



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABOUBEKR BELKAID TLEMCEN

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET  
DES SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS

Département d'Agronomie

Laboratoire des Produits Naturels « LAPRONA »

Mémoire en vue de l'obtention du Diplôme de Master en Sciences Alimentaires

Spécialité : Nutrition et Diététique

## Thème

Évaluation *in vitro* et *in vivo* des activités biologiques des composés bioactifs des feuilles de *Echium plantagineum* L.

Présenté par :

**HAROUAT Kawthar**

**HATTAB Imene**

Soutenu le 20/06/2024, devant le jury composé de :

Présidente	M <sup>me</sup> SOUALEM-MAMI	Zoubida	MCA	Université de Tlemcen
Examinatrice	M <sup>me</sup> BEKKARA-SELADJI	Meryem	MCA	Université de Tlemcen
Encadrant	M <sup>me</sup> BENAMAR-DIB	Hanane	MCA	Université de Tlemcen

Année universitaire : 2023/2024



## *Remerciements*

*En préambule à ce mémoire, Nous Souhaitons adresser nos remerciements aux personnes qui nous ont apportés leur aide et qui ont contribué à l'élaboration a ce mémoire ainsi qu'à la réussite de cette formidable année universitaire.*

*Nous tenons à remercier sincèrement Madame BANAMAR DIB Hanene qui en tant que directeur de mémoire, s'est toujours montrée à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'elle a bien voulu nous consacrer et sans qui ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.*

*Nos remerciements s'adressent également au doyenne SOULIMANE ainsi qu'à tous les professeurs, pour leur générosité et disponibilité tout au long de ces 5 dernières années.*



## DEDICACE

*Je dédicace ce mémoire  
A mes chers parents ma mère et mon  
père*

*Pour leur patience, leur amour, leur  
soutient et leurs encouragements*

*A mes sœurs IMANE, WISSAM,  
HIDAYA et mon frère YASSINE  
A mes petites nièces et mon neveu*

*A mes chères amies Imène et Feriel*

*-Kawthar-*

# DEDICACE



*Je dédie ce travail à :*

*Ma chère maman et mon cher papa pour leurs sacrifices et soutiens tout au long de ma vie.*

*Ma chère sœur Nassima et mes chers frères,  
Djamel et Abdelhafid.*

*A mon neveu Mohamed.*

*A mon très cher Abdessamed.*

*A ma chère binôme et copine Kawthar.*

*Et a toute ma famille sans exception.*

*-IMÉNE-*

## **Résumé**

Les médicaments anti-inflammatoires sont liés à de graves effets secondaires. Ainsi, de plus en plus de personnes s'intéressent aujourd'hui aux plantes qui possèdent des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. Parmi ces plantes nous avons sélectionné l'*Echium plantagineum* L. Le but de cette étude est d'analyser *in vitro* l'effet antioxydant et *in vivo* l'effet anti-inflammatoire et anti-œdémateux de l'extrait des feuilles de l'*Echium plantagineum* L.

Dans un premier temps, nous avons effectué les dosages colorimétriques des composés phénoliques (polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés) de l'extrait hydroacétométhanolique des feuilles d'*Echium plantagineum* L.

Les dosages des composés phénoliques ont démontré la richesse des feuilles d'*E. plantagineum* L.

avec une teneur considérable en polyphénols estimée à 580,125mg EAG /g MS, en flavonoïdes 360,53mg EC/g et en tanins condensées 210,21 mg EC/g lui procurant un pouvoir antioxydant puissant avec une IC<sub>50</sub> estimé à 0.34 mg/ml et une EC<sub>50</sub> de 0,56mg/ml respectivement.

Ensuite, le test de cytotoxicité a révélé que l'extrait phénolique des feuilles d'*E. plantagineum* L. a un effet inhibiteur d'hémolyse maximal de 74,7% à une concentration de 12,5 mg/ml et minimal de 8,5% à une concentration faible de 1,562mg/ml.

Enfin, l'effet anti-inflammatoire des feuilles de *E. plantagineum* L. a été évalué en premier *in vitro* par inhibition de la dénaturation thermique des protéines, puis *in vivo* en utilisant la méthode de l'œdème plantaire provoquée par la carragénine chez les rats Wistar.

L'étude *in vivo* a permis de confirmer le pouvoir anti-inflammatoire des polyphénols des feuilles d'*E. plantagineum* L. en diminuant les volumes des pattes œdémateux à hauteur de 90,64 % des rats traités avec une dose de 400 mg/kg.

Nous pouvons conclure que la propriété anti-inflammatoire des feuilles de l'*Echium Plantagineum* L. est liée au pouvoir antioxydant de ses métabolites secondaires, particulièrement les polyphénols. Par conséquent, ces résultats soutiennent clairement l'utilisation traditionnelle des plantes comme composés alternatifs particulièrement dans le contrôle des maladies inflammatoires.

**Mots clés :** *Echium plantagineum* L., extrait phénolique, antioxydants, Rats Wistar, carragénine, inflammation.

## *Abstract*

Anti-inflammatory drugs are associated with serious side effects. As a result, more and more people are turning to plants with antioxidant and anti-inflammatory properties. Among these plants, we have selected *Echium plantagineum* L. The aim of this study is to analyze the in vitro antioxidant and in vivo anti-inflammatory and anti-oedematous effect of *Echium plantagineum* L. leaf extract.

First, we performed colorimetric assays of phenolic compounds (polyphenols, flavonoids and condensed tannins) in the hydroacetomethanolic extract of *E. plantagineum* L. leaves.

Phenolic compound assays demonstrated the richness of *E.plantagineum* L. leaves, with a considerable polyphenol content estimated at 580.125mg EAG /g MS, flavonoids 360.53mg EC/g and condensed tannins 210.21 mg EC/g, giving it a powerful antioxidant power with an IC50 estimated at 0.34 mg/ml and an EC50 of 0.56mg/ml respectively.

The antioxidant power of the phenolic extract was then assessed using DPPH inhibition and iron reduction (FRAP) assays. The anti-inflammatory effect of *E.plantagineum* L. leaves was assessed first in vitro by inhibition of thermal protein denaturation, then in vivo using the carrageenan-induced plantar edema method in Wistar rats.

Next, the cytotoxicity test revealed that the phenolic extract of *E.plantagineum* L. leaves had a very minimal hemolysis effect of 8.5% at a low concentration of 1.562mg/ml.

The in vivo study confirmed the anti-inflammatory power of *E.plantagineum* L. leaf polyphenols, reducing oedematous leg volumes by 90.64% in rats treated with a dose of 400mg/kg.

We can conclude that the anti-inflammatory property of *Echium Plantagineum* L. leaves is linked to the antioxidant power of its secondary metabolites, particularly polyphenols.

Consequently, these results clearly support the traditional use of plants as alternative compounds particularly in the control of inflammatory diseases.

**Key words:** *Echium Plantagineum* L., phenolic extract, antioxidant, Wistar rats, carrageenan, inflammation.

## ملخص

ترتبط الأدوية المضادة للالتهابات بآثار جانبية خطيرة. ونتيجة لذلك، يتجه المزيد والمزيد من الناس إلى النباتات ذات الخصائص المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات. من بين هذه النباتات، اخترنا نبات *Echium plantagineum* L. والهدف من هذه الدراسة هو تحليل التأثير المضاد للأكسدة في المختبر ومضاد للالتهابات ومضاد للوذمة في الجسم الحي لمستخلص أوراق نبات *Echium plantagineum* L. أولاً، أجرينا فحوصاً لونية للمركبات الفينولية (البوليفينول والفلافونويد والعفص المكثف) في المستخلص المائي الميثانولي لأوراق *E. plantagineum* L. أظهرت فحوصات المركب الفينولي ثراء أوراق نبات *E. plantagineum* L. بمحتوى كبير من البوليفينول يقدر بـ 580.125 ملجم / EAG جم DM ، والفلافونويدات 360.53 ملجم/EC جم والعفص المكثف 210.21 ملجم/EC جم، مما يعطيها قوة قوية مضادة للأكسدة مع IC50 تقدر بـ 0.34 ملجم/ مل و EC50 0.56 ملجم/ مل على التوالي. تم بعد ذلك تقييم القوة المضادة للأكسدة للمستخلص الفينولي باستخدام فحوصات تثبيط DPPH واختزال الحديد (FRAP). تم تقييم التأثير المضاد للالتهابات لأوراق *E. plantagineum* L. أولاً في المختبر عن طريق تثبيط تمسخ البروتين الحراري، ثم في الجسم الحي باستخدام طريقة الوذمة الأخصية التي يسببها الكاراجينان في فئران ويستار. بعد ذلك، كشف اختبار السمية الخلوية أن المستخلص الفينولي لأوراق *E. plantagineum* L. كان له تأثير ضئيل للغاية في انحلال الدم بنسبة 8.5% عند تركيز منخفض قدره 1.562 ملجم/مل. أكدت الدراسة التي أجريت في الجسم الحي القدرة المضادة للالتهابات لبوليفينول أوراق *E. plantagineum* L. من خلال تقليل حجم الساق المتورمة في 90.64% من الفئران التي عولجت بجرعة 400 ملجم/كغم. يمكننا أن نستنتج أن الخاصية المضادة للالتهابات لأوراق *Echium plantagineum* L. ترتبط بالقدرة المضادة للأكسدة لمستقلباته الثانوية وخاصة البوليفينول. وبالتالي فإن هذه النتائج تدعم بوضوح الاستخدام التقليدي للنباتات كمركبات بديلة، لا سيما في مكافحة الأمراض الالتهابية.

**الكلمات المفتاحية:** *Echium Plantagineum* L.، مستخلص الفينول، مضادات الأكسدة، فئران ويستار، الكاراجينان، الالتهاب.

### Liste des tableaux

Numéro	Titre des tableaux	Page
01	Signes marquants d'inflammation.	6
02	Origines cellulaires et effets des principaux médiateurs impliqués dans le développement de la réaction inflammatoire.	8
03	Exemples de maladies liées à l'inflammation.	11
04	Classification d' <i>Echium plantagineum</i> L.	29
05	Taxonomie du rat de laboratoire.	33
06	Les réactifs et solvants utilisés dans l'étude	40
07	Teneurs en composés phénoliques des feuilles d' <i>E. Plantagineum</i> L.	56
08	Valeurs des IC50 des extraits des feuilles d' <i>Echium plantagineum</i> L.	57
09	Valeurs des EC50 des extraits des feuilles d' <i>Echium plantagineum</i> L.	59
10	Valeurs des IC50 des extraits des feuilles d' <i>Echium plantagineum</i> L.	61
11	Mesure (mm) de l'œdème inflammatoire de la patte arrière gauche des rats	64



<b>Numéro</b>	<b>Titre des figures</b>	<b>Page</b>
01	Les grandes étapes de la réaction inflammatoire aiguë.	10
02	Mécanisme d'action des AINS.	12
03	Classification des antioxydants.	14
04	Classification des composés phénoliques.	18
05	Acides phénoliques et leurs dérivés.	19
06	Squelette moléculaire de base des flavonoïdes numéroté.	20
07	Structure de tanin hydrolysable (a) et tanin condensé(b).	22
08	Schéma général de biodisponibilité des polyphénols.	23
09	Répartition géographique de la famille des Boraginacées dans le monde.	27
10	Distribution géographique d' <i>Echium plantagineum</i> L.	29
11	La relation entre les rats albinos et les rats à capuchon.	32
12	Termes directionnels.	34
13	La zone géographique de récolte d' <i>Echium plantagineum</i> L.	39
14	Protocole d'extraction des polyphénols.	42
15	Taux d'humidité des feuilles d' <i>Echium plantagineum</i> L.	54
16	Courbes d'étalonnages de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux(a), et de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes et des tanins condensés (b-c).	55
17	Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH par l'extrait phénolique des feuilles d' <i>Echium plantagineum</i> L.	57
18	Pouvoir réducteur du fer des extraits des feuilles d' <i>Echium plantagineum</i> L.	58
19	Test de cytotoxicité de l'extrait phénolique des feuilles d' <i>Echium plantagineum</i> L.	59
20	Pourcentages d'inhibition de la dénaturation du BSA des feuilles d' <i>E.plantagineum</i> L.	61
21	Pourcentage d'augmentation des œdèmes de la patte des rats traités et non traités.	64
22	Pourcentage d'inhibition des œdèmes de la patte des rats traités par le diclofénac et l'extrait des feuilles de l' <i>Echium plantagineum</i> L.	65

<b>Numéro</b>	<b>Titre des photos</b>	<b>Page</b>
01	<i>Echium Plantagineum L.</i>	28
02	Les tiges d' <i>Echium plantagineum L.</i>	28
03	Les feuilles d' <i>Echium plantagineum L.</i>	28
04	Les fleurs d' <i>Echium plantagineum L.</i>	28
05	Feuille séchées d' <i>Echium plantagineum L.</i>	39
06	Poudre de feuille d' <i>Echium plantagineum L.</i>	39
07	Etape d'agitation	43
08	Evaporation de l'extrait des feuilles au rotavapeur	43
09	Extrait phénolique obtenu des feuilles d' <i>Echium plantaginum L.</i>	43
10	Pied à coulisse digital	51
11	Sonde de gavage	51
12	Cage de rats sans nourriture durant 16h avant l'expérience	51
13	Pesées des rats avant l'expérience	51
14	Mesure de la pette des rats avant l'installation de l'œdème	52
15	Gavage gastrique avec extrait de l' <i>Echium plantagineum L.</i>	52
16	Effet de la carragénine sur la progression de l'œdème	54

### *Liste des abréviations*

**°C** : degrés Celsius

**ADN** : acide désoxyribonucléique

**AINS**: Anti-Inflammatory Drugs

**ARN** : acide ribonucléique

**AUG** : augmentation

**BHT** : Butylhydroxytoluène.

**BSA** :albumin sérique bovine

**COX 1 et COX 2** : Cyclooxygenase-1 et Cyclooxygenase-2 (enzyme)

**DO** : Densité Optique.

**DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.

**EC<sub>50</sub>** : Efficient concentration 50.

**ERO** : espèces réactives de l'oxygène.

**Fe<sup>2+</sup>** : Ion ferreux.

**Fe<sup>3+</sup>** : Ion ferriques.

**FeCl<sub>3</sub>** : Chlorure de fer.

**FRAP** : Capacités réductrices ferriques d'antioxydants (Ferric reducing/antioxidant power).

**GRH** : globule rouge humain

**Hcl** : Acide chlorhydrique.

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

**IL** : Les interleukines

**INF** : interférons

**INH** : inhibition

**K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>** : Ferricyanure de potassium.

**MC** : maladie de crohn

**NaCL** : Chlorure de sodium.

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé.

**R.m.p** : tours par minute

**SOD**: enzyme antioxydant

**Tube EDTA** : éthylènediaminetétraacétate (anticoagulant)

## *Table des matières*

**Remerciements**

**Résumés**

**Table des matières**

**Liste des tableaux**

**Liste des figures**

**Liste des photos**

**Liste des abréviations**

<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>
<b>Partie I : Synthèse bibliographique.....</b>	<b>4</b>
<b>Chapitre I : inflammation et stress oxydatif .....</b>	<b>5</b>
1. Inflammation.....	6
1.1 Définition de l'inflammation... ..	6
1.2. Facteurs de l'inflammation .....	6
1.3. Cellules impliquées dans la réaction inflammatoire .....	6
1.4. Les médiateurs de l'inflammation .....	7
1.5. Types d'inflammation.....	8
1.5.1. L'inflammation aiguë... ..	8
1.5.2 Inflammation chronique.....	11
1.6. Implication pathologique de l'inflammation .....	11
2. Les anti-inflammatoires... ..	12
2.1. Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS).....	12
2.2. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).....	12
2.3. Les anti-inflammatoires d'origine végétale.....	12
3. Activité antioxydante.....	14
<b>Chapitre 02 : les métabolites secondaires des plantes... ..</b>	<b>16</b>

1. Définition des métabolites secondaires.....	17
2. Définition des composés phénoliques.....	17
2.1 Classification des composés phénoliques... ..	17
2.3. Définition et structure des polyphénols... ..	18
2.4. Les bienfaits des polyphénols... ..	19
3. Les flavonoids.....	20
3.1. Les bienfaits des flavonoïdes... ..	21
4. Les tanins... ..	21
4.1. Tanins hydrolysables... ..	21
4.2. Tanins condensés... ..	22
4.3 Les bienfaits des tanins... ..	22
5. La biodisponibilité des composés polysphénoliques... ..	23
<b>Chapitre 03 : <i>Echium plantagineum</i> L.</b> .....	<b>26</b>
1. La famille des borraginacées... ..	27
1.1 Distribution géographique... ..	27
2. Description et classification botanique d' <i>Echium plantagineum</i> L.....	28
3. Distribution géographique d' <i>Echium plantagineum</i> L... ..	29
4. La toxicité de certaines plantes médicinales.....	30
<b>Chapitre 04 : Les rats de laboratoire</b> .....	<b>31</b>
1. Modèles de rats... ..	32
2. Taxonomie.....	33
3. Caractéristiques générales... ..	33
4. Caractéristiques anatomiques et physiologiques.....	34
4.1 La nutrition... ..	34

4.2 Système digestif.....	35
4.3. La reproduction.....	35
5. Voies courantes d'injection et procédures de dosage oral.....	36
<b>Partie 2 : partie expérimentale .....</b>	<b>37</b>
<b>Matériel et méthodes .....</b>	<b>38</b>
Origine et préparation du matériel végétal... ..	39
1. Réactifs et solvants .....	40
2. Détermination du taux d'humidité.....	40
3. Extraction des polyphénols des feuilles d' <i>Echium plantaginum</i> L.....	41
4. Dosage des composés phénoliques.....	44
4.1 Dosage des polyphénols.....	44
4.2 Dosage des flavonoïdes .....	44
4.3 Dosage des tanins condensés.....	45
5. Evaluation du pouvoir antioxydant par la méthode de neutralisation du radical 2,2-Diphényl 1-picrylhydrazyl (DPPH) .....	45
6. Evaluation de l'activité antioxydante par la méthode de réduction du fer (FRAP).....	46
7. Détermination de la cytotoxicité de l'extrait phénolique.....	47
7.1 Préparation de la suspension des globules rouges humains (GRh).....	47
7.2 Test de cytotoxicité.....	47
8. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro par inhibition de la dénaturation thermique des protéines (Albumine sérique bovine BSA) .....	48
<b>Expérience <i>In vivo</i>.....</b>	<b>49</b>
1. Préparation de la carragénine.....	49
2. Animaux et traitements.....	50
3. Induction d'inflammation .....	50

4. Mesure de l'œdème.....	51
<b>Partie 03 : Résultats et discussion .....</b>	<b>53</b>
1. Détermination du taux d'humidité.....	54
2. Teneurs en composés phénoliques.....	54
3. Evaluation du pouvoir antioxydant des feuilles d' <i>Echium plantagineum</i> L.....	56
3.1 Le piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl).....	56
3.2 La réduction du Fer : FRAP (Ferric reducing antioxydant power).....	58
4. Test de cytotoxicité des extraits de l' <i>Echium plantagineum</i> L.....	59
5. Activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i> .....	60
6. Activité antiinflammatoire <i>in vivo</i> .....	61
<b>Conclusion et perspectives .....</b>	<b>67</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>71</b>

# Introduction

L'être humain possède des systèmes et des mécanismes pour assurer la protection et le contrôle de ses fonctions vitales. Le système immunitaire inné est l'un d'entre eux, constitué de cellules et de mécanismes qui permettent au corps de se défendre contre les agents infectieux. Si une infection survient, le corps déclenche une réponse inflammatoire qui est considérée comme un processus essentiel pour éliminer les agents pathogènes et réparer les dommages aux tissus (**Lacavé- Lapalun, 2013**).

Quand l'inflammation est maîtrisée, la phase aiguë se manifeste par une infiltration de leucocytes dans la zone affectée, ce qui entraîne l'élimination de l'agent pathogène et/ou une stimulation initiale et une réparation tissulaire complète (**Moncel, 2016 ; Chen et al., 2018**).

Une variété d'agents anti-inflammatoires sûrs et efficaces sont disponibles, y compris diclofénac et d'autres anti-inflammatoires non stéroïdiens, avec de nombreux autres médicaments en cours de développement. Les agents anti-inflammatoires de la nouvelle incluent les "produits biologiques" comme les traitements anti-cytokines et les petites molécules qui entravent l'activité des kinases (**Dinarelo, 2010**). De plus, il existe une large utilisation des anti-inflammatoires stéroïdiens et des glucocorticoïdes pour éliminer l'inflammation dans les maladies inflammatoires chroniques (**Barnes, 1998**). Toutefois, l'emploi de composés anti-inflammatoires fabriqués chimiquement entraîne toujours des effets secondaires indésirables, tandis que l'utilisation de composés phytochimiques se révèle bénéfique et sans effets secondaires (**Bjarnason et Hayllar, 1993**).

Ces composés extraits de plantes sont largement connus pour leur propriété biologique notamment leur potentiel antioxydant contre le stress oxydatif qui est à l'origine la cause des différentes affections qui touchent la santé humaine telle que le vieillissement, les cancers et les maladies cardio-vasculaires (**Bennamara, 2017 ; Salhi, 2017**).

*Echium plantagineum* L., connu sous le nom de fleur pourpre, est une espèce herbacée annuelle qui appartient à la famille des Boraginaceae. Originaire d'Europe et d'Afrique du Nord, elle est indiquée pour l'ornement, à des fins mellifères et médicinales (**Roso et al., 2017**).

Les résultats ont montré que les différentes parties des espèces d'*Echium* pourraient être utilisées pour leurs propriétés antibactériennes, anti-inflammatoires, anti-prolifératives, antidépressives, antioxydantes, antivirales, anxiolytiques et cytotoxiques (**Sayyah et Kamalinejad, 2006 ; Jin et al., 2020**).

Pour ces nombreux bienfaits, il nous a paru nécessaire de valoriser les feuilles de cette plante et d'inscrire ce travail dans l'évaluation des activités biologiques des feuilles d'*Echium plantagineum* L. À savoir l'activité anti oxydant et anti inflammatoire.

Pour cela, notre manuscrit se présente en 3 parties :

La première partie est consacrée à la synthèse bibliographique où sont exposées des généralités sur l'inflammation, les métabolites secondaires et sur l'espèce *d'Echium plantagineum* L., la toxicité des plantes, assavoir l'activité anti-inflammatoire et antioxydante. La deuxième partie est dédiée à l'expérimentation que nous avons effectuée au sein du laboratoire de recherche des produits naturels « LAPRONA » dans laquelle nous décrirons et nous développerons les méthodes utilisées.

En dernier lieu, nous exposerons les résultats obtenus dans une discussion. Enfin, nous terminerons par une conclusion générale en présentant quelques perspectives à notre travail.

# Partie bibliographique

# Chapitre 01 :

# Inflammation et stress oxydatif

## 1. Inflammation

### 1.1 Définition de l'inflammation

L'inflammation est une réponse biologique des tissus vascularisés aux infections et aux tissus endommagés, impliquant un réseau complexe d'interactions cellule-cellule, cellule-médiateur et tissu (Sporn et al., 1986 ; Vinay et al., 2014).

Ce processus est généralement bénéfique, car il conduit à l'élimination d'éventuels pathogènes et au retour à l'homéostasie du tissu lésé (Wollinger et al., 2016), cependant, l'inflammation elle-même peut endommager des cellules par ailleurs saines, ce qui pourrait stimuler davantage l'inflammation. (Rukmini et al., 2018).

Les symptômes inflammatoires sont le résultat d'extravasations de plasma et d'une infiltration accrue de leucocytes au site de l'inflammation (Tracey, 2002 ; Lawrence et al., 2002). Aujourd'hui encore, ils constituent la base principale de la description de tout type d'inflammation (Tableau 01).

**Tableau 01** : Signes marquants de l'inflammation (Donna, 2017).

Signes	Cause
Chaleur	Vasodilatation Bradykinine
Rougeurs	Vasodilatation et augmentation du flux sanguin
Gonflement (œdème)	Fuite de liquide du récipient
Douleur	Bradykinine et prostaglandines (Série E) : Stimulation des terminaisons nerveuses

### 1.2. Facteurs d'inflammation :

L'inflammation peut être déclenchée par divers facteurs infectieux ou non infectieux. Les facteurs non infectieux sont de types bactéries et virus, et les facteurs non infectieux sont physiques (brûlure, engelure, blessure physique, corps étranger, traumatisme, rayonnement ionisant) ou produits chimiques (glucose, acides gras, toxines, alcool, irritants chimiques y compris le fluor, le nickel et d'autres oligo-éléments) (Chen et al., 2018).

### 1.3. Cellules impliquées dans la réaction inflammatoire :

Les différentes cellules impliquées dans une réaction inflammatoire sont :

- a. **Les polynucléaires neutrophiles (PNN) :** Les polynucléaires neutrophiles représentent le composant cellulaire majeur de l'inflammation aiguë (40–75 % des cellules inflammatoires). Ils migrent sous l'effet des chimio attractants vers le site inflammatoire où ils phagocytent l'agent agresseur ou les débris cellulaires (**Descamps-Latscha et Witko-Sarsat, 1999**). Elles jouent également un rôle dans la réparation des tissus (**Eming et al., 2007**).
- b. **Les mastocytes :** On retrouve ces cellules résidentes dans les tissus conjonctifs. De plus, ils jouent un rôle essentiel dans l'induction de la réponse inflammatoire (**Weill et al., 2003**). Ils se distinguent par l'existence de nombreuses granulations dans leur cytoplasme qui contiennent des médiateurs inflammatoires tels que la sérotonine, l'histamine, l'héparine et des cytokines (**Williams et Galli, 2000**). Ils jouent également un rôle dans la réparation des tissus (**Eming et al., 2007**).
- c. **Les monocytes :** Au cours de l'homéostasie et de l'inflammation, les monocytes circulants quittent la circulation sanguine et migrent dans les tissus, après avoir été conditionnés par des facteurs de croissance locaux, des cytokines pro-inflammatoires et des produits microbiens, ils se différencient en macrophages ou en cellules dendritiques populations (**Auffray et al., 2009**).
- d. **Les plaquettes :** Elles jouent un rôle essentiel dans l'hémostase primaire. Elles participent à l'inflammation en libérant divers médiateurs tels que le fibrinogène, le plasminogène, les protéases plasmatiques et la sérotonine (**Steinhubl, 2007**).
- e. **Les Polynucléaire basophiles :** Les polynucléaires les plus rares sont les cellules inflammatoires (moins de 1 % des cellules). Celle-ci possède également un cytoplasme riche en granulations riches en médiateurs pro-inflammatoires. Les cellules phagocytaires basophiles jouent un rôle essentiel dans les réactions allergiques (**Rankin, 2004**).
- f. **Les polynucléaires éosinophiles :** De 1 à 5 % des leucocytes circulants sont des polynucléaires éosinophiles. Ils ont de nombreux granules cytoplasmiques riches en une protéine basique appelée MBP (major basic proteins), qui leur permet de combattre les parasites et les pathogènes de grande taille qui ne peuvent pas être endocytés. En activant directement les lymphocytes T, les éosinophiles jouent également un rôle dans la régulation et la diffusion de la réponse immunitaire adaptative (**Kerbache, 2014**).

#### 1.4. Les médiateurs de l'inflammation :

Les médiateurs jouent de nombreux rôles, participent au processus inflammatoire et sont impliqués dans la coagulation, l'immunité innée, les voies hématopoïétiques et le système nerveux (Kumar et al., 2007 ; Charles et al., 2010).

Les médiateurs d'origine plasmatique : la forme initiale est présente dans le plasma et nécessite une activation (généralement par protéolyse) afin d'obtenir leurs caractéristiques.

Les médiateurs dérivés des cellules : on peut les préparer et les extraire dans des granules intracellulaires (dégranulation due à des stimuli inflammatoires), ou bien on les synthétise de nouveau en réponse à des stimuli (Rousselet et al., 2005).

**Tableau 02 :** Origines cellulaires et effets des principaux médiateurs impliqués dans le développement de la réaction inflammatoire (Davoine et Lacy., 2014).

Médiateurs	Origine	Effets
<b>Histamine</b>	Mastocytes, basophiles, éosinophiles et plaquettes	Il permet de dilater les vaisseaux sanguins, augmente la perméabilité des vaisseaux sanguins, provoque l'apparition des molécules d'adhésion sur l'endothélium vasculaire.
<b>Sérotonine</b>	Mastocytes et plaquettes	Aide à la dilatation des vaisseaux sanguins, à l'élargissement des capillaires et à la contraction musculaire.
<b>Prostaglandine</b>	Essentiellement par les leucocytes	La dilatation des vaisseaux sanguins, renforce l'action de l'histamine, accroît la sensibilité des neurones et détermine la douleur.
<b>Cytokines</b>	Macrophages et les lymphocytes	Elles ont une action sur des récepteurs membranaires, qu'ils soient pro-inflammatoires (IL-1 $\beta$ , IL-6, ou le TNF $\alpha$ ) ou anti-inflammatoires (IL-10), qui jouent un rôle dans la réparation tissulaire.

#### 1.5. Types d'inflammation

On distingue généralement deux types d'inflammation : l'inflammation aiguë et l'inflammation chronique (Fritsch et al., 2019 ; Michels et al., 2019 ; Zhang et al., 2019).

##### 1.5.1. L'inflammation aiguë

L'inflammation aiguë est de durée relativement courte, allant de quelques minutes à plusieurs jours, selon l'étendue de la blessure. Ses principales caractéristiques sont l'exsudation de protéines fluides et plasmatiques et émigration des leucocytes (Gownolla et al., 2015).

Les principaux résultats de l'inflammation aiguë sont la cicatrisation et la résolution de la lésion, où la formation d'abcès et la progression vers l'inflammation chronique dépendent du type d'agent inflammatoire, de la gravité des lésions tissulaires et de la capacité des cellules inflammatoires à se diviser et à se répliquer dans le tissu endommagé (**Giresha, 2021**). Elle peut être divisée en deux phases : l'initiation et la résolution.

**a. La phase vasculaire :**

La première étape de la phase vasculaire est l'activation des plaquettes qui se produit après une lésion tissulaire, qu'elle touche les veinules ou les artérioles (**Steinhubl, 2007**).

Les rougeurs et la chaleur sur le site de l'inflammation sont provoquées, ce qui réduit le flux sanguin. Les leucocytes attirés par chimiotactique peuvent nager près de l'endothélium de la zone inflammée, où l'IL-4 exprime la sélectine sur sa surface liminale. Les molécules d'adhésion permettent aux leucocytes de rouler le long de l'endothélium, ce qui entraîne l'activation de nouvelles molécules d'adhésion (**Rousselet et al., 2005**). Elle débute par une petite vasoconstriction provoquée par l'action du système sympathique et est très rapidement ressentie, car elle est douloureuse. L'origine de cette douleur réside dans la production d'histamine, de sérotonine, de prostaglandines et de kinine. En conséquence, l'excitabilité des terminaisons nerveuses va renforcer le processus douloureux (**Diallo, 2019**).

Un œdème inflammatoire se produit ensuite, ce qui permet d'apporter des moyens de défense jusqu'à la lésion et à l'apparition du foyer inflammatoire (**Allam, 2017**).

**b. La phase cellulaire :**

La phase cellulaire commence lorsque de nombreux polynucléaires neutrophiles et plaquettes se regroupent sur le site de l'inflammation (**Pasquier, 1995**). Cela entraîne la fragmentation des éléments internes de la cellule, avec la libération de substances pro-inflammatoires et de facteurs cytotoxiques dans les organes ciblés (**Asehnoune et Edouard, 2006**). Ces bactéries, microcristaux et débris de tissus nécrosés sont phagocytés et déversent leur contenu cellulaire (**Pasquier, 1995**). Toutefois, pendant la phagocytose, des enzymes protéolytiques et des formes réactives de l'oxygène peuvent s'échapper des polymorphonucléaires et des macrophages, ce qui contribue à maintenir l'inflammation et à détruire incorrectement des cibles tissulaires et moléculaires (**Pasquier, 1995**).

### c. La résolution :

Elle se distingue par le retour à l'équilibre après une agression, mais elle requiert d'abord l'arrêt de la réponse immunitaire et ensuite la réparation des tissus endommagés. Plusieurs médiateurs interviennent dans l'arrêt de l'inflammation, tels que les cytokines anti-inflammatoires et l'apoptose des cellules inflammatoires. Les macrophages, les cellules endothéliales et les fibroblastes sont impliqués dans la réparation des tissus (Eming et al., 2007). Les agents agresseurs sont éliminés par les polynucléaires neutrophiles dans les conditions les plus propices. Les macrophages consomment les produits de dégradation et les débris cellulaires. Dans un premier temps, le retour à un état physiologique implique la réparation de l'endothélium par les cellules endothéliales elles-mêmes (Weill et al., 2003).

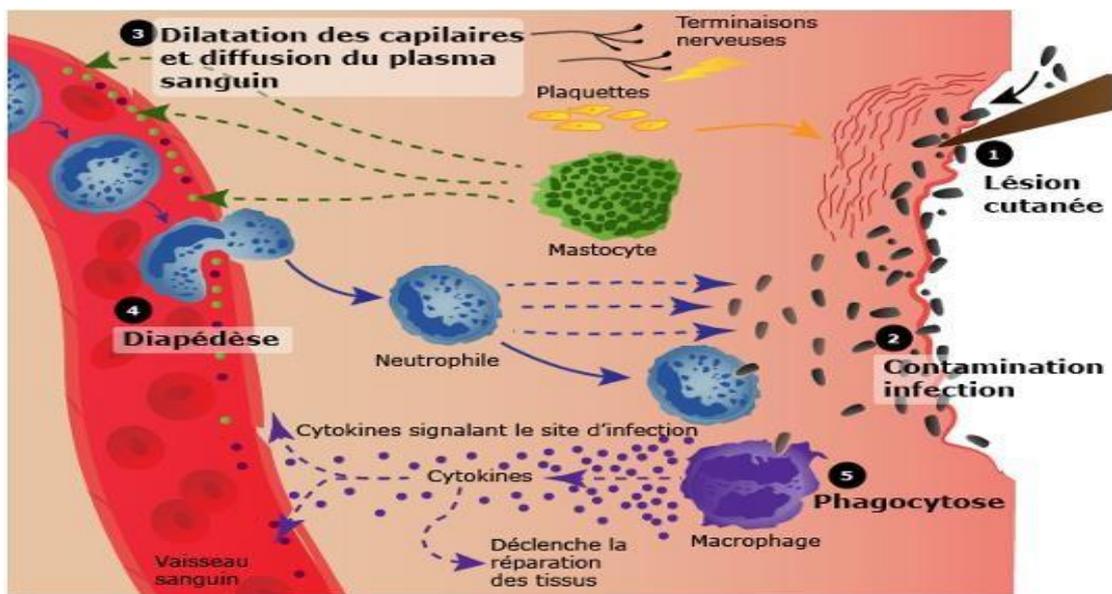


Figure 01 : Les grandes étapes de la réaction inflammatoire aiguë (Patrice, 2014).

#### 1.5.2. Inflammation chronique :

L'inflammation chronique est caractérisée par la présence de cellules lymphocytaires, macrophages et plasmocytes dans les tissus présents. Dans la plupart des cas, la réponse inflammatoire chronique peut durer longtemps (plusieurs mois ou années). C'est due à l'implication continue des réponses de l'immunité innée et acquise. Il a été démontré que dans ces lésions, les macrophages génèrent une série de médiateurs pro-inflammatoires qui stimulent les fibroblastes pour fixer le collagène et stimuler les autres macrophages et lymphocytes pour libérer des médiateurs responsables des réponses inflammatoires propres.

Les réponses vasculaires déclenchent d'abord l'inflammation chronique, avec l'émergence de

---

molécules d'adhésion sur la surface des cellules endothéliales qui vont entraîner l'adhésion des

lymphocytes et des monocytes et leur transmigration dans le compartiment extravasculaire (Charles et al., 2010).

Contrairement à l'inflammation aiguë, les phases vasculaires et cellulaires ne se succèdent pas tout au long de l'évolution de cette inflammation. L'inflammation persistante entraîne fréquemment une détérioration des tissus ou des fonctions des organes.

Il est également observé des phénomènes de dégradation tissulaire et de tentative de réparation (KADA, 2018).

### 1.6. Implication pathologique de l'inflammation :

L'inflammation joue un rôle crucial dans la protection de l'intégrité du corps.

Toutefois, l'importance de l'inflammation dans diverses affections humaines est assez évidente (Meziti, 2018).

**Tableau 03** : Exemples de maladies liées à l'inflammation (Nathan, 2002).

Origine	Types de maladie
Désordres dans lesquelles le rôle pathogénique principal revient à l'inflammation.	<ul style="list-style-type: none"> <li>→ Artériosclérose</li> <li>→ Arthrose</li> <li>→ Asthme</li> <li>→ Polyarthrite rhumatoïde</li> <li>→ Eczéma</li> <li>→ Maladie de Crohn (MC)</li> <li>→ Goutte</li> <li>→ Thyroïdite d'Hashimoto</li> <li>→ Maladie d'Alzheimer</li> <li>→ Lupus érythémateux disséminé</li> </ul>
Maladies d'origine infectieuse dans lesquelles l'inflammation contribue dans la pathologie.	<ul style="list-style-type: none"> <li>→ Hépatite C</li> <li>→ Tuberculose</li> <li>→ Dysenterie bactérienne</li> </ul>
Maladies d'origines divers dans lesquelles la fibrose poste inflammatoire est la cause principale de la pathologie.	<ul style="list-style-type: none"> <li>→ Cirrhose hépatique poste virale ou alcoolique</li> <li>→ Fibrose pulmonaire idiopathique</li> <li>→ Bilharziose</li> </ul>

## 2. Les anti-inflammatoires

Les médicaments anti-inflammatoires sont des inhibiteurs des défenses immunitaires, ce qui entraîne une inhibition du chimiotactisme des cellules de défense de l'organisme favorisant l'émergence ou l'aggravation de l'infection et sa propagation (Nicot et al., 2013).

## 2.1. Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)

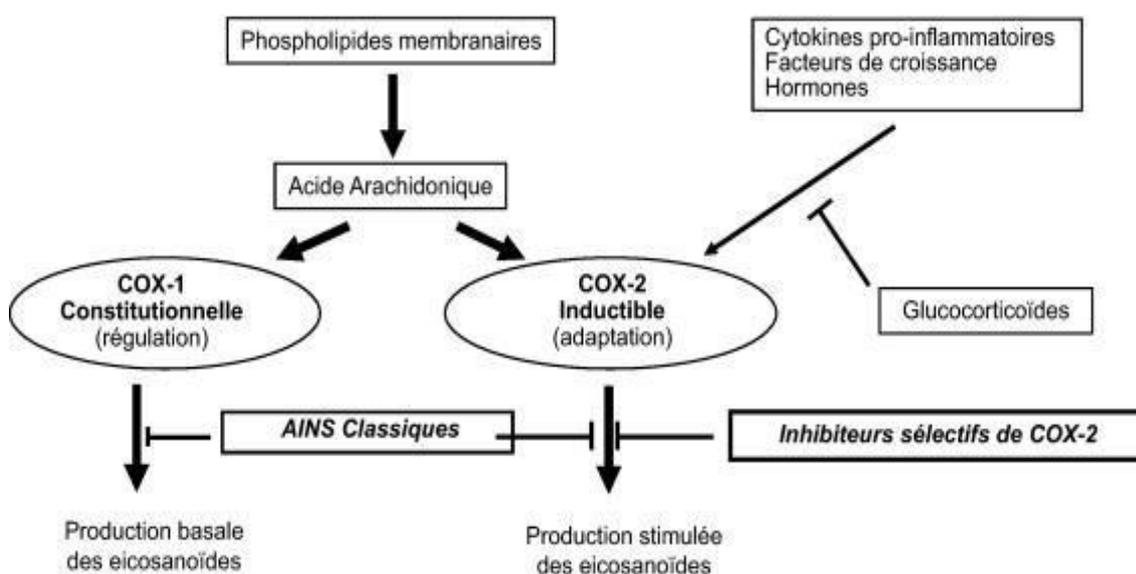
Les glucocorticoïdes sont capables d'inhiber toutes les phases de la réaction inflammatoire, qu'elle soit aiguë ou chronique. Ils se lient à des récepteurs intracellulaires, le complexe formé agissant au niveau de l'ADN et modifiant la transcription de nombreux gènes.

Dans l'inflammation, les glucocorticoïdes inhibent la transcription des gènes COX2 (ils n'ont pas d'effet sur COX1), la phospholipase A2 et donc inhibent à la fois la synthèse des prostaglandines et des leucotriènes (**Jacqz-aigrain and Guillonnet, 1998 ; Mallem and Gogny, 2014**).

## 2.2. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Le mécanisme d'action largement accepté des AINS est l'inhibition de la conversion de l'acide arachidonique en endoperoxydes cycliques par l'enzyme cyclo-oxygénase (**Blain, 2001**). La plupart des AINS sont non sélectifs et inhibent à la fois la COX-1 et la COX-2.

La COX-1 est constitutive et PG qui protègent l'estomac et les reins des lésions et la COX-2 est induite par des stimuli inflammatoires, comme les cytokines, et produit des PG qui contribuent à la douleur et au gonflement de l'inflammation. Par conséquent, les médicaments qui ont la plus grande puissance sur la COX-2 et un meilleur rapport d'activité COX-2/COX-1 auront une puissante activité anti-inflammatoire, avec peu d'effets secondaires sur l'estomac et les reins, comparables à ceux des inhibiteurs les plus puissants de la COX-1 (**Vane and Botting, 1998 ; Chaiamnuay et al., 2006**).



**Figure02** : Mécanisme d'action des AINS (**Brune et Patrignani, 2015**).

### 2.3. Les antis inflammatoires d'origine végétale :

Les médicaments issus de plantes sont couramment employés et recommandés par les médecins pour diverses affections en raison de leurs faibles effets secondaires et de leurs nombreux bienfaits sur la santé humaine (**Yadav et Baquer, 2014**).

Les plantes peuvent synthétiser une grande diversité de composés phytochimiques en tant que métabolites secondaires. De nombreux composés phytochimiques ont été employés dans le traitement de différentes affections chez l'homme car plus de 20 000 espèces ont été recensées par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) dans le but d'identifier toutes les plantes médicinales utilisées dans le monde.

La production de nouveaux médicaments à partir des plantes est très prometteuse. La majorité des composants des plantes médicinales sont employés en tant que médicaments bruts et ont des propriétés médicinales diversifiées pour traiter les maladies chroniques et même infectieuses (**Verma, 2016**).

### 3. Activité antioxydante

Le stress oxydatif correspond à une situation où la balance métabolique cellulaire est déséquilibrée entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et leur détoxification grâce aux capacités antioxydantes de l'organisme entraînant ainsi l'émergence de dommages souvent irréversibles pour la cellule (**Desmier, 2016 ; Bahlil, 2018**).

Une surproduction d'ERO survient par des facteurs environnementaux ou lors d'une maladie, ce qui entraîne de nombreux processus physiologiques et physiopathologiques tels que l'autophagie, l'apoptose et la nécrose (**Hou et al., 2018 ; Bahlil, 2018**).

Ces derniers pourraient causer des dommages aux protéines, aux lipides et aux acides nucléiques, ce qui entraînerait une dysfonction cellulaire, incluant l'absence de métabolisme énergétique, la perturbation de la signalisation et de la régulation cellulaire, les mutations de l'ADN et de l'ARN, un défaut de transport cellulaire et une diminution générale des fonctions biologiques et des performances du système immunitaire (**Heshmati et al., 2018**).

La production de radicaux libres est accélérée par l'inflammation, et lorsqu'elle est restreinte, les défenses antioxydantes naturelles de l'organisme peuvent être régulées. En cas d'intensité excessive ou de durée prolongée, les radicaux libres deviennent alors excessivement nombreux, submergent les défenses antioxydantes et provoquent des réactions en cascade qui peuvent, entre autres, altérer des tissus sains (**Desmier, 2016**).

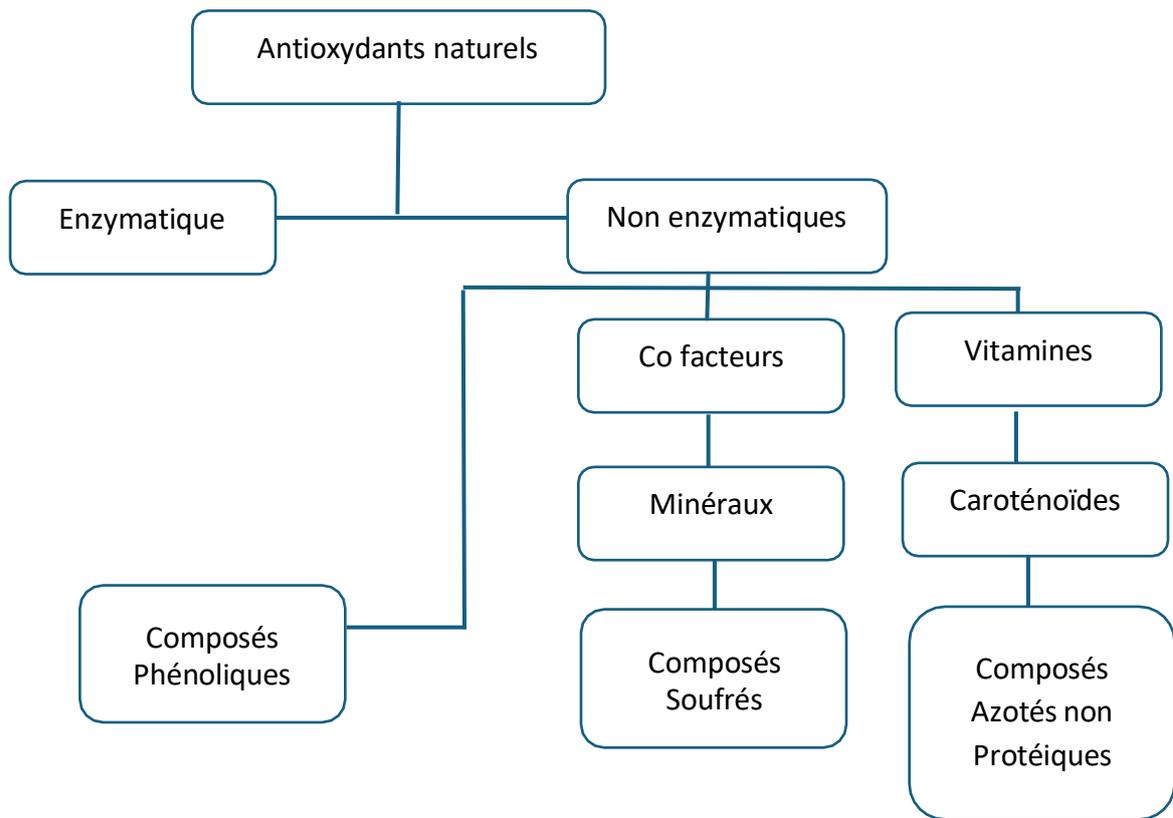
Les antioxydants sont des composés qui se trouvent à des concentrations restreintes par rapport au substrat oxydable, et qui ont la capacité de ralentir ou d'empêcher l'oxydation de ce dernier (**Bensakhria, 2018**). Effectivement, les antioxydants jouent un rôle essentiel dans la neutralisation des radicaux libres et dans la prévention des maladies liées au stress oxydant.

L' $\alpha$ -tocophérol (vitamine E), l'acide ascorbique (vitamine C) et les composés phénoliques sont parmi les antioxydants naturels les plus renommés (**Sarr et al., 2015**). Lors d'une situation de stress oxydant, les capacités antioxydantes de l'organisme sont réduites, voire très faibles, car elles sont dépassées par l'action prooxydante des composés produits. Il est possible de mesurer différents antioxydants tels que la vitamine C et E, les enzymes antioxydantes SOD, la glutathion peroxydase, la catalase et la paraoxonase (**Mongens, 2013**).

Les antioxydants naturels sont importants, réside dans leur capacité à retarder ou inhiber le processus biologique d'oxydation moléculaire, ce qui permet d'éviter l'utilisation d'antioxydants synthétiques en supposant qu'ils entraînent une cancérogenèse (**Santiago et al., 2018**).

En raison de ces informations, il est évident que c'est grâce à une alimentation saine, équilibrée et diversifiée, ainsi qu'à une hygiène de vie adéquate que nous pouvons combattre le stress oxydatif et profiter des effets protecteurs des antioxydants naturels.

Certains individus ont une préférence pour les suppléments d'antioxydants afin de répondre à leurs besoins en nutriments, cependant, une prise à forte dose et à long terme pourrait entraîner des effets indésirables contraires à ceux prévus, en particulier chez les individus qui n'en ont pas besoin (**Prasad et al., 2014**).



**Figure 03 :** Classification des antioxydants naturels (Maurent, 2017).



Chapitre 02 :  
Les métabolites  
secondaires des plantes

## 1. Définition des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées par les plantes autotrophes (**Boudjourff, 2011**). Ils sont biosynthétisés à partir de métabolites primaires et jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement (**Peeking et al., 1987**).

Le mot « métabolite secondaire » a été introduit par **Albrecht Kossel** en **1891**, où on trouve trois grandes familles de molécules généralement considérées : les Phénoliques, les Terpènes et les Stéroïdes, et Alcaloïdes (**Ourgaud, 2001**).

De nombreux métabolites secondaires ont été identifiés pour leur utilité en médecine et dans les secteurs environnants, car ils sont couramment employés comme produits pharmaceutiques, additifs alimentaires et ingrédients cosmétiques (**Twaij et Hasan, 2022**).

## 2. Définition des composés phénoliques :

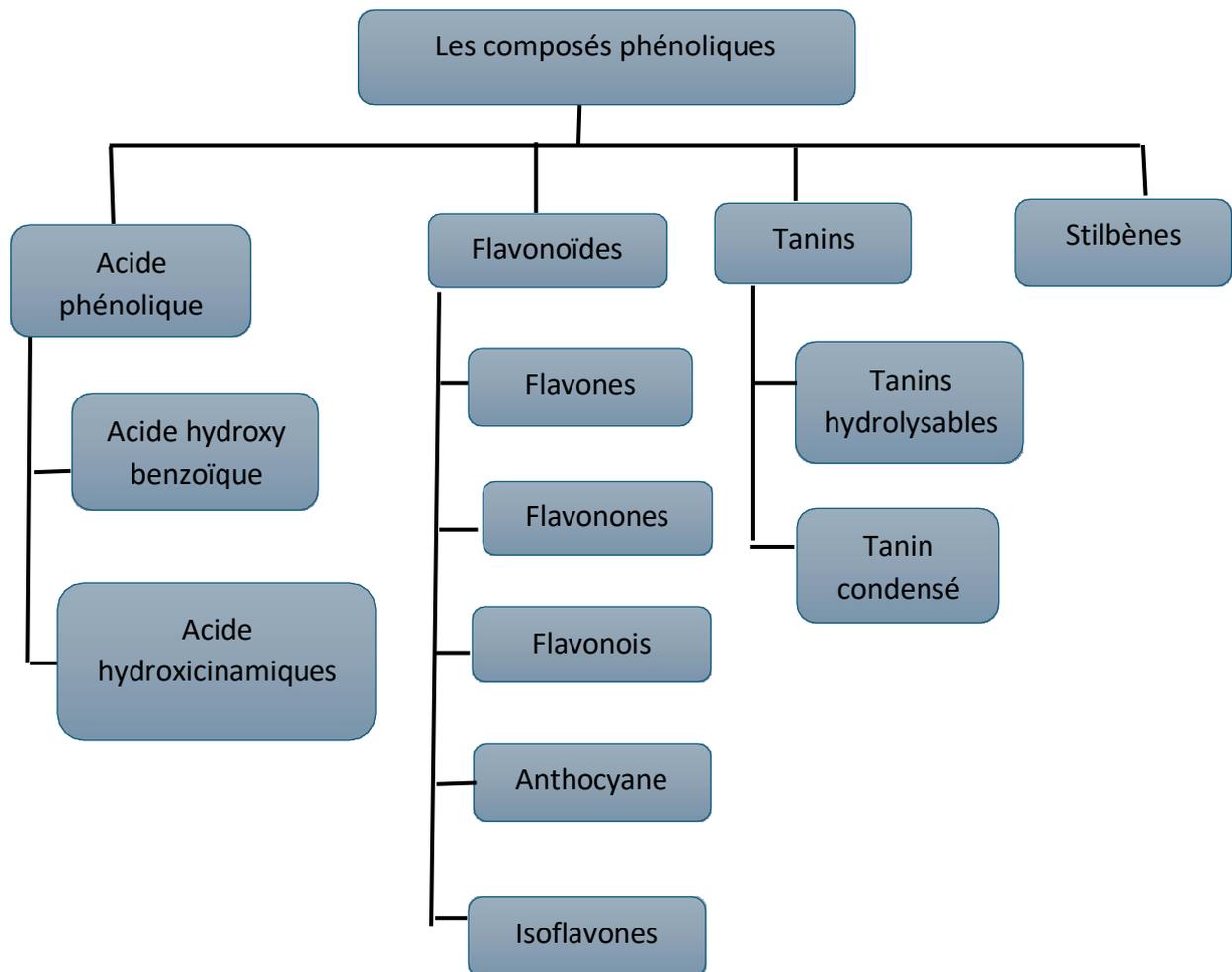
Des milliers de types différents de métabolites secondaires ont été identifiés dans les plantes. Chimiquement, ces composés sont soit des (alcaloïdes) contenant de l'azote, soit des composés déficients en azote (terpénoïdes et composés phénoliques) (**Patra et al., 2013 ; Deepak et al., 2015**).

On suppose généralement que la capacité antioxydante des composés phénoliques augmente avec le nombre d'hydroxyles libres et la conjugaison des chaînes latérales aux cycles aromatiques, les flavonoïdes et les phénylopropanoïdes sont également oxydés par la peroxydase et agissent comme des piègeurs de  $H_2O_2$  (**Lee et al., 2017**).

### 2.1 Classification des composées phénoliques

Les composés phénoliques végétaux sont principalement classés en cinq grands groupes, les acides phénoliques, les flavonoïdes, les lignanes, les stilbènes et les tanins (**Myburgh, 2014**).

Les composés phénoliques possèdent généralement un ou plusieurs cycles aromatiques avec un ou plusieurs groupes hydroxyle (**Tanase et al., 2019**).



**Figure 04** : Classification des composés phénoliques (Boros et al., 2010).

## 2.2 Principales sources alimentaires des composés phénoliques

Les composés phénoliques présents dans les aliments peuvent être divisés en trois grands groupes : le phénol simple et acides phénoliques, dérivés de l'acide hydroxycinnamique et flavonoïdes (Ștefănescu et al., 2019).

Les polyphénols sont principalement présents dans les fruits et les boissons, avec des concentrations différentes selon les variétés. Par exemple, il y a jusqu'à 200 à 300 mg de polyphénols dans les pommes, les raisins et les poires pour 100 grammes de poids frais.

Les céréales, le chocolat ainsi que les légumineuses jouent également un rôle dans la production de polyphénols (Scalbert et al., 2005).

De plus, Les épices constituent l'une des principales sources de polyphénols. Les huiles d'olive riches en polyphénols, Il est recommandé de consommer deux/trois cuillères à soupe par jour afin de préserver les cellules des dommages.

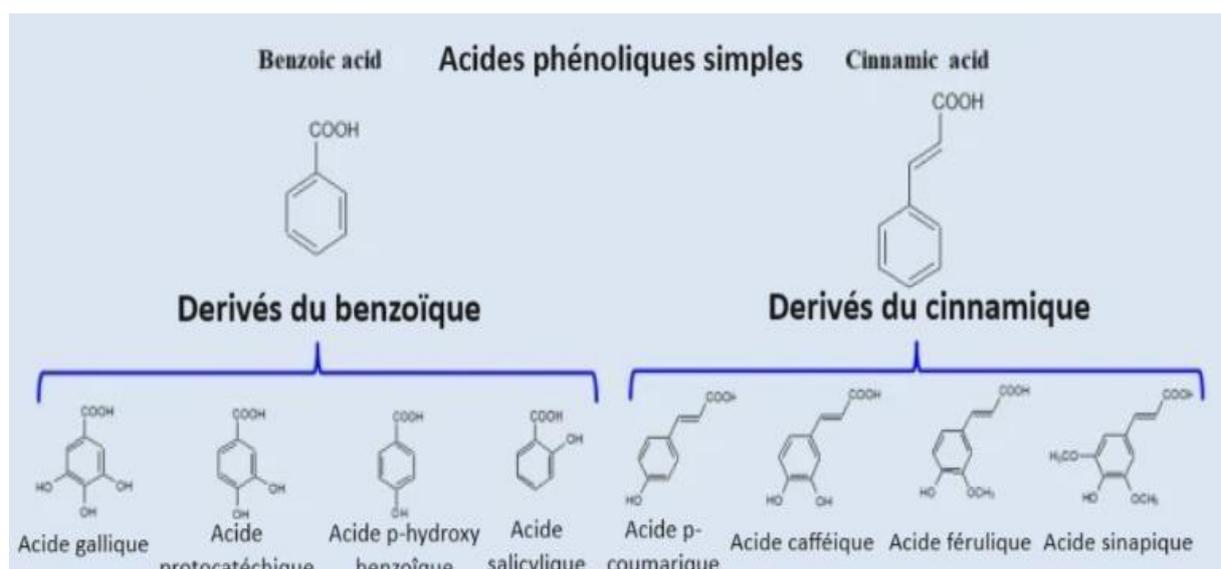
Le thé noir, le thé vert et le café sont recommandés en buvant trois tasses par jour, car une tasse de café contient 35mg de polyphénols.

Chocolat et noix. Cependant, il est important de prendre en compte la quantité, car tous deux renferment 30 à 50% de lipides. Toutefois, nous avons la possibilité de consommer quotidiennement un morceau de chocolat noir et une petite quantité de noix (**Martin and Andriantsitohaina, 2002**).

Une cuillère à soupe du cacao contient 516 mg de polyphénols (**Smeriglio et al., 2017**).

### 2.3. Définition et structure des polyphénols

Le terme polyphénols désigne généralement les composés phénoliques ayant un groupe carboxylique. Les acides phénoliques, ou acides phénolcarboxyliques, sont l'une des principales classes de composés phénoliques des plantes. Ils sont généralement présents sous forme liée, comme des amides, des esters ou des glycosides, et rarement sous forme libre. Les acides phénoliques sont principalement divisés en deux sous-groupes : les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques. Les acides phénoliques possèdent une activité antioxydante *in vitro* beaucoup plus élevée que les vitamines antioxydantes bien connues (**Kumar & Goel, 2019**).



**Figure 05** : Acides phénoliques et leurs dérivés (**Marchiosi et al., 2020**).

## 2.4. Les bienfaits des polyphénols

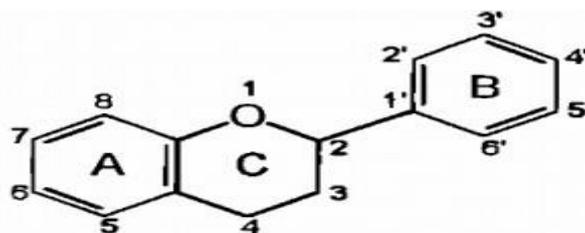
De nombreuses études ont rapporté les bienfaits potentiels des polyphénols végétaux sur la santé. En raison de leurs puissantes propriétés antioxydantes, les composés phénoliques végétaux ont été scientifiquement prouvés pour prévenir diverses maladies chroniques et les maladies liées au stress oxydatif, telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires et les maladies neurodégénératives (**Liu et al., 2018 ; Koch, 2019**).

Les polyphénols peuvent affecter les événements moléculaires aux stades d'initiation, de promotion et de progression de la carcinogenèse, les isoflavones et les lignanes peuvent affecter les activités liées aux œstrogènes liées à la formation de tumeurs (**Hsu et al., 2015 ; Moein, 2015**). Les polyphénols étant connus pour leurs activités antioxydantes, une consommation accrue peut protéger contre le développement de maladies cardiovasculaires. De plus, des données récentes suggèrent que les polyphénols ont des propriétés immunomodulatrices et vasodilatatrices qui peuvent également contribuer dans la réduction du risque de maladies cardiovasculaires (**Mahmoud et al., 2019**).

## 3. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes, sont très communs dans le monde végétal. Ces éléments forment des pigments colorés des plantes, allant du jaune au rouge. À ce jour, les flavonoïdes forment une vaste famille de plus de 9000 composés naturels (**Erlund, 2004**) et sont couramment employés dans divers secteurs tels que l'industrie agroalimentaire en tant que colorant alimentaire, antioxydant, en cosmétologie pour la prévention du vieillissement de la peau, protection contre les rayons UV ou encore en industrie pharmaceutique : anti-inflammatoire, antiviellissement, etc.) (**Kim et al., 2004**).

Les flavonoïdes constituent 60 % des composés polyphénoliques avec un cycle benzénique (cycles A et B) comme élément structural de base relié par une chaîne linéaire à trois carbones formant un hétérocycle oxygéné (cycle C) (**Ramos, 2007**).



**Figure 06** : squelette moléculaire de base des flavonoïdes numéroté  
(**Irfan et al., 2006**).

### 3.1. Les bienfaits des flavonoïdes

Les flavanols sont les principaux flavonoïdes alimentaires, particulièrement abondants dans les fruits et légumes (McCarty, 2001). Il a été rapporté que les flavonoïdes possèdent un certain nombre d'effets biologiques tels que activités antiallergiques, anti-inflammatoires, antivirales, anti-prolifératives et anti-cancérogènes (**Scalbert et Williamson, 2000 ; Parr et Bolwell, 2000**).

Il a été rapporté que les flavonoïdes modulent les enzymes et récepteurs clés impliquées dans les voies de transduction du signal de la prolifération cellulaire, de la différenciation, de l'apoptose, de l'inflammation, de l'angiogenèse, des métastases et de l'inversion de la multirésistance aux médicaments (**Baião et al., 2017**).

Plusieurs études épidémiologiques et essais d'intervention suggèrent que les flavonoïdes présents dans les fruits et les légumes sont associés à une diminution du risque de maladies cardiovasculaires (**Rangel-Huerta et al., 2015**).

## 4. Les tanins

Les tanins sont un terme commun pour les composés phénoliques polymérisés, d'origine végétale et non azotée, présents dans de nombreux végétaux. Ce sont des polymères de haut poids moléculaire qui ont la capacité de tanner le cuir ou de précipiter les protéines et la gélatine dans les solutions (**Macheix et al., 2005**).

Les tanins constituent le troisième groupe important de polyphénols qui peuvent être divisés en deux sous-catégories : tanins condensés et hydrolysables (Figure 07) (**Bhuyan et Basu., 2017**).

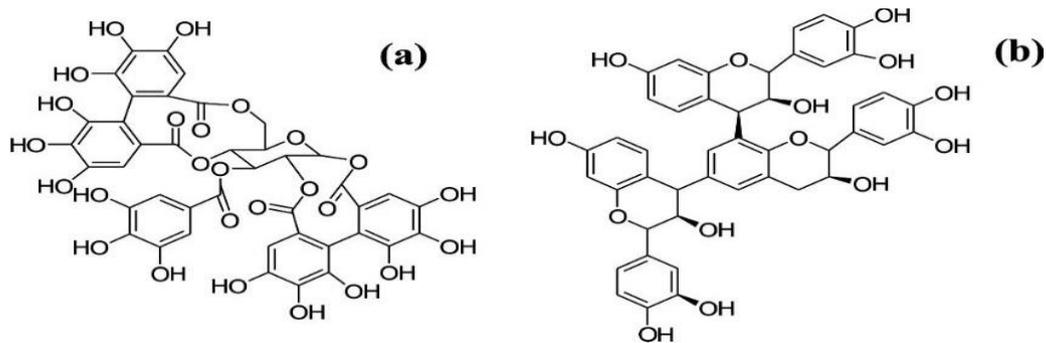
Les fruits, céréales et légumineuses sont constitués de tanins condensés qui sont principalement des polymères de catéchines ou d'épicatéchines, alors que les tanins hydrolysables sont polymères d'acide gaulois ou ellagique et trouvés dans les baies et les noix (**Smeriglio et al., 2017**).

### 4.1. Tanins hydrolysables

Comme leur nom l'indique, les tanins hydrolysables se distinguent par leur capacité à s'hydrolyser facilement en milieux acides et alcalins ou sous l'action d'enzymes (comme la tannase) en pyrogallol (**Rira, 2019**).

#### 4.2. Tanins condensés

À la différence des tanins hydrolysables, les tanins condensés sont difficiles à hydrolyser et seules des attaques chimiques intenses peuvent les dégrader à un poids moléculaire plus élevé (**Rhazi, 2015**). Ils proviennent de la polymérisation d'unités oligomères de flavane-3-ols (anthocyanidines) et de flavane-3,4-diols (leucoanthocyanidines).



**Figure 07** : Structure de tanin hydrolysable (a) et tanin condensé(b)

(Vermertis et al., 2006).

#### 4.3 Les bienfaits des tanins

Les tanins ont la capacité de se combiner avec les macromolécules, notamment les protéines. Ils ont une action anti-diarrhéique par voie interne et une action imperméabilisante par voie externe sur les couches les plus externes de la peau (brûlure, exéma) (**Bruneton, 1993**). Ils ont de grandes capacités anti-oxydants dues à leurs noyaux phénol (**Perret, 2001**).

Les tanins exercent une action vasoconstrictrice sur les petits vaisseaux sanguins, ce qui explique leur utilisation dans le traitement des hémorroïdes et des blessures superficielles (**Atefeibu, 2002**).

Les tanins sont des inhibiteurs enzymatiques : inhibition de la 5-lipoxygénase, l'enzyme de conversion de l'angiotensine, protéines kinase (**CLuthar, 1992**).

Ils exercent, vis-à-vis de certains champignons, de bactéries et de virus, une action antibiotique (**Downey, 2010**).

### 5. La biodisponibilité des composés phénoliques :

La biodisponibilité se réfère à la proportion et à la vitesse à laquelle un médicament ou un composé actif est absorbé dans la circulation sanguine et devient disponible pour son action pharmacologique ou biologique. En d'autres termes, c'est la mesure de la fraction d'une substance administrée qui atteint la circulation systémique et est disponible pour produire un effet (Singla et al., 2019).

Il est important de réaliser que les polyphénols les plus courants dans l'alimentation humaine ne sont pas forcément les plus actifs dans l'organisme, soit parce qu'ils ont une activité intrinsèque plus faible, soit parce qu'ils sont mal absorbés par l'intestin, fortement métabolisés ou rapidement éliminés.

De plus, les métabolites que l'on retrouve dans le sang et dans les organes cibles et qui résultent de l'activité digestive ou hépatique peuvent différer des substances natives en termes d'activité biologique (Manach et al., 2004).

L'intestin grêle est généralement capable d'absorber les aglycones, mais la majorité des polyphénols sont présents dans les aliments sous forme d'esters de glycosides ou de polymères qui ne peuvent pas être absorbés sous leur forme naturelle.

Ces composés doivent être hydrolysés par des enzymes intestinales ou par la microflore colique avant d'être absorbés.

Les polyphénols subissent des changements significatifs lors de leur absorption, car ils sont conjugués dans les cellules intestinales et ensuite dans le foie par méthylation, sulfatation et glucuronidation (Figure08).

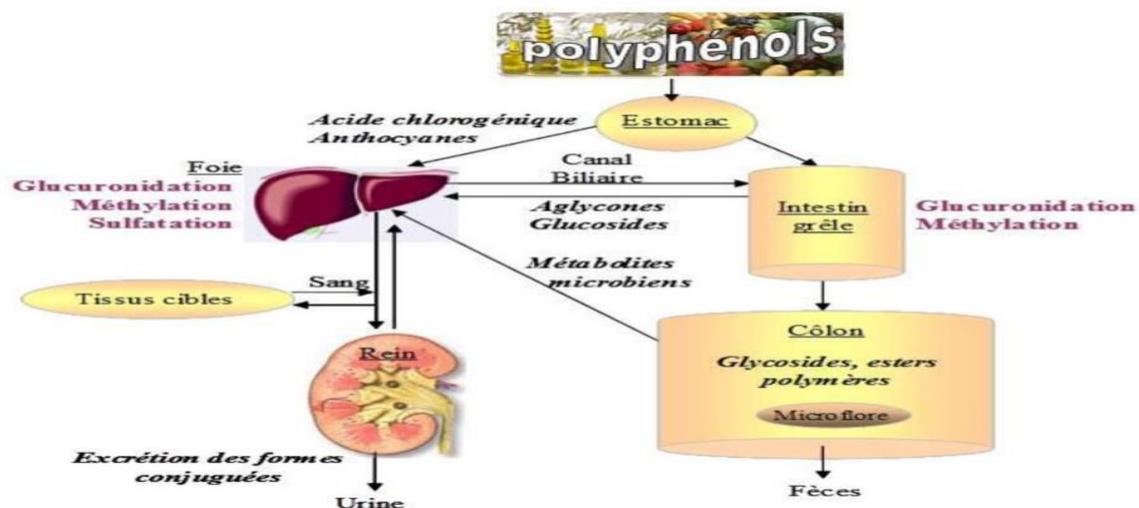


Figure08 : Schéma général de biodisponibilité des polyphénols (Manach et al., 2006).

Ainsi, les formes qui pénètrent dans le sang et les tissus diffèrent de celles qui se trouvent dans les aliments et il est extrêmement difficile de repérer tous les métabolites et d'évaluer leur activité biologique (Archivio et al., 2007).

L'évaluation de l'apport alimentaire en polyphénols a été proposée en mesurant les métabolites dans le sérum et l'urine. Cependant, comme mentionné précédemment, cela s'est avéré difficile en raison d'une compréhension incomplète de l'absorption et du métabolisme de tous les polyphénols. Il est également nécessaire de connaître les métabolites spécifiques produits, le temps d'apparition dans les fluides biologiques, la relation métabolite-absorption-dose et l'impact des facteurs environnementaux sur le métabolisme pour utiliser efficacement les métabolites des polyphénols comme biomarqueurs de l'absorption (Tangney et al., 2013).

Les principales données de la biodisponibilité des polyphénols de l'alimentation sont les suivantes :

- **Absorption au sein de l'estomac :**

Dans les aliments, les polyphénols sous forme de glycosides sont généralement résistants au pH acide de l'estomac. Effectivement, seules les anthocyanines et quelques acides hydroxycinnamiques combinés peuvent être absorbés directement à partir de l'estomac (Manach et al., 2005).

- **Absorption à partir de l'intestin grêle :**

Il y a quelques rares glycosides comme la rutine qui ne peuvent être absorbés qu'au niveau de l'intestin grêle. Les autres polyphénols seront absorbés uniquement dans le colon après leur hydrolyse en aglycones par les bactéries de la microflore. En agissant sur les aglycones libérés, cette dernière produit différents acides aromatiques simples, ce qui diminue l'efficacité de leur absorption (Manach et al., 2004).

- **Absorption à partir du côlon :**

Les polyphénols non absorbés au niveau de l'estomac et de l'intestin grêle atteignent le colon, puis sont catabolisés par la microflore colique, ayant des activités enzymatiques diverses, avant d'être absorbés (Williamson et Clifford, 2010).

Les polyphénols et les métabolites microbiens absorbés subissent trois types de conjugaison dans les entérocytes et dans les hépatocytes : méthylation, glucuronidation et sulfatation. Il s'agit d'un processus de détoxification métabolique commun à de nombreux xénobiotiques, qui

limite leurs effets toxiques potentiels et facilite leur élimination biliaire et urinaire en augmentant leur hydrophilie (**Manach et al., 2004**).

Les mécanismes de conjugaison sont très efficaces et les aglycones sont généralement soit absentes dans le sang, soit présentes à de faibles concentrations après consommation de doses nutritionnelles. Les polyphénols circulants sont des dérivés conjugués fortement liés à l'albumine (**Manach et al., 2004**).

La biodisponibilité est un concept essentiel en pharmacologie et en médecine, car elle détermine dans une large mesure l'efficacité d'un médicament, d'un extrait ou d'une substance active. Une bonne biodisponibilité est généralement souhaitée pour garantir que la dose administrée atteigne le site d'action dans le corps et produise l'effet thérapeutique attendu (**Xia EQ et al., 2010**).

Chapitre 03 :  
Présentation de  
*Echium*  
*Plantagineum* L.

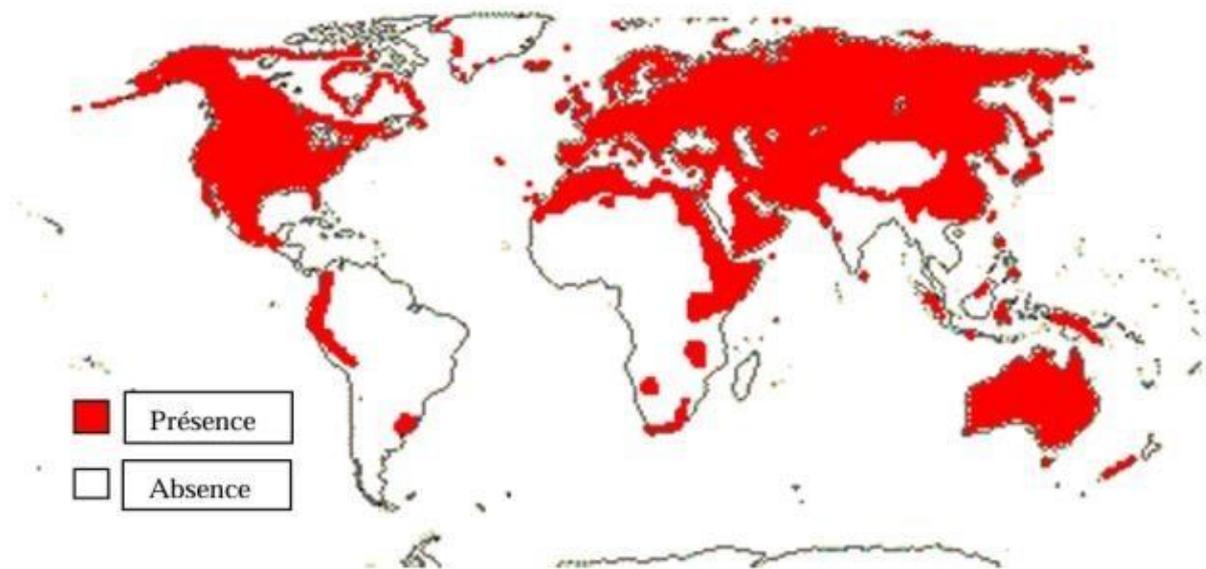
## 1. La famille des borraginacées

Les Borraginacées sont une famille des angiospermes, comprenant 1600 espèces réparties en 110 genres (Cohen, 2013). On y trouve des herbes annuelles (*Heliotropium*), arbustes et arbres. De façon caractéristique, la tige et les feuilles sont recouvertes de poils raides qui donnent une sensation rugueuse (Sambamurty, 2005).

Les Boraginacées ont de nombreuses applications, mais aucune importance économique significative, à l'exception de certaines plantes ornementales, à bois et à colorants. De nombreuses plantes appartenant à la famille des Boraginacées possèdent des vertus médicinales qui sont employées dans la médecine traditionnelle pour soigner les blessures, les affections de la peau, la fièvre, les douleurs thoraciques, etc. (Neuwinger, 2000).

### 1.1. Distribution géographique

Les Boraginacées se répartissent dans le monde entier (Figure 09) bien qu'elles soient particulièrement nombreuses dans la région méditerranéenne et en Asie tempérée chaude. Ceux-ci se manifestent dans divers habitats à partir du niveau de la mer jusqu'à plus de 4000 mètres d'altitude (Heywood et al., 2007).



**Figure 09** : Répartition géographique de la famille des Boraginacées dans le monde (Stevens, 2001).

## 2. Description et classification botanique d'*Echium plantagineum* L.

Plante bisannuelle possédant une taille allant de 20 à 60 cm (**Photo1**), avec des tiges dressées très ramifiées naissant de la rosette basale des feuilles. Ces tiges sont de couleur verte et couvertes de poils ou de soies raides atteignant 6 cm de long (**Photo 2**).

Les feuilles de la rosette sont grandes (5 à 25 cm de long et 1,5 à 10 cm de large), de forme ovale (**Photo 3**) avec des bords entiers et souvent ondulés et des extrémités arrondies. Les fleurs bleues, parfois violettes, à symétrie bilatérale, dont la corolle atteint 25 à 30 mm (**Photo 4**), sont portées le long d'un côté d'une tige courte, courbée ou enroulée. Ces fleurs ont cinq pétales fusionnés en un tube sur la majeure partie de leur longueur et cinq sépales poilus allongés (8-11 mm de long). La floraison a lieu principalement au printemps et en été (**Descamps et al., 2020**). Le fruit est un groupe de quatre graines entourées de cinq bractées hérissées.



**Photo01:** *Echium Plantagineum* L.  
(Tlemcen, 2024)



**Photo03:** Feuilles d'*Echium plantagineum* L.  
(Tlemcen, 2004)



**Photo02 :** Tige d'*Echium plantagineum* L.  
(Tlemcen,2024)



**Photo 04 :** Les fleurs d'*Echium plantagineum* L.  
(Tlemcen,2024)

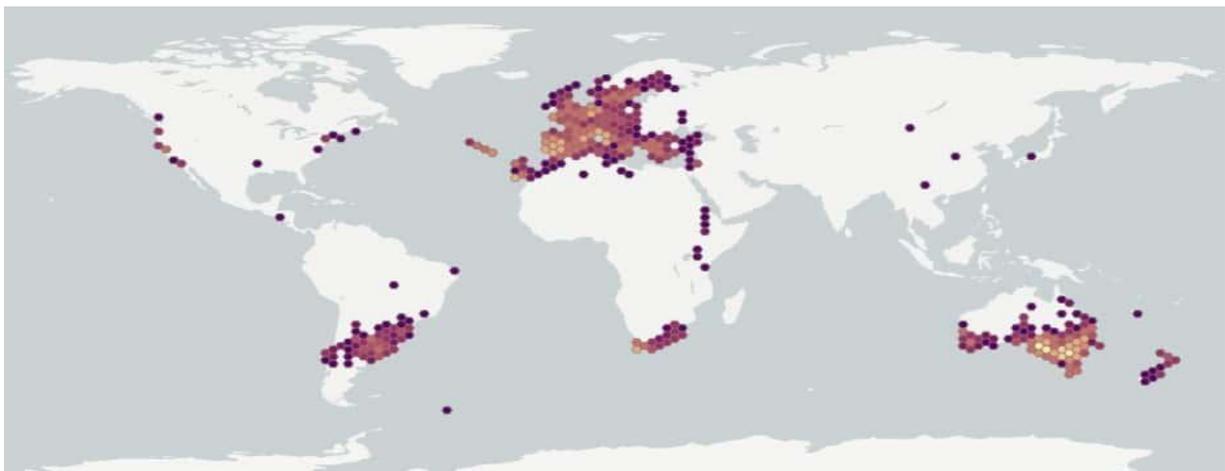
La classification botanique d'*Echium plantagineum* L. est présentée dans le tableau 4 ci-dessous.

**Tableau 04 :** Classification d'*Echium plantagineum* L. (APG II, 2003).

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	Boraginaceae
Genre	<i>Echium</i>
Espèce	<i>Echium plantagineum</i>

### 3. Distribution géographique d'*Echium plantagineum* L.

*Echium plantagineum* L. pousse dans la région méditerranéenne (**Figure 10**). Elle est originaire d'Europe (Royaume-Uni, de France, du Portugal, d'Espagne, d'Albanie, de Bulgarie, de Grèce, d'Italie, de Yougoslavie et d'Ukraine), des Açores, des îles de Madère, des îles Canaries, d'Afrique du Nord (le nord de l'Algérie, l'Égypte, le nord de l'Afrique, Libye, Maroc et Tunisie) et en Asie occidentale, Cette espèce pousse dans les milieux sablonneux, rudéralisés où elle fleurit de juin à septembre (**Lambinon et al., 2015**).



**Figure 10 :** Distribution géographique d'*Echium plantagineum* L. (**Lambinon et al., 2015**).

#### 4. La toxicité de certaines plantes médicinales :

Une plante possède à la fois des vertus médicinales et des dangers, cela dépend de la mesure. S'il y en a qui peuvent tuer les plus vigoureux à faible dose, d'autres peuvent entraîner des accidents d'empoisonnement chez ceux qui les ingèrent. En effet, la toxicité des plantes est généralement associée à la partie de la plante utilisée et à la présence des principes actifs utilisés en pharmacologie. Par conséquent, une surdose de médicaments indique naturellement leur toxicité **(Derbane et al., 2008)**.

La réponse de l'organisme est souvent la même, du moins dans un premier temps : après avoir consommé une plante dangereuse, le sujet présente plus ou moins rapidement des troubles digestifs, nausées et vomissements, le transit digestif est accéléré, la diarrhée abondante en elle-même permet d'éliminer les substances toxiques. En plus de ces effets courants, il est possible d'observer différents symptômes plus spécifiques liés à des lésions spécifiques de certains tissus et organes : La muqueuse digestive est affectée, le système rénal est irrité, le système nerveux central ou le système respiratoire est affecté, et la température centrale est affectée **(Derbane et al., 2008)**.

La cytotoxicité désigne la capacité des substances chimiques ou biologiques à modifier les cellules, ce qui entraîne finalement la destruction des cellules ciblées. Souvent, cela entraîne une hémolyse des cellules **(Viala et Botta, 2007)**. Cette substance a pour effet de perturber les membranes cellulaires. Ceci conduit à une évacuation du contenu cellulaire ou à une inhibition de fonctions essentielles comme le transport des ions ou la transmission du signal. En outre, elle joue le rôle d'un inhibiteur particulier des transporteurs **(Xu et al., 2004)**.

Différents aspects du fonctionnement cellulaire peuvent être affectés par ces effets indésirables, tels que le métabolisme, la synthèse, la dégradation, ainsi que l'intégrité des membranes et du cytosquelette. L'objectif principal des modèles in vitro dans l'évaluation de la toxicité est de prédire la toxicité in vivo, en mettant l'accent sur la toxicité pour l'homme **(Hilegass et al., 2010)**.

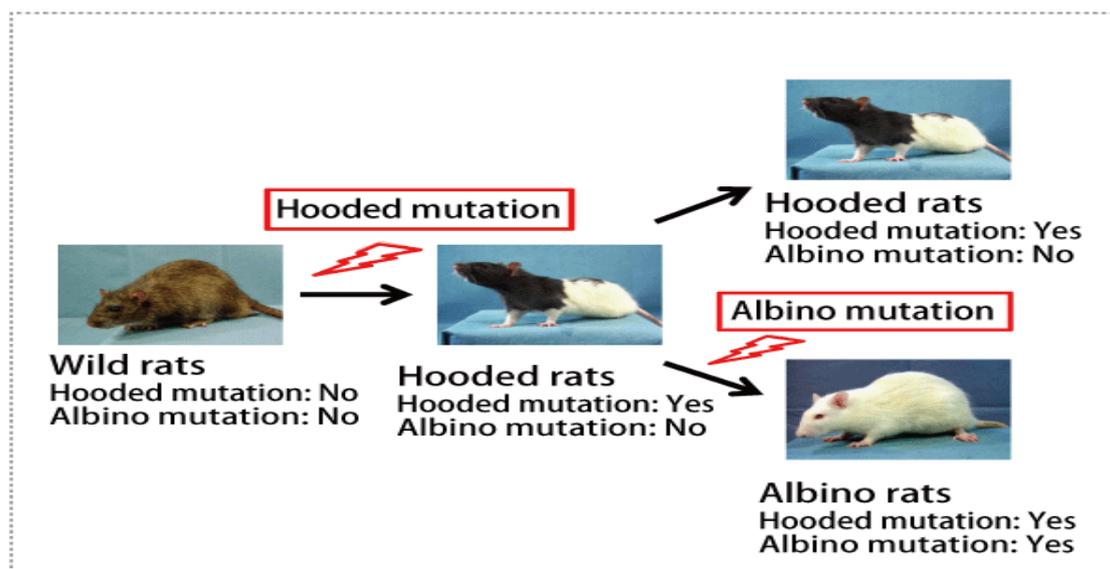
# Chapitre 04 :

## Les rats de laboratoire

L'utilisation des rats Wistar en biomédecine remonte à 1828 et les premières expériences d'élevage ont été réalisées en 1870. En 1906, l'Institut Wistar a développé le modèle de rat Wistar, ces animaux sont facilement disponibles, simples à élever et à reproduire. Ils se caractérisent par de longues oreilles, corps long, tête large et queue courte. Ils jouent un rôle important dans l'étude des médicaments du SNC, des anticancéreux, des antidiabétiques, des anti-inflammatoires et des immunomodulateurs (Festing, 2016).

### 1. Modèles de rats

*Rattus Norvegicus* (rat brun,  $2n = 42$ ) était couramment trouvé en Europe dans les années 1700. Aujourd'hui les rats de laboratoire sont les descendants domestiqués des rats bruns sauvages. Des animaux albinos ont été détenus et utilisés pour des expositions de rats, et on pense que des manipulations fréquentes ont apprivoisé ces animaux (Sharp et Villano, 2012). Les rats sont génétiquement classés en tant que stocks « outbred », souches « inbred » ou génétiquement modifiés. Les stocks consanguins sont utiles pour modéliser les populations naturelles qui possèdent intrinsèquement une diversité génétique. Les trois souches de rats consanguins les plus couramment utilisées dans la recherche sont le Sprague-Dawley, le Wistar et le Long-Evans. Les rats Sprague-Dawley et Wistar sont albinos, contrairement aux rats Long-Evans de couleur sur la tête et les épaules avec une bande dorsale pigmentée (Colby et al., 2019).



**Figure 11** : La relation entre les rats albinos et les rats à capuchon (Takashi, 2012).

## 2. Taxonomie

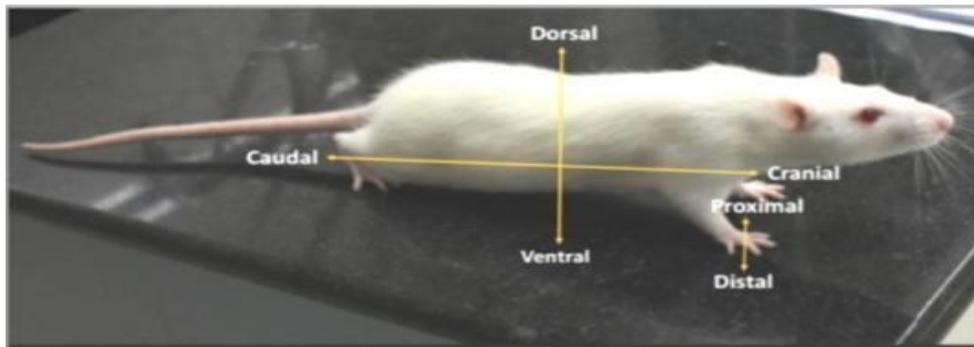
L'ordre des Rodentia est le plus grand ordre de mammifères vivants avec 2277 espèces réparties dans 28 familles ou environ 42 % de la biodiversité mondiale des mammifères (**Carleton et Musser, 2005**). Dans l'ordre des Rodentia, le rat Wistar est l'une des nombreuses espèces nommées collectivement les rats de laboratoire.

**Tableau 05 : Taxonomie du rat de laboratoire (Sharp et Villano, 2012).**

Principaux rangs taxonomiques	taxons
Royaume	Animal
Phylum	Accords
Classe	Mammifère
Commande	Rongeurs
Famille	Muridés
Genre	Rattus
Espèces	Norvégien

## 3. Caractéristiques générales

Le rat de laboratoire a généralement des poils courts et une longue queue glabre et écailleuse. Les oreilles sont rondes et érigées. La bouche a un museau pointu avec une longue moustache (vibrisses). Les pattes avant et arrière ont cinq orteils chacun avec des griffes acérées (**Figure 12**). Ils ont des pattes moyennement longues et peuvent se tenir debout sur leurs deux pattes arrière. La plante des pattes postérieures est dotée de coussinets charnus. L'auto-toilettage est un comportement inné et activités les plus fréquemment réalisées chez les rongeurs (**Kalueff et al., 2015**).



**Figure 12** : Termes directionnels (Chawla et Jena, 2021)

#### 4. Caractéristiques anatomiques et physiologiques

Le rat de laboratoire est couramment utilisé comme modèle expérimental dans la recherche biomédicale. Caractéristiques telles qu'une courte durée de vie, une facilité de sélection, un temps de génération court et des exigences d'espace réduit a fait des rats de laboratoire les animaux expérimentaux les plus couramment utilisés ainsi que des souris dans le domaine de la recherche fondamentale et appliquée (Chawla et Jena, 2021).

Cette section résume brièvement les caractéristiques anatomiques et physiologiques du rat :  
Nutrition, système digestif et reproduction

##### 4.1 La nutrition

Le rat est un bon modèle animal pour étudier la nutrition car il est sensible à divers facteurs de carences en nutriments. Une carence en vitamine A, en vitamine E, en vitamine K, en riboflavine et en thiamine peut provoquer une infertilité, une maladie de peau ou des saignements. Les rats peuvent stocker efficacement la vitamine B12 liposoluble, produire de la vitamine C et répondre à la plupart de leurs besoins en vitamine B en mangeant des matières fécales. De plus, le rat est couramment utilisé pour étudier le métabolisme du calcium et du phosphore (Liu et Fan, 2017).

La nourriture donnée aux animaux doit être exempte de tout type de contamination et doit avoir une haute valeur nutritionnelle. La nourriture doit être facilement savoureuse et pratique, accessible aux animaux à tout moment, ou comme spécifié dans le protocole d'étude sur les animaux. Il est important que la nourriture soit disponible en quantité appropriée et suffisante pour contribuer à la bonne croissance des animaux, notamment pendant la reproduction ainsi que la phase de la lactation (Damron, 2013).

---

## 4.2 Système digestif

L'estomac se situe à gauche, en avant partie de la cavité abdominale, sa surface antérieure est recouverte par le foie et la partie costale gauche marge. A gauche, l'estomac est en contact avec la rate. Le péritoine viscéral recouvre une surface antérieure et postérieure de l'estomac, à l'exception de deux bandes étroites le long des grandes et petites courbures où une double couche enveloppante de péritoine se sépare pour recouvrir la partie antérieure et surfaces postérieures de l'organe (**Maynard et Downes, 2019**).

La partie terminale de l'organe gastrique est relié au duodénum au niveau de l'anneau pylorique. La digestion des protéines commence dans estomac par HCL et enzyme pepsine (**Chawla et Jena, 2021**)

Le côlon est composé du duodénum (10 cm), jéjunum (100 cm), et ileum (3 cm), suivi d'un rectum court confiné au canal pelvien. Le foie a quatre lobes principaux (médián, latéral droit, gauche et caudé) et il est capable de se régénérer après une hépatectomie partielle. Le rat n'a pas de vésicule biliaire. Les voies biliaires de chaque lobe forment le canal biliaire principal qui pénètre dans le duodénum (**Brenin, 1997 ; Aitman et al., 2008 ; Buehr, 2008**).

## 4.3. La reproduction

En général, les rats atteignent la puberté entre 2 et 3 mois et ne sont normalement pas accouplés avant environ 3 mois. Les femelles sont des ovulâtes spontanés et continuellement poly Estreux avec une durée du cycle œstral de 4 à 5 jours. Les stocks non consanguins atteignent régulièrement des taux de conception supérieurs à 85 %, alors qu'un taux inférieur est courant dans les souches consanguines. Accouplements non fertiles et stimulation cervicale peut induire une pseudo-grossesse d'une durée de 12 à 14 jours (**Colby et al., 2019**).

La gestation du rat dure 19 à 23 jours (en moyenne 21 jours) avec une portée de 6 à 12 petits (**Liu et Fan, 2017**).

## 5. Voies courantes d'injection et procédures de dosage oral

Par rapport aux voies d'administration conventionnelles, les voies d'administration sur les animaux de laboratoire peuvent être divisé en trois types : administration transdermique, administration entérale et administration parentérale (**Liu et Fan, 2017**). Les voies d'administration de substances comprennent la voie intraveineuse (i.v.), intrapéritonéale (i.p),

intramusculaire (i.m), sous-cutanée (s.c), intragastrique (i.g), par inhalation et par la consommation d'eau. Ces voies permettent l'administration de quantités exactes de substances en solution ou suspension. La voie inhalatrice est l'exception et elle est utile dans le cas de substances gazeuses et substances volatiles) anesthésiques, hydrogène, oxygène, etc. **(Rigalli et Di Loreto, 2016).**

# Partie expérimentale

# Matériel et Méthodes

Dans le but d'évaluer l'activité antioxydante *in vitro* et anti-inflammatoire *in vivo* des feuilles de l'espèce *Echium plantagineum* L nous avons réalisé une étude au sein de laboratoire de recherches des Produits naturels « LAPRONA ».

### I. Origine et préparation du matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué des feuilles d'*Echium plantagineum* L. récoltées dans la région de Tirni, durant le mois de mars 2024 à la Wilaya de Tlemcen de l'Ouest Algérien.



**Figure 13** :la zone géographique de récolte d'*Echium Plantagineum* L.-Tirni-  
(Tlemcen 2024).

Après la collecte, les feuilles ont été séchées à l'air libre (**photo 05**). Ensuite à l'aide d'un broyeur électrique elles ont été réduites en poudre (**photo 06**). Cette dernière a été conservée dans des boîtes en verre opaques et hermétiquement fermés.



**Photo 05**: Les feuille séchées d'*Echium plantagineum* L. (Tlemcen, 2024)



**Photo06** : Poudre des feuilles d'*Echium plantagineum* L. (Tlemcen, 2024).

Expériences *in vitro*

## 1. Réactifs et solvants :

Tous les réactifs et solvants utilisés dans notre étude sont répertoriés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 06** : les réactifs et solvants utilisés dans l'étude

Réactifs et solvant	Formule
Chlorure ferrique	FeCl <sub>3</sub>
Chlorure ferrique	FeCl <sub>2</sub>
Ethanol	CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> -OH
Méthanol	CH <sub>3</sub> OH
Vanilline	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>
BHT	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O
BHA	C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>

Réactifs et solvant	Formule
Eau distillée	H <sub>2</sub> O
Hydroxyde de potassium	KOH
Acide gallique	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>
Carbonate de sodium	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>
Acide ascorbique	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub>
DPPH	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> N <sub>5</sub> O <sub>6</sub>

## 2. Détermination du taux d'humidité (Audigié et al., 1980)

Pour la détermination du pourcentage d'humidité, on procède à une dessiccation de l'échantillon frais à analyser dans une étuve à la température de 100°C à 105°C est sous la pression atmosphérique jusqu'à l'obtention d'une masse pratiquement constante. Pour éviter toute reprise d'humidité, il convient d'opérer dans des vases de tare, placés dans un dessiccateur.

- **Mode opératoire**

- Les vases de tare ont été séchés à l'étuve pendant 30 min à 103°C avec couvercles inclinés.
- Après refroidissement dans un dessiccateur durant 20 à 30 min, les vases de tare ont été pesés avec les couvercles (P1).
- Dans chaque vase, 2g de l'échantillon moulu ont été introduit, l'ensemble a été pesé avec les couvercles fermés (P2).
- Après un étuvage de 3h à 105°C avec couvercles inclinés puis refroidissement dans un dessiccateur pendant 15 min, les vases de tare sont pesés, ensuite ils sont remis avec couvercles inclinés dans l'étuve durant 1h à 105°C.
- Après refroidissement comme précédemment, les vases de tare sont pesés (P3).

- La différence entre deux pesées doit être inférieure à 2mg, si non l'opération est renouvelée jusqu'à poids constant.

- **Expression des résultats**

Le taux d'humidité (%) d'un matériel végétal est déterminé par la relation suivante :

$$\text{Taux d'humidité \%} = [(p2 - p3) / (p2 - p1)] \times 100$$

Avec : P1 : poids en gramme de vase de tare vide.

P2 : poids en gramme de la prise d'essai avant séchage.

P3 : poids en gramme de la prise d'essai après séchage.

Formuler de la teneur en eau, on peut déterminer le taux de matière sèche qui est donné par la formule suivante :

$$\text{Taux de matière sèche (\%)} = 100 - \text{teneur en eau}$$

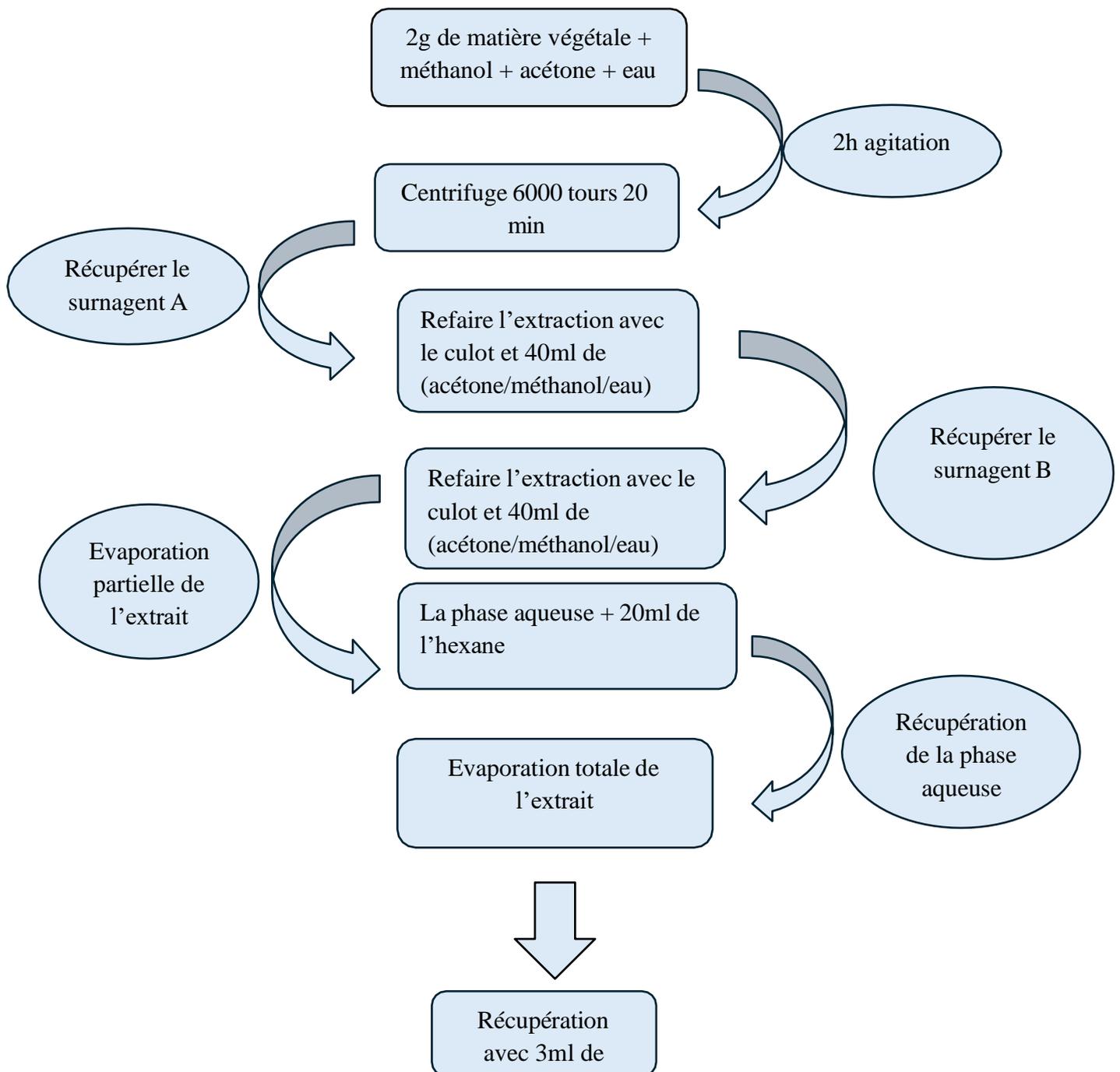


**Photo 07 :** Les feuille d'*Echium Plantajinum* dans l'étuve (Tlemcen, 2024).

**3. Extraction des polyphénols des feuilles d'*Echium plantaginum* L. (Jimoh et al., 2010)**

Afin d'obtenir l'extrait phénolique un procédé d'extraction des échantillons a été effectué comme résumé dans la (Figure 14).

2g d'échantillon a été macéré dans 40 ml de mélange de solvants d'extraction (acétone, méthanol et eau) avec un rapport de (14/14/12) respectivement, la solution a été maintenue sous agitation pendant 2 h, ensuite le mélange a été centrifugé et le surnageant a été récupéré, puis l'échantillon a été extrait pour une seconde fois, avec 40 ml du solvant d'extraction et la solution a été centrifugée (surnageant b). Les deux surnageants (a+b) ont été réunis et évaporés avec un rota vapeur jusqu'à élimination de la phase organique. La phase aqueuse ainsi récupérée, a été extraite avec du n-hexane, afin d'éliminer les lipides, la phase aqueuse a été évaporée à sec, à température réduite de 40 à 45°C, à l'aide d'un rotavapeur. Les résidus obtenus ont été récupérés dans 3ml de méthanol.



**Figure 14** : Protocole d'extraction des polyphénols (Jimoh et al., 2010).



**Photo 07** : l'étape d'agitation (Tlemcen, 2024).



**Photo 08** : Evaporation de l'extrait hydroacétométhanolique au rotavapeur (Tlemcen, 2024).



**Photo 09** : Extrait phénolique des feuilles d'*Echium plantaginum* L. (Tlemcen, 2024).

#### 4. Dosage des composés phénoliques

##### 4.1 Dosage des polyphénols (Singleton et Rossi, 1965).

Le dosage des phénols totaux dans les extraits a été effectué par la spectrophotométrie selon la méthode du réactif de Folin-Ciocalteu. Ce réactif est composé d'un d'acide phosphotungastique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ) de couleur jaune. Il est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite dont la lecture de l'absorption et à 760 nm, est proportionnelle à la quantité des phénols présente dans l'extrait végétal.

##### - Mode opératoire

- Mélanger 100  $\mu$ l de chaque extrait avec 2000  $\mu$ l de la solution de carbonate de sodium  $Na_2CO_3$  (2%) ;
- Incubation pendant 5 minutes à température ambiante
- Ajouter 100  $\mu$ l de réactif Folin-Ciocalteu à 1N
- Le mélange a été incubé pendant 30 minutes à l'obscurité et à température ambiante
- Mesurer l'absorbance contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 760 nm.

On a réalisé une courbe d'étalonnage ( $y= a.x + b$ ) en parallèle dans les mêmes conditions à partir d'acide gallique à différentes concentrations.

##### - Expression des résultats

Les teneurs en polyphénols de l'extrait sont exprimées en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS).

##### 4.2 Dosage des Flavonoïdes (Djeridane et al., 2006)

Le dosage des flavonoïdes repose sur la méthode du réactif de chlorure d'aluminium, qui forme un complexe de coloration jaune avec les groupements hydroxyles des flavonoïdes

##### - Mode opératoire

- Mélanger 250  $\mu$ l de l'extrait avec 1000  $\mu$ l d'eau distillée et 75 $\mu$ l du réactif  $NaNO_2$  à 15 % ;
- Incubation pendant 6 min à température ambiante, ajouter 75 $\mu$ l du réactif chlorure d'aluminium  $AlCl_3$  à 10%
- Après 6 min, ajouter 1000  $\mu$ l d'hydroxyde de sodium  $NaOH$  (4%), ajouter 100  $\mu$ l d'eau distillée

- Incubation du mélange à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 30 min
- Mesurer l'absorbance contre un blanc à 510 nm.

Une courbe d'étalonnage ( $y=ax + b$ ) a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme standard à différentes concentrations.

#### - Expression des résultats

Les teneurs en flavonoïdes des extraits ont été exprimées en milligramme équivalent de Catéchine par gramme de matière sèche (mg EC/g MS).

#### 4.3 Dosage des tanins condensés (Julkunen-Titto, 1985)

En présence d'acide sulfurique, les tanins condensés se dépolymérisent et par réaction avec la vanilline, se transforment en anthocyanidols de couleur rouge, mesurables par spectrophotométrie à 500 nm (Sun et al., 1998). Donc la quantification des tanins est effectuée à partir de la méthode de vanilline en milieu acide.

#### - Mode opératoire

- 50  $\mu$ l de l'extrait phénolique est ajouté à 1500  $\mu$ l de la solution vanilline/méthanol (4%, m/v)
- Agiter le mélange à l'aide d'un vortex.
- 750  $\mu$ l de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) est additionné et laissé réagir à température ambiante pendant 20 min.
- L'absorbance est mesurée contre un blanc à 550 nm.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme standard à différentes concentrations.

#### 5. Evaluation du pouvoir antioxydant par la méthode de neutralisation du radical 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) :

Pour évaluer l'activité antioxydante, nous avons utilisé la méthode du piégeage du radical libre DPPH (2,2- diphényl-1-picrylhydrazyl) selon le protocole décrit par (Sanchez-moreno et al., 1998).

Le DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl) est le radical libre le plus stable. Il a une couleur violette. En présence d'un donneur d'hydrogène, le DPPH est réduit à la forme non radicalaire

de couleur jaune. Conventionnellement une grande capacité de piégeage (réduction) des radicaux libres est considérée comme une grande activité antioxydante.

- **Mode opératoire**

- 50 µL de solution méthanolique d'extrait, à différentes concentrations, sont ajoutés à 1950 µL d'une solution méthanolique de DPPH à 0,0025 g/100mL. Un blanc a été préparé pour chaque solution qui contient 50 µL de l'extrait et 1950 µL de méthanol.
- Un contrôle négatif est préparé en mélangeant 50 µL de méthanol avec 1950 µL de la solution de DPPH utilisée.
- les tubes sont incubés pendant 30 min à l'obscurité et à température ambiante.
- La lecture s'effectue par un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 515 nm.

Les résultats sont exprimés selon la formule :

$$\% \text{ du DPPH} = (\text{DO Contrôle} - \text{DO Échantillon}(t) / \text{DO Contrôle}) \times 100$$

**% du DPPH** : pourcentage de réduction ou d'inhibition du DPPH.

**DO Contrôle (0)** : densité optique du contrôle à t = 0 min.

**DO Echantillon (t)** : densité optique de l'antioxydant à t = 30 min.

A partir de la variation du pourcentage de réduction de DPPH et en fonction de la concentration de l'extrait, on peut déterminer graphiquement l'IC<sub>50</sub> qui est définie comme étant la concentration de l'antioxydant (l'extrait ou composé) nécessaire pour réduire ou inhiber 50% du DPPH.

6. **Evaluation de l'activité antioxydante par la méthode de réduction du fer (FRAP)**

L'activité réductrice du fer de nos extraits est déterminée selon la méthode décrite par (Oyaizu, 1986), basée sur la réduction du Fe<sup>3+</sup> présent dans le complexe K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> en Fe<sup>2+</sup>.

- **Mode opératoire**

- 500ml de chaque extrait à différentes concentrations est mélangé avec 1,25ml d'une solution tampon phosphate 0,2M (pH 6,6) et 1,25ml d'une solution de ferricyanure de potassium K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> à 1%
- L'ensemble est ensuite incubé au bain marie à 50°C pendant 20min
- 1,25ml d'acide trichloroacétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction

- Les tubes sont centrifugés à 3000rpm pendant 10min
- 1,25ml du surnageant sont mélangés à 1,25ml d'eau distillée et 0.25ml d'une solution de chlorure ferrique fraîchement préparée à 0,1%.
- La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée.
- Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard, dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons.

Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (**Hubert, 2006**).

## 7. Détermination de la cytotoxique de l'extraits

### 7.1 Préparation de la suspension des globules rouges humains (GRh)

une prise de sang a été effectuée sur une personne jeune et en bonne santé, un échantillon a été pris est récupérés dans des tubes EDTA.

L'échantillons de sang humain récupérés est centrifugé à 3000 rpm, pendant 10min, afin d'éliminer le plasma et les cellules polynucléaires. Ensuite, le culot de globules rouges est lavé trois fois, avec un volume équitable de solution iso-saline. Après cette étape, le volume est mesuré et reconstitué sous forme de suspension de 10 % (v/v) (GRh), avec une solution iso-saline et utilisé immédiatement.

### 7.2 Test de cytotoxicité

Un test de toxicité est nécessaire, afin de cibler les concentrations d'extrait possible à utiliser. Ce test consiste en la mise en contact des hématies avec l'extraits d'*Echium Plantagineum* L. à différentes concentrations, dans une solution isotonique et de suivre le taux d'hémoglobine libérée par les cellules hémolysées, dans le but d'évaluer la cytotoxicité de ces extraits, vis-à-vis des GRh.

#### Mode opératoire :

Le protocole suivi est celui de (**Bulmus et al., 2003**) où un volume de 1.6 ml de l'extrait est mélangé avec un volume de 0,4 ml de la suspension de GRh (10%). Le mélange réactionnel est incubé à 37°C, pendant 30 min, ensuite centrifugé à 3000 rpm pendant 10 min et l'absorbance de l'hémoglobine libérée est mesuré à 560 nm. En parallèle, deux contrôles sont réalisés dans les mêmes conditions, en remplaçant l'extrait avec de l'eau physiologique (contrôle négatif) ou avec de l'eau distillée (contrôle positif correspondant à 100% d'hémolyse).

**Expression des résultats :**

Le pourcentage de cytotoxicité est calculé à partir de la formule suivante :

$$\text{Taux de cytotoxicité (\%)} = (\text{At}/\text{Ac}) \times 100$$

**Ac** = Absorbance du contrôle positif ; **At** = Absorbance du test.

**8. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* par inhibition de la dénaturation thermique des protéines (Albumine sérique bovine BSA) :**

Afin d'évaluer l'activité anti inflammatoire des extraits de plantes, nous avons appliqué le test d'inhibition de la dénaturation thermique des protéines décrit par **Kandikattu (2013)**. Le principe consiste à l'inhibition de dénaturation du BSA, provoquée par la chaleur 72°C, par les extraits de plantes.

**Mode opératoire :**

Pour d'évaluer l'activité anti-inflammatoire, une gamme de concentrations de chaque extrait végétal, allant de 0 à 10 mg/ml, est réalisée. 1ml de chaque dilution est ajouté à 1 ml de la solution de BSA à 0,2 % préparée dans le Tris-HCl (0,05 M à pH 6,6). Le mélange est ensuite incubé à 37 C ° pendant 15 min puis à 72°C pendant 5 min. A la fin de l'incubation, et après l'avoir vortexé, le mélange est refroidi rapidement, puis la turbidité est mesurée à 660 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Pour chaque concentration d'extrait, un blanc constitué de 1ml d'extrait et de 1ml de TrisHcl (0,05 M à pH 6,6) est préparé. Ce blanc a pour but de soustraire l'absorbance de l'extrait et du Tris-Hcl des résultats obtenus. Dans ce test, le diclofénac a été utilisée comme anti-inflammatoire de référence. L'évaluation de son activité anti-inflammatoire a été effectuée dans les mêmes conditions opératoires que celles appliquées aux échantillons. Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA) a été déterminé en utilisant la formule suivante :

$$\text{Protection (\%)} = \frac{(\text{DO control} - \text{DO Blanc}) - (\text{DO échantillon} - \text{DO Blanc})}{(\text{DO control} - \text{DO Blanc})} \times 100$$

- **DO Blanc** : Absorbance de l'extrait sans BSA

-**DO Échantillon** : Absorbance de l'échantillon ou standard (test).

- **DO Contrôle** : Absorbance solvant utilisé pour les extraits et du BSA.

**Expérience *in vivo*****1. Préparation de la carragénine :**

$\lambda$ -Carragénine, type IV( Sigma, USA ), la carragénine est un polysaccharide isolé de deux espèces *Girgartina aciculaire* et *G. pistillata*, qui poussent ensemble dans la mer (**Lokesh et al., 2014**).

Pour la préparation, 500 ml de solution saline stérile à 0,9 % ont été versés dans un bécher d'un litre avec un agitateur. 2,5 g (0,5%), de la poudre de carragénine a été ajoutée au bécher. Chauffer la solution à 90 °C sous agitation, mais ne pas laisser la solution bouillir. Versez la solution dans une bouteille en verre propre de 1 litre équipée avec un bouchon et stériliser à l'autoclave. Refroidir la solution à température ambiante et aliquoter dans un flacons stériles bouchés de 100 ml. Cette solution est stable pendant au moins une semaine lorsqu'elle est conservée à 4°C par suite de la préparation (**Fehrenbacher et al., 2008**).

**2. Animaux et traitements**

Les expériences ont été réalisées sur des rats Wistar Albinos en bonne santé, hébergés dans des cages, avec pas plus de trois animaux par cage et maintenues aux normes environnementales (12 heures de cycles sombre/lumière ; température  $23 \pm 2$  ° C, 35-60% d'humidité, ventilation). Ils ont été nourris avec régime pellet standard fourni par la Société Industrielle de Ain-Fezza, Tlemcen et à l'eau avec libre accès et recevait des soins humains conformément aux lignes directrices de l'Institut national de la santé (**NRC, 1996**).

Les expériences ont été réalisées sur 9 rats femelles Wistar Albinos (120-170 g) âgées entre 10-11 semaines. Les rates ont été acclimatés aux conditions de laboratoire, pesé, marqué et soumis à un jeûne de 16 h pendant la nuit avant l'expérience. Ensuite, ils ont été divisés en 3 groupes :

- groupe témoin sain (n=3) : gravé a une solution de NaCl 0,09% selon le poids de chaque rat.
- groupe traité avec du diclofénac (n=3) : gavage avec le diclofénac 100mg
- groupe traité avec les feuilles d'*Echium plantajinum* L. (n=3) : 100mg/kg dilué dans une solution de NaCl 0,9%.

Une heure avant, tous les groupes sont injectés à 100 UI de carragénine1%.

### 3. Induction de l'inflammation

Une solution de carragénine dans une solution saline injectée dans la patte arrière du rat induit un gonflement aigu de la patte qui devient maximale 3 h après l'injection. Ce modèle a été utilisé depuis longtemps pour évaluer propriétés anti-inflammatoires d'agents tels que les anti-inflammatoires non stéroïdiens AINS qui inhibent la production de prostaglandines. Ce protocole est une méthode pour détecter et mesurer l'œdème du coussinet du pied induit par la carragénine (**Fehrenbacher et al., 2012**).

#### Procédure :

Les rats sont placés dans une cage pour animaux.

Une solution de carragénine à 1 % a été chargée dans une pipette à répétition et fixée une aiguille de 27 G, 1,25 pouce.

L'aiguille est insérée, biseautée vers le bas, à travers la cal, selon un angle presque parallèle avec le coussinet et injecter 100 µl de solution. Une nouvelle aiguille a été utilisée pour chaque animal.

L'aiguille est insérée à une profondeur de 1 mm dans la cal pour délivrer une mesure précise et une uniforme quantité de carraghénane dans le site sous-plantaire. La patte arrière droite non injectée sert de contrôle.

- Remettre le rat dans sa cage après injection. L'injection a été réalisée pour chaque animal dans le groupe expérimental.

### 4. Mesure de l'œdème

Les mesures des volumes de la patte postérieure gauche de chaque rat ont été réalisées avant le pied à coulisse digitale avant l'induction de l'œdème et à chaque 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 5 h et 6 h après l'injection de carraghénane. Le volume de l'œdème à un moment donné (VT) est obtenu par l'équation suivante :

$$V_T = V_t - V_0$$

**V<sub>0</sub>** : Volume initial de la patte avant injection de carragénine pour provoquer un œdème.

**V<sub>t</sub>** : Volume de la patte au temps t après injection de carragénine.

Le développement de l'œdème est évalué par la détermination du pourcentage d'augmentation (%AUG) avec la formule suivante (**John et al., 2021**) :

$$\%AUG = [(V_t - V_0) / V_0] \times 100$$

L'activité anti-inflammatoire s'évalue par le calcul d'inhibition pourcentage (%INH) de patte avec la formule (John et al., 2021) :

$$\%INH = [(\%AUGtm - \%AUGtt) / \%AUGtt] \times 100$$

**Vt** : Volume de la patte par instants(t).

**V0** : Volume de patte initial.

**%AUGtm** : Pourcentage d'augmentation du groupe carragénine.

**%AUGtt** : Pourcentage d'augmentation du groupe traité.



**Photo 10** : Pied à coulisse digital (Tlemcen, 2024)



**Photo11** : Sonde de gavage (Tlemcen, 2024)



**Photo 12**: Cage des rats sans nourriture 16h avant l'expérience (Tlemcen, 2024)



**Photo 13** : pesées des rats avant l'expérience (Tlemcen, 2024)



**Photo 14** : mesure de la patte des rats avant l'installation de l'œdème (Tlemcen, 2024)



**Photo 15** : Gavage gastrique avec l'extrait de *Echium plantagineum* L. (Tlemcen, 2024).



# Résultats et Discussion

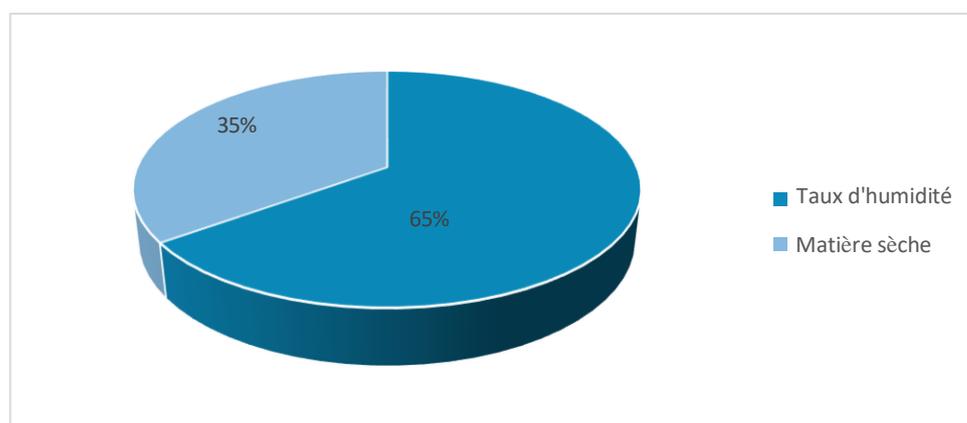
## Partie in vitro

**Détermination du taux d'humidité :**

L'humidité a une incidence sur la durée de conservation, la fonctionnalité et la qualité d'un produit. Il est donc impératif de déterminer ce paramètre avec précision pour garantir la qualité des produits dans les secteurs pharmaceutique et chimique (Ronald et al., 2005).

La détermination du taux d'humidité a été effectuée selon la méthode de Audigié et al. (1980), et l'analyse des feuilles d'*Echium plantagineum* L. a révélé un taux de 64,97%.

A partir de cette valeur nous avons pu déterminer le pourcentage de la matière sèche (MS) qui a été estimée à 35,03%.

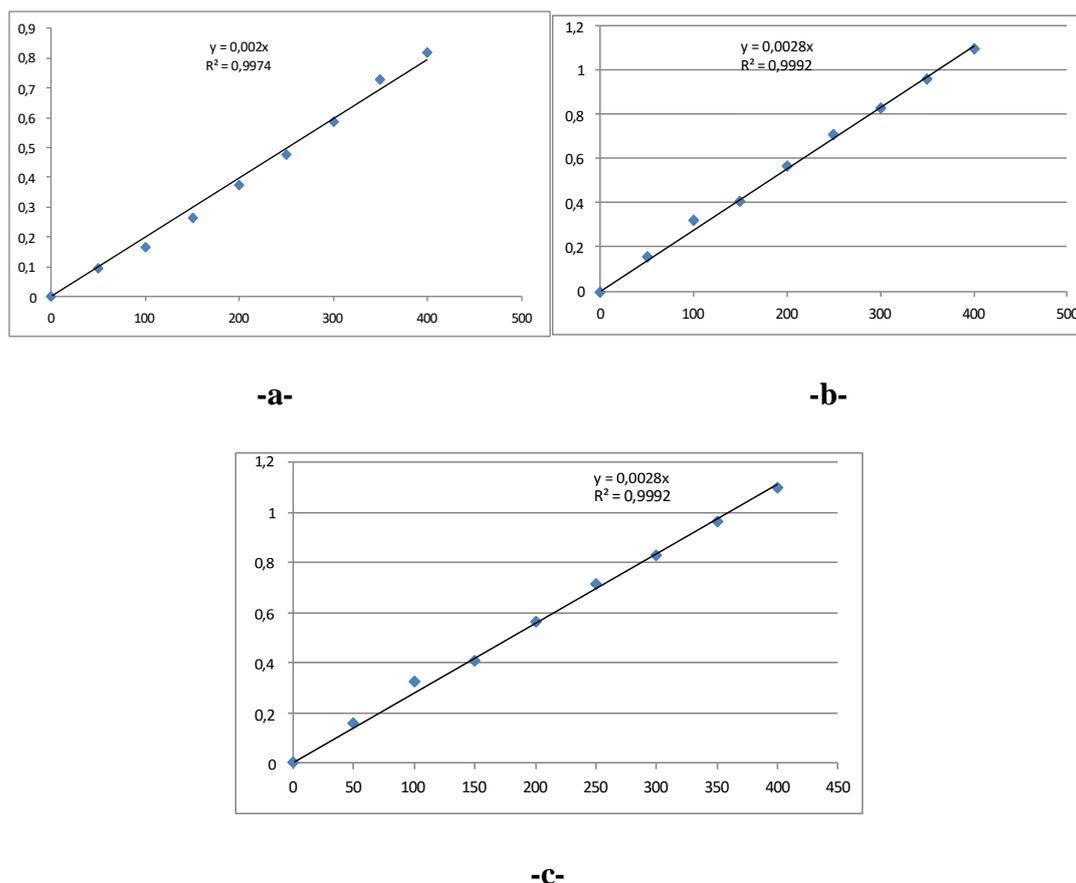


**Figure 15 :** Taux d'humidité des feuilles d'*Echium plantagineum* L.

**1. Teneurs en composés phénoliques**

L'extraction des composés phénoliques à partir des feuilles d'*Echium plantagineum* L. a enregistré un rendement de 16,84%. Nous constatons que cette valeur est supérieure à celles obtenues par Abed et al. (2014) avec les fleurs de l'*E.plantagineum* L. mentionnant des rendements de 12,53% pour l'extraction acétométhanolique mais inférieure en comparaison avec l'extraits aqueux dont le rendement était de 20,87%.

Sur la base de la valeur d'absorbance de la solution d'extrait et par comparaison avec la solution standard, les résultats de l'analyse colorimétrique des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés sont exprimés en milligramme équivalent (standard) par gramme de matière végétale sèche (mg standard E/g MS), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée à partir de l'étalon correspondant acide gallique et catéchine.



**Figure16** : Courbes d'étalonnages de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux(a), et de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes et des tanins condensés (b-c) (Tlemen, 2024).

Les composés phénoliques sont des substances bioactives extrêmement prisées en raison de leurs propriétés biologiques remarquables ; antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, etc...(Oueslati et al., 2012). Pour ces raisons, il est important d'évaluer les teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés.

Nos résultats présentés dans le **tableau 07**, dévoilent la richesse des feuilles d'*E.plantagineum* L. en composés phénoliques avec 580,125 mg EAG/g MS, en flavonoïdes avec 360,53 mg EC/g MS et en tanins condensés à hauteur de 210,21 mg EC/g MS.

**Tableau 07** : Teneurs en composés phénoliques des feuilles d'*E. plantagineum* L.

	<b>Polyphénols (mg EAG/g)</b>	<b>Flavonoïdes (mg EC/g)</b>	<b>Tanins condensés (mg EC/g)</b>
<b>Feuilles de <i>E.Plantagineum</i> L.</b>	580,125	360,53	210,21

D'après **Lapronik et al. (2005)**, Le dosage des flavonoïdes est basé sur la solubilisation des composés flavonoïdique dans les solvants. Une solubilité qui dépend du nombre, du type et de la position de la liaison des glucides avec les flavonoïdes.

La concentration des flavonoïdes dans les extraits des plantes dépend également type de standard utilisé qui peut aussi changer les résultats (**Ghedadba, 2015**).

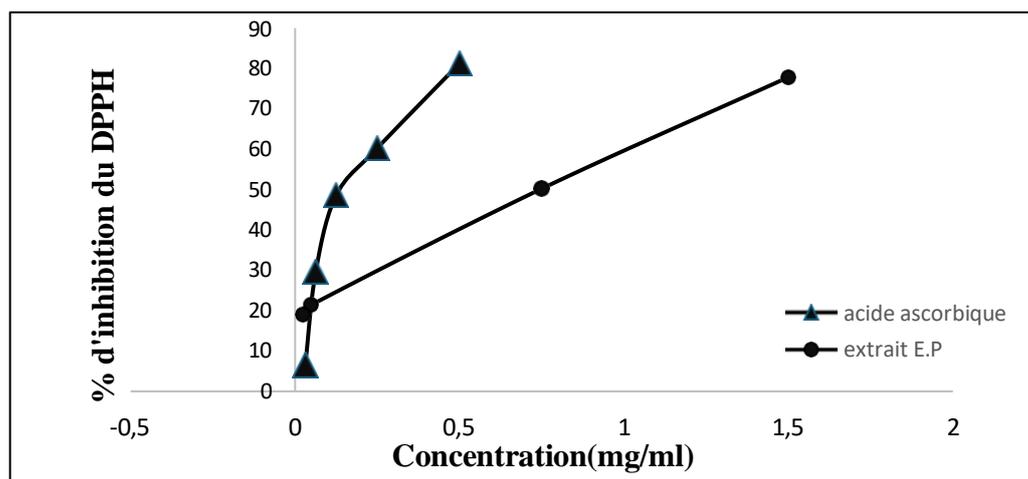
Les polys phénols des extraits de plantes peuvent varier sous l'influence de divers facteurs parmi lesquels ; le type de la plante, les conditions environnementales, les conditions climatiques ainsi que les conditions de stockage, la période de collecte, la maturité et les facteurs génétiques (**Falleh et al., 2008**).

## **2. Evaluation du pouvoir antioxydant des feuilles d'*Echium plantagineum* L.**

Deux techniques colorimétriques différentes ont été utilisées *in vitro* pour démontrer le pouvoir antioxydant des extraits des feuilles de la plante : le piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) et le pouvoir de réduction du fer FRAP (Ferric reducing antioxydant power).

### **3.1 Le piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)**

Il est fréquent d'utiliser le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) pour évaluer l'activité antioxydante des extraits de plantes (**Pękal et Pyrzynska, 2015**). Nous avons mesuré la capacité des extraits ou des molécules antioxydantes, telles que l'acide ascorbique, à piéger le radical libre DPPH, provoquant un changement de la solution violette initiale en une couleur jaune, ce qui est dû à la formation de diphénylpicrylhydrazine par le don d'un atome d'hydrogène ou d'un électron.



**Figure17 :** Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH par l'extrait phénolique des feuilles d'*Echium plantagineum* L.

Comme le montre la figure 17, l'extrait d'*E.plantagineum* L. a une activité de piégeage du radical DPPH importante avec un pourcentage d'inhibition de 77,85% à une concentration de 1,5 mg/ml.

Cette activité peut être évaluée par la détermination des valeurs IC<sub>50</sub>, qui correspondent à la concentration des échantillons d'*Echium plantagineum* L. capables de piéger 50 % du radical libre DPPH présents dans le mélange réactionnel, les valeurs IC<sub>50</sub> élevées indiquant une faible activité antioxydante.

**Tableau 08 :** Valeurs des IC<sub>50</sub> des extraits des feuilles d'*Echium plantagineum* L.

	IC <sub>50</sub> (mg/ml)
<i>E.plantaginum</i> L.	0,34
Acide ascorbique	0,14

Selon le tableau 08, l'extrait phénolique des feuilles d'*E.plantagineum* L. avec une IC<sub>50</sub> égale à 0.34 mg/ml reflète une forte activité inhibitrice de DPPH, mais reste inférieure à celle du contrôle l'acide ascorbique dont l'IC<sub>50</sub> est égale à 0.14 mg/ml.

**Asghari et al. (2019)** ont rapporté que les extraits hydroalcooliques des feuilles d'*E. Plantagineum* L. ont montré une activité antioxydante des radicaux OH plus prometteuse que ceux extraits avec du méthanol seul avec une IC<sub>50</sub> égale à 110,8 µg/ml.

**Pilerood et Prakash (2013)** ont rapporté dans leur étude que l'extrait aqueux des racines d'*E. plantagineum* L. présentait les propriétés antioxydantes les plus élevées dans un test de piégeage de DPPH, tandis que les extraits acétoniques présentaient l'activité la plus faible.

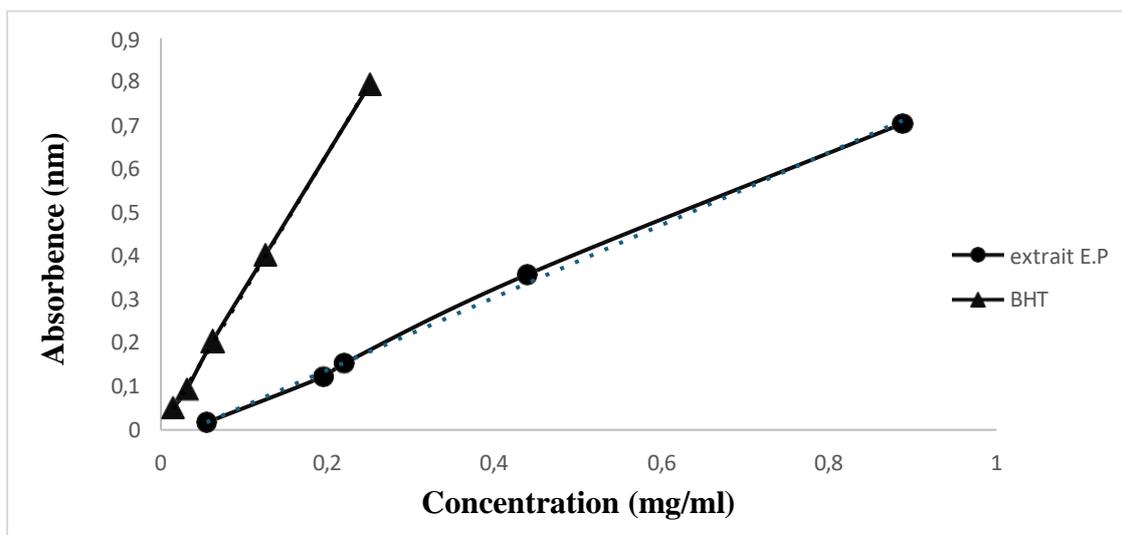
Aussi, les résultats les plus élevés des tests DPPH ont été observés à partir d'une décoction avec des valeurs IC<sub>50</sub> de 22,8 µg/ml (**Asghari et al., 2019**).

Dans l'ensemble, les propriétés antioxydantes d'*E. Plantagineum* L. pourraient expliquer de nombreux résultats biologiquement significatifs, tels qu'ils sont consignés dans les archives ethno-médicales. En outre, cette tradition d'utilisation du thé (en particulier en Iran) comme véhicule pourrait être cliniquement significative, car les formulations à base d'eau sont biologiquement applicables par rapport aux formulations à base de solvants organiques. Cependant, il est toujours important de se rappeler que les substances phytochimiques stables et solubles dans l'eau ne sont pas toujours biodisponibles (**Zhang et al., 2015**).

### 3.2 La réduction du Fer : FRAP (Ferric reducing antioxidant power)

En présence d'antioxydants, la technique FRAP est perçue comme une méthode directe et rapide permettant de mesurer la transformation du Fe<sup>3+</sup> (fer ferrique) en Fe<sup>2+</sup> (fer ferreux) (**Olszowy et widowicz, 2016**).

Pour évaluer le pouvoir réducteur du fer, une gamme de concentrations d'extrait des feuilles d'*E. Plantagineum* L. allant de 0,05 à 0,1 mg/ml a été préparé. Les valeurs des D.O obtenues montrent une augmentation proportionnelle du pouvoir réducteur en fonction des concentrations. Ces résultats ont permis de tracer une courbe linéaire avec un R<sup>2</sup> = 0,998.



**Figure 18 :** Pouvoir réducteur du fer des extraits des feuilles par l'extrait phénolique d'*Echium plantagineum* L.

La capacité antioxydante de l'extrait étudié est exprimée par la détermination de la concentration efficace EC<sub>50</sub> qui correspond à une absorbance égale à 0.5 citée dans le tableau 09.

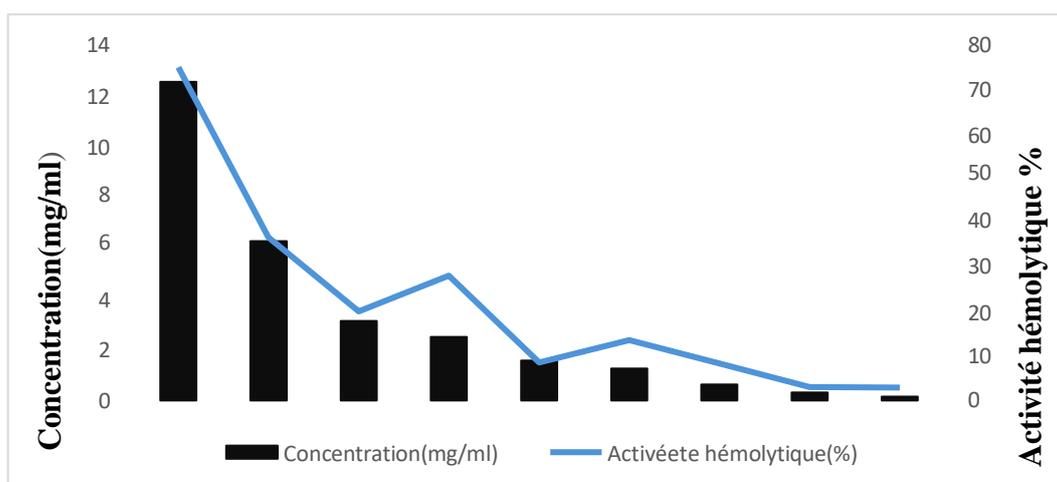
Selon nos résultats, la valeur d'EC<sub>50</sub> de l'extrait phénolique d'*E.plantagineum* L. égale à 0,56mg/ml est supérieure à celle de la référence BHT, qui a présenté une valeur d'EC<sub>50</sub> égale à 0.15mg/ml, indiquant une meilleure activité par rapport à *Echium plantagineum* L.

**Tableau 09 :** Valeurs des EC<sub>50</sub> des extraits des feuilles d'*Echium plantagineum* L.

	EC <sub>50</sub> (mg/ml)
<i>E.plantaginum</i> L.	0,56
BHT	0,15

**4. Test de cytotoxicité des extraits de l'*Echium plantagineum* L.**

Le test *in vitro* de cytotoxicité représentée par le pourcentage d'hémolyse des globules rouges est effectué en utilisant des globules rouges d'un donneur sain en bonne santé (GR). Le pourcentage de l'hémolyse est évalué pour chaque concentration, en mesurant l'absorbance de l'hémoglobine libérée des globules rouges par hémolyse, en comparaison au contrôle négatif et au contrôle positif. Les résultats obtenus sont représentés dans la Figures 19.



**Figure 19 :** Test de cytotoxicité de l'extrait phénolique des feuilles d'*Echium plantagineum* L.

Nos résultats montrent que l'extrait phénolique des feuilles d'*E.plantagineum* L. présente un taux d'hémolyse des globules rouges. Cet effet change et augmente significativement de la concentration la plus basse vers les plus fortes d'une manière dose dépendante (0,156mg/ml-12,5mg/ml) avec des pourcentages respectifs allant de 2,9% à 74,7%.

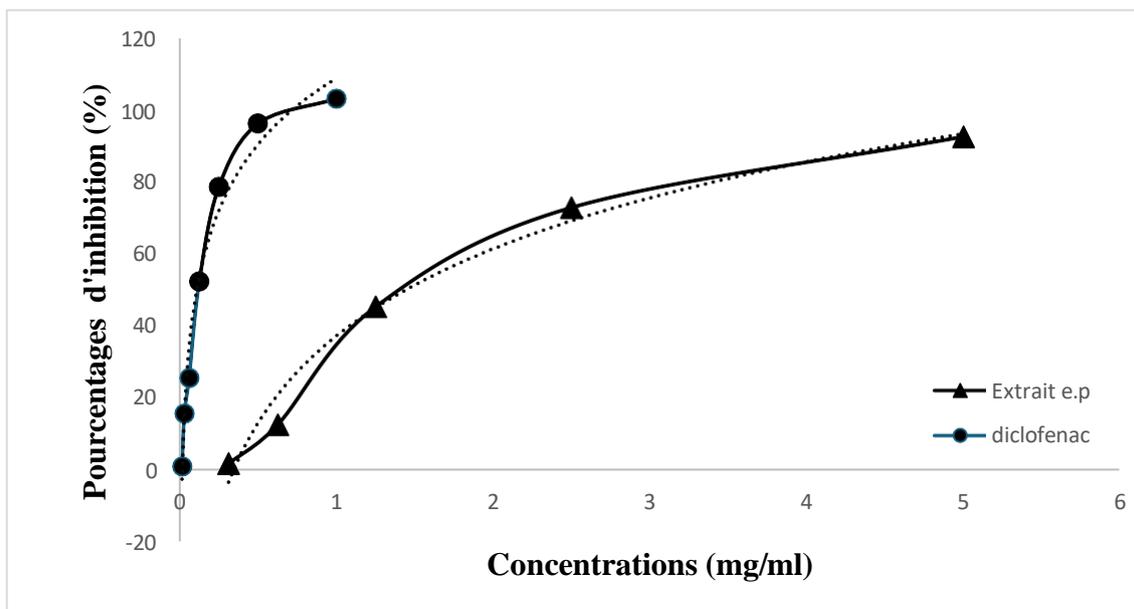
Les composés phénoliques des feuilles d'*E.Plantagineum* L. provoquent un effet d'hémolyse très minimales de 2,9% avec une concentration faible 0,156mg/ml, mais son effet hémolytique est important 74,7% à une concentration de 12,5mg/ml.

### **5. Activité anti-inflammatoire *in vitro* (Inhibition de la dénaturation thermique des protéines BSA)**

La dénaturation des protéines est l'une des causes de l'inflammation qui conduit à diverses maladies inflammatoires. Par conséquent, la capacité d'une substance à inhiber la dénaturation des protéines signifie un potentiel apparent d'activité anti-inflammatoire (**Habibur et al., 2015 ; Osman et al., 2016**).

Le mécanisme possible de la dénaturation consiste à l'altération de la structure tridimensionnelle des protéines par la détérioration des liaisons électrostatique, hydrogène, hydrophobe et disulfure qui maintien cette dernière (**Mizushima, 1964 ; Barros et al., 2008**). Cela signifie que c'est un processus pathologique par lequel ces molécules perdent leur configuration et par conséquent leur fonctionnalité (**Belabbas, 2020**).

La figure 20 représente la variation du pourcentage de protection contre la dénaturation thermique du BSA en fonction des différentes concentrations des composés phénoliques des feuilles d'*E.plantaginum* L. Ces résultats sont comparés à ceux enregistrés par le diclofénac, considérée comme molécule de référence.



**Figure 20** : Pourcentages d'inhibition de la dénaturation du BSA des feuilles d'*E.plantagineum* L.

Des solutions de différentes concentrations d'extrait phénolique des feuilles d'*E.plantagineum* L. (0,312-5mg/ml) et de l'antiinflammatoire Diclofénac (0,015-1mg/ml) ont été utilisées dans ce test.

D'après les courbes de la figure 20, il apparaît qu'il y a une relation proportionnelle entre l'augmentation de la concentration et le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de BSA par le diclofénac et par l'extrait phénolique des feuilles d'*E.plantagineum* L. Pour une concentration de 1mg/ml le diclofénac a révélé un pourcentage d'inhibition maximale de la dénaturation du BSA de 102,95%. En comparaison avec l'extrait étudié, pour une concentration de 5 mg/ml, le pourcentage d'inhibition de la dénaturation du BSA est de 92,43%.

Les valeurs dans le tableau 10 représentent la capacité anti-inflammatoire de l'extrait déterminée à partir de l'IC<sub>50</sub>, c'est la concentration nécessaire pour réduire la dénaturation de 50 % du BSA.

**Tableau 10** : Valeurs des IC<sub>50</sub> des extraits des feuilles d'*Echium plantagineum* L.

	IC <sub>50</sub> (mg/ml)
<i>E.plantaginum</i> L.	1,44
Diclofénac	0,108

D'après les résultats obtenus et mentionnés dans le Tableau 10, nous constatons que l'IC<sub>50</sub> de l'extrait de l'*E.Plantagineum* L. est de 1,44mg/ml largement supérieure par rapport au Diclofénac avec un IC<sub>50</sub> de 0,108mg/ml. Il est donc possible de déduire que l'extrait phénolique utilisé possède une activité anti-inflammatoire faible par rapport au Diclofénac.

La plante est donc faiblement capable d'inhiber la production d'auto-antigènes protéiques induisant une réponse immunitaire et participant ainsi à l'entretien de l'inflammation ce qui a pour incidence de nombreuses maladies inflammatoires (**Sharma, 2011 ; Habibur et al., 2015**).

**L'étude *in vivo*****1. Inflammation induite par la carragénine**

L'évolution de l'inflammation aiguë est biphasique. La première phase commence par la libération d'histamine, de sérotonine et de kinines qui augmentent la perméabilité vasculaire jusqu'à 2 h. L'inflammation maximale est observée environ trois heures après l'injection de carragénine, après elle commence à diminuer. Ensuite, les prostaglandines agissent de 3 à 6 heures, ce qui entraîne la migration des leucocytes vers l'endroit inflammé (Castro et al., 1768 ; Di-Rosa, 1971).

L'injection de carragénine a produit une augmentation significative et rapide du volume de la patte injectée, sans disparaître, ce qui indique que la réponse inflammatoire aiguë a été induite avec succès.



**Photo 16 :** Effet de la carragénine sur la progression de l'œdème  
(Tlemcen, 2024).

**1.1. Épaisseur de la patte**

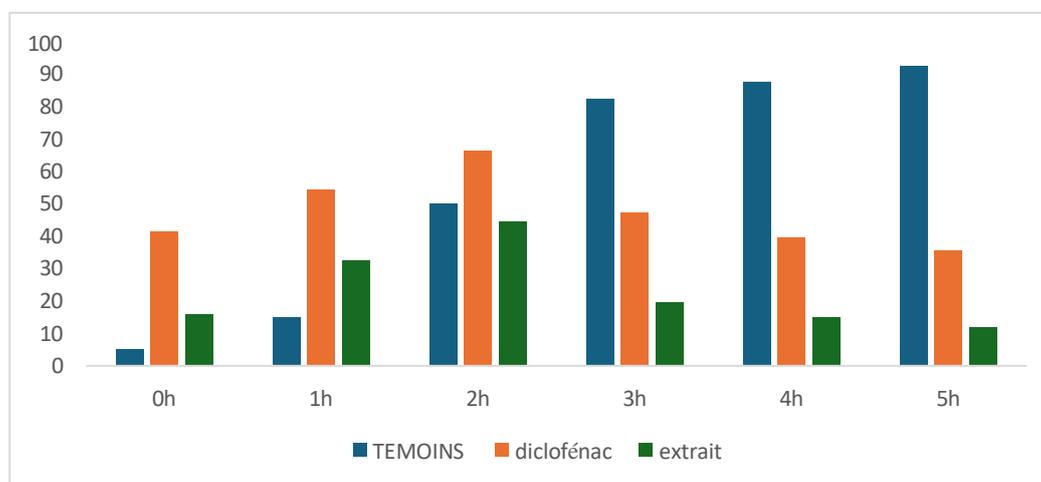
Pour démontrer *in vivo* l'effet antiinflammatoire des feuilles d'*E.plantagineum* L., nous avons mesuré l'œdème inflammatoire de la patte arrière gauche des rats et résumé dans le tableau 11.

**Tableu11** : Mesure (mm) de l'œdème inflammatoire de la patte arrière gauche des rats.

Groupes	Dose	Poids	0h	1h	2h	3h	4h	5h	6h
Témoin (T)	1%	6,66 ± 5,13	6,66 ± 0,88	7 ± 0,57	7,6 ± 0,72	10 ± 0,2	12,16 ± 0,60	12,5 ± 0,28	12,83 ± 0,16
Référence (D)	100mg/kg	4,4 ± 6	4,4 ± 0,27	6,22 ± 0,44	6,79 ± 0,51	7,32 ± 0,37	6,47 ± 0,17	6,14 ± 0,29	5,96 ± 0,35
Traité (E.P)	400mg/kg	4,91 ± 4,50	4,91 ± 0,28	5,69 ± 0,28	6,51 ± 0,11	7,09 ± 0,09	5,86 ± 0,57	5,64 ± 0,49	5,48 ± 0,38

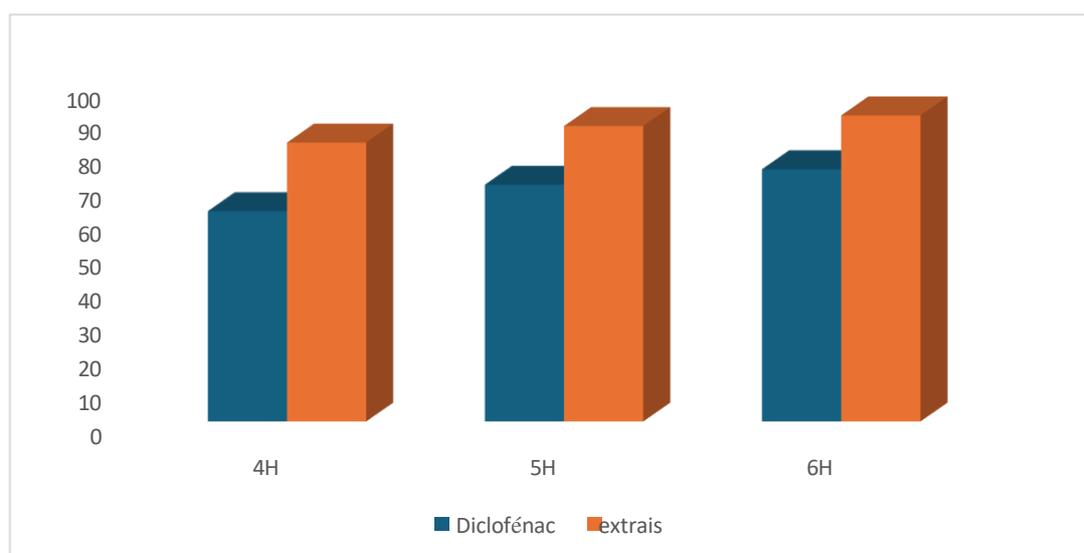
D=Diclofénac E.P : Extrait des feuilles d'*Echium plantagineum*.L

A t=0 lors de l'injection de la carragénine, l'épaisseur de la patte du groupe non traité était de 6,66±0,88mm. Ce niveau d'inflammation a continué d'augmenter pendant les 6 heures jusqu'à ce qu'il atteigne 102% à la 5ème heure (**Figure 21**).



**Figure 21** : Pourcentage d'augmentation des œdèmes de la patte des rats traités et non traités

L'extrait phénolique des feuilles d'*E.plantagineum* L. administré par voie orale à une dose de 400 mg/kg et le médicament de référence Diclofénac à 100mg/kg ont montré une inhibition significative 4 heures après l'injection de la carragénine, qui a commencé à diminuer jusqu'à la fin des 6 heures de  $5,86 \pm 0,57$  jusqu'à  $5,48 \pm 0,38$ mm, avec un pourcentage d'inhibition compris entre 82,60% et 90,64 % pour l'extrait phénolique des feuilles d'*Echium plantagineum* L. et de  $6.47 \pm 0.17$ mm jusqu'à  $5,96 \pm 0,35$ mm, avec une inhibition de 62,30% à 74,70% pour le lot traité avec du Diclofénac (figure 22).



**Figure 22 :** Pourcentage d'inhibition des œdèmes de la patte des rats traités par le Diclofénac et l'extrait phénoliques des feuilles de l'*Echium plantagineum* L.

Le modèle d'œdème de la patte induit par la carragénine chez le rat est connu pour être sensible aux inhibiteurs de la cyclo-oxygénase (COX) et a été utilisé pour évaluer l'effet des agents anti-inflammatoires non stéroïdiens. Comme tous les AINS, le diclofénac exerce son action par l'inhibition de la synthèse des prostaglandines en inhibant la cyclooxygénase-1 (COX-1) et la cyclooxygénase-2 (COX-2) avec une relative efficacité. Cependant, le diclofénac est l'un des inhibiteurs les plus efficaces de la production de prostaglandine E2(PGE2) et a été rapporté comme étant 3 à 1000 fois plus puissant sur une base molaire Par rapport à d'autres AINS dans sa capacité à inhiber l'activité de la COX (Ku et al., 1986).

Les polyphénols, présents en abondance dans diverses plantes, ont été largement étudiés pour leurs propriétés anti-inflammatoires bénéfiques. Ces composés bioactifs interagissent avec plusieurs voies biologiques impliquées dans la réponse inflammatoire, ce qui contribue à leur capacité à atténuer et prévenir les inflammations (**Misra et al., 2014**).

Tout d'abord, les polyphénols agissent comme des antioxydants, neutralisant les radicaux libres et réduisant ainsi le stress oxydatif, un facteur majeur dans le déclenchement de l'inflammation. En protégeant les cellules contre les dommages oxydatifs, les polyphénols peuvent atténuer les réponses inflammatoires excessives. De plus, les polyphénols ont la capacité de moduler les voies de signalisation inflammatoire à l'intérieur des cellules. Ils peuvent inhiber l'activation des enzymes pro-inflammatoires telles que la cyclooxygénase-2 (COX-2) et la lipoxygénase (LOX), qui sont responsables de la production de médiateurs inflammatoires tels que les prostaglandines et les leucotriènes. En régulant ces enzymes, les polyphénols peuvent réduire la production de médiateurs inflammatoires et ainsi atténuer l'inflammation (**Buettner, G. R. 1993**).

Les polyphénols peuvent interagir avec les cellules immunitaires, telles que les macrophages et les lymphocytes, pour moduler leur activité et leur réponse inflammatoire. Ils peuvent réguler la production de cytokines pro-inflammatoires telles que l'interleukine-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), l'interleukine-6 (IL-6) et le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- $\alpha$ ), qui jouent un rôle clé dans la propagation de l'inflammation (**Chen, L. et al, 2018**).



# Conclusion et Perspectives

Les plantes médicinales sont une source riche d'une variété de composés biologiquement actifs, qui sont dotés d'effets efficaces contre différentes maladies chroniques et aiguës comme l'inflammation.

À l'heure actuelle, la recherche de substances naturelles comme de nouvelles sources d'anti-inflammatoires a émergé et l'exploitation de divers métabolites secondaires des plantes a été souligné.

L'objectif de notre travail était d'évaluer *in vitro* l'activité antioxydante et *in vivo* le potentiel anti inflammatoire de l'extrait phénolique des feuilles d'*Echium plantagineum* L.

Pour cela, la présente étude a porté sur l'extraction et la quantification des métabolites secondaires, ainsi que la détermination de leurs activités biologiques.

Le rendement de l'extrait hydro-acétométhanolique des feuilles d'*E. plantagineum* L. est de 16,84% et les dosages des phénols totaux a révélé une teneur très élevée à savoir 580,125 mg EAG/g MS, suivi par les flavonoïdes avec une teneur importante égale à 360,53 mg EC/g MS et enfin les tanins condensés indiquant des teneurs de l'ordre de 210,21 mg EC/g MS.

De plus, L'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode de piégeage du radical libre DPPH et la réduction du fer (FRAP) de l'extrait phénolique des feuilles d'*E. plantagineum* L. a montré un pouvoir antioxydant puissant avec une IC<sub>50</sub> estimée à 0.34mg/ml et une EC<sub>50</sub> de 0,56mg/ml respectivement.

Aussi, le test de cytotoxicité a conclu à un pourcentage d'inhibition de l'hémolyse des feuilles de *E. plantagineum* L. de l'ordre de 74,7% à une concentration de 12,5 mg/ml.

D'autre part, l'activité antiinflammatoire *in vitro* effectuée selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines (BSA) par l'extrait de *E. plantagineum* L. a exhibé un pouvoir antiinflammatoire exprimé par une IC<sub>50</sub> égale à 1,44mg/ml qui est largement supérieure au Diclofénac avec un IC<sub>50</sub> de 0,108mg/ml.

Quant à l'activité antiinflammatoire *in vivo*, l'induction d'une inflammation aiguë chez les rats Wistar avec une dose de 400 mg/kg de l'extraits phénolique a conduit à une diminution significative de l'œdème de la patte des rats traités par rapport aux rats non traités atteignent Jusqu'au 90,64 % d'inhibition a la 6ème heure.

Ce dernier serait dû à la richesse de notre extrait en composés phénoliques bioactifs.

Au vu des résultats obtenus, nous pouvons conclure que l'extrait phénolique des feuilles d'*E. plantagineum* L. a une capacité antiinflammatoire potentielle probablement grâce à sa richesse en métabolite secondaires qui sont aussi responsables de l'effet antioxydant.

Comme perspectives il serait judicieux d'effectuer d'autres études, telles que :

- ✓ Compléter le présent travail par l'identification et la purification des principes actifs en utilisant des techniques chromatographiques.
- ✓ Évaluer d'autres activités biologiques à savoir l'activité antidiabétique et l'activité antiulcéreuse.

# Références bibliographiques

### - A -

- Abed, A.; Vaseghi, G.; Jafari, E.; Fattahian, E.; Babhadiashar, N.; Abed, M. *Echium Plantagineum* Fisch. Et Mey: A review on its pharmacological and medicinal properties. *Asian J. Med. Pharm. Res.* 2014, 4, 21–23.
- Aitman T.J., Critser J.K., Cuppen E., Dominiczak A., Fernandez-Suarez X.M., Flint J., Gauguier D., Geurts A.M., Gould M., Harris P.C., et al. (2008) Progress and prospects in rat genetics: a community view. *Nat Genet*, p.522–516 " Alcaraz MJ, Ferrandiz ML. (1987) Modification of arachidonic metabolism by flavonoids. *J Ethnopharmacol.* Vol 21, pp. 209. " Allali, H., Benmehdi, H., Dib, M
- Allam, N. 2017. Etude « omique » du phénomène inflammatoire associé à l'obésité. Thèse de doctorat, université Laval, Québec, Canada, 192p.
- Archivio M, Filesi C, Di Benedetto R, Gargiulo R, Giovannini C, Masella R (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Ann Ist Super Sanita.* 43(4):348-61
- Asehnoune, K., & Édouard, A. (2006). Réponse inflammatoire et polytraumatisme : Mise au point. *Réanimation*, 15(7), 568-575. <https://doi.org/10.1016/j.reaurg.2006.10.011>
- Asghari, B.; Mafakheri, S.; Zarrabi, M.; Erdem, S.; Orhan, I.; Bahadori, M. Therapeutic target enzymes inhibitory potential, antioxidant activity, and rosmarinic acid content of *Echium plantagineum*. *S. Afr. J. Bot* 2019, 120, 191–197.
- Auffray C, Sieweke MH, Geissmann F. (2009) Blood monocytes: development, heterogeneity, and relationship with dendritic cells. *Annu Rev Immunol.* Vol 27, pp. 669–692.

### - B -

- Bahlil, Y. 2018. Effet d'un extrait aqueux lyophilisé de *Zyophyllum album* (Zyophyllacée) sur l'équilibre glycémique, le profil lipidique et les statuts redox et inflammatoire, chez des rats Wister rendus hypercholestérolémique et diabétiques. Thèse de doctorat, université Oran 1 Ahmed Ben Bella , 224p.
- Baião D. D. S., De Freitas C. S., Gomes L.P, Silva D.D., Correa A C N. T. F., Pereira P. R., Del (2017) Polyphenols from Root, Tubercles and Grains Cropped in Brazil: Chemical and Nutritional Characterization and Their Effects on Human Health and Diseases. *Nutrients.* Vol 9 (9).
- Barnes, P. J. (1998). Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: Molecular mechanisms. *Clinical science*, 94(6), 557–572.

- Barros, L., Falcão, S., Baptista, P., Freire, C., Vilas-Boas, M., et Ferreira, I. C. (2008). Antioxidant activity of *Agaricus* sp. Mushrooms by chemical, biochemical and electrochemical assays. *Food chemistry*, 111 :1, 61-66.
- Belabas H., Renée J G, Raoudha J, Monique S J S, Abul K. Abbas, Andrew H. Lichtman, Shiv Pillai. (2017) "Cells and tissues of the immune system". *Cellular and molecular immunology*. 9th edn.
- Bennamara F.Z. (2017). Stress oxydant Et pathologies humaines. Thèses. Pharmacie
- Bensakhria A. (2018). Toxicologie Générale-Le Stress Oxydatif. Pp : 70-89.
- Bhuyan D. J. and Basu A. (2017) Phenolic Compounds Potential Health Benefits and Toxicity. CHAPTER 2, Utilisation of Bioactive Compounds from Agricultural and Food Waste.
- Bjarnason, I., & Hayllar, J. (1993). Side effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on the small and large intestine in humans. *Gastroenterology*, 104(6), 1832–1847.
- Boros,B., Jakabova,S., Dornyey,A., Horvath,G., Pluhare,Z., Kilar,F., Felinger,A. )2010( Determination o-f polyphenolic compounds by liquid chromatography-mass spectrometry in Thymus species.*Journal of Chromatography A*, 1217:7972- 7980.
- BOUDJOUREF M. )2011(Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Thèse de Magister en Biochimie. Université Ferhat Abbes, Sétif. Algérie. 99 p.
- Brune K & Patrigani P (2015). New insights into the use of currently available nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Journal of pain research*, 8:105–118.
- Bruneton, J., 1999- Terpènes et stéroïdes. In *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales*. 3ème éd. Tee & Doc, Paris, pp. 461 -769.
- Buettner, G. R. (1993). "The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation,  $\alpha$ -tocopherol, and ascorbate." *Archives of biochemistry and biophysics* 300(2): 535-543.
- Bulmus V. (2003). A new pH-responsive and glutathione-reactive, endosomal membrane disruptive polymeric carrier for intracellular delivery of biomolecular drugs. *Journal of Controlled Release*, 93(2), 105–120.

## - C -

- Carleton, M.D., Musser, G.G. (2005) Order Rodentia. In: Wilson, D.E., Reeder, D.M. )Eds.(, *Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference* Johns Hopkins University Press, Baltimore, MD, pp. 745–752.

- Castro J, Sasame H, Sussaman H, Buttette P. (1968) Diverse effect of SKF52 and antioxidants on CCl4 induced changes in liver microsomal P-450 content and ethyl- morphine metabolism. *Life Sci.* Vol 7, pp. 129-136.
- Chaiamnuay S, Allison JJ, Curtis JR. (2006) Risks versus benefits of cyclooxygenase-2-selective nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Am J Health Syst Pharm.* Vol 63(19),pp.1837-51.
- Charles N S, Peter A W ET Derek W G (2010). *Fundamentals of Inflammation.*Cambridge University Press, 2-3.
- Charles N S, Peter A W ET Derek W G (2010). *Fundamentals of Inflammation.*Cambridge University Press, 2-3.
- CHAWLA, Saurabh et JENA, Sarita. (2021) *The Anatomy and Physiology of Laboratory Rat. Essentials of Laboratory Animal Science: Principles and Practices,* pp. 187-209.
- Chen, L., Deng, H., Cui, H., Fang, J., Zuo, Z., Deng, J., Zhao, L. (2018) Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget.* Vol 9)6(, pp. 7204.
- Chen, L., Deng, H., Cui, H., Fang, J., Zuo, Z., Deng, J., Zhao, L. (2018) Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget.* Vol 9)6(, pp. 7204.
- Cohen.A(2013)Lamiacée(=Labiées).65p.[http://www.arbreslozere.fr/wa\\_files/6LAMIACEES\\_INTERNET\\_2013.pdf](http://www.arbreslozere.fr/wa_files/6LAMIACEES_INTERNET_2013.pdf)
- COLBY, Lesley A., NOWLAND, Megan H., et KENNEDY, Lucy H. (2019) *Clinical laboratory animal medicine: an introduction.* John Wiley & Sons.

### **-D-**

- Damron, W.S. (2013) *Introduction to animal science: global, biological, social, and industry perspectives,* fifth edition, AG publishers.
- Davoine F. and Lacy P (2014) Eosinophil cytokines, chemokines and growth factors:emerging roles in immunity. *Frontiers in Immunology Molecular Innate Immunity,* 5(570):1-17.
- Deepak M., Kasote I., Surendra S., Mahabaleshwar V., Hegde H. B. (2015) Significance of Antioxidant Potential of Plants and its Relevance to Therapeutic Applications. *Int J Biol.* Vol 11)8(.
- Derbane R, Messaadi F, Teffaha M. (2008). *Mémoire d'étude de la toxicité de deux plantes : Ferulacommunis et Lonicera implexa.* Faculté des Sciences Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire.

- Descamps-Latscha B, Witko-Sarsat V (1999). Cytokines pro-inflammatoires et cellules phagocytaires. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, 36,310- 314.
- Descamps-Latscha B, Witko-Sarsat V (1999). Cytokines pro-inflammatoires et cellules phagocytaires. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, 36,310- 314.
- Desmier, T. 2016. Les antioxydants de nos jours : définition et application. Thèse de doctorat, université de Limoges, 88p.
- Diallo, I. 2019. Potentiels anti-oxydants et anti-inflammatoires de sporophores de Lentinula edodes (Shiitake) sous différentes conditions de culture. Thèse de Doctorat, université de Montpellier, 181 p.
- Dinarello, C. A. (2010). Anti-inflammatory agents: Present and future. *Cell*, 140(6), 935–950.
- Di-Rosa M, Giroud JP, Willoughby DA. (1971) Studies on the mediators of acute inflammatory response induced in rats in different sites of carrageenan and turpentine. *J Pathol*. Vol 104, pp 15.
- Donna, L. (2017) *Clinical Chemistry Fundamentals and Laboratory Techniques*, ELSEVIER, Canada.
- Downey M.O., Hanlin R.L., 2010. Comparison of Ethanol and Acetone Mixtures for Extraction of Condensed Tannin from Grape Skin, *S.Afr. J. Enol. Vitic.*, Vol. 31, No. 2, 154-159.

### -E-

- Eming S A, Krieg T, Davidson J M (2007). Inflammation in Wound Repair: Molecular and Cellular Mechanisms. *Journal of Investigative Dermatology*, 127, 514–525.
- Erlund I. Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutr Res*. 1 oct 2004 ;24(10):851-74.
- Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Et Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331 :5, 372-379.
- Festing, M.F. (2016) Genetically defined strains in drug development and toxicity testing. *Methods Mol. Biol*. Vol 1438, pp. 1-17.
- Fritsch, J., & Abreu, M. T. (2019) The microbiota and the immune response: what is the chicken and what is the egg? *Gastrointestinal Endoscopy Clinics*, Vol 29(3), pp. 381-393.

### -G-

-Ghedadba, N., Hambaba, L., Ayachi, A., Aberkane M.C., Bousselsela, H., ET Oueld Moukhtar, S.M., (2015). Polyphénols totaux, activités antioxydant et antimicrobienne des feuilles de Marrubium deserti de Noé ex Coss. *Phytothérapie*. 13 :2, 118 -129

-Giresha. A. S. (2021) Secretary phospholipase A2 Group IIA: A Potential Therapeutic Target in Inflammation, Nanao Herbal Medicines Chief. Dharmendra Kumar. Rohini, North West Delhi, India: Scripown Publications.

### -H-

-Habibur, R., Eswaraiah, M. C., Et Dutta, A. M. (2015). In-vitro anti-inflammatory and antiarthritic activity of Oryza Sativa Var. Joha rice (an aromatic indigenous rice of Assam). *Am Eurasian J Agric Environ Sci*, 15 :1, 115-121.

-Heshmati, J., Farsi, F., Shokri, F., Rezaeinejad, M., Almasi-Hashiani, A., Vesali, S. et Sepidarkish, M. 2018. "A systematic review and meta-analysis of the probiotics and synbiotics effects on oxidative stress". *J Funct Foods*, 46: 66-84.

-Hou, D., Liu, Z., Xu, X., Liu, Q., Zhang, X., Kong, B., Wei, J.J., Gong, Y., Shao, C. 2018. "Increased oxidative stress mediates the antitumor effect of PARP inhibition in ovarian cancer", *Redox Biology* 17: 99-111.

-Hsu Y. L., Hung J. Y., Tsai Y. M., Tsai E. M., Huang M. S., Hou M. F., and Kuo P. L. )2015( shogaol, an active constituent of dietary ginger, impairs cancer development and lung metastasis by inhibiting the secretion of C-chemokine ligand 2 )CCL2( in tumor-associated dendritic cells. *J Agric*.

### -J-

-Jacqz-Aigrain, E & Guillonnet, M. (1998) Anti-inflammatoires EncyclMédChir (Elsevier, Paris), Encyclopédie Pratique de Médecine, pp. 8-(1010).

-Jin, J., Boersch, M., Nagarajan, A., Davey, A.K. & Zunk, M. (2020). Antioxidant Properties and Reported Ethnomedicinal Use of the Genus *Echium* (Boraginaceae). *Antioxidants*, 9, 722.

### -K-

- Kada, S. 2018. Recherche d'extraits de plantes médicinales doués d'activités biologiques. Thèse doctorat, université Ferhat Abbas Sétif, 172p.
- Kalueff A, Stewart A, Song C et al. (2015) Neurobiology of rodent self-grooming and its value for translational neuroscience. *Nat Rev Neurosci*. Vol 8, pp. 45–59. Doi: <https://doi.org/10.1038/nrn>.
- Kerbache.A. (2014). Propriétés anti-inflammatoire et antioxydante des extraits d'*Anacyclusmclavatus*. Mémoire de magister en biologie. Université Ferhat Abbas Sétif 1, Algérie. P : 8
- Kim HP, Son KH, Chang HW, Kang SS. Anti-inflammatory Plant Flavonoids and Cellular Action Mechanisms. *J Pharmacol Sci*. 2004;96(3):229-45.
- koch W. (2019) Dietary Polyphenols—Important Non-Nutrients in the Prevention of Chronic Noncommunicable Diseases. A Systematic Review. *Nutrients*.
- ku, EC. Lee, W. Kothari, HV. et al. (1986) Effect of diclofenac sodium on the arachidonic acid cascade. Vol 80, pp 18-23.
- Kumar Vinay, Abul K Abbas, Nelson Fausto, Richard Mitchell (2007). *Robbins Basic Pathology*, 8th Edition: 20-60.
- Kumar, S., Pandey, A.K. )2013( Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The Scientific World Journal*, pp. 1-16.

### -L-

- Lacavé-Lapalun, J. V. 2013. Réponse immunitaire induite par l'irradiation colorectale : manipulation thérapeutique des « toll like-receptors ». Thèse de doctorat, université pierre et marie curie, paris, 246p.
- Lambinon, J., Verloove, F., Delvosalle, L., Toussaint, B., & Geerinck, D. (2015). Nouvelle flore de la Belgique, du Grand-Duché de Luxembourg, du nord de la France et des régions voisines : Ptéridophytes et spermatophytes.
- Lapornik, B., Prošek, M., Et Wondra, A. G. (2005). Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of food engineering*, 71:2, 214- 222.
- Lawrence., Willoughby, D. A., & Gilroy, D. W. (2002) Antiinflammatory lipid mediators and insights into the resolution of inflammation. *Nature Reviews. Immunology*. vol 2(10), pp. 787–795. <https://doi.org/10.1038/nri915>.
- Lee M. T., Lin W. C., Yu B., Lee T. T. (2017) à Antioxidant capacity of phytochemicals and their potential effects on oxidative status in animals — A review. *Asian-Australas J Anim* . vol 30(3).

-Liu Z., Ren Z., Zhang J., Chuang C-C., Kandaswamy E., Zhou T., Zuo L. (2018) Role of ROS and Nutritional Antioxidants in Human Diseases. Front.

-LIU, et FAN. (2017) Fundamentals of laboratory animal science. CRC Press.

### **-M-**

-Macheix J.J , Fleuriet A , Jay-Allemand C (2005). Les composés phénoliques des végétaux. Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed Presses polytechnologiques et universitaires romandes. P 4-5.

-Mahmoud A.M., Bautista R. J. H., Sandhu M. A. and Hussein O. E. (2019) Beneficial Effects o Citrus Flavonoids on Cardiovascular and Metabolic Health. Oxid Med Cell Longev.

-Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiménez L. Polyphenols: food sources and bioavailability. Am J Clin Nutr. 1 mai 2004;79(5):727-47.

-Martin S , Andriantsitohaina R (2002). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. Annales de cardiologie et d'angiologie p 304-315.

-Maurent K. (2017). Synthèse de composés phénoliques de type diarylheptanoïde, évaluation de leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. Thèse de Doctorat Chimie organique, Université Paul Sabatier de Toulouse.

-Maynard, Robert L. Downes N. (2019) Anatomy and Histology of the Laboratory rat in Toxicology and Biomedical Research. Academic Press.

-McCarty, M.F. (2001) Current prospects for controlling cancer growth with non-cytotoxic agents - nutrients, phytochemicals, herbal extracts, and available drugs. Medical Hypotheses. Vol 56, pp.137–154.

-McCarty, M.F. (2001) Current prospects for controlling cancer growth with non-cytotoxic agents - nutrients, phytochemicals, herbal extracts, and available drugs. Medical Hypotheses. Vol 56, pp.137–154.

-Mezati, H, (2018). Evaluation de l'effet anti-inflammatoire et antioxydante des extraits de Malva parviflora L (Doctoral dissertation).

-Michels da Silva, D., Langer, H., & Graf, T. (2019) Inflammatory and molecular pathways in heart failure—ischemia, HFpEF and transthyretin cardiac amyloidosis. *International journal of molecular sciences*, vol 20)9(, pp. 2322.

-Mizushima Y. (1964). Inhibition de la dénaturation de protéines par des agents antirhumatiques ou antiphlogistiques. *Arch Int PharmacodynTher*, 149,1-7.

-Moein S.,2015. Polyphenols and cancer : A review. *Mol. Med.* 1)1(.

-Mongens M. (2013). Origine et conséquences du stress oxydant. Thèses. ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT. Pp : 11-14.

-Monsel, A. 2016. Inflammation Aiguë Pulmonaire en Réanimation : Développement d'axes diagnostiques, préventifs et de thérapies immunomodulatrices. Thèse de doctorat, université pierre et marie curie, Paris, 207p.

-Myburgh K.H. (2014) Polyphenol supplementation: benefits for exercise performance or oxidative stress?. Vol 1.

### **-N-**

-Nathan C, (2002). Points of control in inflammation. *Nature*, 420, 19-26.

-Neuwinger R, (2000). Botanique Systématique : une perspective phylogénétique. De Boeck Université, Paris et Bruxelles. 467p.

### **-O-**

-Olszowy M., Dawidowicz A.L. (2016). Essential oils as antioxidants: their evaluation by DPPH, ABTS, FRAP, CUPRAC, and  $\beta$ -carotene bleaching methods. *MonatshefteFürChemie - Chemical Monthly*.147(12): 2083–2091.

-osman, M.H., Williams, Z., Zolkowska, D. and Rothman, R.B. (2016) Serotonin ) 5-HT( precursor loading with 5-hydroxyl-tryptophan )5-HTP( reduces locomotor activation produced by )+(-amphetamine in the rat. *Drug Alcohol. Depend.* vol 114, pp. 147-152.

-Oueslati S, Ksouri R, Falleh H, Pichette A, Abdelly C, Legault J, 2012. Phenolic content, antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of the edible halophyte Suaeda fruticosa Forssk. *Food Chemistry*, 132 (2) : 943- 947.

### **-P-**

- Parr. S, Raveendran. R, and Kesavan, R. )2010( Blood sample collection in small laboratory animals, J Pharmacol Pharmacother, pp: 87–93. Doi: 10.4103/0976-500X.72350. " Paris R.R. and Pereygra-Alarcon, A. (1968) Plant.Med. Phy tother. vol 2, pp. 90
- Pasquier, C. (1995). Stress oxydatif et inflammation. Revue Française des Laboratoires,1995(276), 87-92. [https://doi.org/10.1016/S0338-9898\(95\)80364-5](https://doi.org/10.1016/S0338-9898(95)80364-5)
- Patra B., Schluttenhofer C., Wu Y., Pattanaik S., Yuan L. (2013) Transcriptional regulation secondary metabolite biosynthesis in plants. Biochim Biophys Acta..
- Patrice Magnard (2014). La réaction inflammatoire aiguë.2000-2014 Maxicours RCS PARIS B432623429.
- Peeking A., Picand B., Hacene K., Lokiec F., Gurin P. (1987) Oligimères procyanidoliques )Endotélon( et système lymphatique. Artères et Veines. Publications médicales AGCF. Vol. )6(: 512-513.
- Pękal A., Pyrzynska K. (2015). Effect of pH and metal ions on DPPH radical scavenging activity of tea. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 66(1) : 58-62.
- Perret C., 2001. Analyse de tannins inhibiteurs de la stilbene oxydase produite pour Botrytis cinerea Pers: Fr, Thèse de doctorat, Université de Neuchâtel Faculté des Sciences, 173p
- Pilerood, S.A.; Prakash, J. Evaluation of nutritional composition and antioxidant activity of Borage(*Echium plantagineum*) and Valerian (*Valerian officinalis*). *Int. J. Food Sci. Technol*. 2014, 51, 845–854.[CrossRef]
- Prasad S, Tyagi AK, Aggarwal BB (2014). Recent developments in delivery, bioavailability, absorption and metabolism of curcumin: The golden pigment from golden spice. *Cancer Res Treat*. 46 : 2318.

### **-R-**

- Ramos S. Effects of dietary flavonoids on apoptotic pathways related to cancer chemoprevention. *J Nutr Biochem*. juill 2007;18(7):427-42.
- Rangel-Huerta O. D., Pastor-Villaescusa B., Aguilera C. M., and Gil A. (2015) A systematic review of the efficacy of bioactive compounds in cardiovascular disease: Phenolic compounds. *Nutrients*. vol 7.
- Rankin JA (2004). Biological mediators of acute inflammation. *AACN Clin Issues*, 15, 3 -17.
- RIGALLI, Alfredo et DI LORETO, (2016) Veronica. Experimental surgical models in the laboratory rat. CRC press.

-Rira M., 2019. Les tanins hydrolysables et condensés : une piste pour la réduction de la production du méthane entérique par les ruminants en milieu tropical, Thèse de Doctorat, École Doctorale des Sciences de la vie et la Santé -AgronomieEnvironnement. 216p.

-Ronald, E., Wrolstad, E., Acree, Eric A., Decker, Michael H., Penner, DS., Reid SJ., Schwartz CF. (2005) Shoemaker Denise Smith Peter Sporns Handbook of food analytical chemistry. Wily-interscience, Canada, pp. 10-11.

-Roso, R., Nunes, U.R., Paranhos, J.T., Müller, C.A., Fernandes, T.S. & Ludwig, E.J. (2017). Germination of *Echium plantagineum*L. seeds submitted to dormancy overcoming and variations in temperature, light and depth of sowing1. *Journal of Seed Science*, 39 (3),262 271.

-Rousselet, M., Vignaud, J. M., Hofman, P., & Chatelet, F. P, (2005). Inflammation ET pathologie inflammatoire (Chapitre 3). Copyright AFECAP, 50, 52.

-Rukmini Kumar, Gilles Clermont, Yoram Vodovotz and Carson C. Chow. (2014) the Dynamics of Acute Inflammation.

## -S-

-Sahli R. (2017). Etude phytochimique de quelques plantes extremophiles Tunisiennes et exploration de leurs activité biologique. Thèses université de lille 2. Pp: 1.

-Sambamurty B, (2005). Systematic and applied botany of flowering plants. Tec & Doc, Paris.1336p.

-Santiago-Morales I.S., Trujillo-Valle L., Márquez-Rocha F.J., Hernández J.F.L. (2018). Tocopherols, phycocyanin and superoxide dismutase from microalgae: as potential food antioxidants. *Applied Food Biotechnology*. 5(1) : 19-27.

-Sarr S.O., Fall A.D., Gueye R., Diop A, Diatta K, Diop N, Ndiaye B , Diop Y M. (2015).Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Vitex doniana* (Verbenacea). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 9(3) : 1263-1269.

-Sayyah, M., Sayyah, M. & Kamalinejad, M. (2006). A preliminary randomized double blind clinical trial on the efficacy of aqueous extract of *Echium amoenum* in the treatment of mild to moderate major depression. *ProgNeuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 30, 166-169.

-scalbert, A., Williamson, G., (2000) Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *Journal of Nutrition*. Vol 130, pp. 2073S–2085S.

-SHARP, Patrick, Villanovan , Jason(2012) The laboratory rat. CRC press.

- Shcherazade, O.Georges, A. Ernest, Z. Roger, K. Emile, B. Tatiana, K. Mireille, K. Jean-jacques, K. )2021( Activité Anti-Inflammatoire Et Études Phytochimiques De L ' extrait Aqueux Des Écorces Distemonanthus Benthamianus Baill . ) Caesalpiniaceae : Leguminosae - Caesalpinioideae ( Anti-Inflammatory Activity and Phytochemical Studies of the Aqueous Extract of the Bark Distemonanthus Benthamianus Baill . ) Caesalpiniaceae : Leguminosae - Caesalpinioideae (, pp.74-93. Doi: 10.19044/esj. vol 17)7(, pp. 74.
- Singla RK, Dubey AK, Garg A, Sharma RK, Fiorino M, Ameen SM, Haddad M, Al-Hiary M (2019). Natural Polyphenols: Chemical Classification, Definition of Classes, Subcategories, and Structures. J AOAC Int. 102(5) :1397-1400.
- Smeriglio A., Barreca D., Bellocco E., Trombetta D. (2017) Proanthocyanidins and hydrolysable tannins: occurrence, dietary intake and pharmacological effects. Br J Pharmacol. Vol 174)11(.
- Sporn MB, Roberts AB. (1986) Peptide growth factors and inflammation, tissue repair and cancer. Vol 78, p.329-332.
- Ștefănescu B.E., Szabo K., Mocan A., Crișan G. (2019) Phenolic Compounds from Five Ericaceae Species Leaves and Their Related Bioavailability and Health Benefits. Molecules. Vol 24(11).
- Steinhubl S R (2007). Platelets as Mediators of Inflammation. Hematology/Oncology Clinics of North America, 21,115-121.
- Stevens P.F., 2001. Onwards, AP-Website : <http://hortical.com/mot691.html> (consulté le 13 Mai 2019).

**-T-**

- Takashi Kuramoto (2012) Associate Professor, Institute of Laboratory Animals, Graduate School of Medicine, Kyoto University., <http://www.shigen.nig.ac.jp/shigen/news/>.
- Tan C., Cosarcă S. and Muntean D. L. (2019) A Critical Review of Phenolic Compounds
- Tanase C., Cosarcă S. and Muntean D. L. (2019) A Critical Review of Phenolic Compounds.
- Tracey, K. J. (2002) the inflammatory reflex. Nature, Vol. 420, pp. 853–859. <https://doi.org/10.1038/nature01321>.
- Twaij, B. M., & Hasan, M. N. (2022). Bioactive Secondary Metabolites from Plant Sources. Université Mohammed. Pp: 16-18.

**-V-**

-Verma S (2016). Medicinal plants with anti-inflammatory activity. *Phytopharmacol*, 5(4):157-159.

-Vermerris W, Nicholson R, 2006. *Phenolic Compound Biochemistry*, Springer, Dordrecht.

-Viala A et Botta A. (2007) . *Toxicologie.*, 2ème édition. Lavoisier. p 03-10.

-vinay, K., Abul, A. and Jon, A (2014) *Pathologic basis of disease*. robbin book 9th edn, Anne Altepeter Canada.

-W-

-Weill B, Batteux F, Dhainaut J (2003). *Immunopathologie et réactions inflammatoires*. Eds, De Boeck Université (Paris), p: 12-23.

-Williams C M M et Galli S J (2000). The diverse potential effectors and immunoregulatory roles of mast cells in allergic disease. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 105, 847-59.

-Williams CA, Grayer RJ. Anthocyanins and other flavonoids. *Nat Prod Rep*. 2004 ;21(4):539.

-Wollinger, A., Perrin, É., Chahboun, J., Jeannot, V., Touraud, D., and Kunz, W. (2016) Antioxidant activity of hydro distillation water residues from *Rosmarinus officinalis* L.

-X-

-Xia EQ, Deng GF, Guo YJ, Li HB (2010). Biological activities of polyphenols from grapes. *Int J. Mol Sci*.11 : 622–646.

-Xu JJ, Diaz D, O'brien PJ. (2004). Application of cytotoxicité assays and pre-lethal.

-Y-

-Yadav U C, Baquer N Z (2014). Pharmacological effects of *Trigonella foenumgraecum* L. in health and disease. *Pharmaceutical biology*, 52(2) :243-254.

-Z-

-Zhang X, Wu X, Hu Q, Wu J, Wang G, Hong Z, Ren J., (2019) *Lab for Trauma and Surgical Infections*. Mitochondrial DNA in liver inflammation and oxidative stress. *Life Sci*. Nov 01; 236:116464.

-Zhang, Y.-J.; Gan, R.-Y.; Li, S.; Zhou, Y.; Li, A.-N.; Xu, D.-P.; Li, H.-B. Antioxidant phytochemicals for the prevention and treatment of chronic diseases. *Molecules* 2015, 20, 21138–21156.

## Résumé

Les médicaments anti-inflammatoires sont liés à de graves effets secondaires. Ainsi, de plus en plus de personnes s'intéressent aujourd'hui aux plantes qui possèdent des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. Parmi ces plantes nous avons sélectionné l'*Echium plantagineum* L. Le but de cette étude est d'analyser *in vitro* l'effet antioxydant et *in vivo* anti-inflammatoire et anti-œdémateux de l'extrait des feuilles de l'*Echium plantagineum* L.

Dans un premier temps, nous avons effectué des dosages colorimétriques des composés phénoliques (polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés) de l'extrait hydroacétométhanolique des feuilles d'*E.plantagineum* L.

Les dosages des composés phénoliques ont démontré la richesse des feuilles d'*E.plantagineum* L. avec une teneur considérable en polyphénols estimée à 580,125mg EAG /g MS, en flavonoïdes 360,53mg EC/g et en tanins condensés 210,21 mg EC/g lui procurant un pouvoir antioxydant puissant avec une IC<sub>50</sub> estimé à 0.34 mg/ml et une EC<sub>50</sub> de 0,56mg/ml respectivement.

Par la suite, le pouvoir antioxydant de l'extrait phénolique a été évalué en utilisant les tests d'inhibition de DPPH et réduction du fer (FRAP). L'effet anti-inflammatoire des feuilles de *E.plantagineum* L. a été évalué en premier *in vitro* par inhibition de la dénaturation thermique des protéines, puis *in vivo* en utilisant la méthode de l'œdème plantaire provoquée par la carragénine chez les rats Wistar.

Ensuite, le test de cytotoxicité a révélé que l'extrait phénolique des feuilles d'*E.plantagineum* L. a un effet d'hémolyse très minimale de 8,5% à une concentration faible de 1,562mg/ml.

L'étude *in vivo* a permis de confirmer le pouvoir anti-inflammatoire des polyphénols des feuilles d'*E.plantagineum* L. en diminuant les volumes des pattes œdémateux à hauteur de 90,64 % des rats traités avec une dose de 400 mg/kg.

Nous pouvons conclure que la propriété anti-inflammatoire des feuilles de l'*Echium Plantagineum* L. est liée au pouvoir antioxydant de ses métabolites secondaires, particulièrement les polyphénols. Par conséquent, ces résultats soutiennent clairement l'utilisation traditionnelle des plantes comme composés alternatifs particulièrement dans le contrôle des maladies inflammatoires.

**Mots clés :** *Echium Plantagineum* L., extrait phénolique, antioxydant, Rats Wistar, carragénine, inflammation.

## Abstrat

Anti-inflammatory drugs are associated with serious side effects. As a result, more and more people are turning to plants with antioxidant and anti-inflammatory properties. Among these plants, we have selected *Echium plantagineum* L. The aim of this study is to analyze the *in vitro* antioxidant and *in vivo* anti-inflammatory and anti-oedematous effect of *Echium plantagineum* L. leaf extract.

First, we performed colorimetric assays of phenolic compounds (polyphenols, flavonoids and condensed tannins) in the hydroaceto-methanolic extract of *E. plantagineum* L. leaves.

Phenolic compound assays demonstrated the richness of *E.plantagineum* L. leaves, with a considerable polyphenol content estimated at 580.125mg EAG /g MS, flavonoids 360.53mg EC/g and condensed tannins 210.21 mg EC/g, giving it a powerful antioxidant power with an IC<sub>50</sub> estimated at 0.34 mg/ml and an EC<sub>50</sub> of 0.56mg/ml respectively.

The antioxidant power of the phenolic extract was then assessed using DPPH inhibition and iron reduction (FRAP) assays. The anti-inflammatory effect of *E.plantagineum* L. leaves was assessed first *in vitro* by inhibition of thermal protein denaturation, then *in vivo* using the carrageenan-induced plantar edema method in Wistar rats.

Next, the cytotoxicity test revealed that the phenolic extract of *E.plantagineum* L. leaves had a very minimal hemolysis effect of 8.5% at a low concentration of 1.562mg/ml.

The *in vivo* study confirmed the anti-inflammatory power of *E.plantagineum* L. leaf polyphenols, reducing oedematous leg volumes by 90.64% in rats treated with a dose of 400mg/kg.

We can conclude that the anti-inflammatory property of *Echium Plantagineum* L. leaves is linked to the antioxidant power of its secondary metabolites, particularly polyphenols. Consequently, these results clearly support the traditional use of plants as alternative compounds particularly in the control of inflammatory diseases.

**Key words:** *Echium Plantagineum* L., phenolic extract, antioxidant, Wistar rats, carrageenan, inflammation.

## ملخص

ترتبط الأدوية المضادة للتهابات بآثار جانبية خطيرة. ونتيجة لذلك، يتجه المزيد والمزيد من الناس إلى النباتات ذات الخصائص المضادة للأكسدة والمضادة للتهابات. من بين هذه النباتات، اخترنا نبات *Echium plantagineum* L. والهدف من هذه الدراسة هو تحليل التأثير المضاد للأكسدة في المختبر ومضاد للتهابات ومضاد للوذمة في الجسم الحي لمستخلص أوراق نبات *Echium plantagineum* L. أولاً، أجرينا فحوصاً لونية للمركبات الفينولية (البوليفينول والفلافونويد والغصن المكثف) في المستخلص المائي الميثانولي لأوراق *E. plantagineum* L. أظهرت فحوصات المركب الفينولي ثراء أوراق نبات *E. plantagineum* L. بمحتوى كبير من البوليفينول يقدر بـ 580.125 ملجم EAG / جم DM، والفلافونويدات 360.53 ملجم EC/جم والغصن المكثف 210.21 ملجم EC/جم، مما يعطيها قوة مضادة للأكسدة مع IC<sub>50</sub> تقدر بـ 0.34 ملجم/مل و EC<sub>50</sub> 0.56 ملجم/مل على التوالي. تم بعد ذلك تقييم القوة المضادة للأكسدة للمستخلص الفينولي باستخدام فحوصات تثبيط DPPH واختزال الحديد (FRAP). تم تقييم التأثير المضاد للتهابات لأوراق *E. plantagineum* L. في المختبر عن طريق تثبيط تمسخ البروتين الحراري، ثم في الجسم الحي باستخدام طريقة الوذمة الحمصية التي يسببها الكاراجينان في قران ويستار. بعد ذلك، كشف اختبار السمية الخلوية أن المستخلص الفينولي لأوراق *E. plantagineum* L. كان له تأثير ضئيل للغاية في انحلال الدم بنسبة 8.5% عند تركيز منخفض قدره 1.562 ملجم/مل. أكدت الدراسة التي أجريت في الجسم الحي القدرة المضادة للتهابات لبوليفينول أوراق *E.plantagineum* L. polyphenols من خلال تقليل حجم الساق المتورمة في 90.64% من القران التي عولجت بجرعة 400 ملجم/كغم

يمكننا أن نستنتج أن الخاصية المضادة للتهابات لأوراق *Echium plantagineum* L. ترتبط بالفترة المضادة للأكسدة لمستقلباته الثانوية وخاصة البوليفينول. وبالتالي فإن هذه النتائج تدعم بوضوح الاستخدام التقليدي للنباتات كمركبات بديلة، لا سيما في مكافحة الأمراض الالتهابية.

**الكلمات المفتاحية:** *Echium Plantagineum* L.، مستخلص الفينول، مضادات الأكسدة، قران ويستار، الكاراجينان، التهاب.