (2018).** Enhancing skin health: By oral administration of natural compounds and minerals with implications to the dermal microbiome. *International journal of molecular sciences*, 19(10), 3059.

**Węgrzyn, A., & Żukrowski, K. (2014).** Biotechnologiczne zastosowanie ekstremozymów pozyskiwanych z archeonów. *Chemik*, 68(8).

**Wibowo S., Vervoort L., Tomic J., Santiago J.S., Lemmens L., Panozzo A., Grauwet T., Hendrickx M., Van Loey A.** Colour and carotenoid changes of pasteurised orange juice during storage. *Food Chem.* 2015;171:330–340. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.09.007.

**Willis, K. (2017).** *State of the world's plants 2017*. Royal Botanic Gardens Kew.

**Yan, S., & Wu, G. (2016).** Analysis on evolutionary relationship of amylases from archaea, bacteria and eukaryota. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(2), 1-16.

**Yao, C., & Narumiya, S. (2019).** Prostaglandin-cytokine crosstalk in chronic inflammation. *British journal of pharmacology*, 176(3), 337-354.

**Zachary, J. F. (2017).** Mechanisms of microbial infections. *Pathologic basis of veterinary disease*, 132.

**Zahra, K. F., Lefter, R., Ali, A., Abdellah, E. C., Trus, C., Ciobica, A., & Timofte, D. (2021).** The Involvement of the Oxidative Stress Status in Cancer Pathology: A Double View on the Role of the Antioxidants. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021.

**Zanetti, M. (2004).** Cathelicidins, multifunctional peptides of the innate immunity. *Journal of leukocyte biology*, 75(1), 39-48.

**Zheng, R., Li, S., Zhang, X., & Zhao, C. (2021).** Biological activities of some new secondary metabolites isolated from endophytic fungi: A review study. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(2), 959.

## Résumé

La plante *Salvia hispanica* est une espèce végétale, riche en macro et micronutriments de la famille des lamiacées. Ces graines possèdent de précieuses propriétés biologiques, médicinales, pharmaceutiques et nutritionnelles, pour cela, l'objectif de notre travail consistait à rechercher des propriétés biologiques dans les graines de *S.hispanica* (achetées du commerce de la ville d'Ain Temouchent, comme les propriétés antioxydantes (activité catalasique et activité de piégeage du DPPH), anti-inflammatoires (inhibition de la dénaturation de l'ovalbumine) et enzymatiques (amylasique, lipasique et gélatinisique) ont été étudiées.

Les résultats obtenus montrent que ces graines possèdent une activité catalasique qui a permis de dégrader 8.56 mM d' $H_2O_2$  en 4min et une activité de piégeage du DPPH avec un IC50 de 2.264 mg/mL, ainsi qu'une activité inhibitrice de la dénaturation d'ovalbumine avec un IC50 de 38.6765mg/mL. Aussi la solution des graines de *Salvia hispanica* possèdent une activité amylasique et lipasique avec, respectivement, des pHs optimaux de 5.5 et 7, et des températures optimales, respectivement, de 50°C et 30°C. Par contre aucune activité gélatinisique n'a été détectée. Les amylases sont plus stables, aux traitements thermique et acido-basique que les lipases.

**Mots clés :** *Salvia hispanica*, graines, propriétés biologiques, propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, enzymatiques.

## Abstract

*Salvia hispanica* is a plant species, rich in macro and micronutrients of the *lamiaceae* family. These seeds have valuable biological, medicinal, pharmaceutical and nutritional properties, for this, the objective of our work was to research biological properties in the seeds of *S.hispanica* (bought from the trade of the city of Ain Temouchent), such as antioxidant properties (catalasic activity and trapping activity of DPPH), anti-inflammatory properties (inhibition of ovalbumin denaturation) and enzymatic properties (amylase, lipasic and gelatinasic) were investigated.

The results obtained show that these seeds have a catalasic activity that allowed to degrade 8.56 mM of  $H_2O_2$  in 4min and a trapping activity of DPPH with an IC50 of 2.264 mg/mL, as well as an inhibitory activity of ovalbumin denaturation with an IC50 of 38.6765 mg/mL. *Salvia hispanica* seed solution also has amylase and lipasic activity with optimal pHs of 5.5 and 7, respectively, and optimal temperatures of 50°C and 30°C, respectively. However, no gelatinasic activity was detected. Amylases are more stable, with thermal and acid-base treatments than lipases.

**Keywords:** *Salvia hispanica*, seeds, biological properties, antioxidant properties, anti-inflammatory, enzymatic.

## ملخص

*Salvia hispanica* (الشيا) هو نوع نباتي غني بالمغذيات الدقيقة والعناصر الدقيقة من عائلة les lamiacées تمتلك بذورها خصائص بيولوجية وطبية وصيدلانية وغذائية قيمة. لهذا الغرض، الهدف من عملنا هو البحث عن الخصائص البيولوجية في بذور الشيا المشتراة من عين تموشنت، وبذلك تمت دراسة خصائصها المضادة للأكسدة (نشاط الكاتالاز و نشاط الكسح) و المضادة للالتهاب (تنشيط تمسخ ألبيومين البيض) و الخصائص الأنزيمية (نشاط الأميلاز و الليباز و الجيلاتيناز من خلال دراسة تأثير الأس الهيدروجيني ودرجة الحرارة على نشاط واستقرار هذه الإنزيمات).

أظهرت النتائج المتحصل عليها أن هذه بذور تمتلك نشاط الكاتالاز الذي سمح بتحليل 8.56 ملي مولار من  $H_2O_2$  في أربع دقائق و نشاط محاصرة DPPH مع IC50 من 2.264 مغ/مل بالإضافة الى نشاط يمنع تمسخ ألبيومين البيض مع IC50 من 38.6765 مغ/مل. كما أن محلول بذور الشيا يمتلك نشاط الأميليز والليباز مع درجة حموضة مثالية تبلغ 5.5 و 7 على التوالي ودرجات حرارة مثالية تبلغ 50 درجة مئوية و 30 درجة مئوية على التوالي. من ناحية أخرى، لم يتم اكتشاف أي نشاط جيلاتينازي. الأميلاز أكثر ثباتاً في علاجات الحرارة والقواعد الحمضية من ليباز.

**الكلمات المفتاحية :** *Salvia hispanica* ، بذور ، خصائص بيولوجية ، نشاط مضاد للأكسدة ، نشاط مضاد للالتهاب ، نشاط انزيمي.