

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université A. MIRA-Bejaia  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Physico- chimique



## Mémoire de Master

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité: Pharmacologie-Toxicologie

# Évaluation des activités biologiques *in vitro* d'une plante Médicinale du genre *Ranunculaceae*

*Présenté par :*

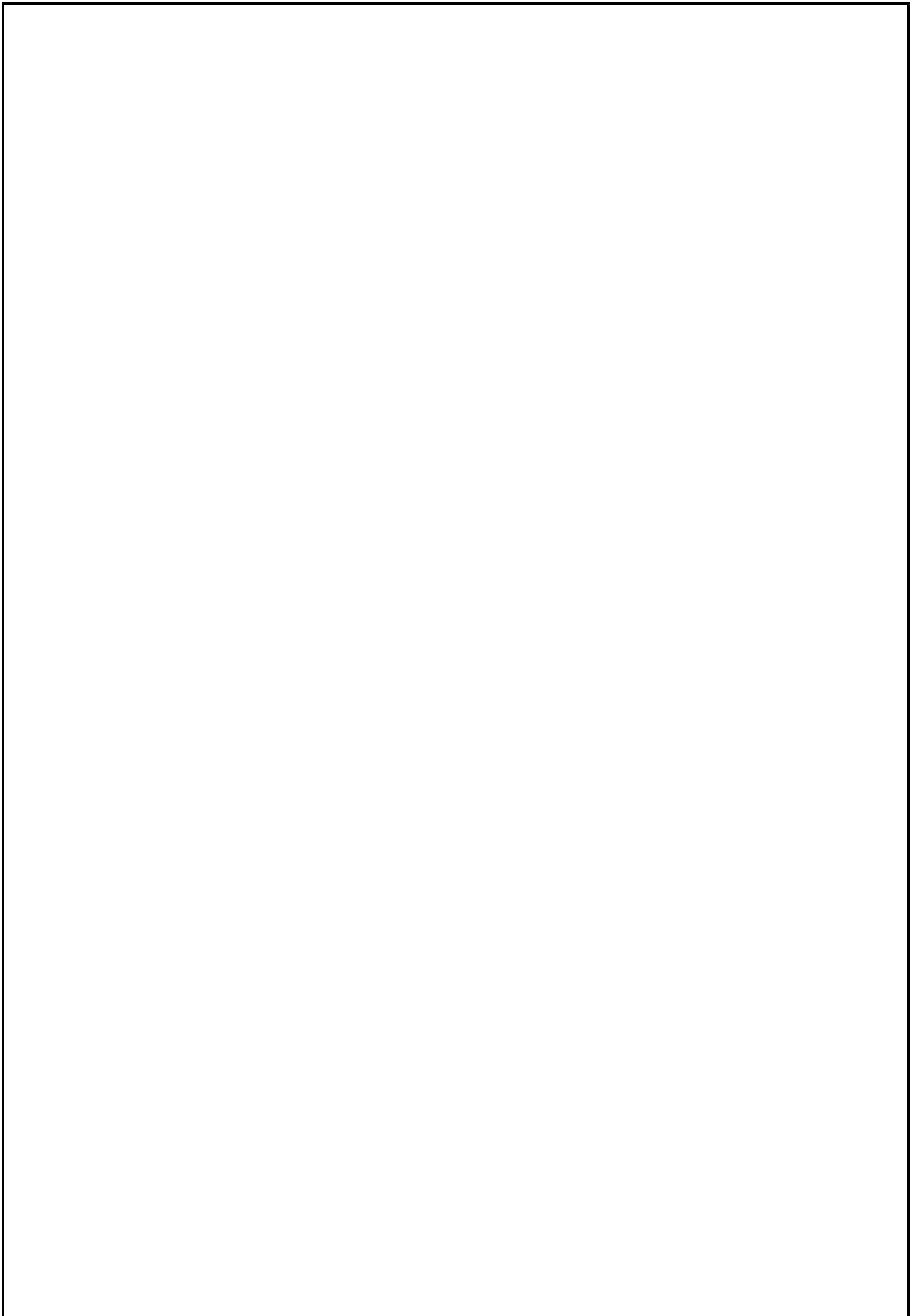
**AISSANI Litissia & CHERIGUI Wissem**

Soutenu le : 27 juin 2023

*Devant le jury composé de :*

M <sup>me</sup> KARA Née KENDI Salima	MAA	Président
M <sup>me</sup> YOUS Farah	MCB	Promotrice
M BELKACEM Nassim	MCB	Examineur

*Année universitaire : 2022 / 2023*



## **Remerciements**

*Nous tenons à remercier tout d'abord Dieu qui nous a aidé, et nous a donné le courage, la force, et la volonté pour réaliser ce modeste travail.*

*Nous tenons à exprimer toute notre reconnaissance et nos remerciements à M<sup>me</sup> YOUS Farah, pour avoir acceptée la charge d'être promotrice de ce mémoire, de nous avoir apporté son aide tout au long de ce travail, pour son temps consacré et sa disponibilité.*

*Nous la remercions pour ses pertinents conseils, ses orientations et pour les efforts qu'elle avait consentis durant la rédaction de ce mémoire, ainsi que pour son soutien moral et scientifique qui nous a permis de réaliser ce projet.*

*Votre sérieux, votre compétence, votre confiance et votre sens du devoir nous ont énormément marqué. Veuillez trouver ici l'expression de notre respectueuse considération et notre profonde impression pour toutes vos qualités humaines et scientifiques.*

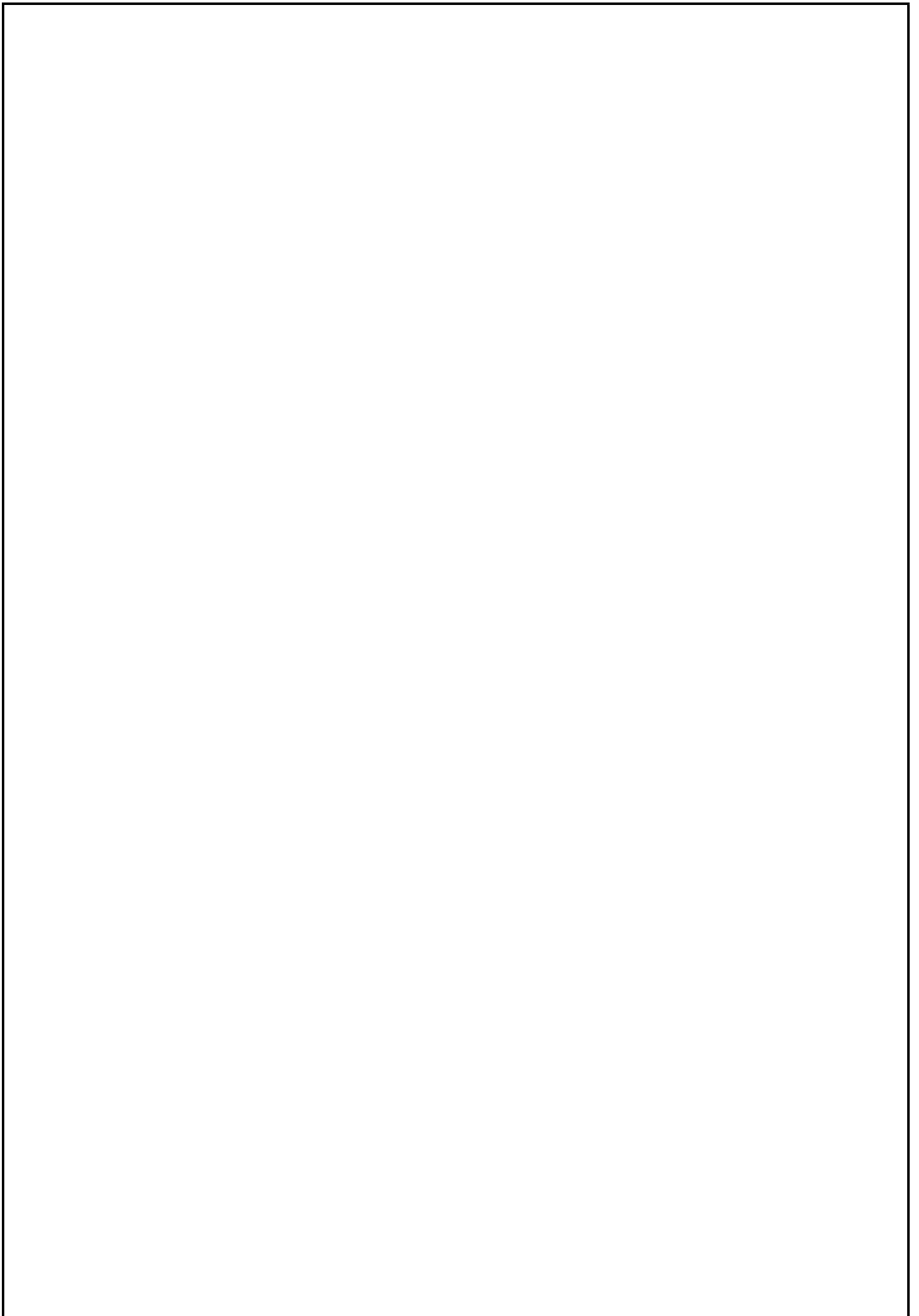
*Nous remercions Mme KARA Née KENDI Salima pour l'honneur qu'elle nous a fait d'accepter de présider ce jury.*

*Nos vifs remerciements s'adressent également à Mr BELKACEM Nassim pour avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Nos remerciements s'adressent également à l'ensemble des enseignants qui ont contribué à notre formation, qu'ils retrouvent à travers ces lignes l'expression de nos grandes reconnaissances pour leurs efforts.*

*Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont également s'adresser à toute personne qui a participé de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.*

*Merci.*



# *Dédicaces*

*J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail*

*À ma très chère Maman*

*Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.*

*Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.*

*À mon cher papa*

*Qui a ma toujours soutenu et encouragé tout au long de mon parcours d'étude, rien au monde ne vaut ces efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.*

*Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation*

*A mes sœur Lina ; Céline ; Lilia et Rania*

*qui n'ont jamais cessé de m'encourager dans la poursuite de mes études en m'apportant soutien moral et financée*

*A mon très cher fiancé Massinissa AIDI*

*Lui qui a été d'un grand soutien moral et de bons conseils, je te dédie ce travaille pour l'expression de ma reconnaissance*

*A tous mes amis et ma binôme Wissem*

*Spécialement Cylia qui a toujours été présente dans les moments difficiles je lui souhaite la totale réussite et plein de bonheur dans sa vie.*

*Sans oublier les adorables Dyhia, Rahim...*

*À tous mes oncles et tantes et à toute ma famille*

*À toute la promotion pharmacotoxicologie 2022/2023.*

*Enfin, à toute personne qui m'est cher au cœur et qui m'a aidé de près ou de loin.*

*Litissia*

# *Dédicaces*

*À ma très chère Maman*

*qui a fondu comme une bougie pour éclairer le chemin de mon éducation et me voir fleurir  
je t'aime, que Dieu te protège et te garde pour moi.*

*À mon cher papa*

*Qui m'a toujours soutenu et encouragé tout au long de mon parcours d'étude, rien au  
monde ne vaut ces efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et pour mon bien être.  
Ce travail est le fruit de tes efforts et des sacrifices que tu as fourni pour mon éducation et  
pour ma formation.*

*À mes très chers frères Mounir, Bachir et Khalil*

*Pour leur soutien, encouragements, amours, conseils et pour les efforts qu'ils ont entrepris  
afin de me voir réussir.*

*À ma belle sœur Asma*

*Merci d'être toujours à mes côtés, votre amour, vos conseils et votre tendresse, pour donner  
du goût et du sens à ma vie.*

*À ma chère amie et ma binôme Litissia*

*Merci d'avoir cru en moi et de m'avoir accompagné durant les cinq derniers mois.*

*À mes tantes et à mes oncles et à leurs familles*

*Je les remercie tout particulièrement pour leurs perpétuels encouragements tout au long de  
ces années d'études. Puissiez-vous trouver dans ce modeste travail le témoin de mon  
affection et estime.*

*À tous mes collègues de la promo de Pharmacotoxicologie merci pour votre belle amitié et  
tous les bons moments passés avec vous.*

*À tous mes amis*

*Spécialement les adorables Rahima Bedjaoui et Nadjla Nekkache , que je considère comme  
« des fille en or » qui m'ont soutenue dans toute la période de mes études merci pour votre  
belle amitié.*

*À tous ceux qui m'ont encouragé, aidé de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.*

*Wissem*

# Sommaire

## Liste des figures

## Liste de tableaux

## Liste des abréviations

I.	INTRODUCTION .....	1
II.	RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE .....	2
II.1.	<b>Radicaux libres.</b> .....	<b>2</b>
II.1.1	Sources des espèces réactives. ....	2
II.1.1.1	Sources endogènes.....	2
II.1.1.2	Sources exogènes. ....	3
II.1.2	Rôles des radicaux libres. ....	4
II.1.2.1	Rôles physiologiques. ....	4
II.1.2.2	Rôles pathologiques. ....	4
II.1.3	Cibles des radicaux libres. ....	5
II.1.3.1	Acide nucléique. ....	5
II.1.3.2	Protéines.....	5
II.1.3.3	Lipides.....	5
II.1.3.4	Glucide.....	5
II.1.4	Maladies liées au stress oxydatif.....	5
II.2.	<b>Antioxydants.</b> .....	<b>6</b>
II.2.1	Antioxydants endogènes. ....	6
II.2.2	Antioxydants enzymatiques. ....	6
II.2.3	Antioxydants non enzymatiques. ....	6
II.2.4	Antioxydants d'origine végétale.....	7
II.3.	<b>Activité anti-inflammatoire.</b> .....	<b>7</b>
II.3.1	Définition.....	7
II.3.2	Différents types de l'inflammation. ....	7
II.3.2.1	L'inflammation aiguë.....	7
II.3.2.2	L'inflammation chronique. ....	8
II.3.3	L'inflammation et dénaturation protéique. ....	8
II.3.4	Les anti-inflammatoires.....	8
II.3.4.1	Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).....	8
II.3.4.2	Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS).....	9
II.3.5	Les anti-inflammatoires d'origine naturelle. ....	9
II.3.6	Méthodes d'étude de l'activité anti-inflammatoire in vitro.....	9

<b>II.4. Clematis flammula L.</b> .....	<b>10</b>
II.4.1. Généralité .....	10
II.4.2. Description botanique .....	10
II.4.3. Classification .....	11
<b>II.4.4. Composition chimique</b> .....	<b>11</b>
II.4.5. Utilisation thérapeutique.....	12
<b>II.5. Saponines.</b> .....	<b>13</b>
<b>II.6. Sucres totaux.</b> .....	<b>13</b>
<b>II.7. composés phénoliques.</b> .....	<b>13</b>
II.7.1. Biosynthèse des composés phénoliques. ....	14
II.7.2. Rôle des polyphénols.....	14
II.7.3 Classification.....	15
II.7.4 flavonoïdes. ....	15
II.1.5 Effet thérapeutique. ....	15
II.1.6 tanins. ....	16
<b>III. MATERIEL ET METHODES</b> .....	<b>17</b>
<b>III.1. Matériel</b> .....	<b>17</b>
III.1.1. Matériel non biologique. ....	17
III.1.1.1 Appareillages.....	17
III.1.2. Matériel végétale. ....	17
<b>III.2. Méthodes</b> .....	<b>17</b>
III.2.1 Analyses phytochimiques .....	17
III.2.1.1 Dosage des polyphénols totaux.....	17
III.2.1.2 Dosage des flavonoïdes. ....	18
III.2.1.3 Dosage des tanins condensés.....	18
III.2.1.4 Dosage des tanins hydrolysables.....	19
III.2.1.5 dosage des saponines. ....	19
III.2.1.6 Dosage des sucres totaux. ....	20
III.2.2 Activité anti inflammatoire.....	20
III.2.2.1 Dosage d'oxyde nitrite NO.....	20
III.2.3 Evaluation de l'activité antioxydants.....	21
III.2.3.1 Test DPPH. ....	21
III.2.3.2 Test ABTS.....	21
<b>IV. RESULTATS ET DISCUSSIONS</b> .....	<b>22</b>
<b>IV.1. Evaluation des paramètres photochimiques</b> .....	<b>22</b>
IV.1 Teneur en polyphénols totaux.....	22
IV.2 Teneur en flavonoïdes.....	23
IV.3 Teneur en tanins condensés.....	24
IV.4 Teneur en tanins hydrolysables.....	25
IV.5 Teneur en Sucre totaux. ....	25
IV.6 Teneur en saponines. ....	26



<b>IV.2. Evaluation de l'activité antioxydants .....</b>	<b>27</b>
IV.2.1 Test de DPPH. ....	27
IV.2.2 Test de l'ABTS. ....	28
<b>IV.3. Evaluation de l'activité anti inflammatoire .....</b>	<b>30</b>
IV.3.1 Activité anti-NO. ....	30
<b>V. CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>32</b>
<b>V.1. Conclusion.....</b>	<b>31</b>
<b>V.1. Perspectives.....</b>	<b>31</b>
<b>VI. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>32</b>
<b>RESUME.....</b>	<b>39</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>39</b>

## Liste des figures

Numéro	Titre	Page
01	Feuilles et fleur de <i>Clematis flammula</i> L.	18
02	Structure des flavonoïdes.	22
03	Structure des tanins (A) hydrolysable (B) condensé.	23
04	Photographie des graines de <i>Clematis flammula</i> L..	25
05	Droite d'étalonnage de dosage de l'acide gallique.	31
06	Droite d'étalonnage de dosage de la quercétine.	32
07	Droite d'étalonnage de dosage des cathéchines.	33
08	Droite d'étalonnage de dosage de l'acide tanique.	33
09	Droite d'étalonnage de dosage du D-glucose.	34
10	Droite d'étalonnage de dosage de la diosgénine.	35
11	Droite d'étalonnage servant pour retrouver IC50 du DPPH de l'EEGCF.	36
12	Droite d'étalonnage servant pour retrouver IC50 du ABTS de l'EEGCF.	37
13	Courbe des inhibitions pour le calcul des IC50 de l'EEGCF.	38

## Liste des tableaux

Numéro	Tableau	Page
01	Classification taxonomique de <i>Clematis flammula</i> L..	18
02	Principaux noms vernaculaire de la plante <i>Clematis flammula</i> L..	18

## Liste des abréviations

<b>ADN</b>	Acide désoxy-ribo-nucléique
<b>AINS</b>	Anti-inflammatoires non stéroïdiens
<b>AIS</b>	Anti-Inflammatoires Stéroïdiens
<b>AMP</b>	Adénosine MonoPhosphate
<b>ARN</b>	Acide ribo-nucléique
<b>ATP</b>	Adénosyl-triphosphate
<b>COX2</b>	CycloOXygenase de type 2
<b>EEGCF</b>	Extrait Éthanolique de grains de <i>Clematis flammula</i> L.
<b>ERO</b>	Espèces Réactives de l'Oxygène
<b>GCF</b>	Grain de <i>Clematis flammula</i> L.
<b>HO<sup>•</sup></b>	Radical hydroxyle
<b>IC50</b>	50% Inhibitory Concentration (concentration inhibitrice médiane)
<b>NADH</b>	Nicotinamide Adénine dinucléotide
<b>NADPH</b>	Nicotinamide Adénine dinucléotide phosphate
<b>NO</b>	Oxyde Nitrique
<b>OMS</b>	Organisation Mondiale de la Santé
<b>PBS</b>	Phosphate Buffer Salin (Tampon phosphate)
<b>RL</b>	Radicaux libres
<b>RPM</b>	Rotation Par Minute
<b>ABTS</b>	Acide 2,2-Azino-Bis (3-éthylbenzothiazolin-6-sulphonique)
<b>DPPH</b>	2,2- Diphenyl-1-Picrylhydrazyl

# ***I. Introduction***

Les plantes médicinales sont connues et utilisées traditionnellement dans plusieurs régions du monde de par leur efficacité (**Djeddi et al., 2015**). Selon l’OMS, dans de nombreux pays, l’utilisation des produits phytochimiques à des fins pharmaceutiques augmente. En effet, ils contiennent des composés naturels bioactifs appelés métabolites secondaires capables de traiter de nombreuses pathologies, de plus, plusieurs études ont approuvé la présence et la diversité des activités de ces métabolites secondaires (**Bruneton, 1999 ; Haddouchi et al., 2016**).

Les métabolites secondaires végétaux ont plusieurs intérêts mis à profit dans l’industrie, en alimentation, en cosmétologie et en pharmacie. Ces composés sont en grande mesure illustrés en thérapeutique et en pharmacologie (**Bahorun, 1997**). *Clematis flammula* L. est utilisée en médecine conventionnelle depuis le début de la civilisation chinoise. Cette espèce est répandue dans le monde mais surtout dans le sud de l’Europe et du nord de l’Afrique, elle est notamment largement utilisée en Algérie car elle occupe une place importante dans la recherche scientifique (**Bruneton, 1999 ; Chawla et al., 2012 ; Hao et al., 2013 ; Ayouni et al., 2016**).

Comme aucune étude d’activité phytochimique et biologique n’a été réalisée sur les grains de *clematis flammula* L. et que cette espèce est très utilisée pour traiter de nombreuses pathologies comme la sciatique, les rhumatisme, l’arthrite, les brûlures superficielles, les cancers et les ulcères (**Bellakhdar, 1997 ; Rivera et al., 2008 ; Meddour et al., 2010**).

Sachant que l’inflammation et les attaques oxydantes sont un terrain favorable pour de multiples maux, il serait nécessaire d’évaluer les activités antioxydants et anti-inflammatoire des extraits des graines de cette espèce et d’estimer la teneur de leurs composés actifs essentiels et de leurs activités biologiques et de confirmer ainsi la pertinence de son utilisation comme remède traditionnel.

## *II. Recherche bibliographique*

## **II.1. Radicaux libres.**

Un radical libre est défini comme toute molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés, cette molécule est très instable et réagit rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité. En effet, une réaction en chaîne débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche en lui arrachant son électron, et la molécule attaquée devient elle-même un radical libre (**Martinez-Cayuela, 1995**).

Le terme ERO réfère aux espèces oxygénées qu'elles soient radicalaires tels que l'anion superoxyde et le radical hydroxyle ou non radicalaires tel que l'oxygène singulet, le peroxyde d'hydrogène (**Pincemail et al., 2002**). Par contre, les espèces réactives nitrogenées (ERN) sont produites à partir d'espèces réactives de l'azote (**Valko et al., 2007**) et sont représentées par le monoxyde nitrique ( $\text{NO}^\circ$ ) synthétisé à partir de L-Arginine par les NO synthases en présence de l'oxygène et du NADPH et d'oxygène.

En biologie, l'intérêt de cet élément est focalisé sur son effet vasodilatateur (**Gutteridge, 1995 ; Valko et al., 2007**). Quant au peroxyde nitrique ( $\text{ONOO}^-$ ), molécule cytotoxique extrêmement réactive produite en présence de l'anion superoxyde et le monoxyde d'azote (**Pincemail et al., 2002 ; Vamecq et al., 2004**).

Le produit de cette réaction est généralement considéré comme étant un médiateurs chimiques (**Bérard, 1997**) et un puissant oxydant qui traverse les membranes biologiques (**Delemasure et al., 2006**). En outre, aucun système enzymatique spécifique n'est capable de le dégrader à l'exception des séléno-protéines (**Vergely et Rochette, 2002**).

### **II.1.1 Sources des espèces réactives.**

#### **II.1.1.1 Sources endogènes.**

Au cours du transfert d'électrons dans la chaîne respiratoire au niveau de la membrane interne de la mitochondrie, environ 2 à 3% de l'oxygène subit une réduction monoélectronique, conduisant à la formation du radical superoxyde  $\text{O}_2^{\cdot-}$ , au niveau de l'ubiquinone (coenzyme Q) (**Gardès et al., 2003; Mozaffarieh et al., 2008**). L'inflammation est également considérée comme une source supplémentaire non négligeable de radicaux oxygénés produits directement par les cellules phagocytaires activées qui sont le lieu de l'explosion oxydative. Ce phénomène se produit via l'activation du complexe de la NADPH oxydase, enzyme capable d'utiliser l'oxygène moléculaire pour



synthétiser de l'anion superoxydes. Sous contrôle, ce mécanisme est primordial contre les attaques infectieuses.

De plus, La NADH deshydrogénase, située dans la membrane mitochondriale interne, tout comme la NADPH oxydase présente au niveau des cellules endothéliales vasculaires, peuvent conduire à la formation de radicaux superoxydes (**Favier, 2003 ; Ushio-Fukai et Wayne, 2004**).

➤ **Xanthine oxydoréductase.**

Cette enzyme est présente en grande quantité au cours de l'ischémie où ATP intracellulaire est catabolisé en AMP puis en hypoxanthine. Cette dernière en présence de l'oxygène au cours de la reperfusion, est oxydée par la xanthine oxydase en xanthine puis en acide urique. Cette oxydation est en plus accompagnée d'une libération d'anion superoxyde et ses dérivés radicalaires (**Martin et al., 2004 ; Margail et al., 2005**).

➤ **Oxyde nitrique synthétase.**

L'oxyde nitrique synthase (NOS) est une enzyme qui produit naturellement le NO°, via une réaction qui épuise du β-nicotinamide adénine dinucléotide réduit (NADPH) et de l'O<sub>2</sub> pour oxyder la L-arginine en citrulline et en NO°. Les NOS utilisent pour fonctionner un ensemble de co-facteurs : la tétrahydrobioptérine (BH<sub>4</sub>), la flavine mononucléotide (FMN) et un groupement héménique (protoporphyrine IX de fer) ainsi que la flavine adénine dinucléotide (FAD) ( **Sennequier et Vadon-Le Goff, 1998 ; Genestra et al., 2006**).

### **II.1.1.2 Sources exogènes.**

La fumée de cigarettes, les résidus de médicaments, l'exposition prolongée au soleil, la pollution atmosphérique, l'ozone, les radiations et les pesticides représentent les sources majeures des oxydants exogènes (**Pincemail et al., 1998 ; Favier, 2003 ; Berger, 2006**). Egalement, une utilisation accrue de l'oxygène durant l'effort physique, augmente la formation d'ERO au niveau des mitochondries des cellules musculaire (**Pincemail et al., 2001**).

D'autres éléments naturels tel que les métaux de transition sont également considérés comme des espèces pro-oxydantes source des radicaux par le biais de leur forme oxydée, mais aussi par celui de leur forme réduite, qui peut réduire une espèce oxydante en une espèce beaucoup plus réactive, notamment la réaction de Fenton dans le cas du Fer, chrome, cuivre, etc) (**Fontaine, 2003 ; Vamecq et al., 2004**).

## **II.1.2 Rôles des radicaux libres.**

### **II.1.2.1 Rôles physiologiques.**

À concentrations physiologiques, les RL peuvent intervenir dans le contrôle d'un certain nombre de fonctions cellulaires sans être cytotoxiques (**Vamecq *et al.*, 2004**). En effet, leurs rôles sont primordiales et indispensables à l'organisme en s'impliquant dans divers processus vitaux, dont transduction des signaux cellulaires comme médiateurs (**Huet et Duranteau, 2008**) intra ou extracellulaires, en induisant la réponse cellulaire à de nombreux stimuli physiques (rayons ultraviolets) et chimiques (xénobiotiques) (**Berger, 2006**).

Leurs rôles peuvent également s'étendre à la régulation des gènes et au fonctionnement de certaines enzymes (**Vamecq *et al.*, 2004 ; Huet et Duranteau, 2008**). Lors des attaques par des microorganismes pathogènes, les RL jouent un rôle important dans leur inactivation et leur destruction. Cette aptitude est rendue possible par l'induction de la peroxydation et de la déstabilisation des membranes, par oxydation et inactivation de leurs protéines de structure (**Demoffarts *et al.*, 2005**).

### **II.1.2.2 Rôles pathologiques.**

Une perturbation du statut oxydatif intracellulaire qui résulte d'un déséquilibre entre les systèmes producteurs d'espèces radicalaires oxydantes et les systèmes de défense antioxydants au profit des premiers est appelé stress oxydant (**Bonnefont-Rousselot *et al.*, 2002 ; De Moffarts *et al.*, 2005**).

En l'occurrence, les modifications génomiques, métaboliques et fonctionnelles induites par les RL ont été impliquées dans le développement de différentes pathologies (**Berger, 2006**). De nombreux travaux indiquent que les RL sont impliqués dans le développement de plusieurs pathologies, à savoir les maladies neurodégénératives, les maladies cardiovasculaires, les cancers...etc (**Pincemail *et al.*, 2002 ; Berger, 2006 ; Huet et Duranteau, 2008**).

## **II.1.3 Cibles des radicaux libres.**

### **II.1.3.1 Acide nucléique.**

Les groupes réactifs dans les bases de l'ADN, sont fortement susceptibles de l'attaque des radicaux libres, ce qui aboutit à des mutations géniques qui provoquent la mort cellulaire ou à des carcinogènes ou à une toxicité (**Sreelatha et Padma, 2009**).

### **II.1.3.2 Protéines.**

Des oxydations des acides aminés et la rupture des ponts entre protéines (dénaturation), mènent à des altérations au niveau des structures protéiques. Notamment à des modifications de la charge électrique et de la conformation structurale. Ces événements sont la source de perte des fonctions catalytiques ou structurales et d'une accélération de la protéolyse (**Lemarchand, 2008**). Ces remaniements non physiologiques dérèglent les signaux de prolifération ou de défense cellulaire et génèrent des dépôts responsables d'amyloidose et de fibrose (**Favier, 2003**).

### **II.1.3.3 Lipides.**

L'attaque des lipides par les molécules oxydantes est un processus complexe se produisant en cellules en aérobie entre molécule d'oxygène et acides gras polyinsaturés provoquant le dysfonctionnement des membranes et dépôt de lipides oxydés dans les vaisseaux ou tissus âgés (**Rasool et al., 2011**).

### **II.1.3.4 Glucide.**

Le radical OH peut couper les molécules de sucres et laisser apparaître des liaisons entre sucres et protéines provoquant un épaississement membranaire (**Pasquier, 1995**).

## **II.1.4 Maladies liées au stress oxydatif.**

La majorité des pathologies pour ne pas dire la totalité sont causées par le stress oxydatif. Ces déséquilibres font apparaître des molécules biologiques anormales, de plus, en activant ou en élevant le taux d'expression de certains gènes. Le cancer, la cataracte, la sclérose latérale amyotrophique, le syndrome de détresse respiratoire aigu, l'œdème pulmonaire, le vieillissement accéléré, l'Alzheimer, la maladie de Parkinson, les infections intestinales, le rhumatisme, l'athérosclérose et le diabète... sont tous des pathologies causées par le stress oxydatif (**Atawodi, 2005, Georgetti et al., 2003**).

## **II.2. Antioxydants.**

Les antioxydants contribuent fortement à minimiser l'impact des radicaux libres sur la cellule (**Goussard, 1999**). En effet, des systèmes de défense spécifiques contre le stress oxydatif visent en première ligne à limiter les réactions radicalaires qui sont en majorité irréversibles (**Ré et al., 2004**), protégeant ainsi l'organisme des effets délétères des espèces réactives à l'oxygène (**Haleng et al., 2007**), notamment à corriger les dommages et les pathologies qui en découlent (**Roussel, 2009**). Au niveau de l'organisme, ils sont présents dans les compartiments intracellulaires, membranaires et extracellulaires. Ils agissent de manière directe ou indirecte en prévenant la formation des EROs ou en les captant (**Fontaine et al., 2002**). Ils sont réparties en deux groupes distincts, endogènes et exogènes (**Durand et al., 2013**).

### **II.2.1 Antioxydants endogènes.**

Au niveau cellulaire, la production des ERO est contrôlée par des systèmes de défense enzymatiques et non enzymatiques (**Matés, 1999**).

### **II.2.2 Antioxydants enzymatiques.**

En effet, la cellule est dotée de nombreuses enzymes à activité antioxydants comme la superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GPx) et la catalase (CAT) (**Beckman et Ames, 1998**).

### **II.2.3 Antioxydants non enzymatiques.**

L'action protectrice non enzymatique est conduite par celle de différents composés réducteurs d'origine métabolique. En effet, ces composés antioxydants sont synthétisés au niveau de l'organisme et parmi lesquels nous avons le glutathion, l'acide lipoïque, la L-arginine, l'ubiquinone, l'acide urique, la mélatonine, la bilirubine...etc (**Beckman et Ames, 1998**).

## **II.2.4 Antioxydants d'origine végétale.**

Les plantes médicinales notamment l'alimentation sont d'importants apports d'antioxydants qui jouent un rôle majeur dans la lutte contre le stress oxydatif. Les plus pertinents sont les vitamines E et C, les caroténoïdes, les polyphénols, les acides gras oméga-3 et oméga-6 ainsi que des traces de métaux (sélénium, manganèse, et zinc) (Kalam *et al.*, 2012).

## **II.3. Activité anti-inflammatoire.**

### **II.3.1 Définition.**

L'inflammation est une réponse protectrice innée aux lésions tissulaires provoquée par des traumatismes physiques, substances chimiques ou des microbes (Gy *et al.*, 2008). Sa fonction principale est d'éliminer l'infection et de réparer les dommages (Lafuente *et al.*, 2009). Cependant, cette réaction se manifeste par des symptômes tels qu'une rougeur, de la chaleur, une douleur et un œdème (Musteur, 2005). Elle se déroule en quatre étapes : la reconnaissance des signaux de danger, le recrutement des cellules sur le site de l'infection, élimination du pathogène, la résolution de l'inflammation à la cicatrisation du tissu lésé (Barton, 2008).

Les médiateurs chimiques spécifiques changent avec le type de processus inflammatoire et incluent des amines telles que l'histamine ; la sérotonine, les prostaglandines et les kinines (Vijayalakshmi, 2011). Il y a également des augmentations de certaines protéines plasmatiques et des leucocytes sanguines, également, la génération de la fièvre (Shankhjit *et al.*, 2010). Cependant, une activation excessive peut causer l'inflammation chronique (Lafuente *et al.*, 2009).

### **II.3.2 Différents types de l'inflammation.**

#### **II.3.2.1 L'inflammation aiguë.**

L'inflammation aiguë est une réponse précoce et immédiate à un agent agresseur, caractérisée par des phénomènes vasculo-exsudatif intenses. Elle peut être divisée en trois grandes phases : une phase vasculaire immédiate, une phase cellulaire consécutive, et une phase de résolution et de cicatrisation (Dorward *et al.*, 2012) .

### **II.3.2.2 L'inflammation chronique.**

L'inflammation chronique est une évolution de l'inflammation aiguë (Serhan et al., 2010). La perturbation de son contrôle physiologique conduit à la chronicité de l'inflammation. Le tabagisme, l'hypertension artérielle ou certaines maladies auto-immunes, peuvent engendrer une inflammation chronique, tout comme l'obésité, la sédentarité ou le stress (Anzai et al., 2004). Elle fait intervenir des cellules lymphocytaires spécifiques et l'apparition de molécules d'adhésion qui permettant leur transmigration dans les compartiments extravasculaires. Elle est à l'origine de différentes maladies chroniques (Cavaillon, 1993). Il existe deux types de l'inflammation chronique ; l'inflammation chronique spécifique ou l'inflammation granulomateuse (Pahwa, 2020).

### **II.3.3 L'inflammation et dénaturation protéique.**

Les peroxydes et les radicaux libres formés pendant l'inflammation peuvent causer l'oxydation, la décarboxylation, la désamination et les dommages structurels des acides aminés (Govindappa et Poojashri, 2011), ce qui peut donner naissance à des protéines non fonctionnelles, souvent observables chez les patients présentant la maladie de Parkinson, d'Alzheimer et le cancer (Sakat et al., 2010).

### **II.3.4 Les anti-inflammatoires.**

Les anti-inflammatoires sont utilisés pour traiter toutes les pathologies à caractère inflammatoire, doués en outre d'une activité antipyrétique et antalgique (Muster, 2005) et destinés à éviter la transformation de la phase aiguë de l'inflammation en phase chronique (Orliaguet et al., 2013). Ces molécules sont classées en trois catégories :

#### **II.3.4.1 Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).**

C'est une catégorie de médicaments renfermant de nombreuses molécules, telles que le diclofénac, l'ibuprofène, l'aspirine et l'indométacine (Erdogan et al., 2019). Leur mode d'action est d'empêcher la formation de prostaglandines responsables de l'inflammation en inhibant la production de la cyclooxygénase (Krzyszinski et Piront, 2002).

#### **II.3.4.2 Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS).**

Les glucocorticoïdes sont dérivés du cortisol. Ils possèdent des propriétés anti-inflammatoires, antiallergiques et immunosuppressives puissantes (**Jacqz-aigrain et Guillonnet, 1998**) et a une action inhibitrice de la synthèse des prostaglandines, qui s'exerce spécifiquement sur la phospholipase A2 au début du métabolisme de l'acide arachidonique (**Muster, 2005**). Ils ont une action cytoplasmique et génomique (**Janeway et al., 2001**). L'induction de l'expression de gène anti-inflammatoire et inhibent la production des prostaglandines en réprimant l'expression de gène pro-inflammatoire (**Weill et Batteux, 2003**).

#### **II.3.5 Les anti-inflammatoires d'origine naturelle.**

Certains composés phytochimiques possèdent une activité anti-inflammatoire et ont pour cibles particulières les cyclooxygénases, les lipoxygénases, le NO, la phospholipase A2...etc (**Yatoo, 2018**). Ces molécules présentent un intérêt grandissant, avec moins d'effets secondaires (**Dhingra et al., 2018**). Ils peuvent agir en synergie avec les enzymes, les protéines de la voie antiinflammatoire ou interférer avec ceux-ci dans la voie inflammatoire comme les lipoxygénases, les cyclooxygénases, les facteurs de nécrose tumorale, les interleukines, la prostaglandine, et l'oxyde nitrique (**Yatoo, 2018**).

#### **II.3.6 Méthodes d'étude de l'activité anti-inflammatoire in vitro.**

Les tests *in vitro* se font généralement sur les molécules ou les cellules qui sont impliquées dans l'activité inflammatoire. Parmi ces tests on cite le test de la dénaturation des protéines, test de stabilité membranaire et test d'inhibition d'enzyme pro-inflammatoire (**Seeman, 1967 ; Charlier et Michaux, 2003**).

## II.4. *Clematis flammula* L.

### II.4.1. Généralité.

La clématite est une plante qui appartient au genre des *Ranunculaceae* contenant près de 350 espèces. Ce genre est distribué dans le monde et est cultivé localement dans la région médiane des deux hémisphères terrestre avec un certain nombre d'espèces diffusé dans les zones tropicales (Tamura, 1995).

*C. flammula* L. est une espèce caractéristique du bassin méditerranéen, très répandu dans les haies et les bois. Elle est cultivée en Europe du sud et en Afrique du nord comme plante médicinale et fait partie des 147 espèces des *Clematis* recensées en chine (Wu *et al.*, 2001).

L'espèce qui est originaire de l'Europe méridionale et l'Afrique du Nord est cultivée dans le monde entier comme plante ornementale dans les jardins. C'est également utilisé par les populations rurales en Algérie (Kabylie) pour traiter la polyarthrite rhumatoïde, les brûlures et les plaies superficielles (Atmani *et al.*, 2009). Est largement utilisée traditionnellement par les populations indigènes berbères en Algérie pour traiter les troubles gastro-intestinaux (Yous *et al.*, 2018).

### II.4.2. Description botanique.

*Clematis flammula* L. est une espèce ligneuse, connue sous le nom de « berceau de la vierge odorante » grimpante et vigoureuse, d'environ 5m de long, à feuilles bipennées et caduques, composées de 5 à 7 folioles étroites. Elle présente des fleurs blanches et odorantes, à floraison en période estivale (de juin à aout) (Baba Aissa, 1999).





**Figure 01** : Feuilles et fleurs de *Clematis flammula* L. (photographies originales).

Connue sous son nom kabyle azenzou, ou encore Clématite brulante en français et Yasmine el-beri en arabe, cette plante est caractérisée par la présence de proto-anémone au niveau des feuilles, une molécule extrêmement irritante pour la peau et les muqueuses (Bézanger-Beauquesne, 1990).

### II.4.3. Classification.

**Tableau (1)** : Classification taxonomique de *clematis flammula* L. (Bernard, 1997).

<b>Rang taxonomique</b>	Nomenclature Règne
<b>Règne</b>	Plantae-Végétal
<b>Division</b>	Magnoliophyta- plante à fleur
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Ordre</b>	Ranunculales
<b>Famille</b>	Ranunculacea
<b>Genre</b>	Clematis
<b>Espèce</b>	<i>Clematis flammula</i> L.

**Tableau (2)** : Principaux noms vernaculaire de la plante *clematis flammula* L. (Bernard, 1997).

Nom scientifique	Nom vernaculaire berbère	Nom vernaculaire arabe	Nom commun
<i>Clematis flammula</i> L.	Azenzu ; Zenzou ; Azrou ; Touzimth ; Timedjerdim	Noard barda Yasmine bari Sebenq	Clématite brulante

### II.4.4. Composition chimique.

Les espèces de clématite ont un large éventail de constituants chimiques tels que les triterpènes, les flavonoïdes, les lignanes, les coumarines, les alcaloïdes, les huiles volatiles, les stéroïdes, les acides organiques, les composés macrocycliques et les polyphénols (Marc et al., 2008).

Des études ont révélé que les racines de *Clematis chinensis* L. étaient riches en triterpenoïdes, saponines, flavonoïdes et lignanes. Malgré leur utilisation en médecine traditionnelle, ces espèces possèdent d'autres molécules toxiques telles que les substances protoanémone, l'acide aristolochique, l'anémone, la clématite, un produits chimiques

qui irritent la peau et les muqueuses, cependant, cette propriété disparaît lorsque la plante est séchée (**chawla et al., 2012**).

#### **II.4.5. Utilisation thérapeutique.**

*Clematis flammula* appelée clématite (**Marc et al., 2008**) est utilisée dans le traitement de nombreux maux, en particulier l'arthrite et les brûlures superficielles, également le cancer (**Atmani et al., 2011**). La clématite est également utilisée comme diurétique, transpiration, excitation, rougeur et soulagement de la douleur. Cette plante est également utilisée pour traiter les brûlures topiques et les plaies graves (**chawla et al., 2012**).

Dans les revues de la littérature scientifique, l'effet anti-inflammatoire (**Bremner et al., 2009**) et le potentiel antioxydants des extraits de feuilles de *Clematis flammula* L. ont été étudiés (**Atmani et al., 2009**). En effet, la clématite est une source botanique de divers composants pharmacologiquement actifs, qui a longtemps été utilisée en médecine conventionnelle depuis le début de la civilisation chinoise.

Traditionnellement, administrée par voie orale pour traiter la polyarthrite rhumatoïde, les troubles osseux, les maladies chroniques de la peau et est utilisé comme diurétique. Par ailleurs, la clématite est appliquée sur les surfaces corporelles pour les ampoules et est également utilisée comme cataplasme pour traiter les infections purulentes et les ulcères (**Hao et al., 2013**).

De plus, 26 espèces de Clématites sont traditionnellement utilisées sous diverses formes, pour le traitement de maladies telles que les troubles neurologiques, la syphilis, la goutte, le paludisme, l'inflammation des intestins, les rhumatismes, l'asthme, etc. en effet, elle a une action analgésique, anti-inflammatoire, diurétique, antitumorale, antibactérienne et anticancéreuse (**Chawla et al., 2012**).

Egalement utilisée dans le traitement de la maladie dite bûzelûm (sorte de sciatique), où on réalise avec la plante fraîche un cataplasme qu'on applique, le soir sur la région douloureuses (**Benkhniq, 2011**) (**boullard, 2001**). Les feuilles sont de même, utilisées pour le soulagement temporaire des plaies fréquentes. Cette partie est appliquée après avoir été fraîchement broyée sur l'articulation enflammée pendant environ 15 à 30 minute (**Yesilada et Kuperi, 2007**).

## **II.5. Saponines.**

Les saponosides ou saponines sont un groupe de métabolites secondaires que l'on trouve couramment dans les plantes. Leur nom est dérivé du latin *sapo*, signifiant savon, en raison de leur capacité à former des solutions mousseuses en présence d'eau (**Bruneton, 1999**). Se sont un grand groupe de glycosides largement distribués dans les plantes supérieures.

Ces composés se distinguent des autres glycosides par leurs propriétés tensioactives (**Sparg *et al.*, 2004**). En effet, Ils possèdent un large éventail de propriétés pharmacologiques et pharmaceutiques, hémolytiques et des activité antibactérienne et insecticide (**Baumann *et al.*, 2000**). Ils sont également demandées dans l'industrie pharmaceutique car elles sont le point de départ de la semi-synthèse des médicaments stéroïdiens et elles sont utilisées dans l'industrie cosmétique (**Estrada *et al.*, 2000**).

## **II.6. Sucres totaux.**

Les sucres jouent un rôle prédominant dans la vie végétale, ont un rôle dans la conversion en composés de stockage (lipides, saccharose ou amidon), et dans la régulation des processus métaboliques dépendant de concentration en sucre (**Loretti *et al.*, 2001**). Ont d'autres ont rôles structuraux (cellulose, chitine) et des rôles biologiques importants, comme les signaux de reconnaissance (glycanes des glycoprotéines et des glycolipides) (**Well, 2001**).

## **II.7. composés phénoliques.**

Les composés phénoliques sont les produits du métabolisme secondaire des plantes, (**Martin et Andrantsitohaina, 2002**). Ces composés possédants dans leur structure, au moins un noyau benzénique en commun, auquel sont directement liés un ou plusieurs groupes hydroxyles substitués à d'autres molécules, fréquemment à des sucres (résidus glycosides) (**Giada, 2013**).

Environ 8000 composés compose ce groupe, divisés en plusieurs catégories, comprennent les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins (**Middleton *et al.*, 2000**). Leur répartition qualitative et quantitative dans la plantes varient selon l'espèce, l'organe, le tissu ou le stade de développement et se caractérisent par La présence de groupements phénoliques dans sa structure (**Kuhnau, 1976**).

On distingue :

- Les acides phénoliques (C6-C1etC6-C3),
- Les flavonoïdes (C6-C3-C6),
- Les lignanes (C6-C3-C3-C6),
- Les stilbènes (C6-C2-C6).

### II.7.1. Biosynthèse des composés phénoliques.

Les composés phénoliques sont principalement synthétisés à partir d'hydrates de carbone via deux voies (Martin et Andrantsitohaina, 2002) :

- Celle de l'acide shikimique : responsable de la conversion des glucides phosphates, issue de l'oxydation des pentoses phosphates après transamination et / ou désamination, en acides cinnamiques et à leurs nombreux dérivés tels que les acides benzoïques ou les phénols simples.
- Celle de l'acétate : qui conduit à des polyacétates de longueurs variables menant par cyclisation à des composés polycycliques tels que les dihydroxy-1,8 anthraquinones ou à des naphthoquinones.
- La combinaison des deux voies conduit à la formation de composés d'origine mixte, les flavonoïdes.

### II.7.2. Rôle des polyphénols.

Comme cité plus haut, ils suscitent un intérêt thérapeutique grandissant, notamment en raison de leurs effets bénéfiques sur la santé (Koechlin-Ramonatxo, 2006). Leur rôle d'antioxydants naturels attire de plus en plus l'attention dans la prévention et le traitement des cancers, de l'inflammation et des maladies cardiovasculaires (Vârban *et al.*, 2009).

Les composés phénoliques varient en structure à partir de simples cycles aromatiques de faible poids moléculaire jusqu'à très haut poids moléculaire, selon le nombre et la disposition des atomes de carbone qui les composent et en fonction de leurs propriété (Chénier *et al.*, 1997). Ils sont impliqués dans les réponses de défense contre divers stress biotiques ou abiotiques (agents pathogènes, rayonnement UV, etc).

### II.7.3 Classification.

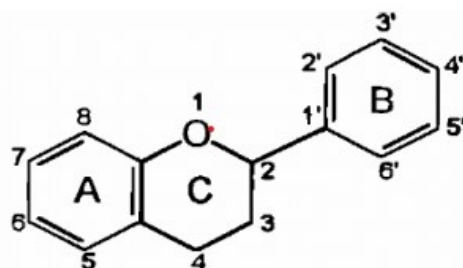
Les composés phénoliques peuvent être classés de différentes manières en raison de leur diversité et de la présence d'un grand nombre d'hétéro-structures

- Les acides phénoliques :

Les acides phénoliques sont des composés organiques qui ont au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ils sont représentés par deux sous-classes : les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (C6-C1) et les dérivés de l'acide hydroxycinnamique (C6-C3) (Pandey *et al.*, 2009).

### II.7.4 flavonoïdes.

Les flavonoïdes occupent une large catégorie des composés phénoliques, responsables de la coloration des fleurs et des fruits. Ils existent sous forme de glycosides solubles (Guignard, 1979). Des remèdes à base de plantes renfermant des flavonoïdes sont utilisés en médecine traditionnelle de par le monde (Di Carlo *et al.*, 1999). Les flavonoïdes peuvent être classés selon leurs natures chimiques, en flavones, flavonols, flavanols, isoflavonoïdes, flavanones et anthocyanes (Vauzour, 2012).



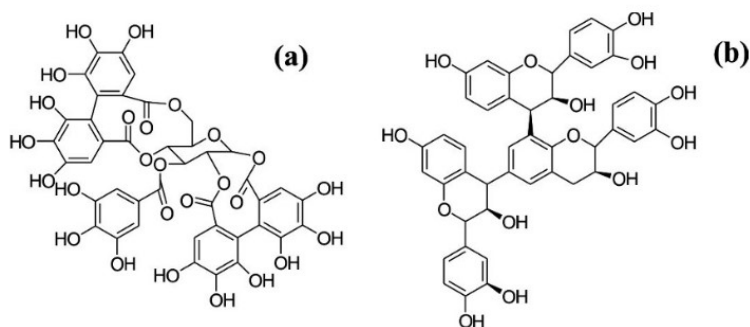
Figure(2): Structure de base des flavonoïdes (Ghedira, 2005).

### II.1.5 Effet thérapeutique.

Ils jouent un rôle très important dans le traitement du diabète (inhibant l'aldose réductase), de la goutte (inhibant la xanthine oxydase), des inflammations (inhibant la lipoxygénase, la phospholipase et la cyclooxygénase), des hépatites, des tumeurs, de l'hypertension (quercétine), des thromboses (flavonols), des allergies et des affections bactériennes et virales (anti-HIV) (Greenberg et Yao, 2004).

## II.1.6 tanins.

Les tanins sont des polyphénols que l'on trouve dans de nombreux végétaux tels que les écorces d'arbres et les fruits (raisin, datte, café, cacao...). Leur structure complexe est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leur centre asymétrique ainsi que par leurs degrés d'oxydation (**Bruneton, 2008**).



**Figure (3):** Structure des tanins (A) hydrolysables et (B) condensés

(**Das et al., 2020**).

Classiquement on distingue deux groupes de tanins : les tanins hydrosolubles (l'acide gallique) et les tanins condensés (la catéchine), qui diffèrent par leur structure et leur origine biogénétique. Ils sont d'une extrême diversité dont les propriétés tannantes sont basées sur le fait qu'ils précipitent dans les solutions aqueuses certaines protéines de la peau, en particulier la gélatine, leurs solutions aqueuses ont un caractère acide (**Cuirs et Peaux, 1947**).

# ***III. Matériel et Méthodes***

## III.1. Matériel.

### III.1.1. Matériel non biologique.

#### III.1.1.1 Appareillages.

Micropipettes, vortex, bain marie, balance de précision, Spectrophotomètre, pH mètre, cuve en quartz et en verre, barreaux magnétiques, verrerie, eppendorfs, centrifugeuse.

### III.1.2. Matériel végétale.

La présente étude englobe un ensemble de tests, lesquels ont été réalisés sur un extrait éthanolique des graines de *clematis flammula* (EEGCF), un extrait qui a été obtenu à partir d'une optimisation d'extraction réalisée par un binôme de master de l'année universitaire 2021/2022.



Figure(4) : Photographie des graines de *clematis flammula* L.

## III.2. Méthodes

### III.2.1 Analyses phytochimiques

Des analyses phytochimiques ont été effectuées sur l'EEGCF afin d'évaluer sa teneur en composés bioactifs.

#### III.2.1.1 Dosage des polyphénols totaux.

La teneur en composés phénoliques de l'EEGCF a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu selon la méthode décrite par **Ribéreau-Gayon (1970)**, basée sur la réduction en milieu alcalin de la mixture phosphotungstique et phosphomolibdique du réactif de Folin par les groupements oxydables des composés phénoliques. Cela conduit à la formation d'un produit de réduction de couleur bleue (oxyde de tungstène et de molybdène). Dont l'absorbance est mesurée à 765 nm.



Selon le protocole suivant :

- Un volume de 0,1ml d'extrait a été mélangé avec 0,5 ml du réactif de Folin ciocalteu dilué dix fois, après 5 min d'incubation, 0,4ml de solution de carbonate de sodium à 7,5 % a été ajouté au mélange précédent.
- Le mélange réactionnel a été incubé à l'obscurité pendant 1h.
- L'absorbance a été mesuré à 765nm.

Une droite d'étalonnage a été réalisée à l'aide d'une molécule standard (acide gallique). Le taux des polyphénols totaux a été exprimé en milligramme d'acide gallique équivalent (mg EAG/g).

### **III.2.1.2 Dosage des flavonoïdes.**

Le dosage des flavonoïdes contenus dans l'EEGCF a été déterminé selon la méthode du trichlorure d'aluminium (**Bahorun *et al.*, 1994**), puis, le complexe jaunâtre qui absorbe à 430nm a été mesuré

- Un volume de 0,3ml d'extrait a été mélangé avec 0,6ml d' $AlCl_3$ 
  - Le mélange a été laissé incuber à l'obscurité pendant 15min
  - L'absorbance a été mesurée à 430 nm.

Une droite d'étalonnage a été réalisée à l'aide d'un standard (Quercétine). Le taux de flavonoïdes a été exprimé en milligramme d'équivalents Quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g).

### **III.2.1.3 Dosage des tanins condensés.**

Le dosage des tanins condensés a été réalisé suivant la méthode de **Hagerman et Butler (1978)**, Le principe de cette méthode est basé sur la capacité de la vanilline à produire un complexe coloré avec les molécules des tanins en présence de l'acide chlorhydrique. Le complexe de couleur rouge qui absorbe à 470nm a été mesuré.

Les concentrations utilisées pour doser les tanins de l'EEGCF ont été calculées selon le protocole suivant :

- Un volume de 50 $\mu$ l de l'EEGCF a été mélangé à un volume de vanilline (dissoute dans le méthanol) ;
- Un volume d'acide chlorhydrique (HCl concentré) a été ajouté ;

- Après 20 min d'incubation à température ambiante et à l'obscurité ;
- L'absorbance a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 470 nm.

Une courbe d'étalonnage a été réalisée à l'aide d'un standard (Catéchine). Le taux de tanins a été exprimé en milligramme d'équivalent Catéchine par gramme d'extrait (mg EC/g).

#### **III.2.1.4 Dosage des tanins hydrolysables.**

Les tanins hydrolysables réagissent avec le chlorure ferrique et donnent une coloration bleue mesurée par spectrophotométrie (**Mamadou, 2002**). La quantification des tanins hydrolysable de l'EEGCF a été réalisée en utilisant la méthode au chlorure ferrique rapportée par **Mole et Waterman, (1987)**.

- Un volume de 0,5ml d'extrait a été mélangé avec un volume de chlorures ferriques (FeCl<sub>3</sub>)
- Après 5min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 660nm.

Une courbe d'étalonnage a été réalisée à l'aide d'un standard (acide tannique). Le taux de tanins hydrolysables a été exprimé en milligramme d'équivalent acide tannique par gramme d'extrait (mg EAT/g).

#### **III.2.1.5 dosage des saponines.**

Le dosage des saponines de l'EEGCF a été effectué selon la méthode de **Shiau et al. (2009)**.

- 125ul d'échantillon a été mélangé avec un volume de vanilline 8% et un volume d'acide sulfurique.
- Après 10min, une lecture au spectrophotomètre a été effectuée à 544nm.

Une droite d'étalonnage a été réalisée à l'aide d'un standard (diosgenine). Le taux de saponine a été exprimé en milligramme d'équivalent diosgenine par gramme d'extrait (mg ED/g).

### III.2.1.6 Dosage des sucres totaux.

Le dosage des sucres totaux a été effectué par la méthode de phénol / acide sulfurique introduite par **Dubois *et al.*, (1956)**. Des chromophores de couleur jaune-orange ont été mesurés à 485 nm

- Un volume de 250ul d'extrait a été mélangé à un volume d'acide sulfurique à 95 %, après agitation un volume d'une solution de phénol a été additionné,
- L'absorbance a été mesurée à 485nm.

Une courbe d'étalonnage a été réalisée à l'aide d'un standard (D- glucose). Le taux des sucres totaux a été exprimé en milligramme d'équivalent D- glucose par gramme d'extrait (mg ED-G/g).

## III.2.2 Activité anti inflammatoire.

### III.2.2.1 Dosage d'oxyde nitrite NO.

Cette méthode est basée sur le principe selon lequel, le nitroprussiate de sodium en solution aqueuse à pH physiologique génère spontanément l'oxyde nitrique, qui interagit avec l'oxygène pour produire des ions nitrites qui peuvent être estimés en utilisant le réactif de Griess (**Ebrahimzadeh *et al.*, 2010**). L'oxyde nitrique est en concurrence avec de l'oxygène, ce qui conduit à la réduction de la production de l'ion nitrite. L'effet radical oxyde nitrique (NO) de l'EEGCF a été évalué selon la méthode développée par **Sousa *et al.*, (2008)**.

- Un volume de 0,5ml d'extrait a été mélangé avec 0,5ml de nitrosiate de sodium (PBS, pH=7,4)
- Le mélange a été incubé à la lumière.
- 1ml de réactif du Greiss a été additionné et l'absorbance a été mesurée à 562nm.

Le pourcentage d'inhibition du radical NO a été calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(A \text{ cont} - A \text{ test}) / A \text{cont}] * 100$$

où Acont : l'absorbance de contrôle et A test : l'absorbance de la solution d'essai

### III.2.3 Evaluation de l'activité antioxydants.

Le potentiel antioxydant de l'EEGCF a été évalué par deux tests.

#### III.2.3.1 Test DPPH.

Le protocole expérimental utilisé pour évaluer le pouvoir antioxydants a été décrit par **Shirwaikar *et al.*, (2006)**. Les concentrations utilisées pour déterminer le pouvoir antioxydants d'EEGCF a été réalisé selon le protocole suivant :

- Un volume de l'EEGCF a été mélangé avec 2ml de solution éthanolique de DPPH,
- Le mélange a été incubé 30min dans l'obscurité et à température ambiante,
- Une lecture au spectrophotomètre a été effectuée à 571nm.

Le pourcentage de réduction du radical DPPH• est donné par l'équation suivante :

$$\% \text{ scavenging de radical DPPH}^\bullet = (\text{Ac}-\text{Ae})/\text{Ac}\times 100$$

**Ac** : absorbance du contrôle (DPPH+éthanol)

**Ae** : absorbance de l'échantillon

Une droite d'étalonnage a ensuite été réalisés avec plusieurs pourcentages d'inhibition du DPPH afin de déterminer la valeur IC50.

#### III.2.3.2 Test ABTS.

La méthode utilisée dans la détermination de l'activité scavenger du radical ABTS<sup>•+</sup>, la solution ABTS<sup>•+</sup> a été préparée selon la méthode décrite par **Re *et al.*, (1999)**.

- Un volume de l'EEGCF a été mélangé avec un volume de solution ABTS<sup>•+</sup> préparée,
- Le mélange a été laissé incuber 7min à l'obscurité,
- Une lecture a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre à 734nm.

Le pourcentage de l'activité scavenging du radical ABTS<sup>•+</sup> est déterminé selon la formule suivante :

$$\% \text{ Scavenging du radical ABTS}^{\bullet+} = (\text{Ac}-\text{Ae})/\text{Ac}\times 100$$

**Ac** : absorbance du contrôle.

**Ae** : absorbance de l'échantillon

Une droite d'étalonnage a ensuite été réalisés avec plusieurs pourcentages d'inhibition du DPPH afin de déterminer la valeur IC50.

## *IV. Résultats et discussions*

## **IV.1. Evaluation des paramètres photochimiques.**

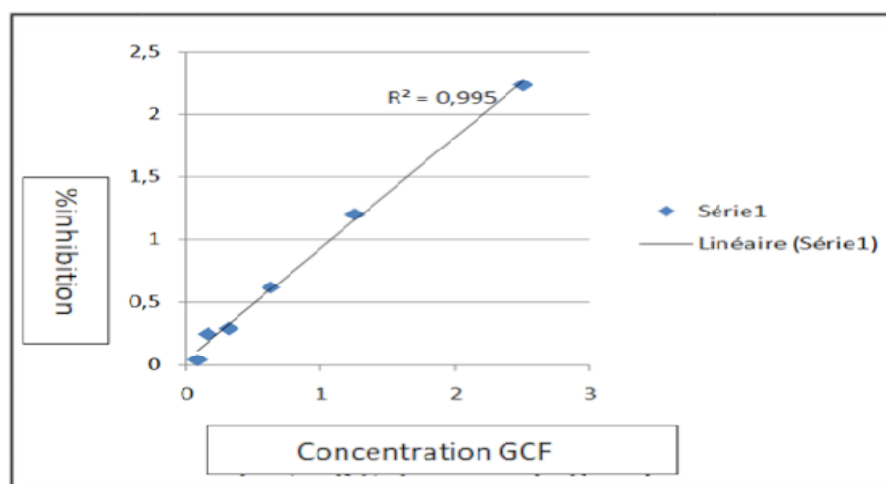
### **IV.1 Teneur en polyphénols totaux.**

La quantification des polyphénols a été estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu selon **Ribéreau-Gayon (1970)**. A partir d'une courbe d'étalonnage d'acide gallique à différentes concentrations, on a abouti à un résultat exprimé en milligramme équivalent acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g) équivalent à  $505,66 \pm 48,02$  mg EAG/g. Le même test est effectué sur les feuilles de clematis flamula ont trouvé  $19.65 \pm 3.61$  mg EC/ g **Atmani et al. (2009)**. Et  $80.14 \pm 20$  mg EC/ g (**Atmani et al. (2011)**).

La concentration obtenue dans la présente étude, exhibe une concentration très importante, sachant que les polyphénols démontrent plusieurs activités biologiques comme l'activité antivirale, anti-inflammatoire et anticancéreuse (**Anderson et Markham, 2006**). Notamment, ils possèdent des effets anti-athérosclérotiques (**Calabriso et al., 2015 ; Huseini et al., 2015**), anti-hémolytiques (**Khalili et al., 2014**), antimicrobiens (**Palombo, 2009 ; Li et al., 2014**) et anti-parasites (**Calixto et al., 2015**).

D'autre part, les polyphénols améliorent la dilatation médiée par le flux et la fonction endothéliale chez l'homme en augmentant la synthèse d'oxyde nitrique endothélial (**Labonté et al., 2013**). De plus les polyphénols assurent un effet pléiotropique sur différentes conditions humaines telles que les maladies chroniques, le vieillissement et l'immunité (**Manach et al., 2004**).

La littérature actuelle suggère que la consommation à long terme d'une alimentation riche en polyphénols protège contre certains cancers, les maladies cardiovasculaires, le diabète de type 2, l'ostéoporose, la pancréatite, l'obésité, les problèmes gastro-intestinaux, les lésions pulmonaires et les maladies neurodégénératives (**Fraga et al., 2010 ; Sueoka et al., 2015**). De ce fait, la richesse de l'EEGCF en polyphénols promet des effets bénéfiques sur la santé humaine.



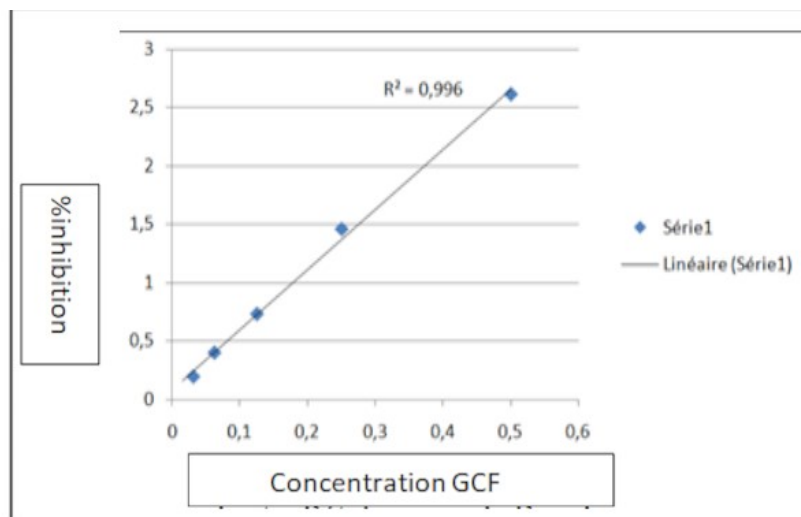
**Figure (5) :** droite d'étalonnage de l'acide gallique.

## IV.2 Teneur en flavonoïdes.

La quantification des flavonoïdes a été estimée par la méthode du trichlorure d'aluminium (Bahorun et al., 1994). A partir d'une courbe d'étalonnage de la quercétine à différentes concentrations préétablies, on a abouti à un résultat exprimé en milligramme équivalent quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g).

Notre extrait a exhibé une teneur égale à  $73,33 \pm 6,5$  mg EQ/g. représente une teneur importante et sachons que les flavonoïdes assurent plusieurs activité biologique parmi elle ; l'activité antioxydants, inflammatoires et immuno-modulatrices (Serafini et al., 2003), hépatoprotectrice (Tapas et al., 2008), antivirale (Gerdin et al., 2008), anticancéreux, et cardiovasculaire (Karbin et al., 2015). Les flavonoïdes présentent également des propriétés antiallergiques (Formica et al., 1995) et un effet bénéfique sur la prévention de la perte osseuse chez la femme ménopausée. ( Zhang et al,2007). Comme ils présentent aussi un impact sur le métabolisme de l'hormone thyroïdienne et préviennent les hémorragies (Caballero et al., 2003).la même étude effectuer sur les feuilles ont capacité exhibé  $19.65 \pm 3.61$  mg EC/ g (Atmani et al. (2009) et  $80.14 \pm 20$  mg EC/ g( Atmani et al. (2011)

Les flavonoïdes peuvent être considérés comme un traitement pour les cataractes d'origine diabétique du fait qu'ils inhibent l'aldose réductase (Goodarzi et al., 2006 ; Ouali et al., 2007).



Figure(6) : Droite d'étalonnage du dosage de la quercétine.

### IV.3 Teneur en tanins condensés.

La quantification des tanins condensés a été estimée par la méthode décrite par **Hagerman et Butler, (1978)**. A partir de la droite d'étalonnage la concentration des tanins condensés de l'extrait de grains de plante *Clematis flammula* L. est de  $72,27 \pm 5,1$ mg EC/g.

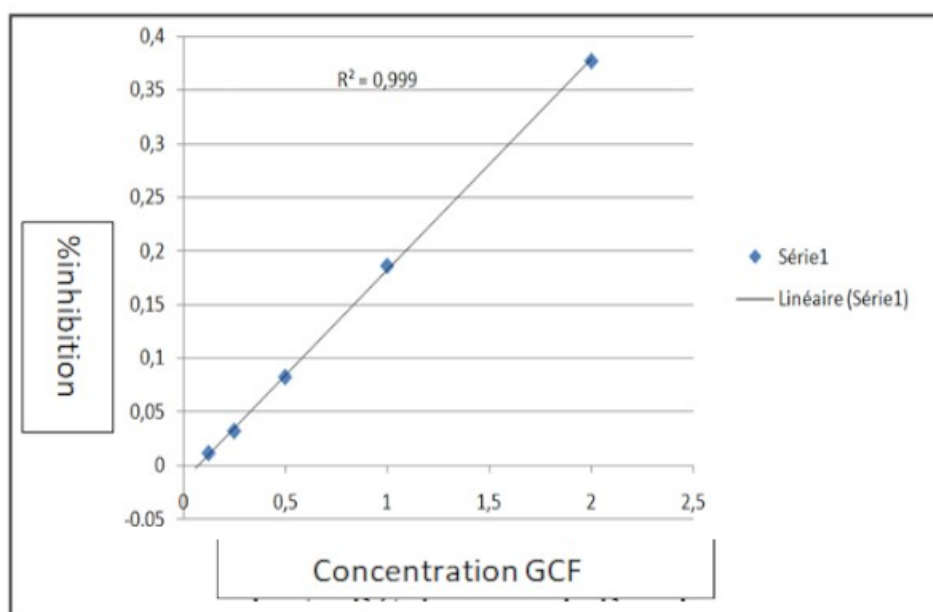
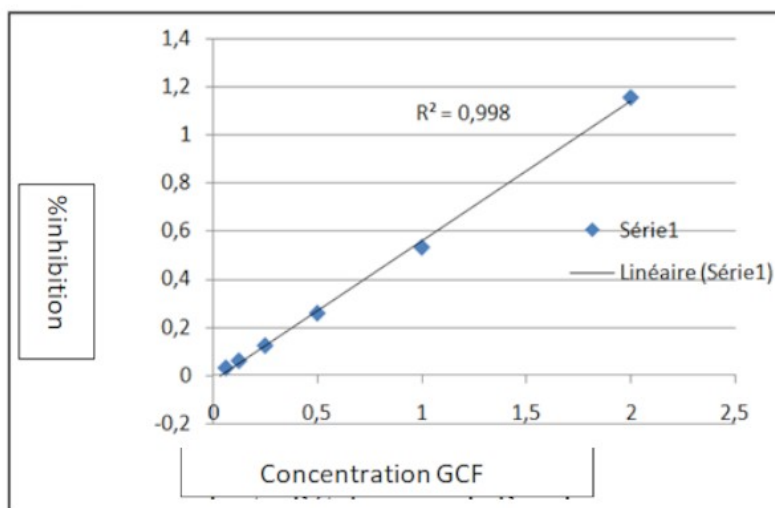


Figure (7) : Droite d'étalonnage des cathéchines.



#### IV.4 Teneur en tanins hydrolysables.

La quantité des tanins hydrolysables a été mesurée par la méthode de chlorure ferrique rapportée par Mole et Waterman, (1987). À partir d'une courbe d'étalonnage d'acide tannique à différentes concentrations préétablies, on a abouti à un résultat exprimé en milligramme équivalent acide tannique par gramme d'extrait (mg EAT/g) avec une valeur égale à de  $66,72 \pm 1,7$  mg EAT/g.



Figure(8) : Droite d'étalonnage de dosage de l'acide tannique.

Les résultats obtenus nous exhibe que l'EEGCF contient des quantités considérables en tanins condensés et des tanins hydrolysables, ces quantités sont assez remarquables. En outre, sachant que les tanins confèrent à l'EEGCF plusieurs activités biologiques : antifongique, antioxydants, antivirale (Jarrige *et al.*, 1995), antimicrobiennes (Mekhoukhe, 2008), astringente, cicatrisante, anti-inflammatoire, anti diarrhéique, antiseptique, anti poison, vitaminiques (Moss *et al.*, 1988). Elle possède également une activité anticoagulantes (Hui *et al.*, 1998).

#### IV.5 Teneur en Sucre totaux.

La quantification des sucre totaux a été mesurée la méthode de phénol / acide sulfurique introduite par Dubois *et al.*, (1956).

A partir d'une courbe d'étalonnage de D-glucose à différentes concentrations préétablies, on a abouti à un résultat exprimé en milligramme équivalent D-glucose par gramme d'extrait (mg ED-G/g). Avec une valeur de  $476,56 \pm 9,6$  mg ED-G/g.

Les sucres sont utilisés pour le maintien structural de la cellule car ils permettent le soutien de la cellule. Egalement, ils sont un élément de base de l'acide désoxyribonucléique (ADN) et de l'acide ribonucléique (ARN) et des Coenzymes et des vitamines. Notamment, les sucres sont utilisés comme des signaux de reconnaissance par exemple glycolipides et glycoprotéine (Well, 2001).

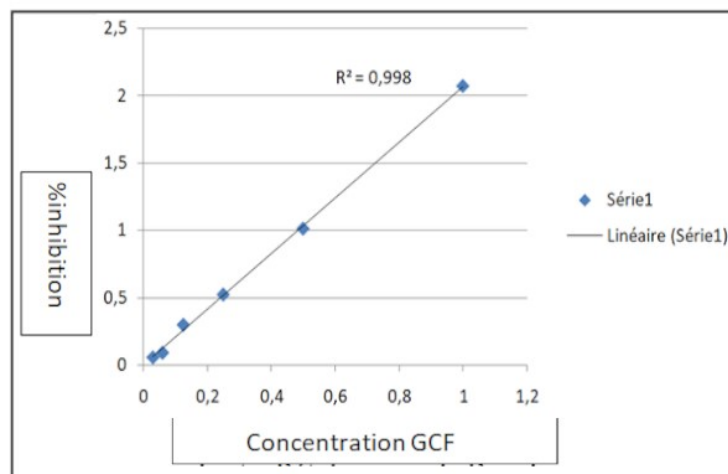


Figure (9) : Droite d'étalonnage de dosage de D-glucose.

#### IV.6 Teneur en saponines.

La quantification des saponines a été mesurée par la méthode décrite par **Shiau et al, (2009)**.

A partir d'une courbe d'étalonnage de diosgénine à différentes concentrations préétablies, on a abouti à un résultat exprimé en milligramme équivalent diosgénine par gramme d'extrait (mg ED/g).

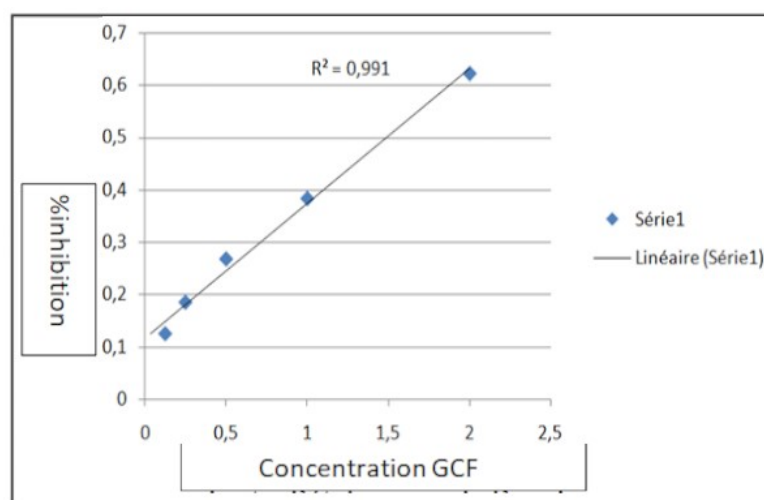
L'extrait de la présente étude contient  $660,08 \pm 86,04$  mg ED/g. qui est une concentration non négligeable, alors l'extrait va apporter un effet anti hyperglycémique et un effet cytoprotecteur sur les cellules pancréatiques, notamment, une activité antioxydants et une inhibition de l'enzyme  $\alpha$ -glucosidase (**Kumkrai et al., 2015**). De plus, elles ont la capacité de précipiter le cholestérol, en raison de sa molécule amphipathique caractéristique ayant une partie lipophile et hydrophile (**Lacaille, et al., 1996**).

Elles possèdent également des activités biologiques intéressantes telles que la cytotoxicité, l'activité anti-complément (**Rezgui et al., 2016 ; Andriamisaina et al., 2018**), anti-tumorale, antiallergique, anti-inflammatoire, immunologique, antibactérienne et molluscicide (**Fang et al., 2020**).

De plus la littérature a démontré un effet antibiotique, antifongique, antivirale, hépatoprotectrice, et anti-ulcère, comme elles possèdent aussi des propriétés tensioactives, anti-diabétique (Luo *et al.*, 2008), anti-obésité (Zheng *et al.*, 2007), activités analgésiques, diurétiques et activité hémolytique (Tabassi *et al.*, 2006). Il a également été suggéré que les saponines pourraient être une source de monosaccharides (Barr *et al.*, 1998).

Ajouter à cela, les saponines possèdent des propriétés biologiques telles qu'une activité insecticide, phytotoxique, allélopathique (Carelli *et al.*, 2011). D'autres études ont mis en évidence pour traiter les hémorroïdes, de ce fait, notre plante peut être un traitement pour les hémorroïdes, le cancer surtout le cancer du côlon (Sayama *et al.*, 2012) et le cancer du col de l'utérus (Zhang *et al.*, 2014).

A coté de tous ces bienfaits, les saponines trouvent de nombreuses applications dans l'industrie alimentaire et dans l'industrie cosmétique en raison de leurs propriétés moussantes (Sparg *et al.*, 2004). Les applications des saponines s'étendent à l'agriculture, pour l'assainissement des sols (Chan *et al.*, 2008) et en tant que pesticides naturels (Chen *et al.*, 2007).



Figure(10) : Droite d'étalonnage de dosage de la diosgénine.

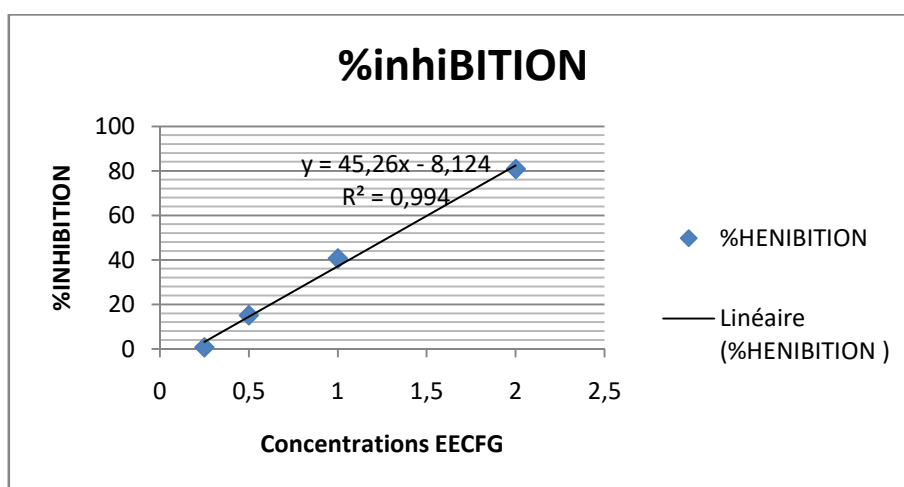
## IV.2. Evaluation de l'activité antioxydants.

### IV.2.1 Test de DPPH.

Dans la présente étude, ont été réalisée par deux tests complémentaires permettant de donner une idée générale sur le pouvoir antioxydants. Le test DPPH est une méthode simple et sensible. Le principe est basé sur la mesure de l'aptitude d'un antioxydant à

neutraliser le radical libre DPPH<sup>•</sup>. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant, via le spectrophotomètre, la diminution de la coloration violette, due à une recombinaison des radicaux DPPH<sup>•</sup> qui deviennent jaunes (Blois, 1958 ; Brand-Williams et al., 1925).

Après 30 min d'incubation, la coloration violette vire vers une coloration jaune, ce qui montre que les échantillons ont un effet scavenger de radical DPPH<sup>•</sup>. L'activité inhibitrice du radical DPPH<sup>•</sup> pour l'EEGCF été mesurée et les résultats sont représentés dans la figure(10)



**Figure (11):** droite d'étalonnage servant pour retrouver l'IC<sub>50</sub> du DPPH d'EEGCF.

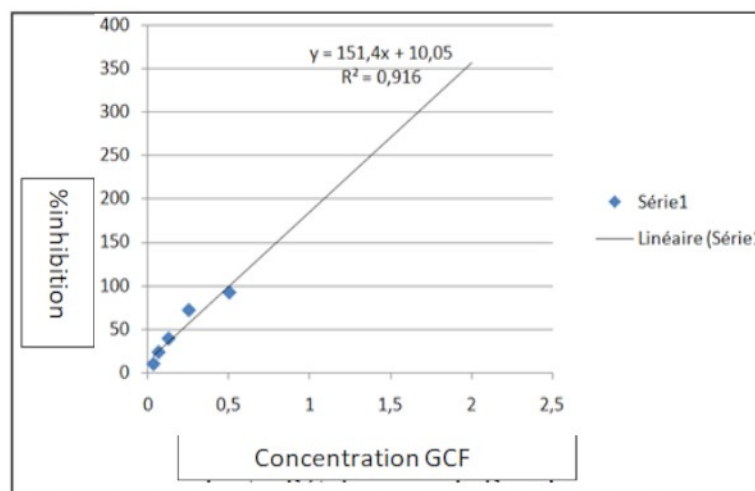
L'IC<sub>50</sub> est défini comme étant la concentration de l'extrait nécessaire pour inhiber 50% du radical DPPH<sup>•</sup>. Plus la valeur d'IC<sub>50</sub> est faible, plus l'activité antioxydants est plus puissante.

En remplaçant Y par 50, on retrouve la quantité d'EEGCF nécessaire pour obtenir 50% d'inhibition du DPPH. Dans la présente étude, IC<sub>50</sub> de l'EEGCF est égale à 1,28mg/ml. Cette valeur est assez faible ce qui confirme l'effet antioxydants de l'EEGCF. des même teste ont été effectué sur des feuille de clematis flammula qui ont trouvé des IC<sub>50</sub>=49.97ug/ml (Atmani et al. (2009) Et un IC<sub>50</sub>= 4.51ug /ml (Anusha et al. (2018)).

#### IV.2.2 Test de l'ABTS.

Le procédé ABTS est basé sur la neutralisation d'un radical qui peut être effectué dans des milieux aqueux et organiques et sur une large gamme de valeurs de pH (Re et al., 1999).

Après incubation, l'intensité de la coloration verte varie avec la concentration, ce qui montre que les échantillons ont un effet scavenger de radical ABTS<sup>•+</sup>. L'intensité de la coloration a été mesurée et les pourcentages d'inhibition de radical ABTS<sup>•+</sup> ont été calculés. L'IC<sub>50</sub> est défini comme étant la concentration de l'extrait nécessaire pour inhiber 50% du radical ABTS<sup>•+</sup>. Plus la valeur d'IC<sub>50</sub> est faible, plus l'activité antioxydante est plus puissante. L'IC<sub>50</sub> obtenu égale à 0,26mg/ml a été réalisé suivant la droite des inhibitions suivante de la figure (11).



**Figure(12)** : droite d'étalonnage servant pour retrouver l'IC<sub>50</sub> de l'ABTS d'EEGCF.

Des autres études ont été effectuées sur les feuilles de *Clematis flammula* qui a un IC<sub>50</sub>=56.5ug/ml (**Atmani et al.(2011)**). Et un IC<sub>50</sub>=39.3 ug/ml **Serigne Ibra Mbacke et al.(2017)**.

La capacité des extraits à neutraliser les radicaux libres a été évaluée en utilisant les deux radicaux libres DPPH et ABTS. En effet, les radicaux libres sont des molécules instables et fortement réactives (**Suresh et al., 2008**), entraînant le stress oxydant, qui est défini comme un déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants (**Ratnam et al., 2006**).

Une surproduction des radicaux libres qui dépasse la capacité du système antioxydant à les neutraliser peut conduire à un déséquilibre du redox cellulaire conduisant à ce que l'on appelle stress oxydatif qui est à l'origine des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides (**Harris, 2002**). Provoquant ainsi de nombreuses maladies chroniques telles que les maladies cardiovasculaires, inflammatoires (rhumatisme, arthrites), cancer, du diabète, c. (**Uttara et al., 2009**).

Les plantes médicinales sont des sources de la majorité des antioxydants naturels et elles restent encore inexploitées dans le domaine médical. Comme l'espèce *Clematis flammula* (Ranunculaceae) peut avoir une valeur thérapeutique potentielle et est utilisée dans la médecine traditionnelle tunisienne comme plante culinaire pour traiter de nombreuses maladies humaines telles que le rhumatisme, le cancer, l'arthrite et la dermatologie (Guesmi *et al.*, 2019).

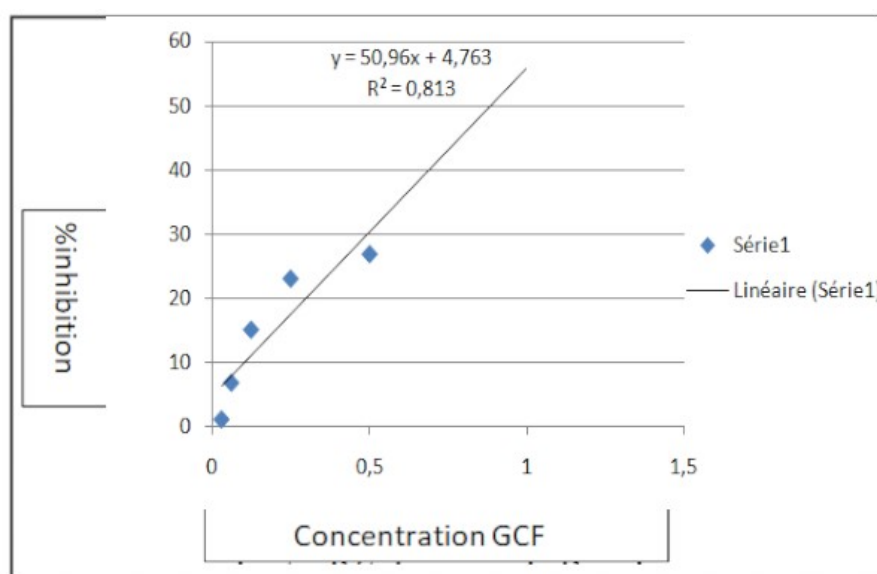
En outre, la capacité de piégeage des radicaux DPPH et ABTS, peut être liée à la nature des composés composant notre extrait, par exemple dans l'étude réalisée par Saïdi *et al.*, (2017), où il a montré que les feuilles et les fleurs contenaient des niveaux différents en polyphénols chez *Clematis flammula* L..

Donc notre l'EEGCF pourrait être utilisée comme un anti radicalaire et comme médicament naturelle pour traiter les maladies causées par les radicaux libre.

### IV.3. Evaluation de l'activité anti inflammatoire.

#### IV.3.1 Activité anti-NO.

La méthode utilisée pour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire d'extrait est décrite par Sousa *et al.*, (2008). Cette méthode permet par la réaction de Griess, le dosage des nitrites formés par l'oxydation spontanée de NO. L'activité anti-inflammatoire de l'EEGCF a été testée à l'aide d'un test de piégeage des radicaux libre NO et les résultats sont représentés dans la figure (12) :



Figure(13) : Courbe des inhibitions de NO pour le calcul des IC50 de l'EEGCF.1

D'après les résultats inhibiteurs du NO, l'activité est dépendante de la concentration d'extrait : l'activité diminue et la concentration augmente. D'après les résultats obtenus, la concentration inhibitrice de l'EEGCF est égale à 0,88mg/ml.

L'oxyde nitrique (NO) joue un rôle clé dans la pathogenèse de l'inflammation et a été impliqué dans les lésions tissulaires induites par les endotoxines. C'est un médiateur produit lors d'une inflammation et production élevée de cellule immunitaire. La production élevée de ce médiateur peut provoquer plusieurs maladies, dont le cancer, les maladies coronariennes, la polyarthrite rhumatoïde, l'asthme et la maladie d'Alzheimer. De plus, le NO est une molécule biologique de signalisation clé impliquée dans la vasodilatation, la régulation de la pression artérielle, la neurotransmission et le système de défense immunitaire de l'hôte. *Clematis flammula* L. (Renonculaceae) est une plante médicinale utilisée dans les maladies liées à l'inflammation (**Atmani et al; 2013**).

Les résultats expérimentaux de cette étude de l'EEGCF suggèrent qu'il possède une activité anti-inflammatoire et anti radicalaire importante, avec un IC<sub>50</sub> = 0,88mg /ml. Une même étude sur les grain du nigelle stiva est effectuer a un IC=6.3ug/ml. (**E.E. Elgorashi et al (2019)**).

une petite quantité d'extrait peut inhiber 50% de radical NO ce qui justifie que l'EEGCF peut utiliser dans la médecine traditionnelle pour le traitement des maladies inflammatoires.

# *V. Conclusion et perspectives*



## **V.1. Conclusion.**

Les plantes médicinales restent toujours une source fiable et inépuisable des principes actifs car elles sont riches en composés phénoliques qui sont les composés les plus intéressants et les plus étudiés, notamment, connues par leur vertu thérapeutique. Le bassin méditerranéen est connu par sa diversité végétale. Dans le nord de l'Algérie, *Clematis flammula* L. est utilisée pour traiter les maladies à caractère inflammatoire.

Dans le présent travail, nous nous sommes intéressés à étudier l'activité antioxydante et anti-inflammatoire et la mise en évidence des métabolites secondaires existant dans l'EEGCF.

Sur la base des résultats obtenus par les différents tests de screening photochimique réalisés, nous concluons que l'EEGCF est important en phytothérapie car il a révélé la présence d'une bonne quantité de composés d'intérêt biologique (métabolites secondaires) qui portent plusieurs activités contre les pathologies et ce qui explique l'inhibition de certains processus liés à l'oxydation et à l'inflammation.

À la lumière des résultats obtenus par des tests *in vitro*, les résultats ont démontré que l'EEGCF possède un fort pouvoir antioxydant, car il a la capacité de piéger différents radicaux libres comme le radical DPPH, le radical ABTS et d'inhibition. Comme il possède aussi un fort pouvoir anti-inflammatoire car ce dernier a la capacité d'inhiber l'oxyde nitrique.

La plante sélectionnée dans ce travail contient des molécules très intéressantes qui peuvent être considérées comme des agents antioxydants et anti-inflammatoires, ils peuvent être employés pour des applications thérapeutiques comme des alternatives à des médicaments synthétiques.

## **V.1. Perspectives.**

Vu l'importance des résultats obtenus, il serait intéressant d'orienter l'étude vers la détermination des autres classes de composés phénoliques et de mesurer d'autres paramètres anti-inflammatoires, comme le test d'inhibition de la COX2, identifier le principe actif et son mécanisme moléculaire et cellulaire, et également, l'évaluation *in vivo* de divers protocoles afin de prévenir ou de traiter des pathologies.

# *VI. Références Bibliographiques*

## Références bibliographiques

- Aggarwal B, Sahdeo P, Bokyoung S, Sunil K, et Sushovan G. « Prevention and Treatment of Colorectal Cancer by Natural Agents From Mother Nature ». *Current colorectal cancer reports*. 2013. 9 (1): 37-56.
- Aïssa F B. « *Les Plantes Médicinales en Algérie* ». Bouchème. 1991.
- Andersen O M, et Kenneth R. Markham L. « *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications* ». CRC Press. 2005.
- Andriamisaina N, Anne-Claire M, Benoist P, Johanna C, Tomofumi M, Chiaki T, et Marie-Aleth L. « Phytochemistry of *Weigela x "kosteriana variegata"* (Caprifoliaceae) ». *Natural Product Communications*. 2018. 13 (4): 193-203.
- Anzai T, Tsutomu Y, Hidehiro K, Yuichiro M, Shiro I, Yasushi A, et Satoshi O. « Association between Serum C-Reactive Protein Elevation and Left Ventricular Thrombus Formation after First Anterior Myocardial Infarction ». *Chest*. 2004. 125 (2): 384-89.
- Atawodi S. E. « Antioxidant Potential of African Medicinal Plants ». *African Journal of Biotechnology*. 2005. 4 (2): 128-33.
- Atmani D, Begoña R, José I, Leandro J, Lizcano, Fadil B, et Atmani D. « Antioxidant potential, cytotoxic activity and phenolic content of *Clematis flammula* leaf extracts ». *Journal of Medicinal Plants Research*. 2011. 5 (4): 589-98.
- Atmani D, Nassima C, Atmani D, Berboucha M, Debbache N, et Boudaoud H. « Flavonoids in Human Health: From Structure to Biological Activity ». *Current Nutrition & Food Science*. 2009. 5 (4): 225-37.
- Atmani-Kilani D, Nassima C, Berboucha M, Ayouni K, Lounis H, Hania B, Debbache N B, et Atmani D. « Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants ». *Food Chemistry - Food Chemistry*. 2009. 303-309.
- Ayouni K, Berboucha-Rahmani M, Hye K K, Atmani D, Rob V, et Young H C. « Metabolomic Tool to Identify Antioxidant Compounds of *Fraxinus Angustifolia* Leaf and Stem Bark Extracts ». *Industrial Crops and Products*. 2016. 88: 65-77.
- Bahorun T, Troitin F, Pommery J, Vasseur J, et Pinkas M. « Antioxidant Activities of *Crataegus Monogyna* Extracts ». *Planta Medica*. 1994. 60 (4): 323-28.
- Barr I G, Sjölander A, et Cox J C. « ISCOMs and Other Saponin Based Adjuvants ». *Advanced Drug Delivery Reviews*. 1998. 32 (3): 247-71.
- Barton G M. « A Calculated Response: Control of Inflammation by the Innate Immune System ». *The Journal of Clinical Investigation*. 2008. 118 (2): 413-20.
- Beckman K B, et Ames B N. « The Free Radical Theory of Aging Matures ». *Physiological Reviews*. 1998. 78 (2): 547-81.
- Bellakhdar J. « Pharmacopée marocaine traditionnelle ». *Ibis press*. 1997.
- Bérard E. « D Métabolisme et régulation du monoxyde d'azote: un médiateur de contrôle difficile ». *Archives de Pédiatrie*. 1997. 4 (10): 1004-11.
- Bézanger-Beauquesne L. « New results in phytothérapie. Seventh review ». *Plantes Médicinales et Phytothérapie*. 1990. 24 (2): 98-133.
- Biaye M. « Actions Pharmacologiques Des Tanins ». Consulté le 8 juin. 2023.
- Blois R, Marsden S. « Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical ». *Nature*. 1958. 181 (4617): 1199-1200.

- Brand-Williams W, Cuvelier M, et Berset C. « Antioxidant activity determined using stable radical, 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) ». *Lebensmittel-Wissenschaft-und-Technology*. 1995. 28: 25-29.
- Bremner P, Rivera M, Calzado A Obón C, Inocencio C, Beckwith C, Fiebich B L, Muñoz E, et Heinrich M. « Assessing Medicinal Plants from South-Eastern Spain for Potential Anti-Inflammatory Effects Targeting Nuclear Factor-Kappa B and Other pro-Inflammatory Mediators ». *Journal of Ethnopharmacology*. 2009.124 (2): 295-305.
- Bruneton J, et Erwan P. « *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales* ». 5e éd. Paris: *Lavoisier*. 2016. 36-40.
- Caballero B, Trugo L, et Finglas P. « Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition: Volumes 1-10 ». *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. 2003. *Volumes 1-10*.
- Calabriso N, Egeria S, Mariangela P, et Maria A. « Chapter 13 - Olive Oil ». In *The Mediterranean Diet*, édité par Victor R. Preedy et Ronald Ross Watson. 2015. 135-142.
- Calixto Júnior J T, Selene M, Morais, Clécio G, Martins, Larissa G, Vieira, Maria Flaviana B, Morais-Braga, Joara N P, Carneiro, Antonio J P, Machado, Irwin R A, Menezes, Saulo R, Tintino, et Henrique D M C. « Phytochemical Analysis and Modulation of Antibiotic Activity by *Luehea Paniculata* Mart. & Zucc. (Malvaceae) in Multiresistant Clinical Isolates of *Candida* Spp ». *International BioMedecin Research*. 2015. 807670.
- Carelli M, Elisa B, Francesco P, Aldo T, Laura S, Andrea P, et Neil G. « Medicago truncatula CYP716A12 Is a Multifunctional Oxidase Involved in the Biosynthesis of Hemolytic Saponins ». *The Plant Cell*. 2011. 23 (8): 3070-3081.
- Chaiyana W, Songyot A, Pimporn L, Rungsinee P, Helmut V, et Monika M. « Development of Microemulsion Delivery System of Essential Oil from Zingiber Cassumunar Roxb. Rhizome for Improvement of Stability and Anti-Inflammatory Activity ». *AAPS Pharmacology Science Technology*. 2017. 18 (4): 1332-1342.
- Chan P, Ming Z, Chun-T, et Edward M. « Cytotoxic Acylated Triterpene Saponins from the Husks of *Xanthoceras sorbifolia* ». *Journal of Natural Products*. 2008 .71 (7): 1247-1250.
- Charlier C, et Catherine M. « Dual Inhibition of Cyclooxygenase-2 (COX-2) and 5-Lipoxygenase (5-LOX) as a New Strategy to Provide Safer Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs ». *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2003.38 (8): 645-659.
- Chawla A, Ramandeeep K, et Anil K S. « *Ficus carica* Linn.: A Review on its Pharmacognostic, Phytochemical and Pharmacological Aspects ». *International Journal Pharmacology Research*. 2012. 215-232.
- Chawla R, Suresh K, et Anupam S. « The Genus *Clematis* (Ranunculaceae): Chemical and Pharmacological Perspectives ». *Journal of Ethnopharmacology*. 2012. 143 (1): 116-150.
- Cheynier V V, Hélène F P, Sarni, et Michel M. « Application des techniques analytiques à l'étude des composés phénoliques et de leurs réactions au cours de la vinification ». *Analysis*. 1997. 25 (3): 14-18.
- Daoudi P, Chabane S. « Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie ». 1987.
- De S Y N, Dey, et A. K. Ghosh. « Anti-Inflammatory Activity of Methanolic Extract of *Amorphophallus Paeoniifolius* and Its Possible Mechanism ». *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 2010. 1(3): 45-49.

- Dhingra A K, Bhawna C, et Brahmaiah B. « Natural Anti-Inflammatory Agents: Recent Progress and Future Perspectives ». *Annals of Pharmacology and Pharmaceutics*. 2018. 3 (5): 34-39.
- Di Carlo G, Nicola M, Angelo A I, et Francesco C. « Flavonoids: Old and New Aspects of a Class of Natural Therapeutic Drugs ». *Life Sciences*. 1999. 65 (4): 337-353.
- Djeddi S, Djahoudi A, Benchalia N, et Hilmour H. « Antibacterial activity of *Calycotum villosa* (Poiret) Link extracts ». *Life science*. 2015.
- Djellab L, Zina B, et Atmani D. « Activités anti –inflammatoire analgésique et antipyrétique de l'extrait éthanolique des feuilles de *Clematis flammula* sur un modèle animal ». 2013.
- Dong H, Shao-Xing C, Manjunatha K, et Hong-Xi X. « Effects of Tannins from *Geum japonicum* on the Catalytic Activity of Thrombin and Factor Xa of Blood Coagulation Cascade ». *Journal of Natural Products*. 1998. 61 (11): 1356-1360.
- Dorward D A, Lucas C D, Rossi A. Haslett C, et Dhaliwal K. « Imaging Inflammation: Molecular Strategies to Visualize Key Components of the Inflammatory Cascade, from Initiation to Resolution ». *Pharmacology & Therapeutics*. 2012. 135 (2): 182-99.
- Durand D, Marie D, et Mylène G. « Le stress oxydant chez les animaux de rente : principes généraux ». *Cahiers de Nutrition et de Diététique*. 2013. 48 (5): 218-224.
- Elkhamlichi A, Ali E A, Hanane E H, Brahim E B, Hassan O, et Mohammed L. « Phytochemical Constituents from the Seeds of *Calycotome Villosa* Subsp. *Intermedia* ». *Arabian Journal of Chemistry*. 2017. 3580-3583.
- Erdogan B, Is M, Aker F V, Emon S T, Engin T, Akar E A, Sayman E, et H Somay. « Preventative Effect of Diclofenac Sodium and/or Diltiazem in Rats with Epidural Fibrosis ». *Bratislavske Lekarske Listy*. 2019. 120 (11): 813-818.
- Fang Z, Jia L, Ran Y, Lei F, et Yongqing Z. « A Review: The Triterpenoid Saponins and Biological Activities of *Lonicera* Linn ». *Molecules*. 2020. 25 (17): 3773.
- Fatma G, Issam S, Najla H, et Ahmed L. « Myocardial Pathology features of LPS and protective effect of *Clematis flammula* hydrolate in mice model ». *Archives de l'Institut Pasteur de Tunis*, novembre. 2019. 545-548.
- Fontaine E, Barnoud D, Schwebel C, et Leverve X. « Place des anti-oxydants dans la nutrition du patient septique ». *Réanimation*. 2002. 11 (6): 411-420.
- Formica J. V, et Regelson W. « Review of the Biology of Quercetin and Related Bioflavonoids ». *Food and Chemical Toxicology*. 1995. 33 (12): 1061-1080.
- Fraga C G., Monica G, Sandra V, Verstraete N, Patricia O I. « Basic Biochemical Mechanisms behind the Health Benefits of Polyphenols ». *Molecular Aspects of Medicine, Phytochemicals and Cardiovascular Protection*. 2010. 31 (6): 435-445.
- García-Lafuente A, Eva G, Ana V, Mauricio R A, et José A M. « Flavonoids as Anti-Inflammatory Agents: Implications in Cancer and Cardiovascular Disease ». *Inflammation Research*. 2009. 58 (9): 537-552.
- Genestra, M, Damiana G, Wilson J S S, Léa C, Rômulo José S, Fabiane P M, et Leonor L L. « Nitric Oxide Synthase (NOS) Characterization in *Leishmania Amazonensis* Axenic Amastigotes ». *Archives of Medical Research*. 2006. 37 (3): 328-333.
- Georgetti S R, Rúbia C, Valéria M. Di Mambro, Ana E C S. Azzolini, et Maria J V F. « Evaluation of the Antioxidant Activity of Different Flavonoids by the Chemiluminescence Method ». *Pharmacology Science*. 2003. 5 (2): E20.

- Greenberg J T, et Nan Y. « The Role and Regulation of Programmed Cell Death in Plant-Pathogen Interactions ». *Cellular Microbiology*. 2004. 6 (3): 201-11.
- Guesmi F, Marwa B H, Sahdeo P, Amit K T, et Ahmed L. « In Vivo Pathogenesis of Colon Carcinoma and Its Suppression by Hydrophilic Fractions of Clematis Flammula via Activation of TRAIL Death Machinery (DRs) Expression ». *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2019. 2182-2191.
- Guignard J.-L. « Abrégé de biochimie végétale ». 09.
- Guillonneau M, et Jacqz-Aigrain E. « Teratogenic effects of vitamin A and its derivatives ». *Archives de pédiatrie*. 1997. 4 (9): 867-74.
- Guslandi M. « Steroid ulcers: Any news? ». *World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics*. 2013 .4 (3): 39-40.
- Gutteridge J M. « Lipid Peroxidation and Antioxidants as Biomarkers of Tissue Damage ». *Clinical Chemistry*. 1995. 41 (12): 1819-1828.
- Haddouchi F, Chaouche T M, et Halla N. « Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie ». *Phytothérapie*. 2018. 16 (1): 254-262.
- Hagerman A, et Larry G B. « Protein Precipitation Method for the Quantitative Determination of Tannins ». *American Chemical Society*. 2002. 123-126.
- Haleng J, Joël P, Jean-Olivier D, Corinne C, et Jean-Paul C. « Le stress oxydant ». *Revue Médicale de Liège*. 2007.62 (10): 127-132.
- Hall B. « Second Annual Meeting of Agricultural Scientists ». 1978. 234-238.
- Hao D, XiaoJie G, PeiGen X, et Yong P. « Chemical and Biological Research of Clematis Medicinal Resources ». *Chinese Science Bulletin*. 2013. 58 (10): 1120-1129.
- Harris F, Adrian L. « Hypoxia a Key Regulatory Factor in Tumour Growth ». *Nature Reviews*. 2002. (1): 38-47.
- Huet O, et Duranteau J. « Dysfonction endothéliale: rôle des radicaux libres ». *Réanimation*. 2008. 17 (4): 387-392.
- JAN D. « Qui manque d'antioxydants et comment le savoir? ». *le magazine des seniors*. 2023. 46-49.
- Jarrige R, et Yves R. « *Nutrition des ruminants domestiques: Ingestion et digestion* ». Editions Quae. 1995. 56-58.
- Jean C A J, Paul T, Mark W, Mark J S, Charles A J, Paul T, Mark W, et Mark J S. « *Immunobiology* ». *Garland Science*. 2001. 92-95.
- Kalam S, Rupal S, Abin M, Jaswant P, Firoz N K, et Adarsh P. « Antioxidants: Elixir of Life ». *International Multidisciplinary Research Journal*. 2012. 2(1): 342-345.
- Karabin M, Tereza H, Lukas J, et Pavel D. « Biotransformations and Biological Activities of Hop Flavonoids ». *Biotechnology advances, Biological technology*. 2015 .33 (6): 1063-1090.
- Ko E, et Aree M. « Natural Products for Chemoprevention of Breast Cancer ». *Journal of Cancer Prevention*. 2015 .20 (4): 223-231.
- Koechlin-Ramonatxo C. « Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires ». *Nutrition Clinique et Métabolisme, Insuffisance respiratoire et nutrition*. 2006. 20 (4): 165-177.
- Kühnau J. « The Flavonoids. A Class of Semi-Essential Food Components: Their Role in Human Nutrition ». *World Review of Nutrition and Dietetics*. 1976. 24: 117-191.

- Kumar K, Ganesan K S, et Subba R. « Antioxidant potential of solvent extracts of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty-An edible seaweed ». *Food Chemistry*. 2008. 289-295.
- Kumkrai P, Oratai W, et Nuannoï C. « Antioxidant,  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitory Activity and Sub-Chronic Toxicity of *Derris Reticulata* Extract: Its Antidiabetic Potential ». *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2015. 15 (1): 35.
- Labonté K, Charles C, Annie M, Marie-Eve P, Patrick C, et Benoît L. « Acute Effects of Polyphenols from Cranberries and Grape Seeds on Endothelial Function and Performance in Elite Athletes ». *Sports*. 2013. (3): 55-68.
- Lacaille D M A, et Wagner H. « A Review of the Biological and Pharmacological Activities of Saponins ». *Phytomedicine*. 1996. 2(4): 363-386.
- Lee S, Eun-Kyung K, Yon-Suk K, Jin-Woo H, Kwang H L, Dong-Kug C, Hyun K, Sang-Ho M, Byong-Tae J, et Pyo-Jam P. « Purification and Characterization of a Nitric Oxide Inhibitory Peptide from *Ruditapes Philippinarum* ». *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*. 2012. 50 (5): 1660-1666.
- Luo J, Jun L, et Ling-Yi K. « New Pentacyclic Triterpenes from *Gypsophila Oldhamiana* and Their Biological Evaluation as Glycogen Phosphorylase Inhibitors ». *Chemistry & Biodiversity*. 2008. 5 (5): 751-757.
- Manach C, Augustin S, Christine M, Christian R, et Liliana J. « Polyphenols: food sources and bioavailability ». *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2004. 79 (5): 727-747.
- Margaille I, Michel P, et Dominique L. « Antioxidant Strategies in the Treatment of Stroke ». *Free Radical Biology & Medicine*. 2005. 39 (4): 429-443.
- Martin H M, Kevin P M, Eugene B, Susan D, Andrew K. Burroughs, Amar P. Dhillon, David T, et Roger H. « Xanthine Oxidoreductase Is Present in Bile Ducts of Normal and Cirrhotic Liver ». *Free Radical Biology and Medicine*. 2004. 37 (8): 1214-1223.
- Martínez-Cayuela M. « Oxygen Free Radicals and Human Disease ». *Biochimie*. 1995.77 (3): 147-161.
- Masson E. « Anti-inflammatoires ». *Engineering medecin*. 2023. 34-41.
- Matés J M, Cristina P, et Ignacio N. « Antioxidant Enzymes and Human Diseases ». *Clinical Biochemistry*. 1999. 32 (8): 595-603.
- Meddour R, Meddour S O. « Medicinal Plants and Their Traditional Uses in Kabylia (Tizi Ouzou, Algeria) ». *Arabian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*. 2015. 1 (2): 137-151.
- Meher H. « Radiation oxidative stress in cancer induction and prevention ». 2023. 113-115.
- Meher P, et Kaushala-Prasad M. « Radiation Oxidative Stress in Cancer Induction and Prevention ». *Journal of Radiation and Cancer Research*. 2017. 8 (1): 44.
- Middleton E, Kandaswami C, et Theoharides T C. « The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer ». *Pharmacological Reviews*. 2000. 52 (4): 673-751.
- Mizushima Y, et Kobayashi M. « Interaction of Anti-Inflammatory Drugs with Serum Proteins, Especially with Some Biologically Active Proteins ». *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 1968. 20 (3): 169-173.
- Moffarts B D, Kirschvink N, Pincemail J, et P Lekeux. « Impact physiologique et pathologique du stress oxydant chez le cheval ».2008. 187-201.

- Mole S, et Peter G, Waterman. « Tannic Acid and Proteolytic Enzymes: Enzyme Inhibition or Substrate Deprivation? ». *Phytochemistry*. 1986. 26 (1): 99-102.
- Mozaffarieh M, Grieshaber M C, Orgül S, et Flammer J. « The Potential Value of Natural Antioxidative Treatment in Glaucoma ». *Survey of Ophthalmology*. 2008. 53 (5): 479-505.
- Muster D. « Médicaments de l'inflammation ». *Stomatologie*. 2005. 1 (1): 21-29.
- Ouali, K, Trea F, Toumi L, Bairi A, Maurel D, et Guellati M A. « L'héspéridine, un antioxydant flavonoïde qui diminue le stress oxydatif et prévient les malformations fœtales au cours du diabète gestationnel expérimental ». *Phytothérapie*. 2007. 5 (4): 204-209.
- Pahwa R, Amandeep G, et Ishwarlal J. « Chronic Inflammation ». *Treasure Island*. 2023. 165-169.
- Palombo J, Harold B, et Barry K. « *Guide to Psychoanalytic Developmental Theories* ». *Guide to Psychoanalytic Developmental Theories*. 2009. 09425.
- Pérez-Jiménez J, Neveu V, Vos F, et Scalbert A. « Identification of the 100 Richest Dietary Sources of Polyphenols: An Application of the Phenol-Explorer Database ». *European Journal of Clinical Nutrition*. 2010. 64 (3): 112-120.
- Ratnam D, Venkat, Ankola D D, Bhardwaj V, Sahana D K, et Ravi Kumar M N V. « Role of Antioxidants in Prophylaxis and Therapy: A Pharmaceutical Perspective ». *Journal of Controlled Release*. 2006. 113 (3): 189-207.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, et Rice-Evans C. « Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay ». *Free Radical Biology and Medicine*. 1999. 26 (10): 1231-1237.
- Rezugui A, Anne-Claire M, Tomofumi M, Chiaki T, Stéphanie D, Patrick D, et Marie-Aleth L. « Oleanolic Acid and Hederagenin Glycosides from *Weigela Stelzneri* ». *Phytochemistry*. 2016. 40-47.
- Roussel A. « Qui manque d'antioxydants, et comment le savoir ? ». *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, Antioxydants. 2009. 44 (5): 230-236.
- Saidi R, Lamia K, Safa K, Besma H, Ali A, Mohamed D, Hayet H, et Raoudha M. « Antifungal, Molluscicidal and Larvicidal Assessment of Anemonin and Clematis Flammula L. Extracts against Mollusc *Galba Truncatula*, Intermediate Host of *Fasciola Hepatica* in Tunisia ». *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 2017. 10 (10): 967-973.
- Saka T S, Sachin S, Archana R J, et Manoj N G. « In vitro antioxydant and antiinflammatory activity of methanol extract of *Oxalis corniculata* Linn. (2010). 2 (1): 146-155.
- Sayam A, Takashi, Eiichiro O, Kyoko T, Yoshitake T, Manabu H, Yumi N, et Aya Hirose. « The Sg-1 Glycosyltransferase Locus Regulates Structural Diversity of Triterpenoid Saponins of Soybean ». *The Plant Cell*. 2012. 24 (5): 2123-2138.
- Seeman P. « Transient holes in the holes in the erythrocyte membrane during hypotonic hemolysis and stable holes in the membrane after lysis by saponin and lysolecithin ». *Journal of Cell Biology*. 1967. 32 (1): 55-70.
- Sennequier N, Vadon-Le Goff S. « Biosynthèse du monoxyde d'azote (NO): mécanisme, régulation et contrôle ». *Médecine sciences*. 1998. 14 (11): 1185-1195.
- Serafini M, Ilaria P, et Anna R. « Flavonoids as anti-inflammatory agents ». *Proceedings of the Nutrition Society*. 2010. 69 (3): 273-278.
- Shanmuga M, Muthu K, An H N, Alan P K, Benny K H T, et Gautam S. « Targeted Inhibition of Tumor Proliferation, Survival, and Metastasis by Pentacyclic Triterpenoids:



Potential Role in Prevention and Therapy of Cancer ». *Cancer Letters* 2012. 320 (2): 158-170.

- Rasool S, Jaheerunnisa S, Jayaveera K N, et Suresh C. « In vitro callus induction and in vivo antioxidant activity of *Passiflora foetida* L. leaves ». *International Journal of Applied Research in Natural Products*. 2011. 4(1): 234-237.
- Sparg S G, Light M E, et Staden J V. « Biological Activities and Distribution of Plant Saponins ». *Journal of Ethnopharmacology*. 2004. 94 (2): 219-243.
- Sreelatha S, et Padma P R. « Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of *Moringa Oleifera* Leaves in Two Stages of Maturity ». *Plant Foods for Human Nutrition (Dordrecht, Netherlands)*. 2009. 64 (4): 303-311.
- Tabassi S A, Sajadi, Hosseinzadeh H, Ramezani M, Moghimipour E, et Mohajeri S A. « Isolation, Characterization and Study of Enhancing Effects on Nasal Absorption of Insulin in Rat of the Total Saponin from *Acanthophyllum squarrosum* ». *Current Drug Delivery*. 2006. 3 (4): 399-404.
- Tapas A R, Sakarkar D M, et Kakde R B. « Flavonoids as Nutraceuticals: A Review ». *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2008. 7 (3): 1089-1099.
- Turner N J. « Counter-Irritant and Other Medicinal Uses of Plants in Ranunculaceae by Native Peoples in British Columbia and Neighbouring Areas ». *Journal of Ethnopharmacology*. 1984. 11 (2): 181-201.
- Ushio-Fukai M, et Wayne Alexander R. « Reactive Oxygen Species as Mediators of Angiogenesis Signaling: Role of NAD(P)H Oxidase ». *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2004. 264 (1-2): 85-97.
- Uthurry C A, David H, et Carmen G. « Role of Honey Polyphenols in Health ». *Journal of Apiprodukt and ApiMedical Science*. 2011. 3 (4): 141-159.
- Uttara B, Ajay V, Singh, Paolo Z, et Mahajan R. T. « Oxidative Stress and Neurodegenerative Diseases: A Review of Upstream and Downstream Antioxidant Therapeutic Options ». *Current Neuropharmacology*. 2009. 7 (1): 65-74.
- Valko M, Dieter L, Jan M, Mark T D C, Milan M, et Joshua T. « Free Radicals and Antioxidants in Normal Physiological Functions and Human Disease ». *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 2007. 39 (1): 44-84.
- Vârban D, Marcel D, Rodica V, et Sorin M. « Research Concerning the Organic Technology for *Satureja Hortensis* L. Culture ». *Bulletin USAMV Agriculture*. 2009. 1843-5386.
- Vauzour D. « Dietary Polyphenols as Modulators of Brain Functions: Biological Actions and Molecular Mechanisms Underpinning Their Beneficial Effects ». *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2012. 914273.
- Vijayalakshmi A, Ravichandiran V, Malarkodi V, Hemalatha S, Sudharani G, et Jayakumari S. « Anti-Anaphylactic and Anti-Inflammatory Activities of a Bioactive Alkaloid from the Root Bark of *Plumeria Acutifolia* Poir ». *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2011. 1 (5): 401-405.
- Weill B, Frédéric B. « *Immunopathologie et réactions inflammatoires* ». *De Boeck Supérieur*. 2003. 309-312.
- Wu Z, et Al-Shehbaz I A. « *Flora of China. 6. Caryophyllaceae through Lardizabalaceae* ». Science Press. 2001. (6): 512-515.

- Yattoo M I, Arumugam G, Archana S, Oveas R P, Noore A T, Sandip C, Ruchi T, Kuldeep D, et Hafiz M N I. « Anti-Inflammatory Drugs and Herbs with Special Emphasis on Herbal Medicines for Countering Inflammatory Diseases and Disorders ». *Recent patents on inflammation and allergy Drug Discovery*. 2018. 12 (1): 39-58.
- Yuan Q, et Qin-Er Y. « Neotypification of the Name *Thalictrum Umbricola* (Ranunculaceae) ». *Phytotaxa*. 2017. 323 (2): 199-200.
- Zheng Q, Wei L, Likun H, et Kazuo K. « Pancreatic Lipase-Inhibiting Triterpenoid Saponins from *Gypsophila oldhamiana* ». *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 2007. 55 (4): 646-650.
- Zhong X, Xin J, Feng-Ying L, Qing-Sheng L, et Jian-Guo J. « Chemical Analysis and Antioxidant Activities in Vitro of Polysaccharide Extracted from *Opuntia Ficus Indica* Mill. Cultivated in China ». *Carbohydrate Polymers*. 2010. 82 (3): 722-727.

## *Résumé*

*Clematis flammula* L. est une plante appartenant à la famille des *Ranunculaceae*, largement utilisée en médecine traditionnelle algérienne contre diverses maladies à caractères inflammatoires. Dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales locales, nous nous sommes intéressés au cours de cette étude à évaluer la teneur en composés phytochimiques et en mesurant les activités antioxydants et anti-inflammatoires de EEGCF. Les tests ont été réalisés *in vitro* par des méthodes colorimétriques en utilisant des procédures standards.

Analyse quantitative EEGCF confirme une teneur en polyphénols de  $505,66 \pm 5,1$  mg/g des flavonoïdes de  $73,33 \pm 6,5$  mg/g des sucre totaux de  $476,56 \pm 9,6$  mg/g des saponines de  $660,08 \pm 86,04$  mg/g des tanins condensé de  $72,27$  mg/g des tanins hydrolysable de  $66,72$  mg/g. L'activité antioxydants a été confirmé par le teste de DPPH avec un IC50 d'ordre de  $1,28$  mg/ml et par le teste d'ABTS avec un IC50 d'ordre de  $0,26$  mg/ml. L'activité anti-inflammatoire a été confirmée par le test d'inhibition de NO avec un IC50 d'ordre de  $0,88$  mg/ml.

Tous ces résultats confirment la richesse de l'EEGCF en composés bioactifs secondaires. Notamment, les pouvoirs antioxydants et anti-inflammatoire ce qui encourage pour la suite des recherches entamée dans la présente étude.

**Mots clés :** Antioxydants, anti-inflammatoire, EEGCF, poly phénols, flavonoïdes, tanins, saponines.

## *Abstract*

*Clematis flammula* L. is a plant belonging to the ranunculaceae family widely used in traditional Algerian medicine against various inflammatory diseases. As part of the valorization of Algerian medicinal plants, we were interested during this study to evaluate the antioxidant and anti-inflammatory activity and the photochemical identification of EEGCF. Tests are done *in vitro* by colorimetric methods using standard procedures.

Quantitative EEGCF analysis confirms revelation of polyphenol  $505.66 \pm 48.02$  mg/g, flavonoids  $73.33 \pm 6.5$  mg/g total sugars  $476.56 \pm 9.6$ , saponins  $660.08 \pm 86.04$  mg/g, condensed tannins  $72.27$  mg/g, hydrolysable tannins  $66.72 \pm 1.7$  mg/g. The antioxidant activity was confirmed by the DPPH test with an IC50 of order  $1.28$  mg/ml and by the ABTS test with an IC50 of order  $0.26$  mg/ml. anti-inflammatory activity was confirmed by a test of inhibition of NO with an IC50 of the order of  $0.88$  mg/ml. All these effects could be due to the richness of EEGCF in bioactive compounds.

All the results obtained confirm the antioxidant and anti-inflammatory power and the richness in secondary metabolites of EEGCF, which encourages further research on the latter.

**Key words:** Antioxidants, anti-inflammatory, EEGCF, polyphenols, flavonoids, tannins, saponins.