

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Béjaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-Chimique
Filière : Sciences Biologiques
Option : Pharmacologie toxicologie



Réf :

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

***Evaluation *in vitro* et *in vivo* de l'activité anti-
oxydante et antiulcérogène de *Salvia verbenaca****

Présenté par :
Merad Wissam & Laib Yasmine

Soutenue le : 02/07/2024

Devant le jury composé de :

M^{me} Bahloul N.	MCB	Présidente
M^{me} Bakdi H.	MAA	Encadrante
M^{me} Sadaoui K.	MCA	Examinatrice

Année Universitaire 2023/2024

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions le bon Dieu le tout puissant de nous avoir donné la force nécessaire et la patience qui nous a permis de mener ce travail à terme. Nos remerciements les plus chaleureux vont également à notre promotrice, Mme Bakdi H pour avoir accepté de diriger ce mémoire, de son aide et ses conseils pendant toute cette période. Nous tenons à remercier également :

Mme Bahloul N de nous avoir fait l'honneur de présider le jury qui va juger ce travail ;

Mme Sadaoui K. d'avoir accepté d'examiner notre travail. On vous transmet notre profonde gratitude pour le temps que vous avez consacré à la lecture de ce travail ainsi que vos remarques ;

Mme Yous F votre aide précieuse, votre dévouement et votre bonne humeur au labo ont été essentiels à la réussite de ce projet. Travailler avec vous a été un véritable bonheur. Merci pour vos précieux conseils et vos encouragements constants.

Nous adressons également nos remerciements à Mme Rahmani M et Mme Bahloul N pour leurs précieux conseils et leurs encouragements, particulièrement durant les moments les plus difficiles.

Nous n'oublions pas tous les membres du laboratoire qui nous ont accueillis avec sympathie et joie. Un merci tout particulier à l'ingénieur du laboratoire Mme Imadalou N pour son aide précieuse. Les moments passés avec vous ont été très agréables, et nous vous remercions sincèrement pour votre gentillesse et votre soutien.

Nous tenons également à remercier du fond du cœur l'ensemble des enseignants de la formation « Pharmacologie toxicologie » pour leur engagement sans faille à nous former, ainsi que tous les enseignants de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie (SNV).

Nous exprimons aussi notre gratitude à toutes les personnes ayant contribué, de près ou de loin, à l'élaboration de ce projet.



Dédicaces

Je rends grâce au Bon Dieu pour avoir éclairé mon chemin vers la connaissance et le savoir.

En signe de reconnaissance, je dédie ce modeste travail à tous ceux qui me sont chers :

À mes chers parents,

Aucune dédicace ne saurait exprimer pleinement le respect, l'amour éternel et la profonde considération que j'ai pour les sacrifices que vous avez consentis pour mon instruction et mon bien-être. Je vous remercie du fond du cœur pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance. Ce travail est le résultat des efforts que vous avez fournis durant toutes ces années pour mon éducation et mes études. J'espère que votre bénédiction m'accompagnera toujours. Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie, et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

À mon cher petit frère, pour son écoute et sa présence, qui m'ont poussé à aller de l'avant même dans les situations les plus délicates, et m'ont permis de les surmonter, je te souhaite que de la réussite dans ton parcours

À ma chère grand-mère adorée,

Qui m'a accompagnée par ses prières et sa douceur. Puisse Dieu lui accorder une longue vie, une bonne santé et beaucoup de bonheur.

*À mes chères tantes **Mabrouka, hinda, radia et faouzia** ainsi que tous mes oncles*

Je tiens à exprimer ma gratitude à toutes mes amies :

*À **Tiziri**, en premier lieu, pour sa présence constante, sa gentillesse et son aide précieuse depuis le début.*

*À **Inès**, pour sa disponibilité et sa motivation sans faille.*

*A **imene** pour son soutien quotidien*

*À **Amel, Sonia et Nihad**, pour les souvenirs inoubliables partagés ensemble.*

*À ma chère **Nina**, qui a toujours su m'apporter de la bonne humeur et de la motivation tout au long de mon parcours universitaire. Je n'oublierai jamais les moments que nous avons passés ensemble.*

*Je remercie également **Célia, Ikram, Melissa, Tinhinane et Keltoum** pour les moments agréables partagés ensembles, ainsi que toute la promotion "Pharmacologie Toxicologie", pour ces deux années enrichissantes.*

*Je tiens à remercier **Smail**, qui a toujours été là pour moi au cours de ces deux dernières années de mon parcours universitaire. Son encouragement quotidien, sa motivation, sa persévérance, merci pour tout.*

*Enfin, un merci particulier à ma chère binôme **Yasmine** mon bras droit, sans qui ce travail n'aurait jamais pu voir le jour.*

Que ce travail soit l'expression de mon grand attachement et ma gratitude pour tout moment de joie partagé avec vous tous.

Toute ma famille et mes amis

Tous ceux qui me sont chers et que j'ai omis de citer.

Tous ceux qui ont cru en moi.



Dédicaces

Je dédie ce travail tout d'abord à moi-même, c'était un challenge que je me suis lancée il y'a deux ans et me voilà El' Hamdoulilah à sa fin.

Ensuite et bien sur mes parents "FADILA & SAMIR". Mes héros de la vie qui m'ont tant soutenue et aimé, ma mère qui était toujours là pour me remonter le moral par sa patience et mon père qui m'apprend chaque jour la persévérance dans chaque travail. Sans eux je ne serai jamais où je suis aujourd'hui et mille merci et dédicace ne suffiront.

*Je dédie ce travail à mon partenaire de la vie "FAYCAL".
Merci pour ton soutien et ta patience éternel.*

Et a toute ma famille qui est fière de moi et qui a toujours près soin de me soutenir dans chaque pas.

A ma chère binôme Wissem, ce travail nous a appris tellement de leçons et je suis ravie de ce qu'on a pu construire.

A Ma chère copine Sonia, merci pour ta présence et ton amitié sans limite.

A tous mes amis, et toutes personnes ayant participés ou aidés de près ou de loin dans ce travail et mention spécial pour notre ingénieur de laboratoire "Mme IMADALOU", ainsi que LILA pour votre aide et coopération tant précieuse.

Que DIEU vous garde en bonne santé et vous préserve.

Yasmine

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction	1

Synthèse bibliographique

I. Stress oxydatif.....	3
I.1 Définition de stress oxydatif :	3
I.2. Définition des radicaux libres	3
I.3. Classification.....	3
I.4. Origine	4
I.5. Dommages :	4
I.5.1. Sur l'acide désoxyribose nucléique	4
I.5.2. Sur les protéines :.....	5
I.5.3. Sur les lipides :.....	5
I.6. Les substances antioxydantes	5
II. Ulcère gastroduodéal	7
II.1. Anatomie et histologie de l'estomac	7
II.2. Physiopathologie	7
II.3. Diclofénac.....	8
II.3.1. Pharmacocinétique.....	8
II.3.2. Pharmacodynamique	8
II.3.3. Effets directs sur la muqueuse gastrique	9
II.4. Symptômes de l'ulcère	9
II.5. Rôle du stress dans l'ulcère gastroduodéal.....	9
II.6. Traitement d'ulcère gastrique	9
II.6.1. Traitements médicamenteux	9
II.6.2. Traitement chirurgical	11
II.6.3. Phytothérapie :	11
III. Généralités sur <i>Salvia verbenaca</i>	11
III.1. Classification taxonomique	12

III.2. Noms vernaculaires	12
III.3. Composition chimique	12
III.4. Propriétés biologiques et domaines d'utilisation	13
III.5. Toxicité de la plante	13

Matériels et méthodes

I. Matériels	15
I.1. Matériels végétal.....	15
I.1.1. Choix et récolte de la plante.....	15
I.2. Matériels animal.....	15
I.2.1. Entretien des animaux	15
II. Méthodes	16
II.1. Préparation de la poudre végétale.....	16
II.2. Préparation des extraits.....	16
II.2.1. Extraction par macération	16
II.2.2. Extraction par infusion.....	17
II.3. Dosage des Composés phénoliques de <i>S. verbenaca</i>	18
II.3.1. Dosages des flavonoïdes	18
II.3.2. Dosages des phénols totaux.....	18
II.3.3. Dosage des tanins condensés	18
II.4. Evaluation de l'activité anti-oxydante in vitro	19
II.4.1. Test au 2,2'-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH).....	19
II.4.2. Test au 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS).....	20
II.4.3. Test du pouvoir réducteur	21
II.5. Evaluation de l'effet gastro-protecteur de <i>S. verbenaca</i> in vivo	21
II.5.1. Traitement des rats.....	21
II.6. Mesure des paramètres gastriques	22
II.6.1. Etude macroscopique et détermination de l'indice d'ulcère.....	22
II.6.2. Mesure de la production de mucus gastrique.....	22
II.7. Dosages tissulaires.....	22
II.7.1. Préparation de l'homogénat	22
II.7.2. Mesure du malone-dialdéhyde (MDA).....	23

Résultats et discussion

I.1. Rendements d'extractions	25
I.2. Teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensées.....	25
I.3. Activité antioxydante	29
I.3.1. Effet piègeur du radical DPPH.....	29
I.3.2. Effet piègeur du radical ABTS+•	31
I.3.3. Pouvoir réducteur des extraits de <i>S. verbenaca</i>	33
I.4. Etude in vivo	34
I.4.1. Etude macroscopique des estomacs	34
I.4.2. Evaluation du poids de mucus gastrique.....	36
I.4.3. Evaluation de pourcentage d'inhibition par l'indice d'ulcère.....	37
I.4.4. Analyse des résultats de la CRP (protéine C réactive).....	37
I.4.5. Influence du traitement sur le malondialdéhyde (MDA)	38
Conclusion et perspectives	40
Références bibliographiques	42
Annexes.....	51
Résumé	

Liste des tableaux

Tableau I : Classification systématique de <i>S.verbenaca</i>	12
Tableau II : Indice d'ulcère et pourcentage de protection chez les Rats traités par le diclofénac seul	37

Liste des figures

Figure 1: Balance Pro-oxydants/antioxydants.....	3
Figure 2 : stress oxydatif et l'oxydation de diverses macromolécules.....	5
Figure 3 : Rôle central des enzymes antioxydantes dans la cascade oxydante	6
Figure 4 : Anatomie interne et externe de l'estomac.....	7
Figure 5 : Structure du diclofénac.	8
Figure 6 : Structure de l'omeprazole	10
Figure 7 : Photo originale de <i>S.verbenaca</i>	15
Figure 8 : Entretien des rats au sein de l'animalerie	15
Figure 9 : Etapes de préparation de la poudre de <i>S. verbenaca</i>	16
Figure 10 : Etapes de préparation des extraits méthanoliques de <i>S. verbenaca</i>	17
Figure 11: Etapes de préparation des extraits aqueux de <i>S. verbenaca</i>	17
Figure 12 : Radical DPPH et sa forme réduite	19
Figure 13 : Structures et mécanismes hypothétiques impliqués dans l'activation de l'ABTS. 20	
Figure 14 : Rendements des différents extraits de <i>S. verbenaca</i> exprimés en (%)	25
Figure 15 : Teneurs en phénols totaux de différents extraits de <i>S.verbenaca</i>	26
Figure 16 : Teneurs en Flavonoides de différents extraits de <i>S.verbenaca</i>	27
Figure 17 : Teneurs en Tanins de différents extraits de <i>S.verbenaca</i>	28
Figure 18 : Effet piègeur de différents extraits de <i>S. verbenaca</i> sur le radical DPPH.	30
Figure 19: Comparaison de l'activité antiradicalaire de différents extraits de <i>S.verbenaca</i> et le standard (BHT).....	30
Figure 20 : Effet piègeur de différents extraits de <i>S. verbenaca</i> sur le radical ABTS.	32
Figure 21 : Comparaison de l'activité antiradicalaire de différents extraits de <i>S.verbenaca</i> et le standard (Trolox).....	32
Figure 22 : Réduction des ions de fer ferriques (Fe ⁺³) aux ions de fer ferreux (Fe ⁺²) par les différents extraits de <i>S. verbenaca</i> et le Standard (Acide gallique)	33
Figure 23 : Comparaison de l'effet du pouvoir réducteur des extraits de <i>S.verbenaca</i> et le standard (Acide gallique).	34
Figure 24 : Macroscopie des estomacs des rats.....	35
Figure 25: Production de mucus chez les Rats témoins et traités par le diclofénac seul	36
Figure 26 : Variation de la teneur en malondialdéhyde (nmol/g tissu) dans l'estomac chez les rats témoins et traités par le diclofénac seul.....	38
Figure 27 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	52
Figure 28 : Courbe d'étalonnage de la Quercetine	53
Figure 29 : Courbe d'étalonnage de la Catéchine	53

Liste des abréviations

- ❖ **ABTS** : 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)
- ❖ **AINS** : Anti-inflammatoire non stéroïdiens.
- ❖ **AlCl₃** : Chlorure d'aluminium
- ❖ **BHT**: 2, 6 di-tert-butyl-4-methyl phenol.
- ❖ **CAT** : Catalase.
- ❖ **CE** : Cellules endothéliales.
- ❖ **CE** : Concentration efficace.
- ❖ **CI50** : Concentration inhibitrice
- ❖ **CMC** : Carboxymethyl cellulose.
- ❖ **COX₁** : Cyclo-oxygénase 1.
- ❖ **COX₂** : Cyclo-oxygénase 2
- ❖ **CRP** : Protéine C réactive.
- ❖ **DPPH** : λ 2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl.
- ❖ **EROs** : Espèces réactives de l'oxygène.
- ❖ **FeCl₃** : Chlorure ferrique.
- ❖ **GPx** : Glutathion peroxydase.
- ❖ **GSH** : Glutathion réduit
- ❖ **H. Pylori** : Helicobacter pylori.
- ❖ **H₂O₂** : Peroxyde d'hydrogène.
- ❖ **HCL** : Acide chlorhydrique
- ❖ **HCO₃⁻** : Ions de bicarbonates.
- ❖ **HCOR** : Acide hypochloreux.
- ❖ **IPP** : Inhibiteurs de la pompe à proton.
- ❖ **IU** : Indice d'ulcère.
- ❖ **K₂S₂O₈** : Persulfate de potassium.
- ❖ **K₃Fe(CN)₆** : Ferricyanide de potassium.
- ❖ **KCL** : Chlorure de potassium.
- ❖ **MDA** : Malondialdéhydes.
- ❖ **Na₂CO₃** : Carbonate de sodium.
- ❖ **NACL** : Chlorure de sodium.
- ❖ **O₂ ••** : Anion superoxyde.
- ❖ **O₃** : Aldéhyde Ozone.

- ❖ **OH'** : Radical hydroxyle.
- ❖ **ONOO** : Peroxynitrite.
- ❖ **PGE1** : Prostaglandine E1.
- ❖ **PGE2** : Prostaglandine E2.
- ❖ **RNS** : Espèce réactive d'oxygène
- ❖ **ROOH** : Peroxyde organique.
- ❖ **SOD** : Superoxide dismutase.
- ❖ **TBA** : Acide thiobarbiturique
- ❖ **TBARS** : Espèces réactives à l'acide thiobarbiturique .
- ❖ **TCA** : Acide trichloracétique.
- ❖ **Pb** : Plomb
- ❖ **Hg** : Mercure
- ❖ **Cd** : Cadmium
- ❖ **Fe** : Fer
- ❖ **As** : Arsenic

Introduction

Pendant des siècles l'utilisation de la médecine traditionnelle était le seul moyen de traitement disponible (**Batiha et al. 2020**). Même avec l'avancement de la science et de la médecine près de la moitié de la population de nombreux pays industrialisés utilisent désormais régulièrement une forme ou une autre de médecine traditionnelle (selon des données de l'OMS 2012). L'OMS considère l'utilisation de plante médicinale comme meilleure source pour obtenir une variété de médicaments efficaces et moins nocifs et plus sains que les substances pharmaceutiques.

Au cours des dernières décennies, les recherches sur les plantes médicinales sont à leur sommet et en pleine exploitation vu leurs vertus et leur composition riche en métabolites secondaires à savoir des composés phénoliques, des huiles essentielles, des tanins, des terpénoïdes, des alcaloïdes. Ces derniers présentent un large spectre d'activité antioxydante, antimicrobienne et anticancéreuse ainsi que plusieurs autres activités biologiques (**Iravani et al., 2020**).

En situation physiologique, y'a un équilibre parfait entre les espèces réactives oxygénés et les antioxydants. Mais pour plusieurs raisons, ce déséquilibre donne un stress oxydant dans le corps qui se définit comme une perturbation de l'équilibre de la balance entre les radicaux libres et les antioxydants en faveur des radicaux conduisant à des dommages oxydatifs suite à un stress oxydatif excessif (**Sies, 1997**).

Ce stress oxydatif excessifs peut endommager les biomarqueurs de cellules (**Halliwell and Gutteridge, 1999**), tel les cellules pariétale et cellules de mucus de l'estomac qui sont responsables pour la régulation et l'équilibre mucus et acide chlorhydrique lors de la digestion. Le stress oxydatif engendre un déséquilibre en faveur de l'acide chlorhydrique qui va diminuer le tapissement en mucus et créer des lésions au niveau de l'estomac conduisant à un ulcère. Les antioxydants alors jouent un rôle crucial dans le traitement de plusieurs maladies via la réduction des radicaux libres et la diminution des dommages oxydatifs (**Rauter et al., 2012**).

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à étudier la plante *Salvia verbenaca* poussant à l'état spontané dans le territoire Algérien. Pour ce faire, l'objectif global de ce travail est d'évaluer *invitro* les activités antiradicalaires des extraits méthanoliques et aqueux de *S. verbenaca* par l'utilisation de trois méthodes qui ont été choisis parmi les tests les plus cités dans la littérature à savoir : test de piégeage du radical libre DPPH, test de piégeage du radical libre ABTS et test du pouvoir réducteur, ainsi d'étudier l'effet protecteur *invivo* de l'extrait aqueux de *S. verbenaca* sur l'ulcère gastrique induite par le diclofénac.

Enfin, le manuscrit s'achève par une conclusion générale récapitulant l'essentiel des résultats obtenus et qui permettra de tirer quelques perspectives à cette recherche.

Synthèse bibliographique

I. Stress oxydatif

I.1 Définition de stress oxydatif :

C'est une perturbation de l'équilibre de la balance entre les radicaux libres et les anti-oxydants en faveur des radicaux conduisant à des dommages oxydatifs suite à un stress oxydatif excessif (Sies, 1997).



Figure 1: Balance Pro-oxydants/antioxydants (Reuter et al., 2010).

I.2. Définition des radicaux libres

Ce sont des atomes ou molécules instables avec un électron non apparié, cherchant à se stabiliser en gagnant un électron d'autres molécules. Cela entraîne l'oxydation des tissus et cellules avoisinantes, affectant les acides nucléiques, protéines, lipides et glucides (Halliwell, 2007; Berger, 2006).

I.3. Classification

- Espèces réactives radicalaires

Ce sont des radicaux libres ou métaux de transition qui se stabilise avec un seul électron (Winterbourn., 2015). Ce groupe comprend l'oxygène ($O_2 \bullet$), l'anion superoxyde ($O_2 \bullet^-$) et, le radical hydroxyle ($OH \bullet$), l'oxyde nitrique ($NO \bullet$), le radical pyroxyde ($ROO \bullet$) et le radical alkoxyde ($RO \bullet$) (Engwa, 2018).

- **Espèces réactives non radicalaire**

Ce sont des molécules non radicalaires qui nécessitent 2 électrons pour donner un produit non radicalaire (**Winterbourn, 2015**) appelé aussi espèces non réactives qui comprennent Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), Peroxyde Organique (ROOH) Acide hypochloreux (HCOR) Aldéhydes Ozone (O_3) Oxygène Singlet (1O_2) Peroxynitrite (ONO) (**Engwa, 2018**).

I.4. Origine

- **Exogène**

Les radicaux libres peuvent parvenir de l'extérieur suite à l'exposition aux métaux lourds (Cd, Hg, Pb, Fe et As), par l'ingestion de certains médicaments (cyclosporine, gentamycine, tacrolimus, bléomycine), suite à l'exposition aux solvants chimiques et l'alimentation pauvre en fruits et légumes. Les mauvaises habitudes tels que le tabagisme, l'alcoolisme ainsi que la pollution et l'exposition prolongée au soleil ou radiation sans protection (**Defraigne et Pincemail 2008; Pizzino et al., 2017**)

- **Endogène :**

L'activation des cellules immunitaires (macrophage, Eosinophile et neutrophile), l'inflammation, l'ischémie et l'activité sportifs excessive de haut niveau ainsi que le vieillissement et le stress mental génèrent à l'intérieure de l'organisme la formation de radicaux libres (**Defraigne et Pincemail, 2008; Valko et al.,2006**).

I.5. Dommages :

I.5.1. Sur l'acide désoxyribose nucléique

L'ADN est l'une des cibles favorites des ERO surtout le radical hydroxyle (**Burton et Jauniaux, 2011**), il affecte les bases purines et pyrimidines ainsi que le squelette de l'ADN. Ses dommages touchent l'induction ou l'arrêt de la transcription et les voies signalétiques de la transcription ainsi que les erreurs lors de la réplication et l'instabilité de génome (**Pizzino et al., 2017; Reuter**).

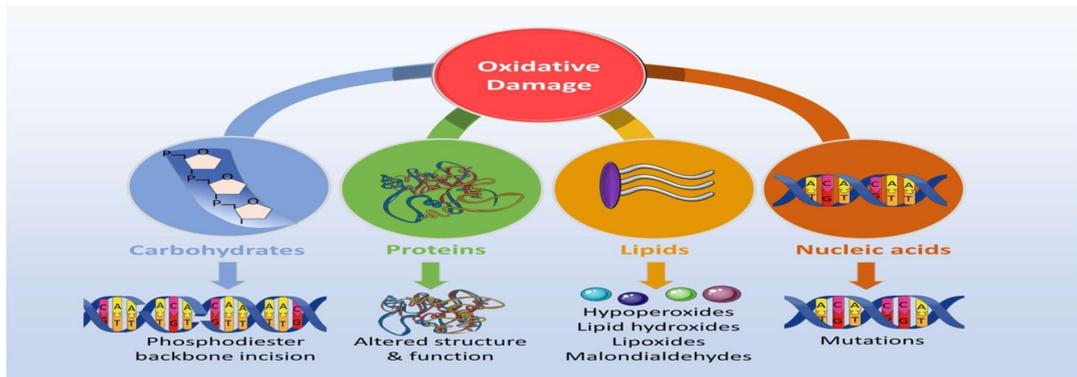


Figure 2 : stress oxydatif et l'oxydation de diverses macromolécules (Aramouni et *al.*, 2023).

I.5.2. Sur les protéines :

Les acides aminés sont des molécules sensibles face aux ERO conduisant à la formation des groupes carbonylés. L'oxydation touche les résidus et le squelette de la protéine (Burton et Jauniaux 2011).

I.5.3. Sur les lipides :

La peroxydation touche les lipides en raison de leurs concentrations élevées d'acides gras polyinsaturés (Cotticelli, 2013). Le processus de peroxydation passe par trois étapes : l'initiation où y aura formation de radical lipidique suite à l'abstraction d'une molécule d'hydrogène ensuite lors de la propagation y 'aura formation de radical peroxy qui a la fin donne un hydroperoxyde qui suite à des cyclisations donnera le malondialdéhyde (MDA) qui peut réagir avec les bases azotés guanine, adénine, cytosine (Davies 2000; Valko et *al.*,2006).

I.6. Les substances antioxydantes

Un antioxydant est une substance qui, à faibles concentrations par rapport à un substrat oxydable, retarde ou empêche significativement son oxydation (Halliwell, 1990). Les principales enzymes impliquées dans la défense antioxydante sont la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx). En cas de stress oxydant, tant l'activité que l'expression des gènes codant pour ces enzymes peuvent être augmentées (de Zwart et *al.*, 1999). La superoxyde dismutase catalyse la dismutation de l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), qui est ensuite réduit en eau (H_2O), comme illustré dans la figure 3.

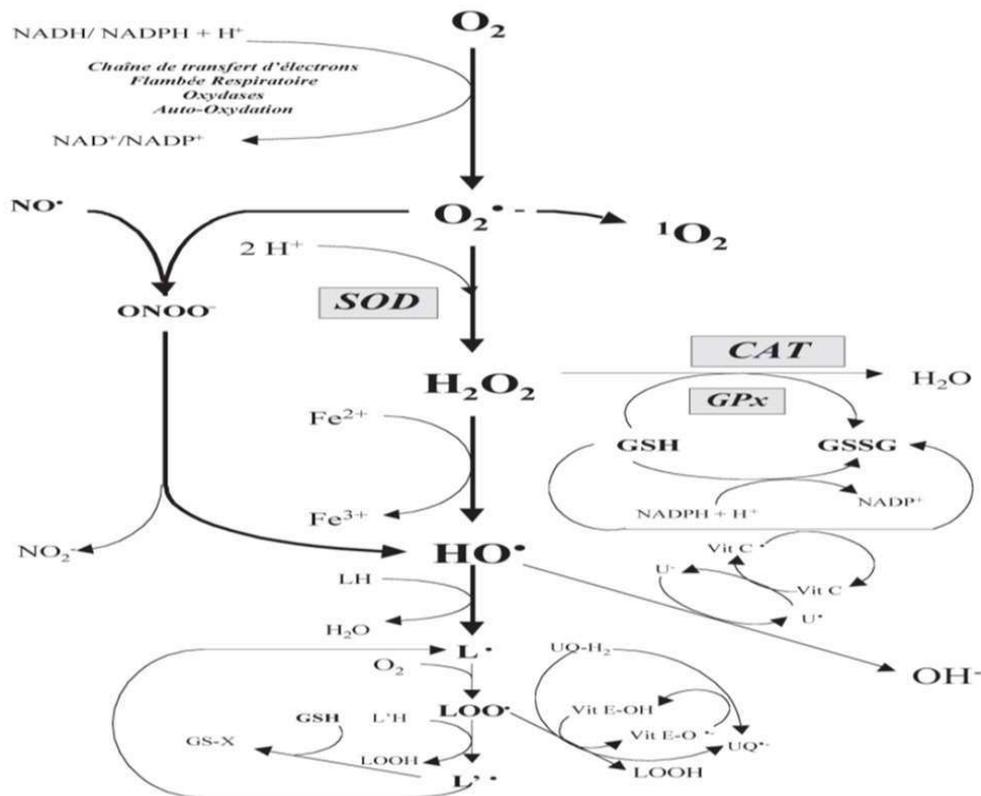


Figure 3 : Rôle central des enzymes antioxydantes dans la cascade oxydante (Moffarts et al., 2005)

$O_2^{\bullet -}$: anion super oxide, 1O_2 : oxygène singulet, H_2O_2 : peroxyde d'hydrogène, HO^{\bullet} : radical hydroxyl, NO^{\bullet} : oxyde nitrique, $ONOO^-$: peroxy-nitrite, GSH : glutathion réduit, GSSG : glutathion oxydé, SOD : superoxyde dismutase, CAT : catalase GPx : glutathion peroxydase, U : acide urique, Vit C : acide ascorbique, UQ : ubiquinone (coenzyme-Q10), Vit E : vitamine E, NO_2^- : nitrite, L : lipide, NAD(P)H : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.

Des métaux tels que le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn) et, dans certains micro-organismes le nickel (Ni), jouent un rôle important en tant que catalyseur de la superoxyde dismutase (Fridovich, 1995). De la même façon, le sélénium (Se) est l'élément catalyseur de la GPx.

Deux groupes supplémentaires d'antioxydants contribuent à la défense antioxydante : les antioxydants hydrophiles et lipophiles. Les antioxydants lipophiles, tels que les tocophérols, les rétinoïdes, les flavonoïdes, l'ubiquinol, la bilirubine et la mélatonine, sont spécialisés dans la protection des lipides et l'interruption des réactions en chaîne lors de la peroxydation lipidique. Les antioxydants hydrophiles, comme le glutathion, l'acide urique, la vitamine C, les dérivés thiol, les protéoglycanes et l'acide hyaluronique, sont capables de protéger contre l'oxydation des lipides, des protéines et de l'ADN (Moffarts et al., 2005).

II. Ulcère gastroduodéal

II.1. Anatomie et histologie de l'estomac

L'estomac est un organe musculaire qui fait partie du tube digestif, il se situe entre l'oesophage et le duodénum qui se trouve dans la partie supérieure de l'abdomen en forme faciale de J majuscule (**Moore et Dalley, 2011**), il commence au cardia et se termine dans l'intestin par le pylore (**Drake et al., 2006**). L'estomac peut être subdivisé en quatre régions : le cardia, le corps de l'estomac, le fundus gastrique et la partie pylorique. Les éléments externes de l'estomac sont : la grande courbure, la petite courbure ; l'incisure angulaire et l'incisure cardiaque (**Marieb et Hoehn, 2010 ; Drake et al., 2006**).

La muqueuse responsable de la sécrétion gastrique est histologiquement divisée en trois couches : l'enveloppe épithéliale, le chorion et la muqueuse musculaire (**Gartner et al., 2013**).

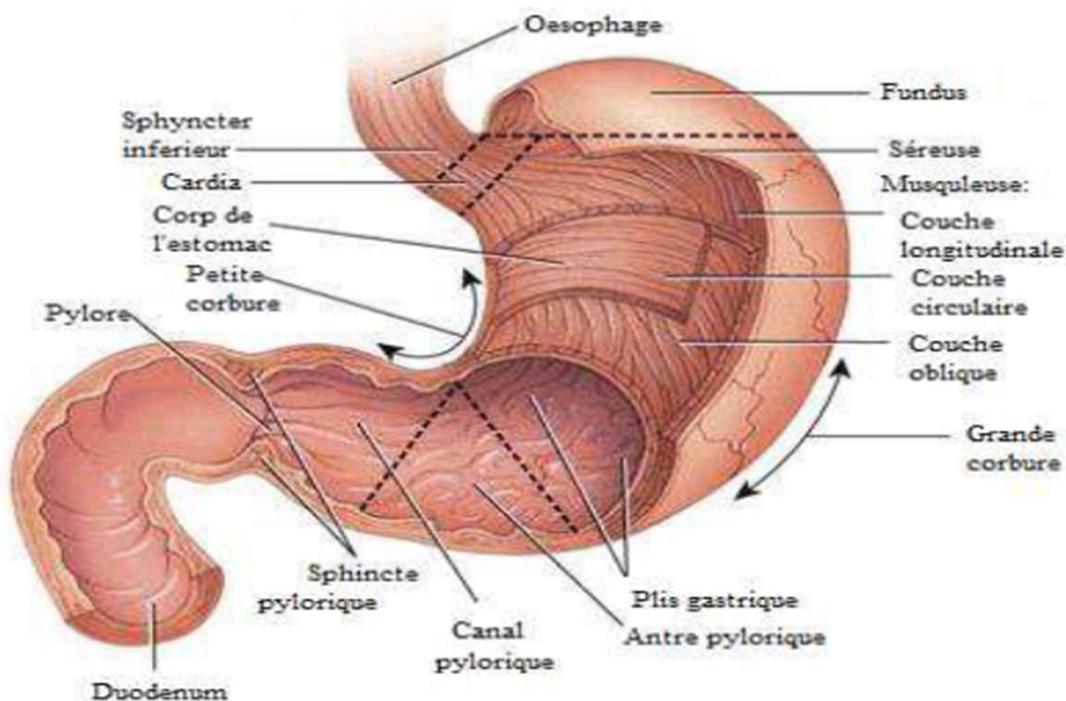


Figure 4 : Anatomie interne et externe de l'estomac (**Tortora et Derrickson, 2010**).

II.2. Physiopathologie

L'ulcère gastroduodéal est une perte de substance de la paroi gastrique ou duodénale due à une inflammation active (**Dive, 1990**). Cette lésion résulte d'un déséquilibre entre les facteurs protecteurs et agressifs. Les agents nocifs impliqués comprennent l'alcool (éthanol), l'acide chlorhydrique gastrique, les radicaux libres d'oxygène, les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), le stress et l'infection par *Helicobacter pylori* (**Sachdeva A et al., 2015**).

II.3. Diclofénac

Le diclofénac est un médicament de la classe des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) largement utilisé pour traiter diverses affections inflammatoires et douloureuses, notamment les ulcères gastroduodénaux.

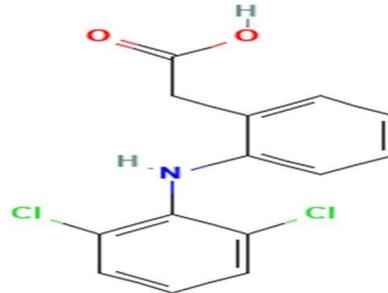


Figure 5 : Structure du diclofénac (Garcia, 2018).

II.3.1. Pharmacocinétique

❖ Absorption

Le diclofénac est rapidement et presque complètement absorbé après administration orale, avec une biodisponibilité systémique d'environ 50 % en raison du métabolisme hépatique de premier passage (Hinz et al., 2000).

❖ Distribution

Le diclofénac est fortement lié (environ 99 %) aux protéines plasmatiques, principalement à l'albumine (Riess et Gorlitzer, 1978).

❖ Métabolisme

Le diclofénac est principalement métabolisé dans le foie par les enzymes du cytochrome P450, principalement le CYP2C9. Il subit une hydroxylation et une conjugaison pour former des métabolites, dont certains sont actifs mais moins puissants que le composé d'origine (Guengerich, 2008).

❖ Élimination

Le diclofénac est éliminé principalement par les reins (65 %), avec environ 1 % du médicament excrété sous forme inchangée. Le reste est excrété par la bile et les selles. La demi-vie d'élimination du diclofénac est d'environ 1 à 2 heures (Guengerich, 2008).

II.3.2. Pharmacodynamique

Son mécanisme d'action implique plusieurs voies biochimiques. Premièrement, le diclofénac inhibe sélectivement la cyclooxygénase (COX), principalement l'isoforme COX-1, et dans une moindre mesure la COX-2 (Wallace, 2013).

II.3.3. Effets directs sur la muqueuse gastrique

Le diclofénac peut irriter directement la muqueuse gastrique, entraînant une augmentation de la perméabilité de la muqueuse, des dommages cellulaires et une inflammation locale (Wallace, 2013).

II.4. Symptômes de l'ulcère

Le symptôme typique d'un ulcère est une douleur en haut de l'abdomen, similaire à une crampe, apparaissant quelques heures après les repas et atténuée par l'alimentation. Cependant, cette douleur ne se manifeste que dans 40 % des cas. La plupart du temps, l'ulcère provoque plutôt un léger inconfort gastrique, comme des nausées ou des difficultés à digérer. Chez certaines personnes, notamment les personnes âgées, l'ulcère peut être asymptomatique, découvert par hasard ou lors d'une complication (**Peptic Ulcers (Stomach or Duodenal Ulcers) - NIDDK s. d.**).

II.5. Rôle du stress dans l'ulcère gastroduodéal

Lors d'un stress oxydatif gastrique, le déséquilibre des facteurs agressifs et protecteurs dans l'estomac joue un rôle important dans les saignements gastriques et la formation d'ulcères. La production excessive d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) est considérée comme l'un des principaux facteurs pathogènes conduisant directement à des dommages oxydatifs, notamment la peroxydation lipidique, l'oxydation des protéines et les dommages à l'ADN, pouvant entraîner la mort cellulaire (Chai, 2011).

II.6. Traitement d'ulcère gastrique

II.6.1. Traitements médicamenteux

Le traitement médical pour les ulcères gastriques vise à soulager la douleur, favoriser la guérison des lésions et réduire l'acidité gastrique agressive tout en renforçant la défense de la muqueuse (Calop et al., 2008). Cela comprend l'utilisation de :

- **Pansements gastriques** : Pour protéger localement la muqueuse en formant une barrière physique. Ils peuvent contenir des substances telles que le sucralfate ou des alginates.
- **Des antiacides** : Qui agissent localement grâce à la présence d'aluminium, de magnésium et/ou de calcium qui diminuent l'acidité gastrique par capacité tampon et neutralisation de HCl tel que l'Hydroxyde de magnésium ou d'aluminium et Carbonate de calcium.

- **L'éradication d'*H.pylori*** : Repose actuellement sur une thérapie associant un anti sécrétoire et deux antibiotiques (Calop et al., 2008).
- **Les anti sécrétoires gastriques** : Les anti sécrétoires gastriques réduisent la production d'acide gastrique. Ils incluent les antihistaminiques H2, les inhibiteurs de la pompe à protons (IPP) et les analogues de prostaglandines. (Gotrand et Turk, 2016).

❖ Oméprazole / un antihistaminique H2

Définition : L'oméprazole, appartenant à la famille des benzimidazoles substitués, présente une structure chimique avec un centre de chiralité (l'atome de soufre), donnant ainsi naissance à deux isomères, R et S, ainsi qu'à un mélange racémique (Kirkiacharian, 2010).

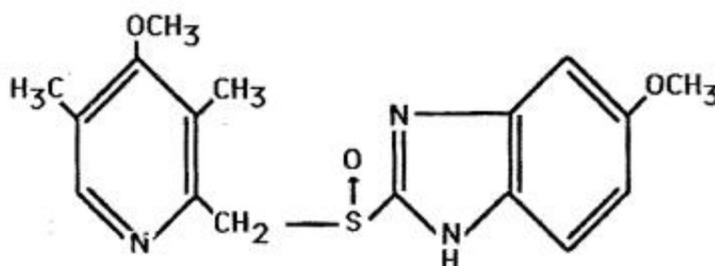


Figure 6 : Structure de l'oméprazole (Souquet, 1988).

❖ Pharmacocinétique

• Absorption

L'oméprazole est rapidement absorbé après administration orale. Sa biodisponibilité est d'environ 30 à 40 % avec une dose unique, mais peut augmenter jusqu'à 60 % après des doses multiples (MDPI, 1996).

• Distribution

L'oméprazole est fortement lié aux protéines plasmatiques, jusqu'à 95 %. Il est largement distribué dans les tissus corporels (MDPI, 1996).

• Métabolisme :

Principalement métabolisé par le foie via les enzymes du cytochrome P450 (MDPI, 1996).

• Élimination :

L'élimination se fait principalement par voie rénale (environ 80%) et le reste par voie biliaire. La demi-vie plasmatique est courte, de l'ordre de 0,5 à 1 heure (MDPI, 1996).

❖ Mécanisme d'action :

L'oméprazole agit en tant qu'inhibiteur spécifique de l'enzyme H⁺/K⁺ ATPase située dans les cellules pariétales de l'estomac (**Souquet, 1988**). Du fait de sa nature basique, il se concentre dans les canalicules des glandes oxyntiques. À un pH acide, il est converti en sa forme active, le sulfinamide, qui inhibe de manière irréversible l'H⁺/K⁺ ATPase à la membrane apicale des cellules pariétales. Cette action bloque la voie finale commune de la sécrétion d'acide gastrique, réduisant ainsi la réponse à l'histamine, à la gastrine ou à l'acétylcholine, et supprimant toutes les phases de sécrétion gastrique (céphalique, gastrique et intestinale) (**Montal, 2010**).

II.6.2. Traitement chirurgical

Le traitement chirurgical de l'ulcère gastroduodéal est envisagé lorsque les options non chirurgicales échouent ou en cas de complications graves (perforation, hémorragie sévère, obstruction gastrique) (**Masson, 2002**).

II.6.3. Phytothérapie :

De nombreux composés chimiques aux propriétés antiulcéreuses ont été extraits de plantes médicinales, comme l'ont rapporté plusieurs études (**Suleyman et al., 2007 ; Singh et al., 2012 ; Kumar et al., 2012**). Parmi ces composés bioactifs, les flavonoïdes, les polyphénols et les tanins se distinguent comme des agents potentiellement bénéfiques pour la protection gastro-intestinale (**Martins et al., 2001**).

III. Généralités sur *Salvia verbenaca*

Le nom *Salvia* est dérivé du latin *salvare*, qui signifie « guérir ou se protéger du danger » en référence aux propriétés médicinales de certaines espèces (**Blumenthal, 2000**). Elle est originaire d'Europe du Sud, d'Afrique du Nord, du Moyen-Orient et du Caucase. Le genre contient environ 900 espèces réparties dans le monde, dont une variété d'espèces ornementales, culinaires et médicinales, parmi lesquelles *S. verbenaca* L. (**Kamatou et al., 2008**).

S. verbenaca est une plante herbacée vivace qui peut atteindre une hauteur de 80 cm, mais généralement moins de 50 cm (**Ben Farhat et al., 2013 ; Khlifi et al., 2006**).

III.1. Classification taxonomique

La classification systématique de *S.verbenaca* est détaillée dans le **Tableau** ci-dessous.

Tableau I : Classification systématique de *S.verbenaca* (**Bonnier, 1990**).

Règne	Plantae
Embranchement	Spermatophyta
Sous-embranchement	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Asteridae
Ordre	lamiale
Famille	Lamiaceae
Genre	Salvia
Espèce	<i>Salvia verbenaca</i>

III.2. Noms vernaculaires

Elle est connue sous le nom de sauge à feuilles de verveine ou de fausse sauge verveine en français, en Anglais verbena sage, vervain sage ou wild clary. Alors qu'en Tunisie et au Maroc on l'appelle Al-kyyata ou khiyyata. En Algérie, cette plante est également appelée khiyyata. Ces noms vernaculaires varient légèrement d'une région à l'autre, mais ils sont généralement assez similaires dans les pays du Maghreb (**Ben Farhat et al., 2013 ; Khlifi et al., 2006**).

III.3. Composition chimique

Ben Farhat et al. (2013) ont analysé qualitativement et quantitativement les polyphénols dans un extrait méthanolique de verveine en utilisant la RP-HPLC avec un détecteur UV multi-longueurs d'onde. Leur étude a identifié 18 composés phénoliques distincts, regroupés en trois catégories principales : les acides phénoliques (comme les acides parahydroxybenzoïque, vanillique, caféique, coumarique, férulique et rosmarinique), les diterpènes phénoliques (y compris le carnosol et le carnosate de méthyle), et les flavonoïdes (tels que la naringénine, la lutéoline, l'apigénine, et leurs dérivés glycosidiques comme l'apigénine-7-glucoside) (**Belkhiri, 2018**).

III.4. Propriétés biologiques et domaines d'utilisation

S. verbenaca est utilisée en médecine traditionnelle pour ses propriétés médicinales. Divers usages thérapeutiques lui sont connus depuis l'antiquité et ont été validés par des tests biologiques appropriés. Les activités biologiques pour lesquelles ces espèces sont utilisées sont très diverses, on peut citer : l'activité anti cholinestérase (Perry et al., 2003), antibactérienne (Tepe et al., 2005), antioxydante (Kan et al., 2007), antifongique (Kotan et al., 2008), antiinflammatoire (Li et al., 2009) et anticancéreuses (Perry et al., 2003 ; Tepe et al., 2005 ; HU-Quan et al., 2009 ; Kamatou et al., 2010). *S. verbenaca* est appliquée en cataplasme, sur les plaies et les abcès vidés pour faciliter leur cicatrisation (Salhi et al., 2010; Lakhdar, 2015). La recherche auprès des autochtones au niveau de la wilaya de Tlemcen a montré que *S. verbenaca* est utilisée avec d'autres herbes médicinales pour traiter le rhume (Bonnier G, 1990). Elle est également utilisée en cosmétique pour ses propriétés tonifiantes et astringentes (Mrabti et al., 2022). La plante est également utilisée dans l'industrie parfumière pour son parfum caractéristique (Mrabti et al., 2022) Les feuilles et les sommités fleuries sont stomachiques et stimulantes (Bonnier, 1990). Bien que moins efficace que la sauge officinale, cette espèce sert à faire des infusions toniques et stimulantes (Beniston et al., 1984).

Des analyses chromatographiques effectuées sur *S. verbenaca* d'Algérie de Hammam Dalaa wilaya de M'sila ont montré que ses huiles essentielles ont une activité antioxydante, antifongique et antimicrobienne (Kheniche et al., 2013, Belkhiri et al., 2017). Les feuilles de *S. verbenaca* sont utilisées comme des légumes (Valle, 2001). Il est mentionné aussi dans le catalogue des plantes aromatiques et médicinales du Haut Atlas Oriental, que le décocté des feuilles de *S. verbenaca*, est consommé pour traiter les spasmes, les coliques, l'anxiété et que la tisane des feuilles peut être utilisée pour traiter la frigidité, grippe, pharyngite, Angines (Khelifi et al., 2006; Lahsissene et al., 2009).

III.5. Toxicité de la plante

S. verbenaca se révèle être une plante non toxique. Avec une dose létale de DL50 supérieure à 2000mg/kg et entre dans la catégorie 5 avec toxicité aigüe faible (2000 à 5 000 mg/kg de poids corporel).

La toxicité subaiguë aussi n'a montré aucun effet sur les souris testées comparés aux témoins soit sur les reins ou sur l'activité hépatique (Righi et al. 2021).

Matériels et méthodes

I. Matériels

I.1. Matériels végétal

I.1.1. Choix et récolte de la plante

Le choix du matériel végétal a été porté sur la plante *Salvia verbenaca* récoltée à Adekar au début du mois de mars 2024, située dans la Wilaya de Béjaia, à des coordonnées géographiques de 36° 41' 33" Nord et 4° 40' 21" Est (**Figure11**).



Figure 7 : Photo originale de *S. verbenaca* (photo originale).

I.2. Matériels animal

I.2.1. Entretien des animaux

Dans notre étude expérimentale, nous avons utilisé 25 rats *Wistar albinos* provenant de l'institut Pasteur d'Alger, âgés de huit semaines avec un poids de 200 ± 60 g. Les rats sont maintenus dans l'animalerie de l'université de A. Mira de Bejaia. Les rats ont été élevés dans des cages spéciales en polystyrène. Pour respecter leurs cycles biologiques, ils ont été mis sous des conditions ; de température ambiante variant entre (24-26 °C), avec un accès libre à la nourriture (aliment bouchon) et à l'eau du robinet, et un cycle de lumière et d'obscurité 12h /12 h par jours (**Figure 8**).



Figure 8 : Entretien des rats au sein de l'animalerie (Photo originale).

II. Méthodes

II.1. Préparation de la poudre végétale

La plante est nettoyée de la terre puis séchée à l'air libre pendant une semaine, ensuite, transférée à l'étuve à 40 °C, Cela pour affiner le séchage, ainsi que pour obtenir un meilleur broyage. Après séchage, la plante a été broyée en séparant les feuilles et les fleurs à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. Le tamisage a été réalisé en faisant passer les deux broyats à travers un tamis d'un diamètre de 250 µm en vue d'obtenir des particules de taille moyenne et homogène, qui permettent une meilleure extraction tout en évitant le colmatage et le passage des particules dans l'extrait après filtration. La poudre ainsi obtenue des deux parties est stockée dans des bocaux fermés, à une température de 4degré Celsius à l'abri de la lumière et de l'humidité, jusqu'à utilisation (**Figure 9**).

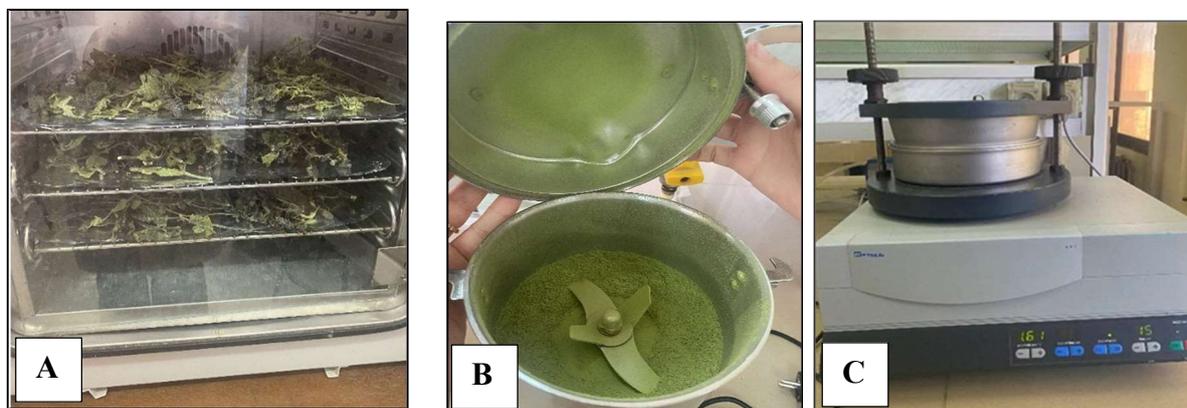


Figure 9 : Etapes de préparation de la poudre de *S. verbenaca* (Photo originale).

A : séchage **B** : broyage **C** : tamisage

II.2. Préparation des extraits

II.2.1. Extraction par macération

Les extraits bruts de la partie aérienne de *S. verbenaca* ont été préparés par macération. Nous avons opté pour le protocole d'épuisement du matériel végétal préconisé par **Nostro et al., (2000)**, en utilisant comme solvant d'extraction le méthanol.

Pour procéder à l'extraction, 200 ml de méthanol ont été ajoutés séparément à 50 g de fleurs, puis à 50 g de feuilles, et enfin à 50 g de la plante entière (fleurs + feuilles). Les extraits ont été placés sous agitation pendant une durée de 5 heures à 700 rpm à l'aide d'un agitateur équipé d'un barreau magnétique. Le macérât a été filtré en utilisant un papier wattman avec une porosité de 125 µm. Le filtrat est évaporé à sec en utilisant un évaporateur rotatif à 40°C (**Figure 10**). Le raffinat récupéré des extraits a subi une deuxième extraction. Après le

séchage, une pesée a été effectuée pour déterminer le rendement d'extraction selon la formule suivante :

$$\text{Rendement d'extraction en (\%)} = (E1/E0) \times 100$$

Avec : E_1 : masse de l'extrait brut obtenu (g), E_0 : masse de la prise d'essai de départ (g).

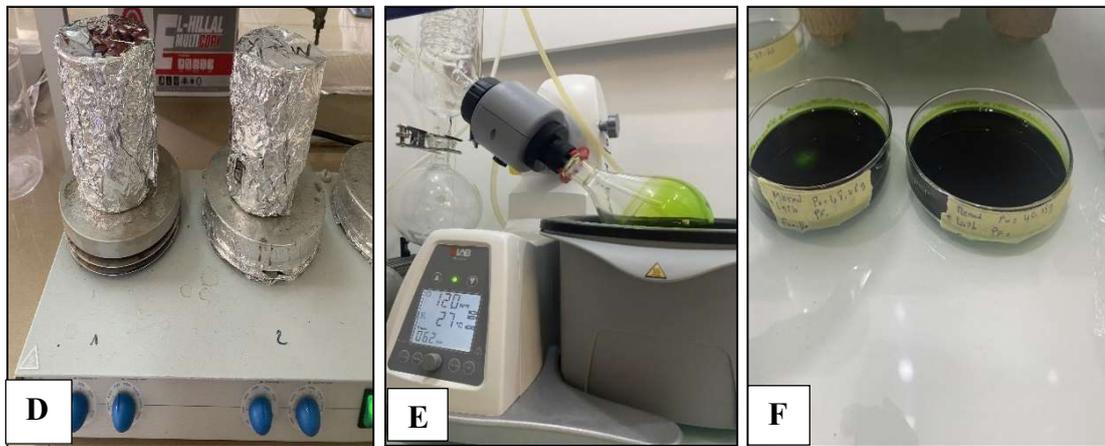


Figure 10 : Etapes de préparation des extraits méthanoliques de *S. verbenaca* (Photo originale).

D : Macération **E :** Evaporation rotatif **F :** Séchage sous hotte

II.2.2. Extraction par infusion

La préparation de l'extrait aqueux de *S. verbenaca* été réalisée par infusion selon la méthode décrite par (Kandil et al., 1994). Une quantité de 50 g de la poudre a été mélangée avec 500 ml d'eau bouillante. L'extrait a été filtré selon la même procédure que pour l'extrait méthanolique, puis réduit en utilisant un évaporateur rotatif et séché à sec dans une étuve à 40°C (Figure11). Le rendement est calculé par la même façon que pour l'extrait méthanolique. Ensuite, l'extraits brut obtenu a été conservé à 4 °C jusqu'à utilisation.

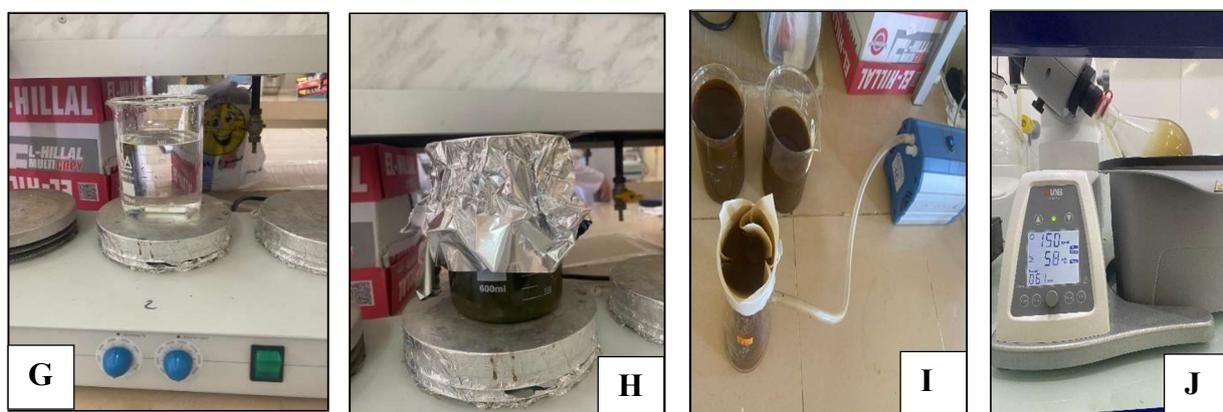


Figure 11: Etapes de préparation des extraits aqueux de *S. verbenaca* (photo originale).

G : Ebullition d'eau distillé **H :** Macération et agitation **I:** Filtration **J:** Evaporation rotatif

II.3. Dosage des Composés phénoliques de *S. verbenaca*

II.3.1. Dosages des flavonoïdes

Selon la méthode de **Bahorun et al., (1996)**. Le complexe flavonoïde-aluminium apparaît jaunâtre à 430 nm. Un volume de 0.5 mL de chaque extrait est mélangé avec le même volume de trichlorure d'aluminium (2 % dissous dans le méthanol), puis incubé pendant 15 min et l'absorbance est mesurée à 430 nm. La quercétine est utilisée pour établir une courbe d'étalonnage (0 - 45 µg/mL) et la teneur totale en flavonoïdes a été exprimée en mg équivalents de quercétine/g d'extrait (mg EQ/g Ext).

II.3.2. Dosages des phénols totaux

Selon la méthode décrite par **Singleton et Rossi (1965)**. La réaction des groupes hydroxyles des composés phénoliques avec le réactif de Folin-Ciocalteu qui est par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) qui produit une couleur bleue mesurable à 765 nm lors de l'oxydation des phénols. L'intensité de cette coloration est proportionnelle aux taux de phénols totaux présents dans les extraits (**Boizot, 2006**).

Un volume de 200 µL de chaque échantillon est mélangé avec 1 mL de réactif Folin-Ciocalteu et incubé pendant 4 min. 800 µL de carbonate du sodium (7.5 %, p/v) sont ajoutés. Le mélange résultant est incubé pendant 2 h et l'absorbance est mesurée à 765 nm contre un blanc de la réaction ne contenant pas d'extrait. Une courbe d'étalonnage est établie en utilisant l'acide gallique (0 - 250 µg/mL) dans les mêmes conditions et les résultats sont exprimés en mg équivalents d'acide gallique/g d'extrait (mg EAG/g Ext).

II.3.3. Dosage des tanins condensés

Pour mesurer les tanins. La méthode de la vanilline avec l'HCL a été utilisée. Cette méthode dépend de la formation des complexes rouges suite à la réaction de la vanilline avec les groupements flavonoïdes terminales des tanins condensés, La teneur en tanins condensés a été déterminée par la méthode de vanilline décrite par (**Julkunen-Tiitto, 1985**).

Un volume de 50 µL a été mélangé avec 1500 µL de la solution vanilline/méthanol à 4 %. Puis vortexer afin de mélanger vigoureusement. Ensuite un volume de 750 µL de HCl concentré a été ajouté. Le mélange a été laissé incubé pendant 20 minutes à température ambiante. L'absorbance a été mesurée à 500 nm afin de réaliser la lecture contre un blanc.

Pour tracer la courbe d'étalonnage, la catéchine a été utilisée comme référence dans les mêmes conditions précédentes (0 - 120 µg/ml). Les résultats obtenus sont exprimés en milligramme (mg) équivalent de la catéchine par gramme d'extrait (mg EC/g Ext).

II.4. Evaluation de l'activité anti-oxydante *in vitro*

II.4.1. Test au 2, 2'-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

Le radical 2, 2'-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) est l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure/ activité antioxydant des composés phénoliques (Prior *et al.*, 2005).

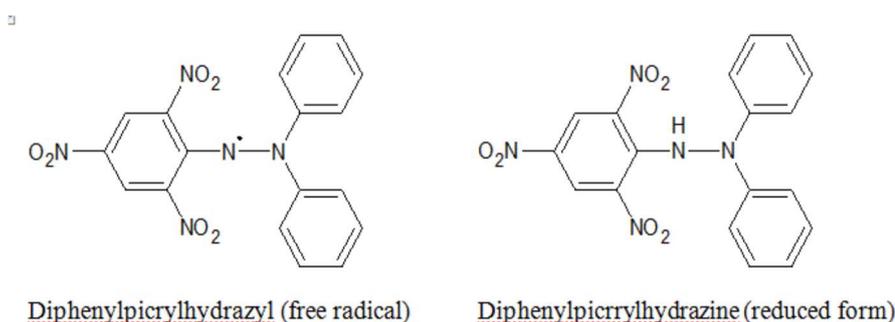


Figure 12 : Le radical DPPH et sa forme réduite (Agatonovic-Kustrin *et al.*, 2014).

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH. L'effet de chaque extrait sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite par Burits et Bucar (2000). 50 µl des extraits à différentes concentrations sont mélangés avec 1,25 ml de la solution méthanolique de DPPH (4%). Le mélange est incubé à l'obscurité pendant 30 minutes et la perte de la couleur par rapport au contrôle contenant uniquement la solution du radical DPPH est mesurée à 517 nm. Le BHT est utilisé comme antioxydants standards. L'effet piègeur (scavenger) du radical DPPH par les échantillons a été exprimé en pourcentage d'inhibition qui est calculé comme suivant :

$$\text{Activité antiradicalaire de DPPH (\%)} = \left[\frac{\text{Abs}_{\text{contrôle}} - \text{Abs}_{\text{test}}}{\text{Abs}_{\text{contrôle}}} \right] \times 100$$

Abs contrôle : Absorbance du contrôle ;

Abs test : Absorbance

La concentration inhibitrice (IC₅₀) qui est la concentration d'extrait ou de l'antioxydant de référence responsable de 50% d'inhibition des radicaux DPPH[•] présents dans le milieu réactionnel, est déterminée sur le graphique représentant le pourcentage d'inhibition du DPPH[•] en fonction des concentrations des extraits ou de l'antioxydant de référence.

II.4.2. Test au 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS)

Le test de l'ABTS est basé sur la capacité d'un antioxydant à réduire le radical cationique ABTS^{•+} de coloration bleu-verte en le transformant en ABTS incolore. Le test est effectué en utilisant la méthode de **Re et al. (1999)**. Le radical ABTS^{•+} a été préparé par la réaction de la solution d'ABTS (7mM) avec du persulfate de potassium (K₂S₂O₈ /2,45mM), cette solution a été laissée à l'obscurité pendant 16h, et à température ambiante (formation du radical ABTS^{•+}). Ensuite, la solution d'ABTS^{•+} a été diluée avec de l'eau distillé afin d'obtenir une absorbance de 0,7 ± 0,02 à 734 nm.

Ensuite, 1,9 ml de la solution d'ABTS^{•+} a été mélangé avec 100 µl de différents extraits de la plante et du standard représenté par le Trolox. Les absorbances sont mesurées à 734 nm après une incubation de 7 minutes à l'obscurité et à la température ambiante. Trois essais ont été effectués pour chaque concentration de produit testé. Le pourcentage de l'activité scavenger du radical ABTS^{•+} est calculé comme suit :

$$\text{Activité scavenger de l'ABTS}^{\bullet+} (\% I) = [(\text{Abs témoin} - \text{Abs échantillon}) / \text{Abs témoin}] \times 100$$

Abs témoin : Absorbance du témoin.

Abs échantillon : Absorbance de la solution de l'ABTS^{•+}

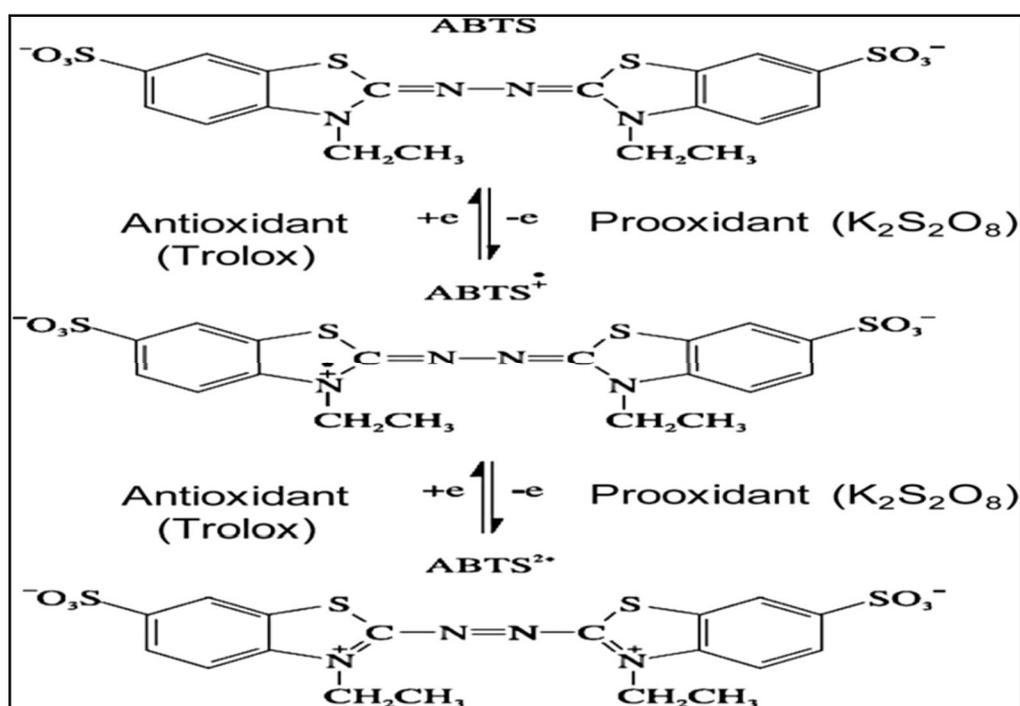


Figure 13 : Structures et mécanismes hypothétiques impliqués dans l'activation de l'ABTS (Konan et al., 2016).

II.4.3. Test du pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est mesuré par la méthode **d'Oyaizu (1986)**. Cette méthode implique le mélange de 250 µL d'extrait à diverses concentrations avec 625 µL de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 625 µL de $K_3Fe(CN)_6$ (1%). Après incubation à 50°C pendant 20 minutes, 625 µL de TCA (10%) sont ajoutés, suivis d'une centrifugation à 3000 rpm pendant 10 minutes à température ambiante. Ensuite, 625 µL d'eau distillée et 125 µL de $FeCl_3$ (0,1%) sont ajoutés au surnageant (625 µL), et l'absorbance est mesurée à 700 nm. L'acide gallique (0-1 mg/ml) sert de témoin positif. Les résultats, exprimés en CE50 (µg/ml), représentent la concentration de l'extrait pour une absorbance de 0,5, obtenue par interpolation linéaire (**Mau et al., 2004**). Une augmentation de l'absorbance indique un pouvoir réducteur accru des extraits testés (**Hubert, 2006**).

II.5. Evaluation de l'effet gastro-protecteur de *S. verbenaca* in vivo

II.5.1. Traitement des rats

L'activité gastro-protectrice de l'extrait aqueux de *S. verbenaca* a été testée contre l'ulcère expérimentalement induit par le diclofénac, selon le protocole décrit par (**Saiah et al., 2017**). Après la période d'adaptation, les animaux ont été répartis en cinq groupes de cinq rats chacun avec accès à la nourriture et l'eau, il s'agit de :

- ✓ **Groupe I (témoin)** : Les rats reçoivent quotidiennement l'eau par gavage pendant 7 jours.
- ✓ **Groupe II Diclofénac** : Les rats reçoivent 1 ml/100 g de diclofénac (100 mg/kg) par gavage dans le septième jour.
- ✓ **Groupe III (Ext aqueux 100 mg/kg + Diclofénac)** : Les rats reçoivent quotidiennement matin et soir, 1 ml/100 g de l'extrait aqueux de *S. verbenaca* par gavage à la dose de (100 mg/kg/j) pendant 7 j et 1 ml/100 g de diclofénac (100 mg/kg) par gavage dans le septième jour.
- ✓ **Groupe IV (Ext aqueux 200 mg/kg + Diclofénac)** : Les rats reçoivent quotidiennement matin et soir, 1 ml/100 g de l'extrait aqueux de *S. verbenaca* par voie gavage à la dose de (200 mg/kg/j) pendant 7 j et 1 ml/100 g de diclofénac (100 mg/kg) par gavage dans le septième jour.
- ✓ **Groupe V (Oméprazole + Diclofénac)** : Les rats reçoivent quotidiennement matin et soir, 1 ml/100 g d'Oméprazole par gavage à la dose de (20 mg/kg/j) pendant 7 j et 1 ml/100 g de diclofénac (100 mg/kg) par gavage dans le septième jour.

Après 4 heures de l'administration du diclofénac (Saiahet *al.*, (2017), tous les groupes des animaux sont sacrifiés, sous anesthésie au chloroforme. Le sang est immédiatement recueilli dans des tubes secs pour le dosage de la CRP, les estomacs de chaque rat sont prélevés pour l'évaluation des paramètres de stress oxydant et l'étude macroscopique.

II.6. Mesure des paramètres gastriques

II.6.1. Etude macroscopique et détermination de l'indice d'ulcère

Les estomacs ont été prélevés suite à une dissection ventro-médiane, incisés le long de la grande courbure, lavés avec une solution saline de l'eau physiologique, puis étalés sur une lame en verre. Des photographies ont ensuite été prises à l'aide d'un appareil numérique avec une résolution de 16 mégapixels, via une loupe binoculaire.

L'indice d'ulcère (IU) a été déterminé selon (Ajaikumar *et al.*, 2005).

$$IU = [1 \times (\text{Nombre de lésions de garde 1}) + 2 \times (\text{Nombre de lésions de garde 2}) + 3 \times (\text{Nombre de lésions de garde 3})] \times 10^{-1}.$$
$$\% \text{ d'inhibition d'ulcère} = [(IU \text{ du control} - IU \text{ du traité}) / (IU \text{ du control})] \times 100.$$

Les niveaux d'ulcères : 0 = pas d'ulcère, 1= ulcère superficiel, 2= ulcère profond, 3= perforation.

II.6.2. Mesure de la production de mucus gastrique

Nous avons délicatement gratté la muqueuse gastrique de chaque estomac à l'aide d'une lame en verre pour récupérer le mucus. Le poids a été pris en utilisant une balance électronique de précision (Ngenge *et al.*, 2016).

II.7. Dosages tissulaires

II.7.1. Préparation de l'homogénat

Après rinçage des estomacs dans du NaCl 0.9%, nous avons les coupés en petit morceaux. Ensuite nous avons homogénéisé 1g de chaque tissu avec 3 volumes de tampons phosphate (0.15M, PH 7.4) contenant de KCl (1.17%) et 30 µl du Triton pour faciliter le broyage. Le mélange a été broyé à l'aide d'un mortier en porcelaine et centrifugé à 2000 rpm pendant 15 mn à 4 ° C pour séparer les débris cellulaires, le surnageant obtenu est ensuite centrifugé à 9600rpm à 4 ° C pendant 30mn. Le surnageant ainsi obtenu est conservé à 4°C et est ensuite utilisé pour réaliser les mesures des paramètres du stress oxydant cytosolique.

II.7.2. Mesure du malone-dialdéhyde (MDA)

Le MDA est l'un des produits terminaux formés lors de la décomposition des acides gras polyinsaturés médités par les radicaux libres. Le niveau de la peroxydation lipidique a été évalué en mesurant le taux de malondialdéhyde avec le test TBARS (Thiobarbituric reactive species) selon la méthode d'**Ohkawa et al (1979)**. Le principe de ce dosage est basé sur la condensation de MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique, pour former un pigment (rose). Ce chromogène peut être donc mesuré par spectrophotométrie d'absorption à 530 nm.

Pour cela, 0.5 ml de l'homogénat a été ajouté à 0.5 ml d'acide trichloracétique (TCA) 20% et 1ml d'acide thiobarbiturique (TBA) à 0.67%. Mélanger et incuber au bain marie à une température de 100 °C pendant 15 minutes. Le mélange est refroidi et additionner de 4 mL de n-butanol, le mélange est ensuite centrifugé pendant 15 minutes à 3000 tours/min. L'absorbance du surnageant est mesurée à 530 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions. La quantité du MDA dans l'échantillon est exprimée en nM/gramme de tissu. Elle est obtenue grâce à une courbe standard réalisée avec du « 1,1',3,3'-tetraethoxypropane » faite dans les mêmes conditions.

II.7.2.1. Analyse statistique des résultats

Les résultats sont analysés par le test ANOVA univarié (one-way ANOVA) suivie du test de Tukey pour les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification. Les analyses statistiques et graphiques ont été réalisés à l'aide GraphPad Prism version 8. Les différences ont été considérées d'être significatives à $p < 0.05$.

Résultats et discussion

I.1. Rendements d'extractions

Les rendements d'extraction des différents extraits de *S. verbenaca* sont reportés dans la figure suivante :

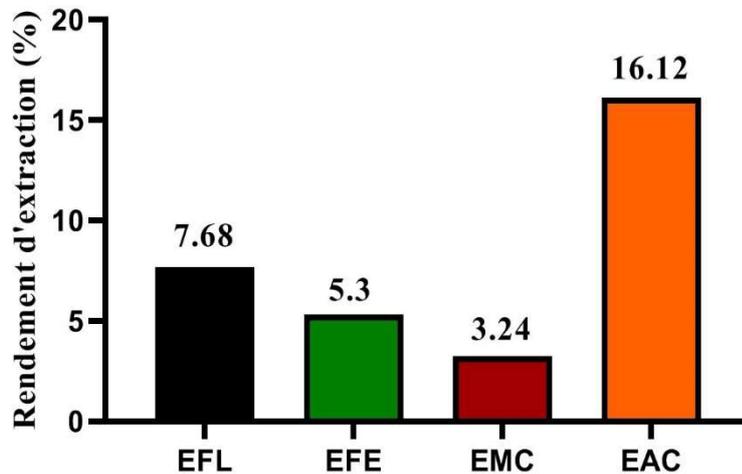


Figure 14 : Rendements des différents extraits de *S. verbenaca* exprimés en (%)
 EFL : Extrait méthanolique de Fleurs, EFE : Extrait méthanolique Feuilles, EMC : Extrait méthanolique plante complète, EAC : Extrait aqueux plante complète.

Les rendements d'extraction varient entre 3,24 et 16,12 %. Le meilleur rendement est obtenu avec l'extrait aqueux de la plante avec une valeur de 16,12 %, suivi par l'extrait méthanolique de fleur et feuilles avec un rendement de 7,68 % et 5,3 % respectivement. Tandis que le plus faible rendement, est celui de l'extrait méthanolique de la plante complète soit 3.24%.

Ces résultats montrent que l'eau est le solvant le plus efficace pour extraire des composés hydrophiles de *S. verbenaca*, particulièrement lorsque la plante complète est utilisée. Les extraits méthanoliques, bien que moins efficaces en termes de rendement total, sont plus sélectifs pour certains composés phénoliques présents dans les fleurs et les feuilles. Ces observations soulignent l'importance de choisir le bon solvant en fonction des composés ciblés pour une extraction optimale (klykov et al.,2021).

I.2. Teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés

Les composés phénoliques représentent le groupe principal contribuant à l'activité antioxydante des végétaux (Tachakittirungrod et al., 2007). C'est pourquoi, dans ce travail, nous avons choisi d'extraire ces composés actifs de notre plante et de déterminer leurs teneurs. Les analyses quantitatives des phénols totaux, des flavonoïdes et des tanins sont réalisées en utilisant les équations de régression linéaire de chaque courbe d'étalonnage. Les résultats sont exprimés

en mg équivalent d'acide gallique pour les phénols totaux, en mg équivalent de quercétine pour les flavonoïdes et en mg équivalent de catéchine pour les tanins par gramme d'extrait.

Les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins sont respectivement illustrées dans les figures. Pour quantifier les polyphénols totaux, nous avons utilisé la méthode au réactif de Folin-Ciocalteu, reconnue comme l'une des méthodes de quantification des composés phénoliques les plus répandues et largement utilisées (**Boizot & Charpentier, 2006**). Lors du dosage des polyphénols, après l'ajout du réactif de Folin-Ciocalteu et du carbonate de sodium à l'extrait, une coloration bleue a été observée, confirmant ainsi la présence de polyphénols. L'intensité de cette coloration varie en fonction de la concentration des différents extraits de la plante étudiée.

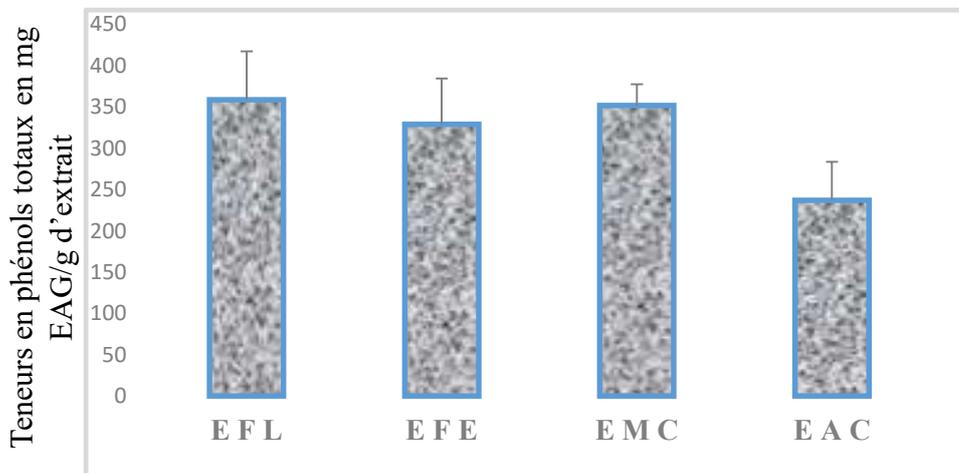


Figure 15 : Teneurs en phénols totaux de différents extraits de *S.verbenaca*.

EFL : Extrait méthanolique de Fleurs, EFE : Extrait méthanolique Feuilles, EMC : Extrait méthanolique plante complète, EAC : Extrait aqueux plante complète.

Une vue d'ensemble de la figure nous permet de constater que les teneurs en phénols totaux varient de $237 \pm 0,17$ à $358 \pm 0,33$ mg EAG/g d'extrait, dont la quantité maximale des composés phénoliques a été donnée par l'extrait méthanolique de fleurs qui présente la teneur la plus élevée en polyphénols (358 ± 9.04 mg EAG/g Ext), tandis que l'extrait aqueux de la plante entière montre la teneur la plus faible (237 ± 4.65 mg EAG/g Ext).

Dans l'étude de **Belkhiri (2018)**, la teneur en phénols totaux obtenue pour *S. verbenaca* dans un extrait hydrométhanolique était de $177,56 \pm 2,51$ mg EAG/g d'extrait. Les résultats actuels montrent que les extraits méthanoliques de différentes parties de *S. verbenaca* (fleurs, feuilles, plantes complètes) ont des teneurs en polyphénols totaux nettement supérieures.

Des recherches antérieures sur d'autres espèces de *Salvia* et des plantes médicinales similaires ont également trouvé des résultats similaires. Par exemple, une étude de **Dorman et al. (2003)**

a rapporté que les extraits méthanoliques de *Salvia officinalis* avaient une activité antioxydante plus élevée, ce qui est corrélé à une teneur en polyphénols plus élevée.

D'autres études, telles que celles de **Barros et al. (2013)**, ont également observé que les extraits méthanoliques de diverses plantes présentaient des concentrations en polyphénols significativement plus élevées que les extraits aqueux.

Le dosage des flavonoïdes est réalisé selon la méthode $AlCl_3$, une technique simple, économique et offrant une bonne sensibilité. Cette méthode permet de déterminer la teneur totale en flavonoïdes, qui forment un complexe avec $AlCl_3$, même en présence d'autres composés polyphénoliques incapables de former un complexe avec $AlCl_3$ (**Matyushchenko et Stepanova, 2003**). Lors du dosage des flavonoïdes, après l'ajout d' $AlCl_3$ aux différents extraits et une période d'incubation, une coloration jaunâtre est apparue. L'intensité de cette coloration, proportionnelle à la concentration des extraits de la plante, confirme la présence de flavonoïdes dans ces extraits.

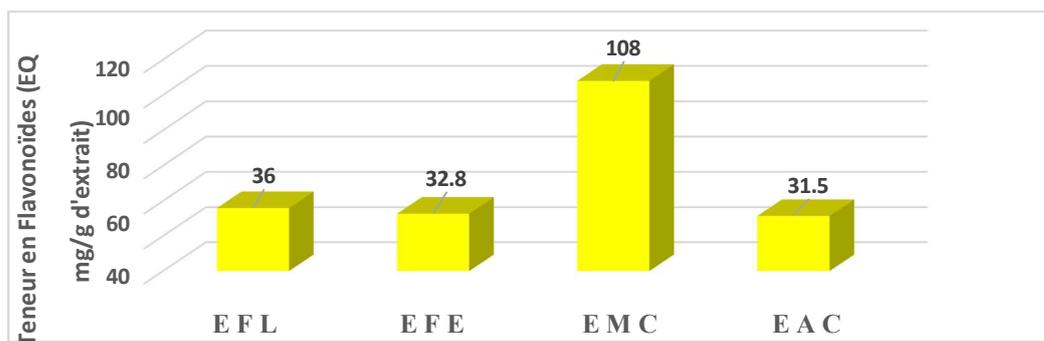


Figure 16 : Teneurs en Flavonoïdes de différents extraits de *S.verbenaca*.

EFL : Extrait méthanolique de Fleurs, EFE : Extrait méthanolique Feuilles, EMC : Extrait méthanolique plante complète, EAC : Extrait aqueux plante complète.

Les résultats de notre analyse montrent que la teneur en flavonoïdes dans les extraits de *S. verbenaca* varie selon la partie de la plante et le solvant utilisé : les fleurs contiennent 36 mg EQ/g d'extrait, les feuilles 32,8 mg EQ/g d'extrait, l'extrait méthanolique de la plante entière 108 mg EQ/g d'extrait, et l'extrait aqueux de la plante entière 31,5 mg EQ/g d'extrait. Le méthanol s'avère plus efficace pour extraire les flavonoïdes, en cohérence avec d'autres études démontrant que le méthanol est un meilleur solvant pour les composés polyphénoliques, y compris les flavonoïdes, grâce à sa polarité adaptée. D'autres recherches sur diverses espèces de *Salvia*, telles que *S. officinalis*, corroborent ces résultats, montrant des teneurs en flavonoïdes plus élevées et une activité antioxydante accrue dans les extraits méthanoliques par rapport aux extraits aqueux. Par exemple, une étude de **Dorman et al. (2003)** a trouvé que les extraits

méthanoliques de *S. officinalis* avaient une activité antioxydante plus élevée, ce qui corrèle avec une teneur en flavonoïdes plus élevée. Des tendances similaires sont observées pour d'autres plantes médicinales. La teneur en flavonoïdes plus élevée dans l'extrait méthanolique de la plante entière suggère des propriétés antioxydantes potentiellement plus fortes et des bénéfices pour la santé.

Cette haute teneur en flavonoïdes suggère un potentiel pour une activité antioxydante significative, bénéfique dans diverses applications pharmaceutiques, nutraceutiques et cosmétiques.

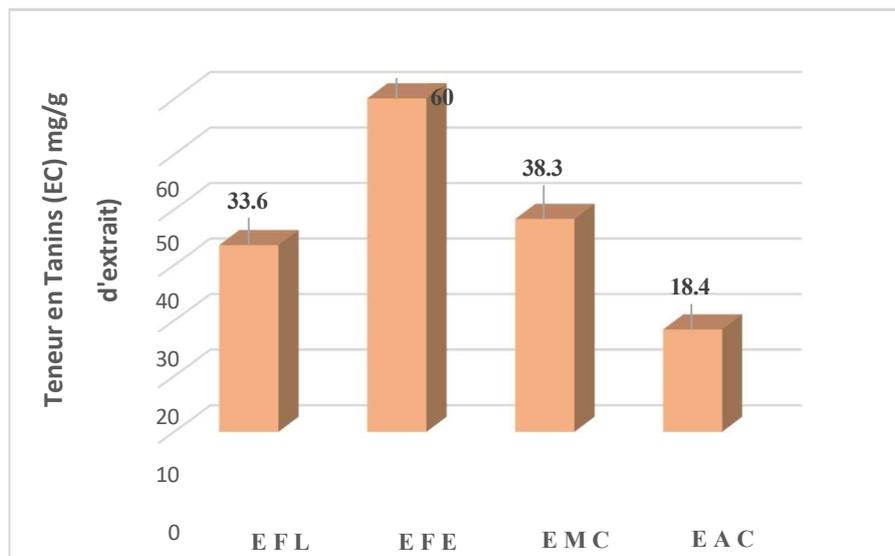


Figure 17 : Teneurs en Tanins de différents extraits de *S. verbenaca*.

EFL : Extrait méthanolique de Fleurs, EFE : Extrait méthanolique Feuilles, EMC : Extrait méthanolique plante complète, EAC : Extrait aqueux plante complète.

Les résultats de notre test de dosage des tanins montrent que l'extrait méthanolique des feuilles de *S.verbenaca* a la teneur la plus élevée (60mg EC/g d'extrait), suivi par l'extrait méthanolique de la plante entière (38,3 mg EC/g d'extrait), les fleurs (33,6 mg EC/g d'extrait), et enfin l'extrait aqueux de la plante entière (18,4 mg EC/g d'extrait).

Une étude de **Barros et al. (2013)** a montré que les extraits méthanoliques de diverses parties de plantes avaient des concentrations plus élevées en tanins et en autres polyphénols, renforçant ainsi les propriétés antioxydantes et médicinales. Par conséquent, les résultats actuels sont cohérents avec la littérature existante, suggérant que les extraits méthanoliques de *S. verbenaca*, en particulier des feuilles, pourraient avoir des propriétés antioxydantes et médicinales significatives, tandis que les extraits aqueux, bien que moins concentrés en tanins,

restent utiles pour des applications nécessitant des solvants non toxiques.

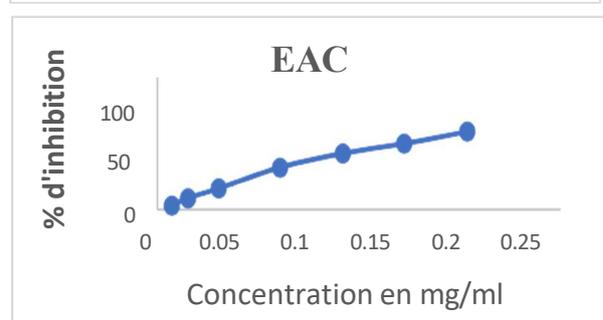
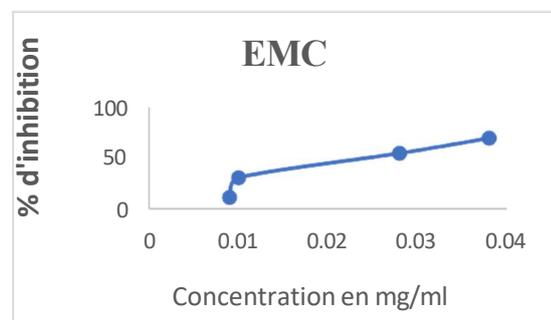
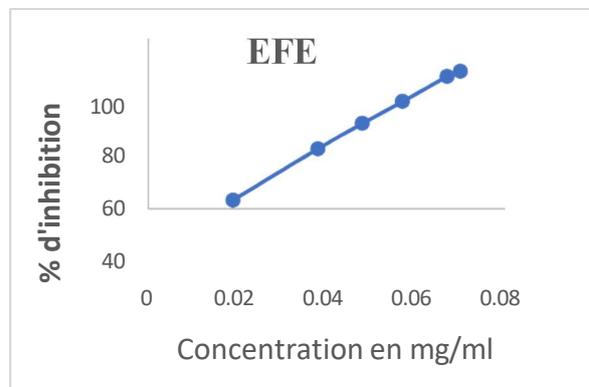
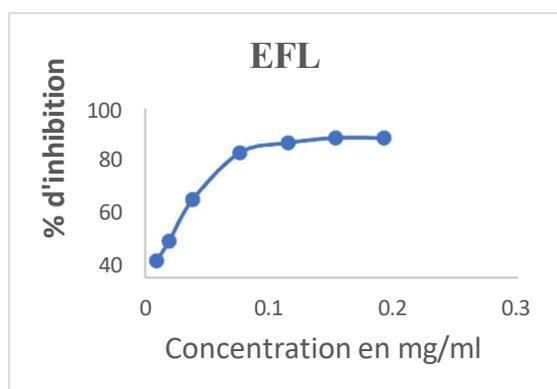
Des études récentes ont montré que plusieurs facteurs peuvent influencer la teneur en composés phénoliques, notamment des facteurs géographiques, climatiques, génétiques, ainsi que le degré de maturation de la plante et la durée de stockage (Aktumsek *et al.*, 2013).

I.3. Activité antioxydante

La mise en évidence du pouvoir antioxydant des différents extraits a été réalisée par trois méthodes à savoir : DPPH, ABTS et Pouvoir réducteur. Ces tests ont été choisis parmi les tests les plus cités dans la littérature.

I.3.1. Effet piègeur du radical DPPH

Dans notre étude, nous avons choisi la méthode de DPPH pour évaluer l'activité antioxydante de nos extraits, en raison de sa stabilité, sa rapidité et son efficacité. L'activité scavenging du radical des différents extraits, est exprimée en pourcentage d'inhibition, et est illustrée dans les figures suivantes :



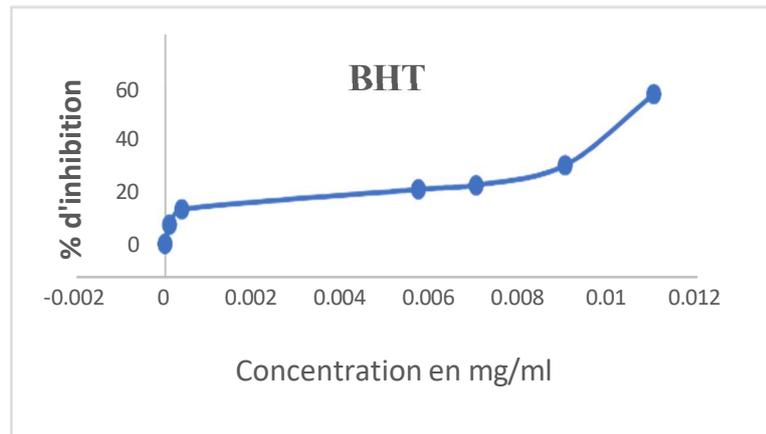


Figure 18 : Effet piègeur de différents extraits de *S. verbenaca* sur le radical DPPH.

EFL : Extrait méthanolique de Fleurs, EFE : Extrait méthanolique Feuilles, EMC : Extrait méthanolique plante complète, EAC : Extrait aqueux plante complète.

A partir des courbes des pourcentages d'inhibition obtenus en fonction des concentrations utilisées, nous avons déterminé les valeurs d'IC₅₀. L'IC₅₀ est la concentration nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH, une valeur d'IC₅₀ très faible correspond à l'activité antiradicalaire très importante.

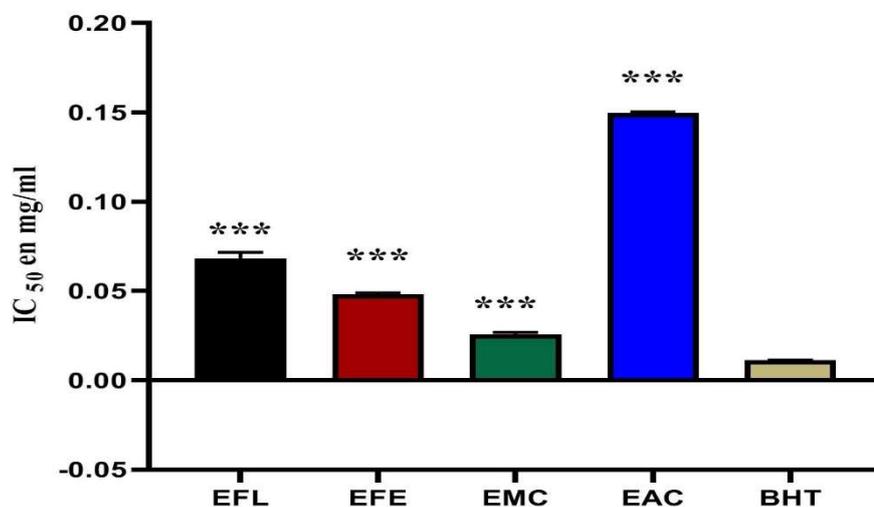


Figure 19: Comparaison de l'activité antiradicalaire de différents extraits de *S. verbenaca* et le standard (BHT).

EFL : Extrait méthanolique de Fleurs, EFE : Extrait méthanolique Feuilles, EMC : Extrait méthanolique plante complète, EAC : Extrait aqueux plante complète.

La comparaison entre les extraits de *S. verbenaca* démontre que l'effet scavenger de DPPH le plus puissant est celui de la plante complète méthanolique avec un IC₅₀ de (0,0256 ±

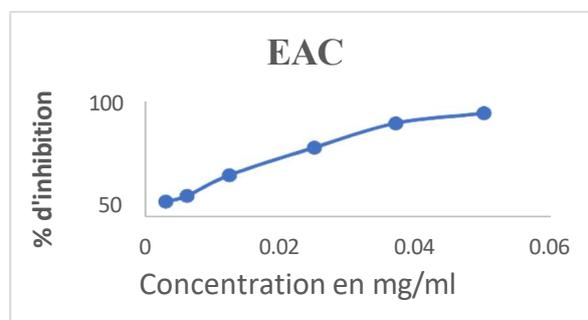
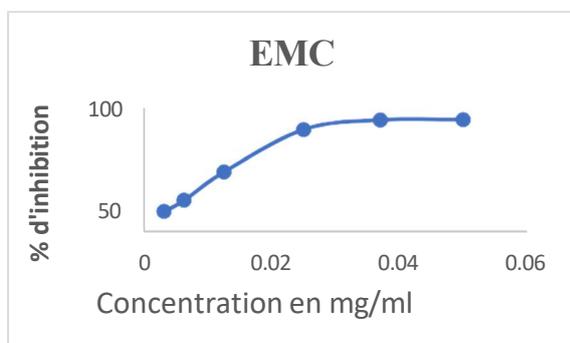
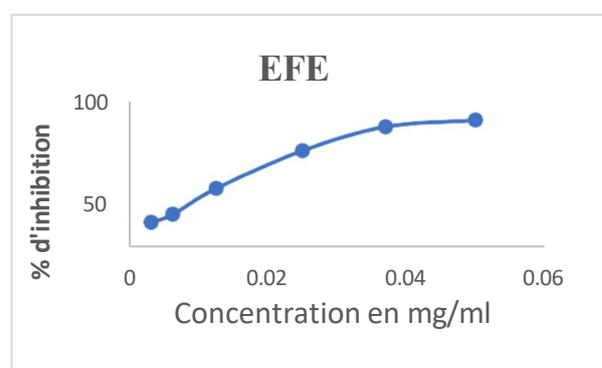
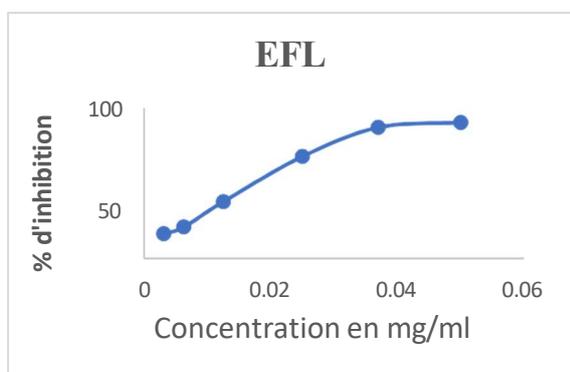
0.001 mg/ml) puis celui de feuille ($0,048 \pm 0.001$) suivie par l'extrait fleur ($0,0685 \pm 0.003$) et enfin l'extrait de la plante complète aqueuse ($0,149 \pm 0.005$).

Cette comparaison démontre que l'extrait de la plante complète méthanolique manifeste une forte activité antiradicalaire par rapport aux autres extraits.

Cette activité antiradicalaire est très bien corrélée avec la teneur en polyphénols et flavonoïdes et il est très connu que l'activité anti radicalaire est liée avec la teneur en composé phénolique (Kamatou, 2008). Ben Farhat et al. (2013), ont montré une valeur d'IC₅₀ de 24.47 µg /ml de l'extrait méthanolique de la partie aérienne de *S. verbenaca*. Ces résultats sont presque en accord avec ceux que nous avons obtenus avec notre extrait méthanolique (0.0256 mg/ml).

I.3.2. Effet piègeur du radical ABTS+

Afin de déterminer l'activité antioxydante. La méthode de Re et al., (1999) par le radical ABTS qui est un autre outil important pour mesurer l'activité antioxydante. Il génère un radical cationique bleu-vert stable lorsqu'il est oxydé, et son activité peut être mesurée par la diminution de l'absorbance à 734 nm après réaction avec un antioxydant. Les résultats sous forme de pourcentage d'inhibition IC₅₀ sont illustrés dans la figure 28 respectivement.



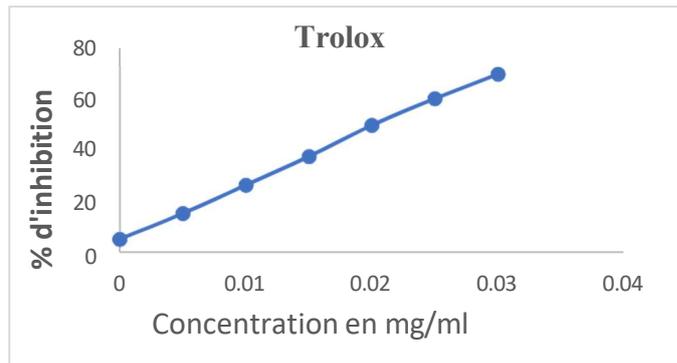


Figure 20 : Effet piègeur de différents extraits de *S. verbenaca* sur le radical ABTS.

EFL : Extrait méthanolique de Fleurs, EFE : Extrait méthanolique Feuilles, EMC : Extrait méthanolique plante complète, EAC : Extrait aqueux plante complète.

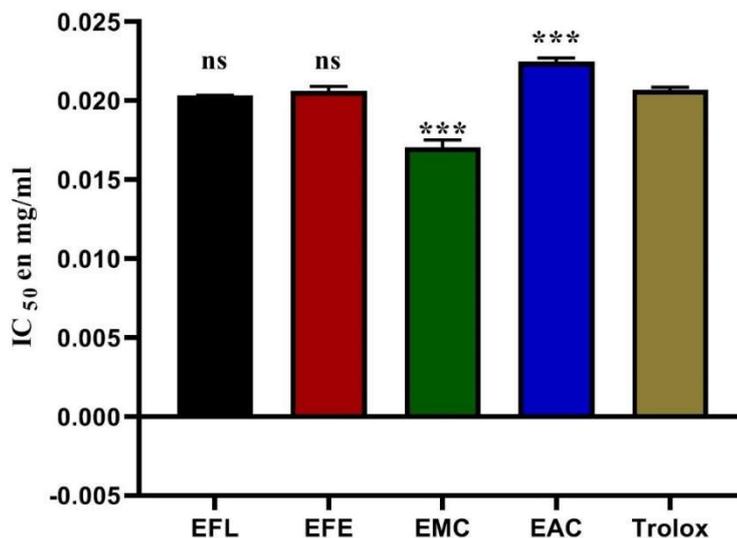


Figure 21 : Comparaison de l'activité antiradicalaire de différents extraits de *S. verbenaca* et le standard (Trolox).

EFL : Extrait méthanolique de Fleurs, EFE : Extrait méthanolique Feuilles, EMC : Extrait méthanolique plante complète, EAC : Extrait aqueux plante complète.

La comparaison entre les extraits de *S. verbenaca* démontre que l'effet scavenger de l'ABTS le plus puissant est celui de la plante complète méthanolique avec un IC₅₀ de (0,0166 ± 0.0004 mg/ml) et l'ABTS le plus faible est constaté avec l'extrait de la plante complète aqueuse avec un IC₅₀ (0,0222±0.0002 mg/ml). D'après la figure au-dessus, l'extrait de la plante complète méthanolique est l'extrait le plus puissant avec une forte activité antioxydante. Une étude menée par **Mrabti et al. (2022)**, a montré que l'extrait méthanolique de *S. verbenaca* présente un pouvoir antiradicalaire contre l'ABTS⁺ de 19.96 ± 1.03 µg/ml. Ces résultats sont presque en accord avec ceux que nous avons obtenus avec notre extrait méthanolique (16.6 ± 0.4 µg/ml).

I.3.3. Pouvoir réducteur des extraits de *S. verbenaca*

Le pouvoir réducteur des extraits de *S. verbenaca* a été mesuré selon la méthode de Oyaizu (1986). Selon cette méthode, la réduction de Fe^{3+} à Fe^{2+} est déterminée en mesurant l'absorbance du complexe bleu prussien de Perl à 700 nm. Une augmentation de l'absorbance indiquant une augmentation de la puissance réductrice.

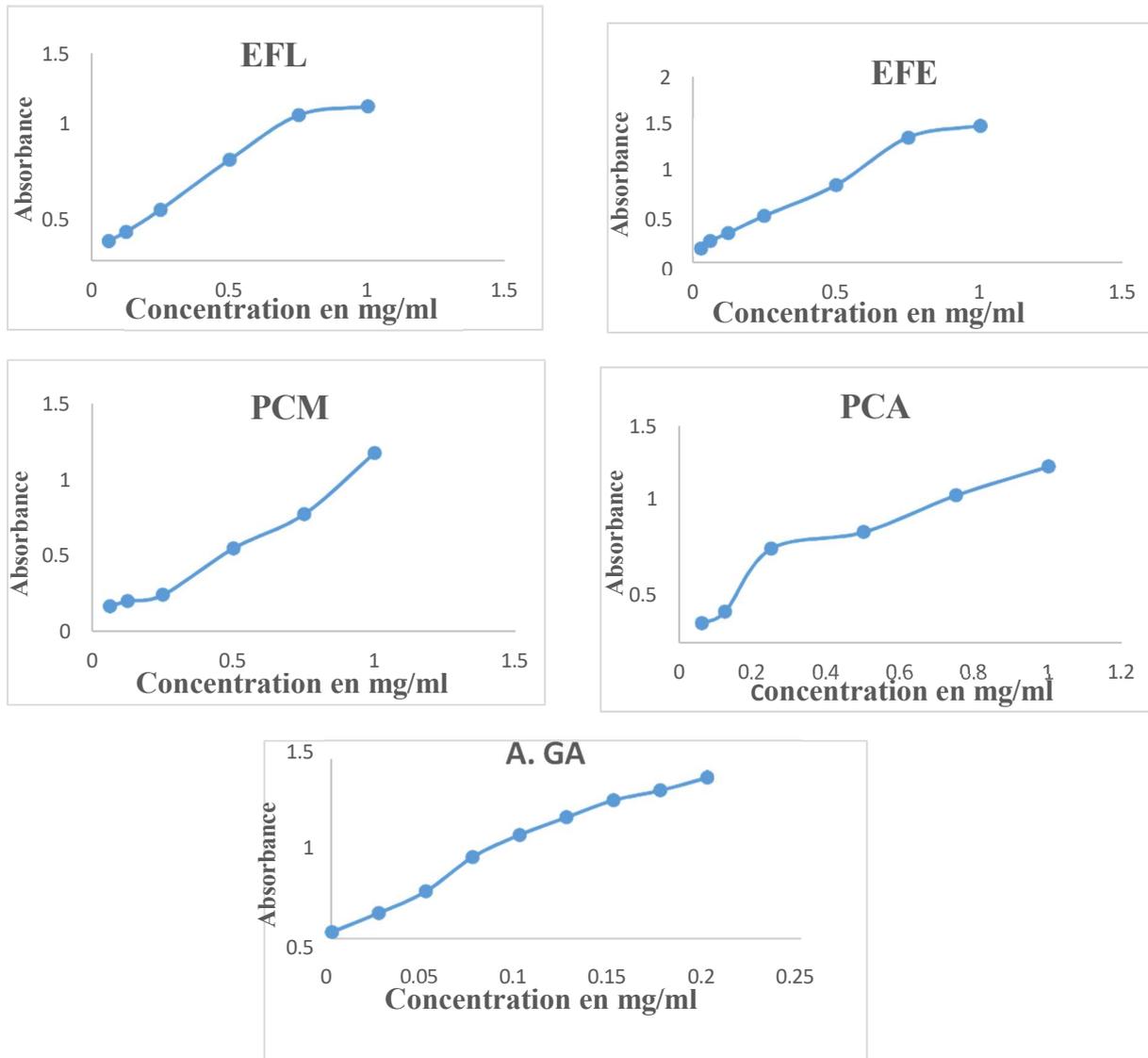


Figure 22 : Réduction des ions de fer ferriques (Fe^{3+}) aux ions de fer ferreux (Fe^{2+}) par les différents extraits de *S. verbenaca* et le Standard (Acide gallique).

EFL : Extrait méthanolique de Fleurs, EFE : Extrait méthanolique Feuilles, EMC: Extrait méthanolique plante complète, EAC : Extrait aqueux plante complète, A. Ga : Acide gallique.

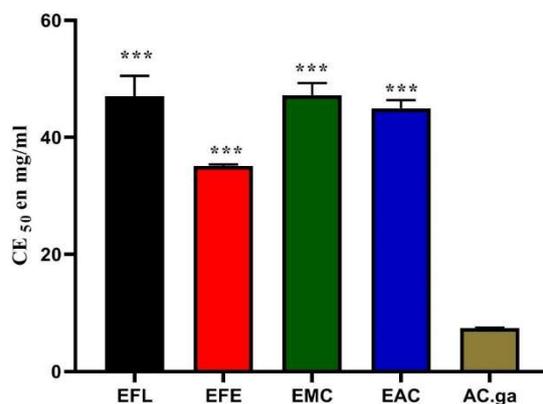


Figure 23 : Comparaison de l'effet du pouvoir réducteur des extraits de *S.verbenaca* et le standard (Acide gallique).

EFL : Extrait méthanolique de Fleurs, EFE : Extrait méthanolique Feuilles, EMC : Extrait méthanolique plante complète, EAC : Extrait aqueux plante complète, A. Gal : Acide gallique.

Nos résultats ont montré que l'extrait méthanolique des feuilles présente la meilleure capacité de réduction du fer avec une CE₅₀ de 35.10 ± 0.27 mg/ml, par rapport aux autres extraits et en comparant à celle obtenus avec l'acide gallique 7.41 ± 0.06 mg/ml. La capacité réductrice d'un extrait dépend de la présence de réductones qui exercent leur activité antioxydante grâce aux réactions de transfert d'électron. De plus, les réductones peuvent réduire la formation des peroxydes d'hydrogène (Singh et Rajini, 2004). Ceci indique que les différents extraits sont capables d'agir comme donneurs d'électrons stabilisant les radicaux et bloquant par conséquent leur production en chaîne.

I.4. Etude in vivo

I.4.1. Etude macroscopique des estomacs

Dans le but d'évaluer l'effet gastro-protecteur de notre extrait de plante sur la muqueuse gastrique des rats de différents groupes testés, des observations macroscopiques ont été réalisées.

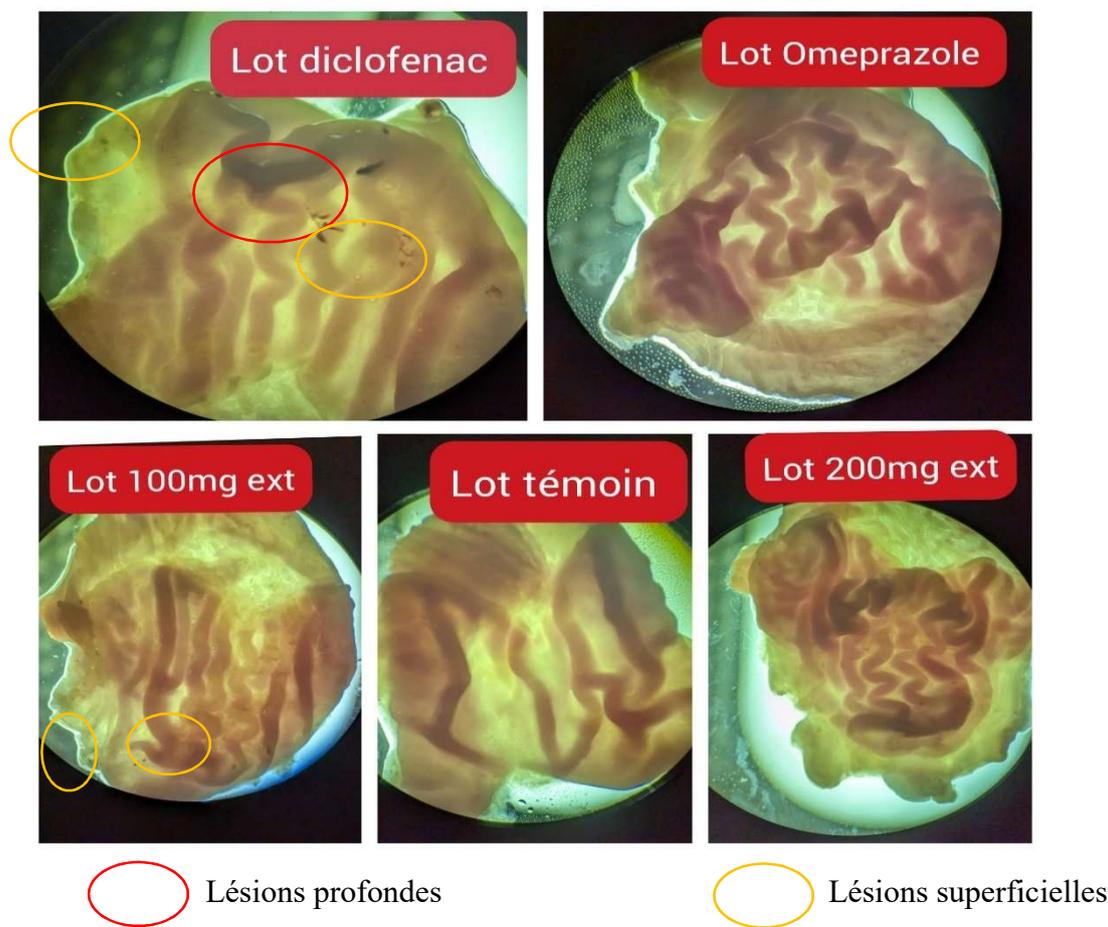


Figure 24 : Etude Macroscopique des estomacs des rats.

Les observations macroscopiques ont révélé que les groupes traités par le diclofénac (100 mg/kg) présentaient des hémorragies, des rougeurs et des pétéchies, tous des signes caractéristiques d'ulcération. En revanche, ces signes étaient absents chez les estomacs des groupes préalablement traités par les extraits de *S. verbenaca* à différentes concentrations, de 100 mg/kg et 200 mg/kg (Figures 24) ainsi que par le médicament de référence, Oméprazol, connu pour son effet gastro-protecteur, à une dose de 20 mg/kg. Les ulcérations observées dans les groupes traités par le diclofénac sont typiques des lésions induites par cet AINS, ce qui concorde avec les résultats de plusieurs études antérieures (**Bouchicha et al., 2018**).

En revanche, les traitements préventifs avec des extraits de plantes médicinales comme *S. verbenaca* ont montré des effets cytoprotecteurs. Les composés bioactifs présents dans *S. verbenaca*, tels que les flavonoïdes et les polyphénols, possèdent des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires qui peuvent contribuer à la protection de la muqueuse gastrique. Ces composés augmentent la production de mucus et de bicarbonate, neutralisent les radicaux libres et inhibent les enzymes pro-inflammatoires (**Righi, 2021**).

I.4.2. Evaluation du poids de mucus gastrique

Dans le cas de l'ulcère gastrique induit par le diclofénac, La production de mucus gastrique a été évaluée en présence et en absence de l'extrait Aqueux et de la molécule de référence (Oméprazol). Les résultats obtenus sont illustrés dans la (figure 25).

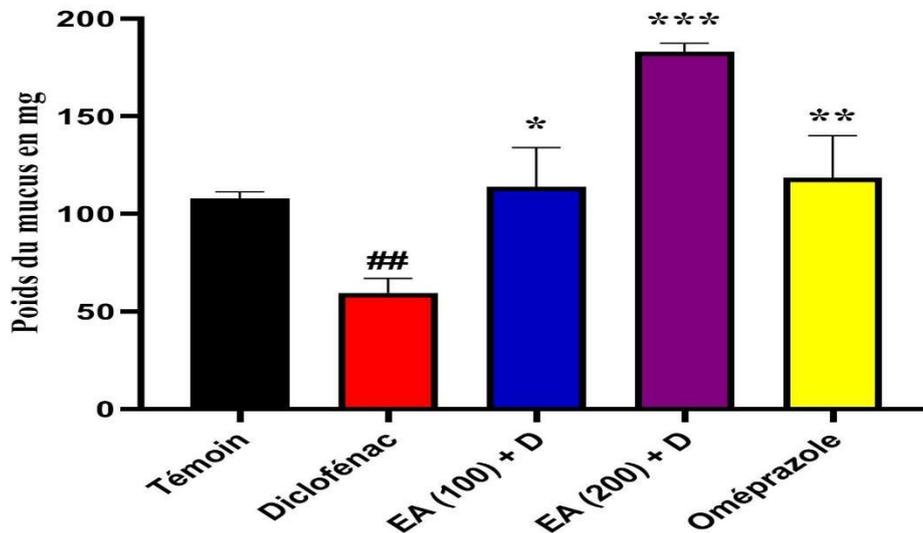


Figure 25: Production de mucus chez les Rats témoins et traités par le diclofénac seul, extrait Aqueux 100 mg/ kg, extrait Aqueux 200 mg/ kg et Oméprazol 20 mg/ kg pendant 7 jours.

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM, (n = 5) ; * : $p \leq 0.05$, ** : $p \leq 0.01$; *** : $p \leq 0.001$, une différence significative par rapport au groupe de Diclofenac , #: $p \leq 0.05$; ## : $p \leq 0.01$; ### : $p \leq 0.001$ une différence significative par rapport au groupe Témoin.

Le traitement des rats par le diclofénac entraîne une réduction hautement significative ($P < 0,01$) de la quantité de mucus tout en comparant aux rats témoins. L'administration de l'extrait aqueux de *S. verbenaca* (100 mg/kg), (200 mg/kg) et Oméprazol (20 mg/kg) montre une augmentation significative ($P < 0,05$), très hautement significative ($P < 0,001$) et hautement significative ($P < 0,01$) respectivement, de la production de mucus, qui atteint $160,42 \pm 16.44$ mg, $182,43 \pm 2.5$ mg et $118,62 \pm 17.5$ mg respectivement par rapport au groupe de Diclofenac, qui atteint une valeur de 59 ± 7.2 mg. Cela indique probablement que nos extraits ont protégé les estomacs des rats contre les effets néfastes du Diclofenac.

Le mucus gastrique est crucial pour protéger la muqueuse de l'estomac contre les acides agressifs, agissant comme une barrière physique grâce à ses mucines riches en mucopolysaccharides. En régulant le pH et en favorisant un environnement optimal pour les cellules épithéliales, il prévient les dommages tout en facilitant la cicatrisation des lésions. Sa composition riche en facteurs de croissance soutient également la régénération des tissus

endommagés, jouant ainsi un rôle essentiel dans la santé et l'intégrité de l'estomac (Hollander, 1984; Bjarnason *et al.*, 1987 ; Allen *et al.*, 2005).

I.4.3. Evaluation de pourcentage d'inhibition par l'indice d'ulcère

La détermination du nombre d'ulcère et du grade des lésions observées, nous a permis de calculer l'indice d'ulcère et le pourcentage de protection sous l'effet de l'extrait Aqueux et de la molécule de référence (Oméprazol). Les résultats obtenus sont illustrés dans le **tableau II**.

Tableau II: Indice d'ulcère et pourcentage de protection chez les Rats traités par le diclofénac seul, extrait Aqueux 100 mg/ kg, extrait Aqueux 200 mg/ kg et Oméprazol 20 mg/ kg pendant 7 jours.

	Témoin	Diclofénac 100 mg/kg	Ext aqueux 100 mg/kg	Ext aqueux 200 mg/kg	Oméprazol 20 mg/kg
Indice d'ulcère (IU)	0	0.575 ± 0.28 ^{##}	0.075 ± 0.09 ^{***}	0.066 ± 0.11 ^{***}	0.025 ± 0.05 ^{***}
% de protection	100	0	86.95	88.40	95.65

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM, (n = 5) ; * : p ≤ 0.05, ** : p ≤ 0.01 ; *** : p ≤ 0.001, une différence significative par rapport au groupe de Diclofenac , #: p ≤ 0.05 ; ## : p ≤ 0.01 ; ### : p ≤ 0.001 une différence significative par rapport au groupe Témoin.

Le traitement des rats par le diclofénac (100 mg/kg) a provoqué des lésions de la muqueuse gastrique se traduisant par une augmentation très significative (P<0.01) de l'indice d'ulcère (IU= 0.575 ± 0.28) comparant au groupe témoin. Le prétraitement par l'extrait aqueux 100 mg/kg, l'extrait aqueux 200 mg/kg et Oméprazol entraîne une réduction très hautement significative (P<0,001) de l'indice d'ulcère à 0.075 ± 0.09, 0.066 ± 0.11, 0.025 ± 0.05 contre 0.575 ± 0.28 respectivement avec un taux de protection de 86.95%, 88.40 % et 95.65 % respectivement.

I.4.4. Analyse des résultats de la CRP (protéine C réactive)

En ce qui concerne le taux de CRP présente dans le sérum des rats, nous avons enregistré une augmentation de la CRP chez les rats traités par le diclofénac. (CRP> 12). Cette différence significative serait due à la synthèse et à la forte libération de la CRP dans le sang sous l'influence des médiateurs de l'inflammation induite par le diclofénac. L'administration de l'extrait aqueux de *S. verbenaca* (100 mg/kg), (200 mg/kg) et Oméprazol (20 mg/kg) montre

une CRP négative ($CRP < 6$). Par ailleurs, la présence des groupes chimiques dans la plante de *S. verbenaca* serait responsable de l'inhibition de la synthèse des molécules pro-inflammatoires responsables de la libération des protéines de l'inflammation lors des phénomènes inflammatoires (Jialal et al., 2004).

I.4.5. Influence du traitement sur le malondialdéhyde (MDA)

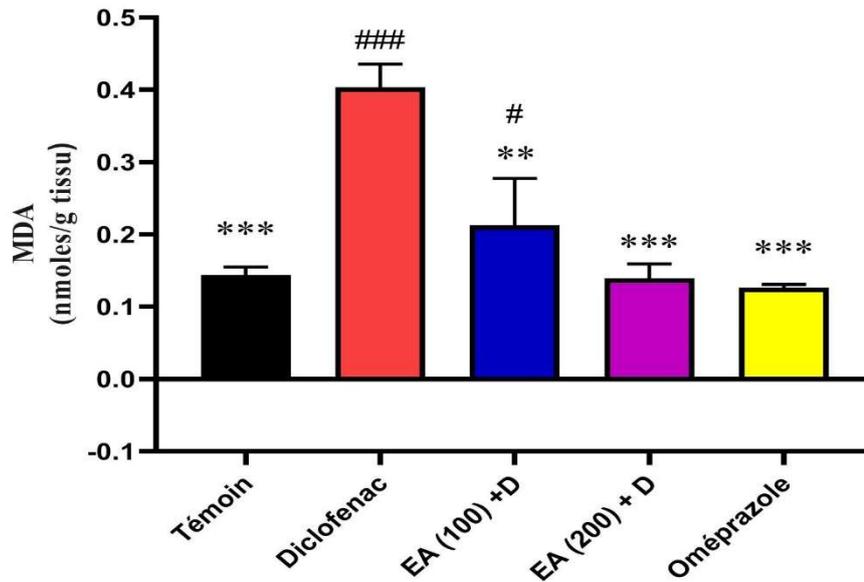


Figure 26 : Variation de la teneur en malondialdéhyde (nmol/g tissu) dans l'estomac chez les rats témoins et traités par le diclofénac seul, extrait Aqueux 100 mg/ kg, extrait Aqueux 200 mg/ kg et Oméprazol 20 mg/ kg pendant 7 jours.

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM, (n = 5) ; * : $p \leq 0.05$, ** : $p \leq 0.01$; *** : $p \leq 0.001$, une différence significative par rapport au groupe de Diclofenac , #: $p \leq 0.05$; ## : $p \leq 0.01$; ### : $p \leq 0.001$ une différence significative par rapport au groupe Témoin.

L'analyse statistique des taux de MDA a révélé des résultats très hautement significatifs ($p \leq 0,001$) dans l'estomac des rats traités par le diclofénac par rapport aux rats témoins. Pour le lot traité par l'extrait aqueux de *S. verbenaca* avec une dose de 200 mg/ kg et Oméprazole 20 mg/ kg et intoxiqués au diclofénac, nous constatons une diminution très hautement significative ($p \leq 0,001$) du taux de MDA de l'estomac par rapport aux rats intoxiqué au diclofénac seule.

En ce qui concerne les animaux traités par l'extrait aqueux de *S. verbenaca* avec une dose de 100 mg/ kg et intoxiqué au diclofénac, nous observons une amélioration hautement significative ($p \leq 0,01$) du taux de MDA de l'estomac.

Chimiquement, le stress oxydatif entraîne une surproduction de radicaux libres et de peroxydes dans le corps, accompagné d'une atténuation progressive de l'efficacité du système antioxydant (Sorbi *et al.*, 1999). Notamment, le stress oxydatif peut conduire à l'apoptose, à la nécrose et même à la mort cellulaire en raison de ces caractéristiques destructrices (Davies *et al.*, 2000). La peroxydation lipidique peut créer des altérations de la membrane telles que la modification de sa fluidité, mais aussi l'inactivation de récepteurs ou d'enzymes. La première phase de la peroxydation lipidique est caractérisée par la présence des hydroperoxydes que l'on appelle les « produits primaires » de la peroxydation lipidique. Ces molécules oxydées peuvent se décomposer en « produits secondaires » et « terminaux » pour former des endoperoxydes cycliques et finalement des aldéhydes comme le MDA (Michel *et al.*, 2008) ; qui est un des produits terminaux formés lors de la décomposition des acides gras polyinsaturés médiés par les radicaux libres (Sahnoun *et al.*, 1997). Dans notre étude, une élévation des niveaux de produits finaux de la peroxydation lipidique dans l'estomac chez les animaux traités par le diclofénac a été observée. Cette augmentation pourrait être expliquée par la génération des espèces réactives de l'oxygène suite à l'administration du diclofénac. Le pré-traitement par l'extrait aqueux de *S. verbenaca*, a réduit le niveau de MDA chez les animaux traités par le diclofénac. La diminution du niveau de MDA a indiqué l'inhibition de la peroxydation lipidique ainsi que l'amélioration des mécanismes de défenses anti-oxydants destinés à empêcher la formation et la génération de radicaux libres, responsables des dommages oxydatifs.

Conclusion et perspectives

Notre étude a été effectuée dont le but de rechercher de nouvelles molécules à intérêt thérapeutique. Donc nous nous sommes intéressés à valoriser les vertus de plante médicinale algérienne *Salvia verbenaca* par une étude phytochimique, évaluation de leur propriété antioxydante et de déterminer leur capacité à protéger l'ulcère de l'estomac induite par le diclofénac chez les rats.

Les résultats obtenus montrent clairement que les extraits méthanoliques de *S. verbenaca* sont riche en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins. L'extrait aqueux s'est avéré particulièrement efficace, avec un rendement élevé et des concentrations significatives de polyphénols, flavonoïdes et tanins. Les tests *in vitro* ont confirmé leur forte activité antioxydante et leur capacité réductrice. De plus, les essais *in vivo* ont démontré que l'extrait aqueux de *S. verbenaca* était capable de protéger contre les ulcères induits par diclofénac.

Le diclofénac est l'un des toxiques les plus puissants, il est largement utilisé dans les recherches scientifiques comme modèle expérimental induisant le stress oxydatif gastrique.

Dans la présente et d'après les résultats obtenus, l'élévation très hautement significative du taux de MDA du lot traité par le diclofénac seule ($P \leq 0,001$) ; montre bien que l'intoxication est effective et s'exerce surtout sur l'estomac. En revanche, nous avons enregistré une restauration bien claire de ce paramètre et une amélioration dans la production du mucus chez les lots prés traités par l'extrait aqueux de *S. verbenaca*.

Ce travail ne représente donc qu'une étude préliminaire qu'elle est certes prometteuse mais qui nécessite des études supplémentaires pour :

- ✓ Comprendre mieux, préciser les antioxydants et leurs mécanismes impliqués dans la prévention de l'ulcère par rétablissement de la balance antioxydants- radicaux libres.
- ✓ Elucider les mécanismes moléculaires impliqués dans l'effet anti-inflammatoire et anti-ulcérogène de notre extrait.
- ✓ Etude des paramètres pharmacodynamique et pharmacocinétique de *S. verbenaca*.

Références bibliographiques

- ✓ Ali-Rachedi, Fahima, Souad Meraghni, Nourhène Touaibia, et Sabrina Mesbah. (2018).« Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa Atropurpurea* sub. *Maritima* L. » Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège: 13-21.
- ✓ Agatonovic-Kustrin , S., Mortona, D., Pauzi , A. Y. (2014). Reversed Phase HPTLC-DPPH Free Radical Assay as a Screening Method for Antioxidant Activity in Marine Crude Extracts. *Oceanography: Open Access*, 02(04). doi:10.4172/2332-2632.1000e112
- ✓ Aramouni, K., Assaf, R., Shaito, A., Fardoun, M., Al-Asmakh, M., Sahebkar, A and Eid, A. H. (2023). Biochemical and cellular basis of oxidative stress: Implications for disease onset. *J Cell Physiol*, 238,1951–1963
- ✓ Barros, L., Heleno, S. A., Carvalho, A. M., Ferreira, I. C. F. R., & Sousa, M. J. (2013). Chemical composition and antioxidant activity of dried and processed white truffles (*Tuber magnatum* Pico). *Food and Bioprocess Technology*, 6(7), 2060-2068.
- ✓ Ben Farhat M.B., Landoulsi A., Hamada R.C., Sotomayor J.A., Jordan M.J. (2013). Phytochemical composition and in vitro antioxidant activity of by-products of *Salvia verbenaca*.
- ✓ Beniston, N.T. & Beniston, W.S. 1984. *Fleurs D'Algérie*. Entreprise Nationale du Livre Alger, Algérie, 359 pp.
- ✓ Berger, Mette M. 2006. « Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances ». *Nutrition Clinique et Métabolisme* 20(1): 48-53.
- ✓ Bézanger-Beauquesne, L., Pinkas, M., & Torck, M. (1986). *Les plantes dans la thérapeutique moderne* (2nd éd. révisée). Maloine éditeur.
- ✓ Blumenthal M. (2000). *Herbal medicine, expanded commission E monographs in Integrative Medicine Communications*, Newton.
- ✓ Boizot, Nathalie. (2006). « Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier ».
- ✓ Bonnier, G. E. M. (1990). *La grande flore en couleurs de Gaston Bonnier: France, Suisse, Belgique et pays voisins*. Editions Belin, Paris.
- ✓ Cadranel S, Bontems P, Van Biervliet S, et al. (2007) Improvement of the eradication rate of *Helicobacter pylori* gastritis in children is by adjunction of omeprazole to a dual antibiotherapy. *Acta Paediatr* ;96:82-6.
 - ✓ Calop, J., Aulagner, G., Fernandez, C. et Limat, S. (2008). *Pharmacie clinique et*

thérapeutique, 3^{ème} édition. Elsevier Masson, p 218 ;220 ;221.

✓ Chanda, S., Baravalia, Y. et Kaneria, M. (2011). Protective effect of *Polyalthia longifolia* var. *pendula* leaves on ethanol and ethanol/HCl induced ulcer in rats and its antimicrobial potency. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, p 673-679.

✓ Davies, Kelvin J. A. 2000. « Oxidative Stress, Antioxidant Defenses, and Damage Removal, Repair, and Replacement Systems ». *IUBMB Life* 50(4-5): 279-89.

✓ Dive, Ch. (1990). *La maladie ulcéreuse : Progrès en hepato-gastr entérologie*. Paris : Doin éditeur. 25-43.

✓ Dorman, H. J. D., Kosar, M., Kahlos, K., Holm, Y., & Hiltunen, R. (2003). Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species, hybrids, varieties, and cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(16), 4563-4569.

✓ Duke, J. A. (2002). *Handbook of Medicinal Herbs* (2nd ed.). CRC Press.

✓ Elsayed Azab, Azab et al. 2019. « Oxidative Stress and Antioxidant Mechanisms in Human Body ». *Journal of Applied Biotechnology & Bioengineering* 6(1): 43-47.

✓ Engwa, Godwill Azeh. (2018). « Free Radicals and the Role of Plant Phytochemicals as Antioxidants Against Oxidative Stress-Related Diseases ». In *Phytochemicals - Source of Antioxidants and Role in Disease Prevention*, éd. Toshiki Asao et Md Asaduzzaman. InTech.

✓ Favier, A. (2006). « Stress oxydant et pathologies humaines ». *Annales Pharmaceutiques Françaises* 64(6): 390-96.

✓ Fridovich, I. (1995). Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu. Rev. Biochem* , 64, 97-112.

✓ Gartner, L. P., & Hiatt, J. L. (2013). *Color atlas of histology*. Lippincott Williams & Wilkins.

✓ Gaziano, J. M., Brotons, C., Coppolecchia, R., Cricelli, C., Darius, H., Gorelick, P. B.,... & Marshall, I. (2018). Use of aspirin to reduce risk of initial vascular events in patients at moderate risk of cardiovascular disease (ARRIVE): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lancet*, 392(10152), 1036-1046.

✓ Goldstein, J. L., & Cryer, B. (2015). Gastrointestinal injury associated with NSAID use: a case study and review of risk factors and preventative strategies. *Drug, Healthcare and Patient Safety*, 7, 31-41.

✓ Gottrand, F. et Turck, D. (2016). *Gastroentérologie pédiatrique*. Doin -John Libbey Eurotext, 20 p.

- ✓ Halliwell, B. (2007). « Biochemistry of Oxidative Stress ». Biochemical Society Transactions 35.
- ✓ Hanae Naceiri Mrabti, Naoual El Menyiy, Saoulajan Charfi, Mohammed Saber, Saad Bakrim, Reema A. Alyamani, Abdur Rauf, Ahmed M. H. Ali, Emad M. Abdallah, Naserddine El Omari, Abdelhakim Bouyahya, and Hamza Assaggaf. (2022). Phytochemistry and Biological Properties of *Salvia verbenaca* L.: A Comprehensive Review. *BioMed Research International*.1-29.
- ✓ Hinz, B., Brune, K., & Pahl, A. (2000). Prolonged-release diclofenac sodium: improved benefits via application of an established drug. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 56(10), 651-657.
- ✓ Hubert J, (2006).Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja. Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaines, Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat à l'Institut Nationale Polytechnique de Toulouse, Ecole Doctorale des Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bioingénieries.
- ✓ Ilic, S., Drmic, D., Franjic, S., Kolenc, D., Coric, M., Brcic, L., ... Sikiric, P. (2011). Pentadecapeptide BPC 157 and its effects on a NSAID toxicity model: Diclofenac-induced gastrointestinal, liver, and encephalopathy lesions. *Life Sciences*, 88(11-12), 535–542.
- ✓ Julkunen-Tiitto, R. (1985). Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 33(2), 213–217. doi:10.1021/jf00062a013
- ✓ Kamatou G.P.P., Makunga N.P., Ramogola W.P.N., Viljoen A.M. (2008) South African *Salvia* species: A review of biological activities and phytochemistry. *Journal of ethnopharmacology*, 119(3): 664-672.
- ✓ Konan, K. V., Le Tien, C and Mateescu, M. A. (2016). Electrolysis-induced fast activation of the ABTS reagent for an antioxidant capacity assay. *Analytical Methods*, 8, 5638-5644.
- ✓ Singh N, Rajini PS (2004) Free radical scavenging activity of an aqueous extract of potato peel. *Food. Chem* 85: 611–616.
- ✓ Khlifi S., El Hachimi Y., Khalil A., Es-Safi N., Belahyan A., Tellal R., El Abbouyi A. (2006) In vitro antioxidant properties of *Salvia verbenaca* L. hydromethanolic extract. *Indian journal of pharmacology*, 38(4): 276-280.
- ✓ Klykov, S. D., Shukurov, E. I., & Tuktarov, V. R. (2021). Chemical composition of methanol extracts from leaves and flowers of *Anemonopsis macrophylla* (Ranunculaceae).

International Journal of Molecular Sciences, 22(20).

- ✓ Lahsissene H., Kahouadji A., Tijane M., Hseini S. (2009). Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër (Maroc occidental). *Revue de botanique*. Les Editions De LEJEUNIA, Institut de Botanique, B22, Sart Tilman, B-4000 Liège (Belgique), 2 : 19-24.
- ✓ Lebibi J, Lahlou A. Et Bencheikh R. 2004. L'algèbre. Éducation de la maladie et prévention de l'ulcère gastro-duodénal. Thèse Méd.Vet. Al-Farabi Kazakh National University.
- ✓ Lecuire, A. (2007). Hépatogastroentérologie. Édition Masson, p 26.
- ✓ Majumder, P. L., Ghatak, N., Saha, C. (1996). Healing potential of some medicinal plants against experimentally induced gastric ulcers in rats. *Indian Journal of Pharmacology*, 28, 147-149.
- ✓ Martínez, B., Tornero, P., Fuertes, J., Del Moral, R., et al. (2012). Enfermedades del sistema digestivo. Madrid: Mason.
- ✓ Mau, J.L., Chang, C.N., Huang, S.J., Chen, C.C. (2004). Antioxidant properties of methanolic extracts from *Grifola frondosa*, *Morchella esculenta* and *Termitomyces albuminosus* mycelia. *Food Chemistry*, 87(1) : 111–118.
- ✓ Meunier, A. (2006). Gastro-entérologie. *Médecine-Sciences*, 2-13-15.
- ✓ Michel, F., Bonnefont-Rousselot, D., Mas, E., Drai, J and Thérond, P. (2008). Biomarqueurs de la peroxydation lipidique : aspects analytiques *Ann Biol Clin*, 66 (6), 605-20.
- ✓ Miller, K. L., Liebowitz, R. S., Newby, L. K., et al. (2018). Enhancing clinical trial design of interventions for diabetes prevention: Rationale and recommendations for the TECOS Study. *Diabetes and Vascular Disease Research*, 7(4), 250-257.
- ✓ Moffarts, B., Kinet, J. M., Jacquemart, A. L., & Devaux, M. F. (2005). Antioxidant status in the tolerance of *Dactylis glomerata* L. to a heavy metal stress. *Environmental and Experimental Botany*, 53(3), 215-223.
- ✓ Moore N, *Br J Clin Pharmacol* (2007); 64: 325-327.
- ✓ Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J .sci. technol*, 26(2): 211-219.
- ✓ Mostafa, R. E., El-Marasy, S. A., Abdel Jaleel, G. A., & Bakeer, R. M. (2020). Protective effect of royal jelly against diclofenac-induced hepato-renal damage and gastrointestinal ulcerations in rats. *Heliyon*, 6(2), e03330.

- ✓ Mounir, A., Fadli, M., Benbrahim, K., Douira, A., Khalifa, R. (2009). Screening phytochimique et étude de l'activité antibactérienne des plantes médicinales de la région de Zaïr (Maroc occidental). *Journal of Applied Sciences Research*, 5, 1772-1782.
- ✓ Nait-Mouloud, N., Madani, K., Madani, L., (2010). Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits de sept espèces médicinales algériennes. *Phytothérapie*, 8, 35-41.
- ✓ Ngenge, T., Domgnim, E., Talla, E., Vernyuy, T., Mbafor, T., Popova, M., et Bankova, V. (2016). Chemical Constituents and Anti-ulcer Activity of propolis from the North-West Region of Cameroon. *Research journal of phytochemistry*.10: 45-57.

- ✓ Niklewski G. (2000) Le traitement des ulcères digestifs, son efficacité. Evaluation des données actuelles sur l'efficacité des produits de comblement et d'occlusion. *Phytothérapie*, 46: 92-6.
- ✓ OMS, (1999). Programme WHO monographs on selected medicinal plants Volume 1. Geneva: WHO
- ✓ Ozougwu, J. C., Eyo, J. E., Echi, P. C., Ogba, O. M., et al. (2015). Antioxidant activity and phenolic profile of leaf extracts of twelve species of Malvaceae. *Journal of Medicinal Plants Research*, 9(16), 541-550.
- ✓ Paquay, R. (2000). Stress oxydatif et cancer. *Médecine Sciences*, 16: 25-32.
- ✓ Philibert, P., de Loup M., A., Descamps J. P. (2007). Maladie ulcéreuse: Progrès en hépato-gastroentérologie, *Doin*, 33 : 25-40.

- ✓ Price, M. L., Van Scoyoc, S., & Butler, L. G. (1978). A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26(5), 1214-1218.
- ✓ Prior R.L., Wu X., Schaich K., 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolic in foods and dietary supplements. *J. Agric. Food. Chem.*, 53: 4290-302.
- ✓ Rahmouni M., El-Hilaly J., Israili Z., Lyoussi B. (2009) Ethnopharmacological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in south-eastern Morocco. *Journal of ethnopharmacology*, 126(3): 573-581.
- ✓ Ramsay C, Pocock SJ, (2008) Aspirin and Risk of Mortality and Recurrent Stroke and Myocardial Infarction Among Patients With Prior Stroke or Myocardial Infarction, 2018. *Hormonal Monitoring. Med Care*.
- ✓ REHFED, (2002). Tendances de l'application de la réforme de l'enseignement de la

médecine traditionnelle et de l'agriculture, programme de la médecine moderne, programme de la culture médicinale. Livre de la Revue du Centre National pour la Recherche Scientifique et Technique, 3 : 24-35.

✓ Reuter, S., Gupta, S. C., Chaturvedi, M. M., & Aggarwal, B. B. (2010). Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? *Free Radical Biology and Medicine*, 49(11), 1603–1616.

✓ Ries, C. H., Hoves, S., Cannarile, M. A., & Rüttinger, D. (2016). Colony-stimulating factor-1 receptor blockade: a new mechanism of action of the bisphosphonate zoledronic acid. *The oncologist*, 15(7), 674-682.

✓ Sadiki, M., Hachimi, L., Elrhaffari, L., & Barkai, H. (2014). Evaluation de l'activité antibactérienne et antifongique de l'extrait de *Salvia verbenaca*. *Annales de Biologie Clinique*, 62(5), 533-538.

✓ Saheb A, Lice L (1995). Haemostatic study of *Salvia verbenaca* on wistar rats and on man (native and treated).

✓ Saka, S., Pöllänen, P., Sipponen, P., et al. (2000). Blood loss and impaired mucosal defense in gastric ulcer disease. *Scandinavian journal of gastroenterology*, 32(3), 235-239.

✓ Saker, M. M. (2006). Statut antioxydant des peroxydases de phase II. *Médecine Sciences*, 22: 23-30.

✓ Sanabria F., Ahrendt S.A., Henderson, B., et al. (2008). Measuring Quality in Upper Gastrointestinal Surgery: Clinical Characteristics, Social Determinants, and Survival. *An International Journal of Surgery*, 7: 1-8.

✓ Sánchez-Monge, E., Barre, A., Fernandez-Rivas, M., et al. (1995). Comparison of the major allergen of olive pollen (ole e i) with the major allergens of ash and privet pollen. *Clinical and Experimental Allergy*, 25(4), 364-371.

✓ Sachdeva, A., & Nagpal, A. K. (2015). Physiological and pathological factors affecting the gastric mucosal barrier. *World Journal of Gastroenterology*, 21(27), 7942-7952. doi:10.3748/wjg.v21.i27.7942

✓ Schäfer, T., & Huhn, D. (2014). *Biomolecular EPR Spectroscopy*. CRC Press.

✓ Schwarzer, G., Antes, G., & Schumacher, M. (2008). *Statistics in practice*. New York: Wiley.

✓ Schwarzer, G., et al. (2009). *Principles of the design and analysis of randomized trials in medicine*. John Wiley & Sons, p 20-30 ; 100-110 ; 200-210.

✓ Sen, C.K., Atalay, M., Hänninen, O. (1994). Exercise-induced oxidative stress : glutathione supplementation and deficiency. *J. Appl. Physiol*, 77, 2177-2187.

- ✓ Sen, C.K., Packer, L. (2000). Thiol homeostasis and supplements in physical exercise. *Am. J. Clin. Nutr.*, 72 , (2), 653S-669S.
- ✓ Sfahene, A., & El-Hilaly, J. (2005). Mise en évidence de l'activité biologique de *Salvia verbenaca* L., plante médicinale utilisée dans le traitement des maladies gastriques et de l'ulcère gastrique.
- ✓ Smith, K., Abbot, J., et Howatson, A. (2005). *Genetics of Human cancer and inflammatory disease*, ed. Masson, 2-10.
- ✓ Sorbi, D., Boynton, J., Lindor, K.D. (1999). The ratio of aspartate aminotransferase to alanine aminotransferase: potential value in differentiating nonalcoholic steatohepatitis from alcoholic liver disease. *Am J Gastroenterol*, 94, 1018–22.
- ✓ Strid, A. (1986). *Endemic, rare and alien plants of the region of Corsica*. Ed. Edition Masson, 3: 23-25.
- ✓ Sumner, H. (1993). *Annual review of medicine*, Ed. Science publisher, 20: 11-21.
- ✓ Tandon, R., Khanna, R. D., Dorababu, M., & Goel, R. K. (2004). Oxidative stress and antioxidants status in peptic ulcer and gastric carcinoma. **Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, 48*(1), 115-118.
- ✓ Tang M., Hao W., Yu Z. (1995) Evaluation of *Salvia* for their antipsoriatic activity and anti-thermal pain. *Chinese journal of integrated traditional and western medicine*, 15: 133-140.
- ✓ Thomas, M., Sherma, J., Thomas, M. J., & Sherma, J. (2011). *Thin layer chromatography in phytochemistry*. CRC Press.
- ✓ Tona L., Cimanga R.K., Mesia K., Musuamba C.T., De Bruyne T., Apers S., et al. (2004) In vitro antiplasmodial activity of extracts and fractions from seven medicinal plants used in the Democratic Republic of Congo. *Journal of Ethnopharmacology*, 93(1): 27-32.
- ✓ Tsuchiya Y. (1996). *Enzyme activity and gene expression: Molecular and clinical advances*. Medicine publisher, 23: 24-34.
- ✓ Tubaro A, Borea PA, Santiangeli C, et al. Effect of the Aerial Parts of *Salvia officinalis* on the Central Nervous System. *Phytotherapy Research*, 1996, 10 (8): 402-5.
- ✓ Ulrich-Merzenich G, Panek D, Zeitler H, et al. Application de l'oeuvre de ethnomédecine de la Tunisie, étude comparative des plantes médicinales. *Journal of Ethnopharmacology*, 2007, 110: 516-27.
- ✓ Vahabzadeh M, Vahabzadeh B, Afsharpooyan S, et al. Prophylactic effect of ginger in curing gastric ulcers: a brief review. *Food Chemistry*, 2010, 120: 795-9.
- ✓ Wallace JL. Mechanisms, prevention and clinical implications of nonsteroidal anti-inflammatory drug-enteropathy. *World Journal of Gastroenterology*, 2013, 19 (12): 1861-76.

- ✓ WHO (2002). General guidelines for methodology on research and evaluation of traditional medicines. Geneva: WHO
- ✓ Yahia M. 2012. Thymoquinone, the main active principle of *Nigella sativa* seeds, and its antidiabetic effect. *Revue Médicale Suisse*, 12 (507): 1060-1.
- ✓ Yahia M., Hamdi A. 2012. Chemical composition of the leaf essential oil of *Teucrium polium* L. *Journal of Essential Oil Research*, 24 (4) : 359-61.
- ✓ Zwart, S. R., Mehta, S. K., Ploutz-Snyder, R., Bourbeau, Y., Locke, J. P., & Pierson, D. L. (1999). Antioxidant supplementation reduces oxidative stress in astronauts during spaceflight. *Journal of Nutrition*, 129(11), 2108-2111.

Annexes

❖ Réactifs et solvants

Les produits chimiques utilisés dans cette étude :Le 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), le 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS), l'acide trichloroacétique (TCA), le chlorure ferrique (FeCl_3), le réactif de Folin-Ciocalteu, l'acide gallique, l'acide tannique, la vanilline, la quercétine, le ferricyanure de potassium [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$], le carbonate de sodium (Na_2CO_3), le chlorure ferreux (FeCl_2), le 2,6-di-tert-butyl-4-méthylphénol (BHT), le chloroforme, le méthanol, l'acide chlorhydrique (HCl), le chlorure d'aluminium (AlCl_3), le persulfate de potassium ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$), le thiobarbiturique (TBA), et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).

❖ Appareils utilisés

Les équipements utilisés dans cette étude comprennent une étuve (WTC binder), un réfrigérateur (ENIEM; Condor), une hotte (HSBP-180), un spectrophotomètre (RAY LEIGH), un vortex (VELP), une balance de précision électrique (OHAUS), un broyeur, un tamiseur électrique (Retsch), un évaporateur rotatif (BLAB), une plaque agitatrice et chauffante, un bain-marie (Raypa), une centrifugeuse (Benchtop Low Speed Centrifuge), des micropipettes, une sonde de gavage, du matériel de dissection, et une centrifugeuse réfrigérée.

❖ Courbes d'étalonnages

• Polyphénol

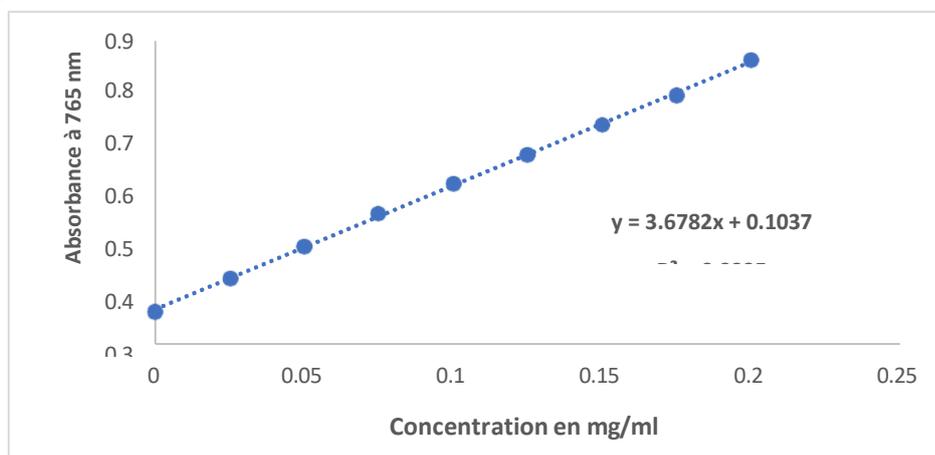


Figure 27 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

- Flavonoïde

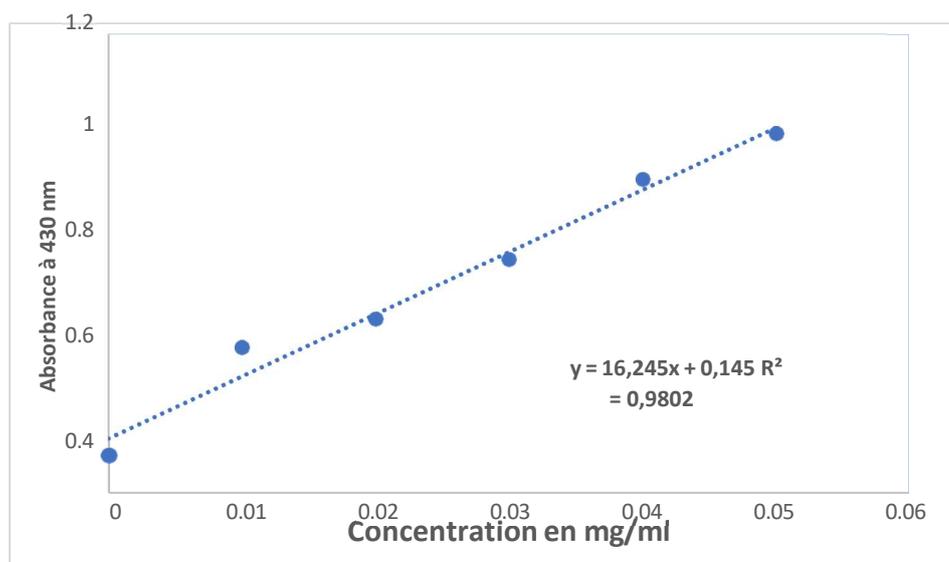


Figure 28 : Courbe d'étalonnage de la Quercetine

- Tanin

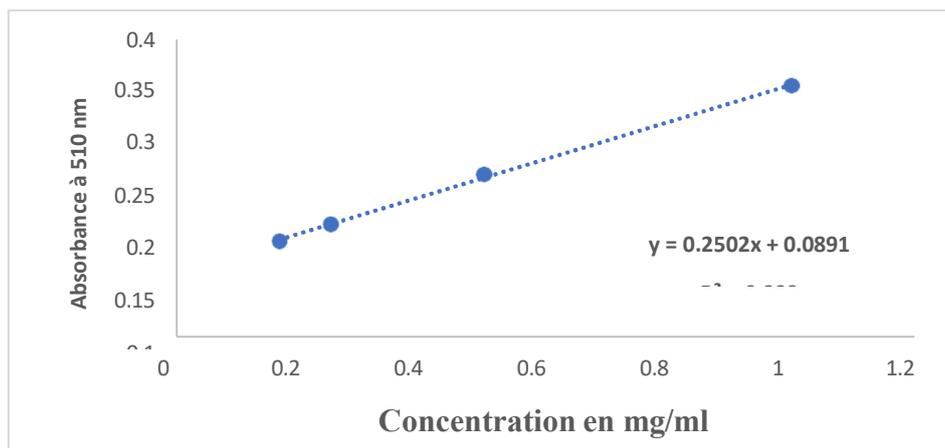


Figure 29 : Courbe d'étalonnage de la Catéchine

Résumé

Le but de cette étude est d'évaluer les activités antioxydantes et anti-ulcéreuses des extraits méthanoliques et aqueux de *S. verbenaca* chez le rat. Elle est populaire pour ses effets préventifs et médicinaux et a été utilisée dans la médecine conventionnelle. L'étude phytochimique a montré que les extraits méthanoliques et aqueux de *S. verbenaca* sont très riches en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins et ils possèdent une activité anti-radicalaire concentration dépendante contre le radical libre DPPH°, ABTS°+ et pouvoir réducteur. Diclofénac à la dose de 100 mg/kg induit chez les rats un ulcère gastrique accru caractérisé par une altération des paramètres gastriques, une élévation du (MDA) comme principal marqueur de la peroxydation lipidique. Le prétraitement par l'extrait aqueux ou par l'oméprazole à 20 mg/kg, entraîne une nette amélioration des paramètres gastriques et ceux du statut antioxydant dans l'estomac. Ces résultats démontrent le potentiel remarquable de cette plante comme antioxydants et anti-ulcérogène. Cet effet serait lié à leurs compositions caractérisées par la présence des composés bioactifs.

Mots clés : *Salvia verbenaca*, antioxydant, anti-ulcéreuse, ulcère gastrique, Diclofénac, oméprazole.

Abstract

The aim of this study is to evaluate the antioxidant and anti-ulcer activities of methanolic and aqueous extracts of *S. verbenaca* in rats. It is popular for its preventive and medicinal effects and has been used in conventional medicine. The phytochemical study showed that the methanolic and aqueous extracts of *S. verbenaca* are very rich in polyphenols, flavonoids and tannins and they have a concentration-dependent anti-radical activity against the free radical DPPH°, ABTS°+ and reducing power. Diclofenac at a dose of 100 mg/kg induces an increased gastric ulcer in rats characterized by an alteration of gastric parameters, an elevation of (MDA) as the main marker of lipid peroxidation. Pretreatment with the aqueous extract or with omeprazole at 20 mg/kg results in a marked improvement in gastric parameters and those of the antioxidant status in the stomach. These results demonstrate the remarkable potential of this plant as an antioxidant and anti-ulcerogen. This effect would be linked to their compositions characterized by the presence of bioactive compounds.

Keywords: *Salvia verbenaca*, antioxidant, anti-ulcer, gastric ulcer, Diclofenac, omeprazole.

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم الأنشطة المضادة للأكسدة والمضادة للقرحة للمستخلصات الميثانولية والمائية لنبات *S. verbenaca* في الجرذان. وهو مشهور بآثاره الوقائية والطبية وقد تم استخدامه في الطب التقليدي. أظهرت الدراسة الكيميائية النباتية أن المستخلصات الميثانولية والمائية لنبات *S. verbenaca* غنية جداً بالبوليفينول والفلافونويد والعفص ولها نشاط مضاد للأكسدة يعتمد على التركيز ضد الأكسدة الحرة DPPH° و ABTS°+ وقوة التخليص. يؤدي تناول ديكلوفيناك بجرعة 100 ملغم/كغم إلى حدوث قرحة معدية متزايدة في الجرذان تتميز بتغير في معايير المعدة، وارتفاع (MDA) كعلامة رئيسية لبيروكسيد الدهون. تؤدي المعالجة المسبقة بالمستخلص المائي أو بالأوميبرازول بجرعة 20 ملغم/كغم إلى تحسن ملحوظ في مؤشرات المعدة وحالة مضادات الأكسدة في المعدة. توضح هذه النتائج الإمكانيات الرائعة لهذا النبات كمضاد للأكسدة ومضاد للقرحة. ويرتبط هذا التأثير بتركيباتها التي تتميز بوجود مركبات نشطة بيولوجيا.

الكلمات المفتاحية: المرمرية، مضاد للأكسدة، مضاد للقرحة، قرحة المعدة، ديكلوفيناك، أوميبرازول.