

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique  
Université A. MIRA Béjaïa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Physico-chimique  
Spécialité Pharmaco-Toxicologie.



Réf :.....

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

**MASTER**

*Thème*

**Étude de quelques activités biologiques des extraits de  
*Rhamnus alaternus***

Réalisé par :

**CHERDOUD Saliha.**

Soutenu le : 04 juillet 2024.

**Devant les jurys composés de :**

Mme AMARKHODJA N.

MCA

Présidente

Mme AIT ATMANE S.

MCB

Encadrante

Mr BRIBI N.

Professeur

Examineur

**Année universitaire : 2023/2024**

## *Dédicace*

### *Je dédie ce travail*

*À ma famille, celle qui ma doté d'une éducation digne, son amour fait de moi ce que je suis aujourd'hui.*

*À mes **chers parents** en particulier, les piliers de mon existence votre amour inconditionnel et le soutien indéfectible qui a pavé le chemin de mes réussites. Votre patience encouragement et sacrifices ont façonné mon parcours. Merci d'être la source constante de force et d'inspiration. Ce mémoire est dédié à vous mes héros silencieux avec tout mon amour et ma gratitude éternelle.*

*À mes **grands-parents**, source de sagesse et d'amour infini. À vos précieux enseignements et à l'héritage chaleureux que vous avez tissé dans ma vie. Merci pour votre soutien inébranlable et votre amour constant.*

*À mon frère **Amine** et mes deux sœurs **Nour El-houda** et **Sofia**, mes complices de toujours. Ce mémoire est un clin d'œil à nos liens simples et forts. Merci d'être ma famille, mon soutien et mon bonheur.*

*À mes chères copines **Kenza**, **Amel** et **Ranida** et mes amis **Salah**, **Farouk** et **Hicham** ce travail résonne avec nos sourires et complicités. Merci d'illuminer ma vie.*

***A tous les personnes que j'aime.***

**Saliha**

## *Remerciement*

*Avant tout, je remercie ALLAH tout puissant de m'avoir accordé la force, le courage et la patience pour terminer ce mémoire.*

*Je remercie mon encadrante Mme AIT ATMANE S pour son aide précieuse durant la réalisation de ce travail. Elle m'a orienté vers le succès avec ses connaissances et ses encouragements. Je vous remercie pour votre gentillesse et la spontanéité avec laquelle vous avez dirigé ce travail ainsi que pour votre disponibilité et vos conseils qui m'ont permis d'améliorer mon travail. J'ai eu le plaisir de travailler sous votre direction*

*Mes sincères considérations et remerciements sont également exprimés aux membres du jury : Mme AMARKHODJA N. qui m'a fait l'honneur de présider ce jury, et M. BRIBI N. pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Mes remerciements vont à tous les enseignants du Département Biologie Physico-Chimique.*

*Je remercie toute l'équipe de laboratoire à l'université de Béjaïa.*

*Je tiens à remercier la responsable de la spécialité pharmacologie toxicologie madame Kara S.*

*Enfin, mes remerciements vont également à tous mes collègues de la promotion pharmacotoxicologie.*

## Liste des abréviations

**RA** : *Rhamnus alaternus*.

**R. alaternus** : *Rhamnus alaternus*.

**ET** : Ecorces des tiges.

**ER** : Ecorces des racines.

**T** : Tiges.

**R** : Racines.

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

**ABTS** : L'acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique).

**AINS** : Anti-inflammatoire non stéroïdien.

**AIS** : Anti-inflammatoire stéroïdien.

**COX** : Cyclooxygénase.

**RE** : Rendement d'extraction.

**Hcl** : Acide chlorhydrique.

**FeCL<sub>3</sub>** : Chlorure ferrique.

**EEER** : Extrait éthanolique d'écorces des racines.

**IP** : Intrapéritonéale.

**PI** : Pourcentage d'inhibition.

## Liste des figures

Figure N°	Page
<b>Figure 01</b> : Photographies originales de <i>Rhamnus alaternus L</i>	2
<b>Figure 02</b> : Les parties de <i>Rhamnus alaternus</i> étudiée. (A) Tige, (B) écorces de tige fraiche, (C) racine, (D) écorces de racine fraiche (Photo originales).	8
<b>Figure 03</b> : Les étapes de préparation de la matrice végétale (A) séchage, (B) broyage, (C) tamisage, (D) poudre (Photo originale).	8
<b>Figure 04</b> : Les différentes méthodes d'extractions utilisées. (A) décoction, (B) infusion, (C) macération éthanolique (photos originales).	9
<b>Figure 05</b> : Les extraits secs des ET (A) et ER (B) de <i>R.alaternus</i> (photo originale).	10
<b>Figure 06</b> : Répartition des souris aux niveaux de l'animalerie (photo originale).	14
<b>Figure 07</b> : 07: Protocole d'étude de l'activité analgésique extrait, (B) gavage, (C) injection intrapéritonéale, (D) torsion abdominale (photos originales).	15
<b>Figure 08</b> : Protocole d'étude de l'activité antiinflammatoire. (A) extrait, (B) application du xylène, (C) prélèvement par un bio punch, (D) section prélevée de l'oreille (photos originales).	16
<b>Figure 09</b> : Résultat de l'activité antioxydant. (A) tes de DPPH, (B) piégeage de l'ABTS, (C) pouvoir réducteur.	21
<b>Figure 10</b> : Histogramme de l'effet scavenger du radical DPPH des extraits des ET et des ER de RA a une seule concentration 250µg/ml par trois méthodes d'extraction.	22
<b>Figure 11</b> : H i s t o g r a m m e de l'effet scavenger du radical DPPH des extraits des ET et des ER de RA a une seule concentration 50µg/ml par trois méthodes d'extraction.	23
<b>Figure 12</b> : Histogramme de l'absorbance obtenus a 700nm de la réduction de Fe+3 en Fe+2 des extrait de ET et ER de RA a une seule concentration 250µg/ml par trois méthodes d'extraction.	24
<b>Figure 13</b> : Effet analgésique d'extrait éthanolique d'ER de RA sur le pourcentage d'inhibition de la douleur induite par l'acide acétique (0,6%). Les souris sont traitées par deux dose 250 et 500mg/kg et l'acide salicylique.	25
<b>Figure 14</b> : Effet anti-inflammatoire d'extrait éthanolique d'ER de RA sur l'œdème de l'oreille droite des souris induit par application locale de xylène. Les souris sont traitées par deux dose 250 et 500mg/kg et dexaméthasone.	26

## Liste des tableaux

<b>Tableau</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau I :</b> La classification botanique de <i>Rhamnus alaternus</i>	3
<b>Tableau II :</b> Utilisations traditionnelles des parties de <i>R. alaternus</i> .	3
<b>Tableau III :</b> Quelques anti-inflammatoires stéroïdiens et anti-inflammatoires non stéroïdiens	6
<b>Tableau IV :</b> Certaines plantes ayant des activités anti-inflammatoires.	7
<b>Tableau V :</b> Résultats des rendements des extractions	17
<b>Tableau VI :</b> Résultats des tests du tri-phytochimique	18
<b>Tableau VII :</b> Teneur en composés phénoliques des ET et des ER de <i>R.alaternus</i> .	19

# Table des matières

Liste des abréviations.

Liste des figures.

Liste des tableaux.

Introduction.....1

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1. <i>Rhamnus alaternus</i> L .....	2
I.1.1. Description botanique du <i>Rhamnus alaternus</i> L .....	2
I.1.2. Répartition géographique et classification botanique .....	2
I.1.3. Composition phytochimique et usage traditionnel .....	2
I.1.4. Activités biologiques des écorces de tiges et de racines .....	4
I.2. L'inflammation et les antiinflammatoires.....	4
I.2.1. L'inflammation.....	4
I.2.1.1. Définition .....	4
I.2.1.2. Les types de l'inflammation.....	4
I.2.2. Les anti –inflammatoires.....	5
I.2.2.1. Définition .....	5
I.2.2.2. Les types d'antiinflammatoires .....	6
I.2.2.3. Mécanismes d'action des AIS et AINS.....	6
I.2.2.4. Les anti-inflammatoires naturels.....	7
I.3. Toxicité de <i>Rhamnus alaternus</i> .....	7

## Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. Matériel et produits chimiques.....	8
II.2. Préparation de la matrice végétale .....	8
II.3. Extraction des métabolites secondaires.....	9
II.3.1. Décoction.....	9
II.3.2. Infusion.....	9
II.3.3. Macération éthanolique .....	9
II.4. Screening phytochimique.....	10
II.4.1. Mise en évidence des polyphénols .....	10
II.4.2. Mise en évidence des tanins .....	10
II.4.3. Mise en évidence des alcaloïdes.....	11

II.4.4. Mise en évidence des saponines .....	11
II.4.5. Mise en évidence des stérols et triterpènes.....	11
II.5. Dosage des composés phénoliques .....	11
II.5.1. Polyphénols totaux .....	11
II.5.2. Dosage des flavonoïdes .....	11
II.5.3. Dosage des tanins condensés.....	12
II.6. Evaluation de l'activité antioxydant.....	12
II.6.1. Activité scavenging du radical DPPH .....	12
II.6.2. Activité scavenging du radical ABTS• .....	12
II.6.3. Evaluation du pouvoir réducteur .....	13
II.7. Etude des activités biologiques <i>in vivo</i> .....	14
II.7.1. Animaux.....	14
II.7.2. Activité analgésique .....	15
II.7.3. Activité anti-inflammatoire.....	16
II.8. Analyse statistique.....	17

### **Chapitre III : Résultats et discussion**

III.1. Rendement d'extraction .....	18
III.2. Résultats du tri-phytochimiques .....	18
III.3. Teneur en composés phénoliques .....	20
III.3.1. Teneur en polyphénols totaux .....	21
III.3.2. Teneur en flavonoïdes .....	21
III.3.3. Teneur en tanins condensés.....	22
III.4.1. Activité scavenging du DPPH.....	22
III.5.2. Activité scavenging de l'ABTS.....	23
III.5.3. Activité scavenging de pouvoir réducteur.....	24
III.5. Activités biologiques <i>in vivo</i> .....	26
III.5.1. Activité analgésique .....	26
III.5.2. Activité anti-inflammatoire .....	26
<b>Conclusion et perspective.....</b>	<b>27</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>28</b>
<b>Annexes .....</b>	<b>33</b>

### **Résumé**



# **Introduction**

## Introduction

Depuis l'antiquité jusqu'à nos jours les plantes médicinales sont connues pour leurs propriétés thérapeutiques, la facilité et l'efficacité de leur utilisation. Elles renferment des remèdes variés et dans chaque partie du bourgeon à l'écorce qui contient des composés bioactifs. Nous utilisons ces trésors naturels pour guérir, reliant la tradition et science moderne (Zerbo, Rasolodimby et al. 2011). En explorant ces plantes, nous découvrons des sources naturelles où la biodiversité et la sagesse ancestrale se rencontrent, ouvrant de nouvelles perspectives pour la médecine actuelle (Soumia, Tahar et al. 2014).

D'après les différentes études, les anti-inflammatoires ayant une efficacité pour réduire l'inflammation dans le corps humain mais peuvent causer divers effets secondaires, pour cela notre étude mené à découvrir un traitement naturelle et efficace sans avoir des effets secondaires pour une inflammation à partir des deux parties de la plantes *Rhamnus alaternus*.

L'espèce de *Rhamnus alaternus* qui se trouve dans le bassin méditerranéen, est considérée parmi les plantes utilisée dans la médecine grâce à ses bienfaits. Cette arbuste est utilisé pour traiter plusieurs pathologies comme les problèmes digestifs et hépatique, la jaunisse, et les affections dermatologiques. Les propriétés thérapeutiques de *Rhamnus alaternus* sont reliées à sa richesse en composés actifs (Nekkaa, Benaissa et al. 2021). Sur le plan chimique, ses composés appartiennent aux diverses familles, notamment les flavonoïdes, les anthraquinones et les tanins. Ce sont des métabolites secondaires qui peuvent être extraites par plusieurs méthodes (Ben Ammar, Kilani et al. 2007).

L'intérêt de cette étude est de révéler la composition phytochimique des extraits des écorces de tiges et de racines de *Rhamnus alaternus* obtenus par la décoction, l'infusion et la macération éthanolique. L'évaluation du pouvoir biologique des extraits par l'étude de l'activité antioxydante *in vitro* et les effets anti-inflammatoire et analgésique *in vivo*.

# *Chapitre I*

## **Synthèse bibliographique**

## I.1. *Rhamnus alaternus* L

### I.1.1. Description botanique du *Rhamnus alaternus* L

*Rhamnus alaternus* est un arbuste de la famille des Rhamnaceae (Chaouche, Haddouchi et al. 2020), il peut atteindre de 4 à 5 m de la hauteur et 2 à 5 m de largeur (Benchiha, Mahroug et al. 2015), connue avec ses feuilles persistantes ovales et brillantes de 3 à 7 cm de long (Benchiha, Mahroug et al. 2017). Ses petites fleurs jaunes donnent des baies de 3 à 6 mm qui passent du rouge au noir en mûrissant. La pulpe des fruits est sucrée et acidulée, récoltés en automne. Cet arbuste, qui pousse lentement mais peut vivre jusqu'à 100 ans, est apprécié dans les jardins et parcs comme le parc de Gouraya pour son feuillage attrayant et sa capacité à s'adapter à différents types de sols (d'Alger and de Paris 2012).



**Figure 01** : Photographies originales de *Rhamnus alaternus* L

En Afrique du Nord, le *Rhamnus alaternus* est désigné sous différentes appellations (Nekkaa et al. 2021) :

- Kabyle : Meliles
- Français : Nerprun Méditerranéen
- Anglais : Mediterranean Buckthorn
- Arabe : Oud el khir, Safir.
- Italien : Alaterno, Legno Puzzo

### I.1.2. Répartition géographique et classification botanique

*Rhamnus alaternus* est une plante native du bassin méditerranéen principalement le sud de l'Europe, l'ouest de l'Asie et l'Afrique du Nord, plus précisément en Algérie, le Maroc et la Tunisie (Nekkaa et al. 2021).

<b>Classification botanique</b>	
<b>Tableau I :</b> de <i>Rhamnus alaternus</i>	Règne : Plantae
	Division : Magnoliophyta
	Classe : Magnoliopsida
	Ordre : Rhamnales
	Famille : Rhamnaceae
	Genre : Rhamnus
	Espèce : <i>Rhamnus alaternus</i>

Classification botanique  
(Yi-ling et al. 1982).

### I.1.3. Composition phytochimique et usage traditionnel

*Rhamnus alaternus* possède une variété des composés phytochimiques tel que les flavonoïdes, les stéroïdes, les alcaloïdes, les tanins, les polyphénols et les anthraquinones qui peuvent avoir des propriétés bénéfiques pour la santé. (Ammar, et al. 2007, Ben Ammar et al. 2019). Quelque structure chimique des composés phytochimique représentés dans l'annexe 09. Le tableau II illustre quelques usages traditionnels de ses différentes parties.

**Tableau II :** Utilisations traditionnelles des parties de *R. alaternus*.

Parties	Usage traditionnel	Références
Tiges	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Les troubles gastro-intestinaux</li> <li>- Thérapie de l'hypercholestérolémie</li> <li>- La jaunisse</li> <li>- Les troubles hépatiques</li> </ul>	(Jamous et al. 2017) (Benchiha et al. 2017) (Nigussie et al. 2021) (Kherbachı et al. 2022)
Feuilles	-Trouble hépatique, la jaunisse	(Kherbachı et al. 2022)
Ecorces	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Les affections hépatiques</li> <li>- La constipation</li> <li>- L'anémie</li> <li>- Maladie hémoglobine</li> <li>- Traitement de diabète</li> <li>- Maladies dermatologique</li> </ul>	(Benchiha, et al. 2017), (Benchiha et al. 2017), (Tichati et al. 2022), (Kherbachı et al. 2022)

Fruits	- Utiliser comme un laxatif (les problèmes digestifs) et en médecine vétérinaire	(Bouhleb Chatti et al. 2022).
--------	--	-------------------------------

#### I.1.4. Activités biologiques des écorces de tiges et de racines

Les écorces possèdent un pouvoir antioxydant grâce aux composés phénoliques. Cette activité consiste à neutraliser les radicaux libres contribuant ainsi à réduire les dommages oxydatifs dans le corps (Chaouche et al. 2020, Rehman et al. 2024). Ces composés tels que les flavonoïdes et les tanins présents dans ces écorces modulent les voies inflammatoires, suggérant un potentiel pour la gestion des affections inflammatoires (Chen et al. 2020).

Les flavonoïdes et les anthraquinones des écorces des deux parties de *R. alaternus* sont également impliqués dans cette l'activité antimicrobienne en perturbant les mécanismes vitaux des microorganismes (Ben Ammar et al. 2007). L'étude de Mahmoudi et al. (2013) a rapporté que *R. alaternus* possède une propriété antimutagène ; inhibition des agents mutagènes (l'azoture de sodium). Cet effet est probablement dû à la présence de flavonoïdes et de tannins.

## I.2. L'inflammation et les anti-inflammatoires

### I.2.1. L'inflammation

#### I.2.1.1. Définition

L'inflammation est une réponse immunitaire de l'organisme à une blessure ou une infection qui peuvent être de différentes origines (biologique, chimique ou physique). Cela se produit lorsque le système immunitaire envoie des cellules spéciales pour combattre les agresseurs, ce qui peut entraîner des symptômes tels que rougeur, chaleur, gonflement, douleur et parfois des problèmes de fonctionnement des organes. C'est essentiellement un signal que le corps envoie pour réparer les dommages et se défendre contre les infections (Sarkhel 2016).

#### I.2.1.2. Les types de l'inflammation

➤ **Inflammation aiguë** : C'est la première ligne de défense de l'organisme qui dure quelques jours à quelques semaines (Lioté 2011), qui implique trois phases principales qui sont :

- **La phase vasculaire** : Au début de la phase inflammatoire l'action entraîne à la fois la vasodilatation des vaisseaux sanguins. Cette alternance de contractions et d'expansions

permet d'augmenter le flux sanguin vers la zone inflammatoire qui provoque une chaleur (Fournier et al. 2008).

- **La phase cellulaire** : La phase cellulaire de l'inflammation est celle où les cellules de notre système immunitaire se rendent sur les zones de l'inflammation pour réduire l'infection. Elles sont attirées par des signaux chimiques et traversent les parois des vaisseaux sanguins pour arriver au site nécessaire. Elles phagocytent les microorganismes et les tissus lésés. Cette phase implique la défense de l'organisme contre les agents infectieux (Danowski 1991).

- **La phase de réparation** : Cette phase a un rôle principal dans la réparation des tissus endommagés, les cellules commencent à se multiplier pour remplacer celles qui ont été perdues. De nouveaux vaisseaux sanguins se forment pour apporter des nutriments et le tissu va retrouver sa forme et sa fonction normales tout cela aide à guérir la blessure complètement (Ortega-Gómez et al. 2013).

➤ **Inflammation chronique** : C'est une réponse immunitaire qui dure plusieurs mois ou années et elle peut causer une décomposition physiologique ou un dysfonctionnement des organes et possiblement la mort. Elle peut résulter de divers facteurs, tels que des maladies auto-immunes, des infections persistantes, un mode de vie malsain (comme le tabagisme ou une mauvaise alimentation), ou encore un stress chronique. Elle peut contribuer au développement de nombreuses maladies chroniques, telles que l'arthrite, les maladies cardiovasculaires, le diabète de type 2 et certaines formes de cancer (Lawrence 2007).

## **I.2.2. Les anti-inflammatoires**

### **I.2.2.1. Définition**

Les anti-inflammatoires sont des traitements qui aident à réduire l'inflammation et la douleur dans le corps. On trouve deux types principaux qui sont les AINS et les AIN. Ils réduisent des substances chimiques qui induisent l'inflammation. Ces médicaments sont utilisés pour traiter les différentes douleurs (articulaires, musculaires, les maux de tête et d'autres problèmes douloureux), mais ils peuvent avoir des effets secondaires, donc il faut les utiliser avec consultation d'un médecin (Schneider 2011).

### **I.2.2.2. Les types d'antiinflammatoires**

➤ **Les anti-inflammatoires stéroïdiens (corticoïdes)** : Les corticoïdes ou les glucocorticoïdes sont une classe de médicaments dérivés du cortisol qui est sécrétée par les glandes surrénales. Ils permettent une meilleure activité anti-inflammatoire et sont utilisés pour traiter plusieurs maladies inflammatoires depuis nombreuses années (Fournier et al. 2008).

➤ **Les anti-inflammatoires non stéroïdiens** : sont des médicaments très connus et efficaces qui aident à soulager la douleur, réduire l'inflammation et abaisser la fièvre (Fournier et al. 2008), agissent en bloquant des substances dans le corps qui causent l'inflammation en empêchant la fabrication de certaines molécules appelées prostaglandines. On peut les prendre sous forme de comprimés ou les appliquer directement sur la peau (Dosso et al. 2021).

Il existe différents types de médicaments AIS et AINS mis en marche. Le tableau III présente quelques médicaments anti-inflammatoires stéroïdiens (Henzen 2003) et anti-inflammatoires non stéroïdiens (Hurault et al. 2008).

**Tableau III** : Quelques anti-inflammatoires stéroïdiens et anti-inflammatoires non stéroïdiens

AIN	Nom commercial	AINS	Nom commercial
<b>Cortisol</b>	Hydrocortone®	Diclofenac	Voltarene®
<b>Cortisone</b>	Cortison CIBA®	Ibuprofène	Ibuprofène®
<b>Bétaméthasone</b>	Celestone®	Acétylsalicylique	Aspirine®
<b>Dexaméthasone</b>	Fortecortin®	Ketoprofène	Nalfon®
<b>Triamcinolone</b>	Kenacort®	Sulindac	Clinoril®

### I.2.2.3. Mécanismes d'action des AIS et AINS

Les anti-inflammatoires stéroïdiens agissent en inhibant la réponse inflammatoire en inactivant les phospholipases membranaires, ils empêchent ainsi la libération de l'acide arachidonique, le précurseur de la prostaglandine, et ils induisent la formation d'une protéine appelée lipocortine qui se lie à la phospholipase en la désactivant (Souaga et al. 1998).

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens agissent en inhibant l'enzyme cyclooxygénase (COX), essentielle à la production de prostaglandines. Il existe deux types de COX qui sont (COX-1) présente dans les cellules normales (plaquettes, tractus gastro-intestinal, reins), et (COX-2) présente dans les cellules inflammatoires. Les AINS inhibent à la fois COX-1 et COX-2, ce qui peut causer des effets secondaires gastro-intestinaux en raison de l'inhibition de COX-1 (Dosso et al. 2021).

Les médicaments anti-inflammatoire peuvent avoir différents effets mais à la fois bénéfiques et indésirables selon le corps de la personne et la manière d'utilisation. Parmi les autres effets bénéfiques on distingue :

- Effet analgésique : Les AINS réduisent la douleur principalement en inhibant la production de prostaglandines dans les tissus enflammés (Fournier et al. 2008).
- Effet antipyrétique : Les AINS abaissent la fièvre en baissent la température à des valeurs normales (Ponvert 2006).

#### I.2.2.4. Les anti-inflammatoires naturels

Les anti-inflammatoires naturels sont d'origine végétale qui sont les aliments et les plantes pour traiter différentes pathologies inflammatoires est une pratique ancienne comme le curcuma, le gingembre les légumes verts qui peuvent aider à calmer les douleurs et les inflammations dans le corps. Leur consommation régulière peut aider à se sentir mieux. Le tableau ci-dessous résume quelques plantes à effet apaisant l'inflammation

**Tableau IV :** Certaines plantes ayant des activités anti-inflammatoires.

Plantes	Famille	Partie	Référence
<i>Curcuma longa</i>	Zingibéracée	Rhizomes	(Kim et al. 2012).
<i>Fraxinus excelsior</i>	Oleaceae	Feuilles	(Kořtun-Jasion et al. 2023).
<i>Salix sp</i>	Salicacée	Écorces	(Antoniadou et al. 2021).
<i>Urtica dioïca</i>	Urticaceae	Feuilles	(Marrassini et al. 2010).
<i>Rhamnus alaternus</i>	Rhamnaceae	Écorces, Feuilles	(Chen et al. 2020)
<i>Laurus nobilis L</i>	Lauracées	Feuilles	(Krireche 2022)
<i>Zingiber officinale</i>	Zingiberaceae	Racines	(Dhanik et al. 2017)

#### I.3.Toxicité de *Rhamnus alaternus*

Les parties toxiques de la plante sont : Les fruits murs et l'écorce. Cette plante contient des glycosides qui se transforment par hydrolyse en anthraquinones telles que l'émodyne. Ces substances ont un effet purgatif. L'ingestion des fruits provoque des vomissements, des spasmes, des mydriases et des convulsions (Benzaid et al. 2021).



## *Chapitre II*

### **Matériel et méthodes**

## II.1. Matériel et produits chimiques

Le matériel, les appareillages et les produits chimiques utilisés durant ce travail sont rapportés dans les annexes 1 et 2.

## II.2. Préparation de la matrice végétale

Ce travail de recherche a été réalisé sur les écorces de tiges (ET) et de racines (ER) de *R. alaternus* (Figure 06). La plante a été récoltée en mois de février 2024 au niveau de la région d'Ait Smail, la wilaya de Bejaïa. Les deux parties ont été bien nettoyées pour éliminer toute trace de poussière, puis les écorces fraîches ont été récupérées à l'aide d'un couteau et séchées pendant 4 jours dans une étuve ventilée à une température de 40°C. Après le séchage, les deux écorces ont été broyées en poudres fines. Les deux poudres obtenues ont été tamisées afin d'obtenir une poudre homogène (Figure 07).



**Figure 02 :** Les parties de *Rhamnus alaternus* étudiée. (A) Tige, (B) écorces de tige fraîche, (C) racine, (D) écorces de racine fraîche (Photo originales).



**Figure 03 :** Les étapes de préparation de la matrice végétale (A) séchage, (B) broyage, (C) tamisage, (D) poudre (Photo originale).

L'indice d'humidité est déterminé durant la phase de séchage pour chaque écorce selon la formule suivante :

$$\text{Indice d'humidité \%} = (\text{Masse des écorces sèches}) / (\text{Masse des écorces fraîches}) \times 100$$

### II.3. Extraction des métabolites secondaires

L'extraction des métabolites secondaires des écorces de tiges et de racines de *R. alaternus* a été réalisée par trois différentes méthodes à savoir la décoction, l'infusion et la macération éthanolique (Figure 04).

#### II.3.1. Décoction

Cette méthode consiste à mettre une substance dans de l'eau distille bouillante pour obtenir un décocté à la fin. Pour cela, une quantité de 25g de chaque poudre des ET et ER a été rajoutée au 250ml d'eau distillée bouillante dans un bécher et laissée sous agitation pendant 10 min sur une plaque chauffante (Figure 04-A).

#### II.3.2. Infusion

L'extraction a été réalisée par infusion de la matière végétale. Une quantité de 25g de deux poudres de *Rhamnus alaternus* (ET) et (ER) ont été rajoutée à 250ml d'eau distillée bouillante. Le mélange a été infusé pendant 10 min (Figure 04-B)

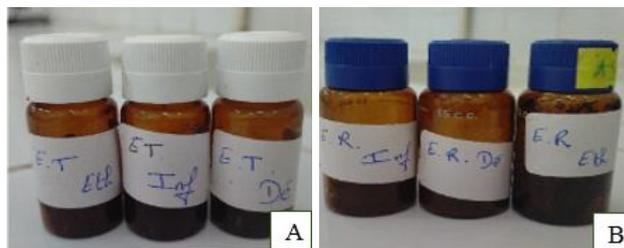
#### II.3.3. Macération éthanolique

Cette extraction consiste à extraire les métabolites secondaires à partir de la poudre végétale par l'utilisation d'un solvant. Une quantité de 25g de chaque poudre de *Rhamnus alaternus* (ET) et (ER) a été macérée dans 250ml d'éthanol à 80% et laissée sous agitation magnétique pendant 24h à une température ambiante (Figure 04-C).



**Figure 04 :** Les différentes méthodes d'extractions utilisées. (A) décoction, (B) infusion, (C) macération éthanolique (photos originales).

Les décoctés, les infusés et les macérats obtenus sont par la suite filtrés à l'aide du papier wattman et les filtrats sont évaporés à une température de 40°C. Les extraits secs obtenus sont conservés dans des flacons opaques (Figure 05).



**Figure 05 :** Les extraits secs des ET (A) et ER (B) de *R.alaternus* (photo originale).

Le rendement d'extraction (RE) est calculé pour chaque méthode en utilisant la formule suivante :

$$\text{RE}\% = (\text{Masse d'extrait sec}) / (\text{Masse de la matière végétale}) * 100$$

## II.4. Screening phytochimique

Un screening phytochimique a été réalisé pour les extraits ET et ER. L'un Des buts essentiel d'une étude phytochimique est la détection qualitative des classes chimiques existantes dans les extraits bruts. Les tests d'un trait phytochimique sont basés principalement sur des essais de solubilité, des réactions de coloration et de précipitation des différents métabolites secondaires.

### II.4.1. Mise en évidence des polyphénols

La détection des polyphénols a été réalisée selon la réaction par chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ). Une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique 2 % a été ajoutée à 2 ml de chaque extrait. La présence de polyphénol est révélée par une coloration bleu-noirâtre ou vert (N'Guessan et al.,2009).

### II.4.2. Mise en évidence des tanins

La présence des tanins a été mise en évidence en ajoutant à 1 ml de chaque extrait 500 $\mu\text{l}$  de  $\text{FeCl}_3$  dilué à 1 %. L'apparition d'une couleur vire au bleu noir indique la présence des tanins gallique et la couleur brune verdâtre révèle la présence des tanins catéchiques (Dohou et al.,2003).

### **II.4.3. Mise en évidence des alcaloïdes**

Les alcaloïdes ont été recherchés par le test de Dragendorf. 3 ml de chaque extrait a été mélangé avec 5 ml d'acide chlorhydrique (HCl) à 1 %, après incubation dans un bain marie chaude, quelques gouttes de réactif de Dragendorf ont été rajoutées, l'apparition d'un précipité brun orangé indique la présence des alcaloïdes (Rashmi et al., 2017).

### **II.4.4. Mise en évidence des saponines**

Chaque extrait est repris dans 5 ml d'eau distillée, ces extraits sont agités dans un tube à essais, la formation d'une mousse de 1 cm de hauteur stable après une heure de persistance indique la présence des saponines (Yves-Alain et al., 2007).

### **II.4.5. Mise en évidence des stérols et triterpènes**

Un volume de 10 ml de l'extrait est mis dans un erlenmeyer. Après évaporation à sec, le résidu tu es solubilisé avec 10 ml de chloroforme anhydre. Un mélange de 5 ml de la solution chloroformique, 5 ml anhydre acétique et quelques gouttes d'acide sulfurique concentré a été ajouté sous agitation. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration violacée. (Yusuf et al., 2014).

## **II.5. Dosage des composés phénoliques**

### **II.5.1. Polyphénols totaux**

Les polyphénols ont été déterminés par spectrophotométrie selon la méthode décrite par Singleton et al avec quelque modification (Singleton et al., 1999). Un volume de 625  $\mu$ L de réactif folin-ciocalteu dilué, a été ajouté à 125  $\mu$ L d'extrait et le tout est bien mélanger. Après une minute d'incubation, un volume de 500  $\mu$ L d'une solution de carbonate de sodium à 6% ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) a été ajouté. La préparation a été homogénéisée et laisser incuber pendant 90 minutes à l'obscurité, puis l'absorbance a été lue à 720nm. Une courbe d'étalonnage a été préparée à partir de différentes concentrations d'acide gallique (annexe 03), en passant par les mêmes étapes du test. Les résultats sont exprimés en mg EAG/G d'extrait.

### **II.5.2. Dosage des flavonoïdes**

La méthode décrite par Quettier-Deleu et ses collègues (2000) a été utilisée avec de légères modifications. Un volume de 500  $\mu$ L de chlorure d'aluminium à 2 % a été ajouté à 500  $\mu$ L d'extrait, après 15 minutes d'incubation à l'obscurité, l'absorbance a été mesurée à 343 nm.

Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions en utilisant la quercétine comme standard (annexe04). Les résultats sont exprimés en mg EQ/G d'extrait.

### II.5.3. Dosage des tanins condensés

Les tanins condensés ont été déterminés selon le protocole de Price et ses collaborateurs avec quelque modification (Price et al.,1978). Un volume de 250 µL d'extrait a été additionné à 625 µL vanilline à 4 %. Après homogénéisation, un volume de 500 µL de Hcl à 8 % a été ajouté. Le mélange réactionnel a été incubé pendant 15 minutes dans un bain-marie à une température de 50°C et l'absorbance est enregistrée à 500 nm. Une courbe d'étalonnage est préparée en utilisant la catéchine comme standard (annexe 05). Les résultats sont exprimés en mg EC/G d'extrait.

## II.6. Evaluation de l'activité antioxydant

### II.6.1. Activité scavenging du radical DPPH

Afin d'étudier l'activité anti radicalaire par le test de DPPH (2,2- Diphényl-picrylhydrazyle) des écorces de *R. alaternus*, le protocole décrit par Sanchez-Moreno a été utilisé. C'est un test colorimétrique, utilisant le DPPH, comme un radical relativement stable. En présence des antioxydants ce radical ayant une couleur violette se réduit en 2.2 diphényl-picrylhydrazin de couleur virant au jaune (Athamena et al., 2010).

Un volume de 25 µL de la solution méthanolique de DPPH (5 mM) a été additionné à 1,225 ml de chaque extrait à différentes concentrations allant de 20 à 120 µl. Après un temps d'incubation de 30 min à l'abri de la lumière et à température ambiante, l'absorbance du mélange réactionnel a été lue à 517 nm. L'acide gallique a servi comme un standard antioxydant (Annexe 6).et les résultats de l'effet scavenger du radical DPPH est exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

$$\text{Activité scavenging du radical DPPH (\%)} = (\text{AT} - \text{AEch}) / \text{AT} \times 100$$

**AT** : Absorbance du témoin.

**AEch** : Absorbance de l'échantillon.

### II.6.2. Activité scavenging du radical ABTS\*

L'ABTS<sup>•+</sup> est un radical libre et stable capable de réagir avec des antioxydants. En effet, le sel d'ABTS perd un électron pour former un radical cationique (ABTS<sup>•+</sup>) de couleur sombre

(vert bleu) en solution. En présence de l'agent antioxydant, le radical ainsi formé est réduit l'activité scavenger du radical ABTS a été mesurée en utilisant la méthode décrite par (Re et al., 1999), avec une légère modification. Le radical ( $ABTS^{\bullet+}$ ) a été préparé par la réaction de la solution d'ABTS (7 mM) avec du persulfate de potassium (2,45 mM), cette solution a été incubée à l'obscurité et à température ambiante pendant 16h (formation du radical  $ABTS^{\bullet+}$ ).

La solution  $ABTS^{\bullet+}$  obtenue a été diluée dans l'éthanol afin d'obtenir une absorbance de 0,9 ou 0,8 à 734 nm. Un volume de 950  $\mu$ l de la solution diluée a été ajouté à un volume de 50  $\mu$ l de chaque extrait à différentes concentrations de 10 à 50  $\mu$ l. L'ensemble a été bien mélangé à l'aide d'un vortex et l'absorbance a été mesurée à 734 nm après 7 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante. L'acide gallique servi comme standard antioxydant (annexe 07) et les résultats de l'effet scavenger du radical ABTS sont exprimés en pourcentage selon la relation suivante :

$$\text{Activité scavenging du radical ABTS (\%)} = ((AT - AEch) / AT) \times 100$$

**AT** : Absorbance du témoin

**AEch** : Absorbance de l'échantillon

### II.6.3. Evaluation du pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est un mécanisme important pour examiner l'activité antioxydante des composés phénoliques. Cette méthode tire profit de la réduction de l'ion ferrique ( $Fe^{3+}$ ) présent dans le complexe ferricyanure de potassium  $K_3Fe(CN)_6$  en fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ) (Ou et al., 2001). En solution, cette forme réduite prend une couleur verte, dont l'intensité est proportionnelle au pouvoir réducteur des extraits (Wojdylo et al., 2007).

Le protocole utilisé est celui décrit par Oyaizu (1986). Dans un tube à essai en verre contenant 250  $\mu$ l d'extrait à différentes concentrations, 500  $\mu$ l de tampon phosphate (0,2 M : pH 6,6) et 500  $\mu$ l de ferricyanure de potassium ont été ajoutés successivement. L'ensemble a été chauffé à 50°C au bain marie pendant 20 minutes. Un volume de 500  $\mu$ l d'acide trichloracétique TCA (10%) a été ajouté et le mélange obtenu a été centrifugé à 3000 rpm pendant 10 minutes. Ensuite, un aliquote de 500  $\mu$ L de surnageant a été transféré dans un autre tube auquel ont été ajoutés 500  $\mu$ l d'eau distillée et 100  $\mu$ l de chlorure ferrique (0,1%). Un blanc a été préparé dans les mêmes conditions en remplaçant l'extrait par le solvant et

l'absorbance est directement lue à 700 nm. L'acide ascorbique est utilisé comme un standard (annexe 08).

## II.7. Etude des activités biologiques *in vivo*

La présente étude a pour but d'évaluer les activités analgésique et anti-inflammatoire par le test de torsion abdominale et l'œdème de l'oreille chez les souris.

### II.7.1. Animaux

Les souris de la souche NMRI mâles de différents poids entre 21g et 27g ont été fournies par l'Institut Pasteur de Kouba à Alger. L'expérimentation a été réalisée au niveau de l'animalerie de l'université de Bejaia. Les souris ont été transférées à une animalerie et ont été réparties dans des cages de 6 souris soumises à des conditions de température ambiante de  $25 \pm 2$  ° C (Figure 06), et à un cycle de jour et nuit de 12 heures d'éclairage/ d'obscurité afin de respecter leur cycle biologique avec accès libre à l'aliment et à l'eau. Les souris ont été acclimatées pendant 10 jours avant les expériences.



**Figure 06** : Répartition des souris au niveau de l'animalerie (photo originale).

### II.7.2. Activité analgésique

L'évaluation de l'activité analgésique de l'extrait éthanolique des ER a été réalisée par le test de torsion abdominale décrit par Koster et Statz, (1995). Ce test repose sur l'induction d'une douleur abdominale par l'injection intrapéritonéale (IP) de l'acide acétique à 0,6 % (Figure07). Les souris réparties en 4 lots de 6 souris, ont reçues les traitements suivants :

**Lot 01** : traité avec une dose de 10 ml/kg d'eau physiologie (contrôle négatif).

**Lot 02** : traité avec une dose de 50 mg /Kg d'acide salicylique (contrôle positif).

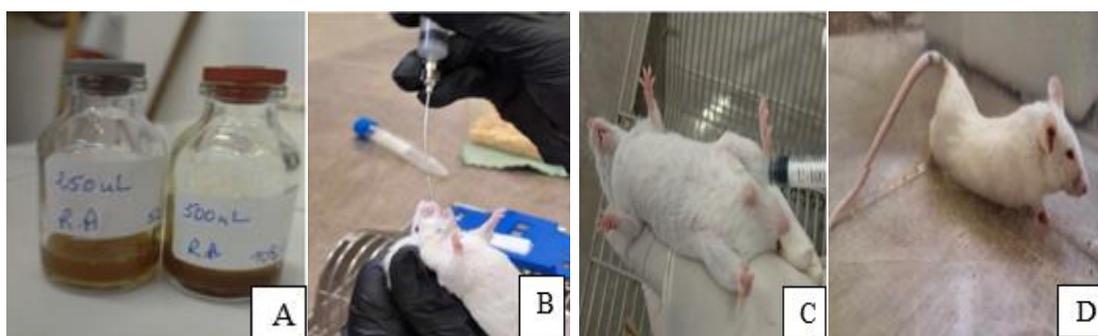
**Lot 03** : traité avec une dose 250 mg/kg de l'extrait éthanolique des ER.

**Lot 04** : traité avec une dose de 500 mg/kg de l'extrait éthanolique des ER.

Une heure après le gavage, un volume de 10µl d'acide acétique diluée à 0.6% a été injecté par voie intrapéritonéale. Cinq minutes après l'induction de la douleur, chaque souris a été observée pendant 25min et le nombre d'étirements et de torsions abdominales a été compté. L'effet analgésique a été exprimé en pourcentage d'inhibition des torsions abdominales selon la formule suivante :

$$\text{PI \%} = \frac{\text{nombre de TA témoin} - \text{nombre TA traité}}{\text{nombre de TA témoin}} * 100$$

**TA** : Torsion abdominale.



**Figure 07**: Protocole d'étude de l'activité analgésique extrait, (B) gavage, (C) injection intrapéritonéale, (D) torsion abdominale (photos originales).

### II.7.3. Activité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire a été évaluée selon le protocole décrit par (Nunez-Guillen et al.,1997). Le but de ce test consiste en induction d'un œdème par une application topique du xylène sur l'oreille de la souris (Figure 08). Les souris ont été divisées en 4 lots de 6 souris, et ont été gavées par :

**Lot 01**: une dose de 10 ml/kg d'eau physiologie (contrôle négatif).

**Lot 02** : une dose de 50 mg /Kg du dexaméthasone (contrôle positif).

**Lot 03** : une dose 250 mg/kg de l'extrait éthanolique des ER.

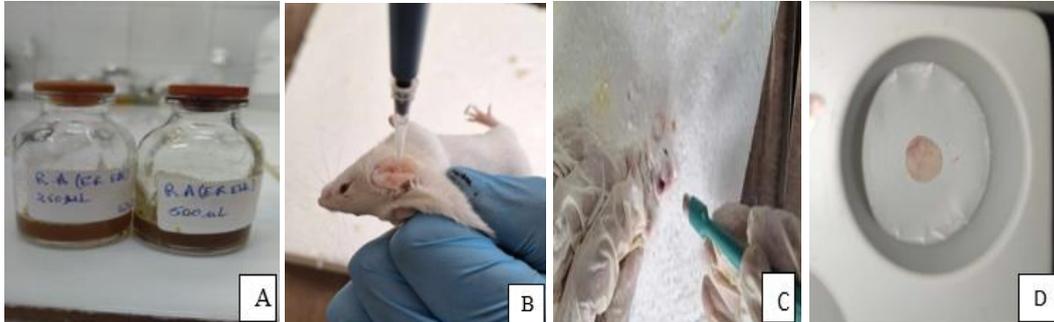
**Lot 04** : une dose de 500 mg/kg de l'extrait éthanolique des ER.

Une heure après les traitements ci-dessus, une inflammation a été induite par application de 20 µL de xylène au niveau de la surface interne de l'oreille droite de chaque souris. Après 15 min après, les souris ont été sacrifiées par dislocation cervicale. Des sections circulaires ont été prélevées à l'aide d'un bio punch à partir des deux oreilles (droite et gauche) des souris et

leurs poids ont été pesés. L'activité anti-inflammatoire est exprimée en pourcentage d'inhibition de l'œdème selon la formule ci-dessous :

$$PI \% = \frac{\Delta_{\text{témoin}} - \Delta_{\text{traité}}}{\Delta_{\text{témoin}}} * 100$$

$\Delta$  : Différence de poids entre l'oreille droite et gauche.



**Figure 08** : Protocole d'étude de l'activité anti-inflammatoire. (A) extrait, (B) application du xylène, (C) prélèvement par un bio punch, (D) section prélevée de l'oreille (photos originales).

## II.8. Analyse statistique

Les tests *in vitro* sont réalisés en triplicata et les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  SD (écart type). Les résultats de l'étude *in vivo* sont exprimés en moyenne  $\pm$  SEM. L'analyse statistique a été effectuée en utilisant le logiciel GraphPad Prism. Le test Anova univarié suivi du test Tukey a été utilisé pour les comparaisons multiples. Les valeurs de  $p \leq 0.05$  sont considérées statistiquement significatives.

## *Chapitre III*

# **Résultats et discussion**

### III.1. Rendement d'extraction

Trois méthodes d'extraction ont été réalisées sur les deux poudres des ET et ER de *Rhamnus alaternus* par décoction, infusion, et macération éthanolique (80%). Le rendement est calculé par rapport à la matière fraîche qui est de 25g et la masse sèche de chaque extrait les résultats obtenus sont représentés dans le tableau V.

**Tableau V** : Résultats des rendements d'extractions

Méthodes	Rendement (%) ET	Rendement (%) ER
Décoction	10	10,8
Infusion	12,4	15,2
Macération	15,6	20

D'après les résultats de rendement de chaque extrait de *Rhamnus alaternus*, le meilleur est celui de macération éthanolique, 15,6% et 20% pour les ET et les ER respectivement. Par contre les extraits aqueux est de 10% et 10,8% pour la décoction et de 12,4% et 15,2% pour l'infusion. Les extraits des ER ont donné les meilleurs rendements.

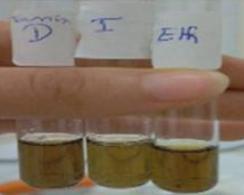
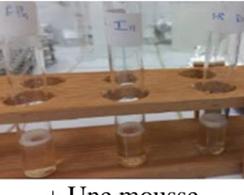
Dans d'autres études parfois les normes de rendement sont inférieures aux nôtres. Le cas de l'étude rapportée par Ljubuncic, Azaizeh et al. (2005) sur un extrait aqueux de la même espèce avec des rendements de 9% et 8%. De plus, l'étude menée par Boussahel, Speciale et al. (2015) sur un extrait méthanolique a démontré un rendement de 6,30%.

Cette différence de rendement peut-être influencé par plusieurs paramètres comme la méthode extraction, le choix de solvant (éthanol, méthanol), l'origine géographique, la durée de l'extraction, diamètre des particules de l'échantillon (Naczka and Shahidi 2004).

### III.2. Résultats du tri-phytochimiques

Les tests phytochimiques sont généralement utilisés pour déterminer les différentes familles des métabolites secondaires (Daira, Maazi et al. 2016, Dongock, Bonyo et al. 2018). Le tableau VI résume les résultats de mise en évidence de quelque métabolite secondaire dans les extraits obtenus à partir des ET et ER de *Rhamnus alaternus*

Tableau VI : Résultats des tests du tri-phytochimique

Composés	ET	ER
<b>Polyphénols</b>	 ++ Verte foncée	 ++ Verte foncée
<b>Tanins</b>	 ++ Brun verdâtre	 ++ Brun verdâtre
<b>Terpenoides</b>	 ++ Brune rougeâtre	 ++ Brun rougeâtre
<b>Alcaloïdes</b>	 ++ Un précipité brun orangé	 ++ Un précipité brun orangé
<b>Saponines</b>	 + Une mousse	 + Une mousse
<b>Stérols et triterpenoides</b>	 + Verte	 + Verte

++ fortement positif ; + positif ; - négative

L'étude phytochimiques des extraits aqueux et éthanolique des deux parties ET et ER de *Rhamnus alaternus* montre qu'elles contiennent plusieurs composés phénoliques tels que : les tanins, flavonoïdes, alcaloïdes, terpénoïdes, par contre les saponines et les stérols triterpénoïdes sont présents mais très faible.

Il semble que les résultats de l'étude des phytochimiques sur les écorces tiges et racines correspondent aux travaux précédents de Bouchenak, Yahiaoui et al. 2020. Plusieurs études démontrent la présence de certaines familles de métabolites secondaires comme Les polyphénol totaux, flavonoïdes, tanins, alcaloïdes, terpénoïdes, saponines et stérols et triterpénoïdes avec différentes quantités pour chaque extrait. Cela peut s'expliquer par rapport à la méthodes d'extraction et la partie de la plantes étudiée, mais aussi l'influence de différents facteurs : la saison, le lieu de la récolte , le type de sol et l'environnement (Nekkaa, Benaissa et al. 2021).

### III.3. Teneur en composés phénoliques

Cette analyse permet d'évaluer la quantité totale des composés phénoliques : les polyphénols totaux, les flavonoïdes et les tanins présents dans les extraits. Le tableau VII présente les résultats des teneurs en composés phénoliques des ET et des ER extraits par trois méthodes.

**Tableau VII** : Teneur en composés phénoliques des ET et des ER de *R.alaternus*.

Méthodes d'extraction	Parties de RA	Polyphénols totaux (mg EAG/g d'extrait)	Flavonoïdes (mg EQ/g d'extrait)	Tanins (mg EC/g d'extrait)
<b>Décoction</b>	ET	5,17±0,09	0,59±0,01	0,21±0,00
	ER	3,44±0,22	0,46±0,00	2,36±0,03
<b>Infusion</b>	ET	4,94±0,12	0,58±0,10	0,20±0,01
	ER	3,93±0,06	0,46±0,00	2,35±0,08
<b>Macération</b>	ET	6,40±0,33	1,03±0,05	0,20±0,00
	ER	3,69±0,01	0,92±0,01	2,86±0,20

### III.3.1. Teneur en polyphénols totaux

La quantité totale de polyphénols a été déterminées dans les extraits d'ET et d'ER de *R.alaternus* en utilisant une méthode colorimétrique appelé réactif de folin-Ciocalteu qui détecte les composés phénolique. La teneur a été déterminée en faisant référence à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique en mg par g d'extrait sec de type :  $y = 0,0087x + 0,0113$  avec  $R^2 = 0,997$  (Annexe 3). Les résultats sont représentés dans le tableau VII. Les résultats de notre étude ont montré des teneurs en polyphénols totaux varié dans les deux parties de plante extraites par trois méthodes, en comparaison avec les résultats obtenus dans d'autres études réalisées par Raihana, 2018. Cette dernière a rapporté une teneur de  $169,6 \pm 0,642$  mg EAG/g pour l'extrait éthanolique et  $154,4 \pm 0,642$  mg EAG/g pour l'extrait aqueux et une teneur de  $0,64 \pm 0,03$  mg EAG/g et  $2,05 \pm 0,1$  mg EAG/g pour l'extrait acétone et méthanol des feuilles de *R.alaternus* (Chaouche, 2020). Des recherches sur les extraits méthanolique et éthanolique des feuilles de *R. alaternus* (Moussi, 2015) ont rapporté des valeurs de  $155,6$  mg EAG/g et  $150 \pm 9,7$  mg EAG/g.

La variation constatée pourrait s'expliquer par les différentes méthodes d'extraction et par les différents solvants utilisés et les parties de plante étudié (Xia, 2010). Parmi les trois méthodes réalisées, l'extrait éthanolique d'ET et l'extrait aqueux obtenu par infusion à partir des ER ont révélés leur richesse en polyphénols totaux.

### III.3.2. Teneur en flavonoïdes

La présence des flavonoïdes dans les extraits de *R.alaternus* en ajoutant une solution d'aluminium trichlorure ce qui produit une couleur jaune et plus la couleur est foncé la concentration de flavonoïdes est plus élevé. La teneur en flavonoïdes des extraits a été déterminé à partir d'une courbe d'étalonnage en utilisant la quercétine comme standard qui suit une équation de type :  $y = 0,009x - 0,0038$  avec  $R^2 = 0,9984$  (Annexe 4).

La teneur des flavonoïdes des extraits étudiés dans la présente étude (Tableau VII) est inférieure à celle obtenue par Ben Ammar, (2008) révélant des teneurs de 15 et 20 mg EQ/g dans l'extrait méthanolique des écorces et des feuilles de *R.alaternus* respectivement. D'autres études menées par Benchiha & Bouterfas, (2015) ont rapportés des teneurs de 192,74 mg pour l'extrait acétique et 3,49mg pour l'extrait aqueux de l'écorce de RA.

Notre résultat supérieur dans les extraits des écorces tiges, qui sont plus riche en flavonoïdes par rapport au écorces racines, et la teneur la plus élevé est celle des deux extraits

éthanoliques d'ER et d'ET. Cela peut être lié aux différentes méthodes d'extraction utilisées, la partie de la plante et aux conditions expérimentales.

### III.3.3. Teneur en tanins condensés

Le dosage des tanins condensés des extraits de RA a été déterminé par la méthode de la vanilline avec l'HCL qui donnant une coloration rouge. La teneur en tanin a été déterminé à partir d'une courbe d'étalonnage de la catéchine utilisée comme standard qui dont l'équation suivante :  $y = 0,0023x + 0,0085$  avec  $R^2 = 0,9993$  (Annexe 5).

Nos résultats montrent une teneur varie en tanins (Tableau VII) comparativement aux résultats de Tarik et ses collègues en 2020, qui ont rapporté un taux de  $3,60 \pm 0,2$ mg EC/g dans l'extrait méthanolique. Une autre étude de Kherbachi et ses collaborateurs en 2020 a révélé une teneur de  $36,24 \pm 5,44$ mg EC/g pour l'extrait éthanolique.

Cette différentes peut suggérer une répartition différente des tanins dans les parties de la plante ce qui montre dans nos études que ER plus riche que ET, et par rapport aux méthodes d'extraction car la teneur en tanins de macération par éthanol est supérieure au extraits aqueux.

### III.4. Activité antioxydant

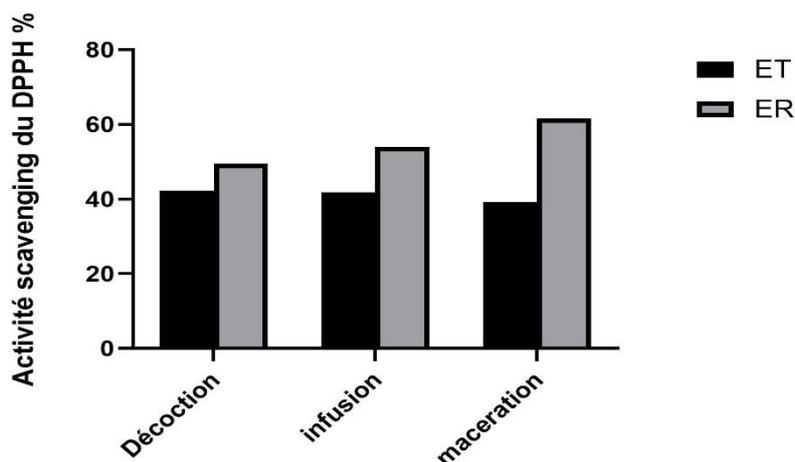
L'évaluation de l'activité antioxydant des extraits d'ER et d'ET de RA a été effectuée par trois tests à savoir le test de DPPH, l'ABTS et le pouvoir réducteur (Figure 09).



**Figure 09** : Résultat de l'activité antioxydant. (A) tes de DPPH, (B) piégeage de l'ABTS, (C) pouvoir réducteur.

#### III.4.1. Activité scavenging du DPPH

Le test DPPH généralement est utilisé pour déterminé une activité antioxydant des extraits de plante, il est décrit par (Jayaprakash et pati, 2007). Les résultats obtenus pour les extraits d'ER et d'ET de RA sont illustrés dans la figure 10



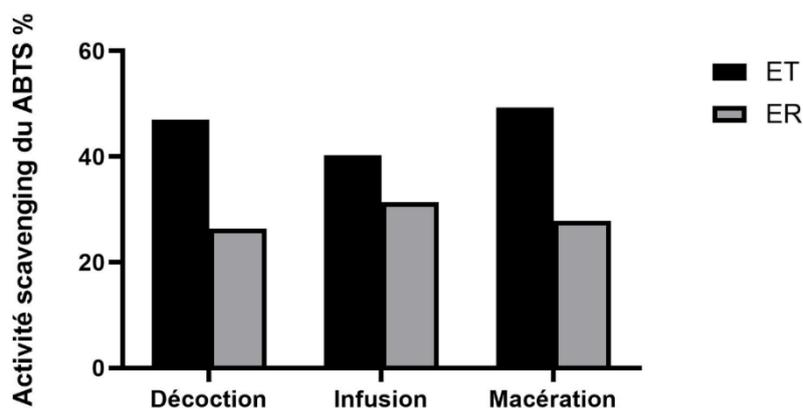
**Figure 10:** Histogramme de l'effet scavenger du radical DPPH des extraits de RA à une concentration de 250µg/ml par trois méthodes d'extraction. Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart-type (n =3).

Détermination de la capacité antioxydante se fait en mesurant l'activité antioxydante d'un extrait ou la capacité à neutraliser les radicaux libres (Foti, 2015). Les résultats montrent que l'activité de neutralisation du radical DPPH est élevée pour l'extrait éthanolique d'ER et pour l'extrait aqueux obtenu par décoction d'ET. De plus, l'activité scavenging d'ER est meilleure que l'activité d'ET avec des pourcentages respectifs qui sont de 49,49±0,42% et 42,21±1,32% pour la décoction, 53,94±1,98 et 41,85±3,35 pour l'infusion, 61,54±3,29, et 39,25±2,95 pour la macération éthanolique.

L'analyse des écorces de *R.alaternus* révèle qu'elles sont riches en composés phénoliques, notamment en flavonoïdes et tanins qui sont connus pour leurs fortes propriétés antioxydantes (Barreca, 2011).

### III.5.2. Activité scavenging de l'ABTS

L'ABTS est l'un des tests qui détecte une activité antioxydant d'un extrait d'une plante. Les résultats obtenus pour les extraits d'ER et d'ET de RA sont présentés dans la figure 11.



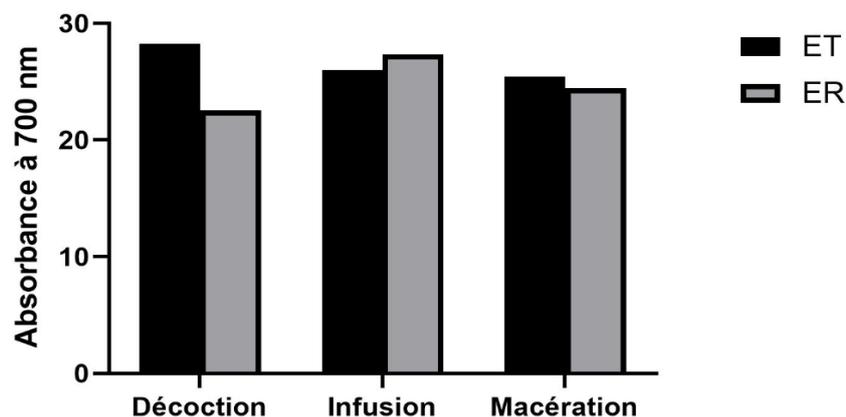
**Figure 11 :** Histogramme de l'effet scavenger du radical ABTS des extraits de RA a une concentration de 50µg/ml par trois méthodes d'extraction. Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart-type (n = 3).

Les extraits de *R. alaternus* ont montré une inhibition significative du radical cationique ABTS avec une activité élevée pour l'extrait éthanolique d'ET et l'extrait aqueux obtenu par infusion à partir des ER. Cela en détermine que chaque test a son mécanisme d'action et que l'activité scavenging d'ET plus importante que l'activité d'ER avec des pourcentages respectifs de 47,02±2,23% et 26,39±2,56% pour la décoction, 40,27±5,00% et 31,40±0,61% pour l'infusion, et 49,33±0,39 et 27,83±5,14 pour la macération éthanolique.

Des études ont découvert qu'il y a un lien fort entre la quantité totale de polyphénols dans les plantes et leur capacité à combattre les dommages causés par les radicaux libres (Kähkönen, 1999).

### III.5.3. Activité scavenging de pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur du fer ferrique peut déterminer l'activité antioxydant des extraits d'une plante par la réduction de fer ferrique  $Fe^{+3}$  en fer ferreux  $Fe^{+2}$ . Les résultats obtenus pour les extraits d'ER et d'ET de RA sont présentés dans la figure 12.



**Figure 12 :** Histogramme de l'absorbance obtenus a 700nm de la réduction de  $Fe^{+3}$  en  $Fe^{+2}$  des extrait de ET et ER de RA à une concentration de 250 $\mu$ g/ml par trois méthodes d'extraction. Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  écart-type (n = 3).

L'activité la plus élevée est enregistrée par les extraits aqueux des ET obtenus par décoction par infusion. Les résultats pour les ER et les ET sont respectivement : décoction (22,56 $\pm$ 1,75mg et 28,26 $\pm$ 1,37mg), infusion (27,37 $\pm$ 0,73mg et 26,01 $\pm$ 0,93mg), macération (24,45 $\pm$ 1,70mg et 25,43 $\pm$ 0,00mg). Ces résultats montrent que l'extrait aqueux à une capacité légèrement meilleure que l'extrait éthanolique pour cette réduction pour l'ER et l'ET de RA avec des absorbances respectivement : décoction (22,56 $\pm$ 1,75mg et 28,26 $\pm$ 1,37mg), infusion (27,37 $\pm$ 0,73mg et 26,01 $\pm$ 0,93mg), macération (24,45 $\pm$ 1,70mg et 25,43 $\pm$ 0,00mg).

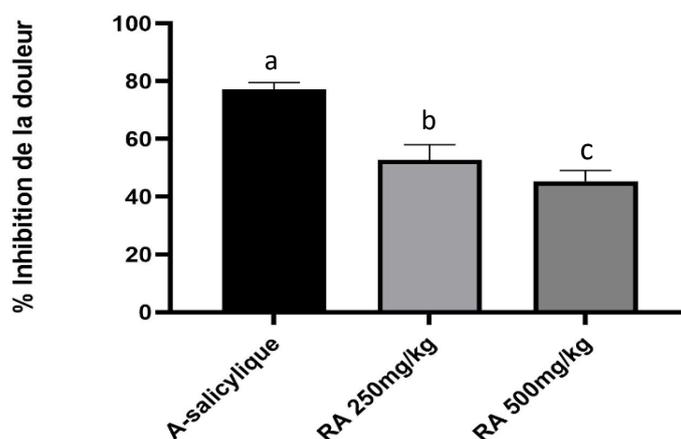
Des études similaires ont montré que l'extrait aqueux peut mieux réduire le fer que l'extrait éthanolique probablement parce qu'il contient plus de polyphénols qui sont comme des donneurs d'électrons capables d'arrêter les dommages causés par les radicaux libres. L'extrait éthanolique montre une capacité notable à piéger le fer probablement grâce à sa richesse en flavonoïdes et tanins condensés (Babili, 2013).

Selon nos résultats sur la plante *R. alaternus* est riche en polyphénols totaux tel que les flavonoïdes et tanins condensés comparativement avec d'autre recherche de (Barreca et al.2011) qui ont obtenu de même résultats et qui ont des propriétés antioxydantes grâce à leur structure et à de nombreux groupes hydroxyles (Heim et al. 2002). Une activité scavenging du DPPH et ABTS a montré que les deux parties de RA contient une forte activité antioxydant et ajoutent que le pouvoir réducteur des extraits végétaux vient de molécules qui peuvent donner des électrons pour neutraliser les radicaux libres (Ferreira et al.2006)

### III.5. Activités biologiques *in vivo*

#### III.5.1. Activité analgésique

Le test de torsion abdominale décrit par Koster a été utilisé pour évaluation de l'effet analgésique de l'extrait éthanolique qui cause une contre la douleur induite par l'injection intrapéritonéale de l'acide acétique.

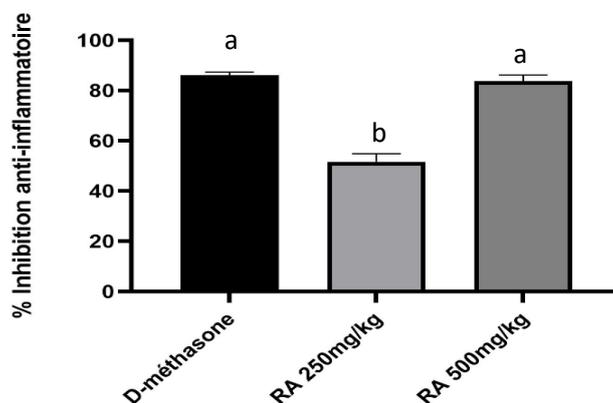


**Figure 13** : Effet analgésique d'extrait éthanolique de RA sur le pourcentage d'inhibition de la douleur induite par l'acide acétique (0,6%). Les souris sont traitées par deux dose 250 et 500mg/kg et l'acide salicylique. Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM ( $n = 6$ ), les analyses statistiques sont réalisées par le test ANOVA one way, suivi du test post hoc de Tukey. Les valeurs qui ne partageant pas une lettre commune sont statistiquement différentes ( $P < 0,05$ ).

Les résultats sont présentés dans la figure 13, un médicament a été utilisé comme référence qui est l'acide salicylique et les deux doses (250 et 500 mg/kg) de l'extrait éthanolique des ER. Une diminution de la douleur abdominale significativement par rapport au médicament, correspondant au taux d'inhibition (%) des contractions de 77,14% pour l'acide salicylique, 52,82% pour la dose 250mg/kg et 45,40% pour la dose 500mg/kg, c'est la dose la plus faible qui a montré une meilleure inhibition des contractions. Cet effet analgésique pourrait être lié à la forte teneur en polyphénols de la plante notamment les flavonoïdes et les tanins condensés.

### III.5.2. Activité anti-inflammatoire

L'évaluation de l'effet anti-inflammatoire de l'extrait éthanolique d'ER a été effectuée par la mesure du pourcentage de réduction de l'œdème de l'oreille provoqué par le xylène chez les souris.



**Figure 14 :** Effet anti-inflammatoire d'extrait éthanolique de RA sur l'œdème de l'oreille droite des souris induit par application locale de xylène. Les souris sont traitées par deux dose 250 et 500mg/kg et dexaméthasone. Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM ( $n = 6$ ), les analyses statistiques sont réalisées par le test ANOVA one way, suivi du test post hoc de Tukey. Les valeurs qui ne partageant pas une lettre commune sont statistiquement différentes ( $P < 0,05$ ).

Les résultats sont présentés dans la figure 14, le médicament dexaméthasone utilisé comme référence inhibe l'œdème de l'oreille avec un taux de pourcentage 86,22%. Le traitement avec un extrait de RA avec les deux doses de 250 et 500mg/kg a considérablement réduit l'inflammation et la dose la plus élevée a montré une meilleure réduction avec un taux d'inhibition de 51,73% et 83,84% respectivement.

Les flavonoïdes et les tanins sont les composés majoritaires révélés dans la plante *R. alaternus*, ils sont connus pour leur pouvoir à combattre l'inflammation. Les flavonoïdes agissent en bloquant certaines substances responsables de l'inflammation telle que les prostaglandines (Morimoto, 1988). Tandis que, les tanins réduisent la libération de substances qui causent l'inflammation et aident à resserrer les tissus en limitant ainsi les dommages. En action synergique, ces composés peuvent avoir une meilleure efficacité à réduire les problèmes liés à l'inflammation dans le corps (Sereme, 2011).

## **Conclusion et perspective**

Nous avons évalué à travers ce travail la composition phytochimique des extraits d'écorces de tiges et de racines de *Rhamnus alaternus* ainsi que leurs activités antioxydant, antiinflammatoire et analgésiques. Ce type de recherche vise à découvrir de nouvelles thérapies alternatives aux substances de synthèse.

L'extraction par décoction, infusion et macération éthanolique ont donné de différents taux de rendements, plus importants dans les extraits éthanolique qui sont de 15,60% et 20% pour les ET et les ER respectivement. Les tests du tri-phytochimique ont mis en évidence la présence de plusieurs familles chimiques dans les deux parties de *R. alaternus*, notamment les polyphénols totaux, les tanins, les alcaloïdes, les saponines, les stérols, terpénoïdes et les triterpenoides. Les résultats des dosages quantitatifs des composés phénoliques ont révélé que la tige et la racine de *R.alaternus* sont riches en polyphénols totaux, les flavonoïdes et les tanins condensés.

D'après les différents tests antioxydants réalisés tels que le DPPH, ABTS et le pouvoir réducteur, les extraits d'ER et d'ET de *R.alaternus* ont montrés une activité antioxydante remarquable. Les extraits éthanolique d'ER possède une forte activité de piégeage des radicaux. Par ailleurs, les extraits aqueux ont plus de tendance à réduire le fer ferrique en fer ferreux que les extraits éthanolique.

L'extrait éthanolique d'ER de *R.alaternus* a montré un effet analgésique avec une réduction efficace de la douleur abdominale chez les souris causée par l'acide acétique. La dose de 250mg/kg a inhibé les contorsions de 52,82% par rapport au groupe traité par l'acide salicylique (77,14%).

Enfin, l'extrait éthanolique de l'ER possède un effet antioœdémateux positif contre l'inflammation de l'oreille enduite par le xylène. Les résultats montrent qu'aux doses de 250 mg/kg et 500 mg/kg, l'extrait réduit significativement le gonflement de l'oreille avec des pourcentages d'inhibition de 51,73% et 83,84% respectivement. L'inhibition de l'inflammation par la dose de 500 mg/kg est très proche de celle obtenue avec le dexaméthasone qui a marqué une inhibition de 86,22%.

Afin de mettre plus de lumière sur ces résultats, des études complémentaires plus approfondies serait importantes tels que la réalisation d'une étude histologique pour les sections prélevées, et la caractérisation des extraits étudiés par des techniques plus avancées (HPLC, HPLC/MS....etc.). De plus, la réalisation de tests de screening biologiques *in vitro* pourrait aider à éclaircir le mécanisme d'action antiinflammatoire obtenu.

## **Références bibliographiques**

1. **Antoniadou, K., Herz, C., Le, NPK. Mittermeier-Kleßinger, VK., Förster, N., Zander, M., C Ulrichs, C., 2021.** "Identification of salicylates in willow bark (*Salix cortex*) for targeting peripheral inflammation." 22(20): 11138.
2. **Athamena, S., Chalghem, I., Kassah-Laouar, A., Laroui, S., et Khebr, S., 2010.** "Activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum cyminum* L." Lebanese science journal 11(1): 69-81.
3. **Ayoola, G., Coker, HA., Adesegun, SA., Adepoju-Bello, AA., Obaweya, K., Ezennia, EC., 2008.** "Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in Southwestern Nigeria." Tropical journal of pharmaceutical research 7(3): 1019-1024.
4. **Azmir, J., Zaidul, ISM., Rahman, MM., Sharif, KM., Mohamed, A., F., Jahurul, MHA., 2013.** "Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review." 117(4): 426-436.
5. **Babili, F., Valentin, A., Chatelain, C., 2013.** "Lawsonia inermis: its anatomy and its antimalarial, antioxidant and human breast cancer cells MCF7 activities." Pharmaceut Anal Acta 4(203): 2.
6. **Barreca, D., Bellocco, E., Caristi, C., Leuzzi, U., Gattuso, G., 2011.** "Kumquat (*Fortunella japonica* Swingle) juice: Flavonoid distribution and antioxidant properties." Food Research International 44(7): 2190-2197.
7. **Bekro, Y.-A., Mamyrbekova, JA., Boua, BB., Bi, FHT., Ehile, EE., 2007.** "Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (*Caesalpinaceae*)." Sciences & Nature 4(2): 217-225.
8. **Ben Ammar, R., Kilani, S., Bouhlel, I., Ezzi, L., Skandrani, I., Boubaker, J., Ben Sghaier, M., A Naffeti, A., 2008.** "Antiproliferative, antioxidant, and antimutagenic activities of flavonoid-enriched extracts from (Tunisian) *Rhamnus alaternus* L.: Combination with the phytochemical composition." Drug and Chemical Toxicology 31(1): 61-80.
9. **Ben Ammar, R., Kilani, S., Bouhlel, I., Skandrani, I., Naffeti, A., Boubaker, J., M Ben Sghaier, M., 2007.** "Antibacterial and cytotoxic activities of extracts from (Tunisian) *Rhamnus alaternus* (*Rhamnaceae*)." 57: 453-460.
10. **Ben Ammar, R., Kilani, S., Bouhlel, I., Skandrani, I., Naffeti, A., Boubaker, J., M Ben Sghaier, M., 2007.** "Transcriptional response of genes involved in cell defense system in human cells stressed by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and pre-treated with (Tunisian) *Rhamnus alaternus* extracts: Combination with polyphenolic compounds and classic in vitro assays." 168(3): 171-183.
11. **Benchiha, W., Mahroug, S., Aoued, L., Bouterfas, K., 2015.** "Antimicrobien et Antioxydant Activités des Flavonoïdes Extraits des Écorces de *Rhamnus alaternus* L. du mont de Tessala (Algérie Occidentale)."
12. **Benchiha, W., Mahroug, S., Aoued, L., Bouterfas, K., 2017.** "Activité antihépatotoxique des extraits des feuilles de *Rhamnus alaternus* L.(*Rhamnaceae*)." 15(1): 10.

13. **Benelmoufti, C. & K. Benlamri., 2020.** "Optimisation du rendement d'extraction des substances bioactives par procédé de macération à partir des racines de l'espèce végétale *Rhamnus Alaternus*."
14. **Benzaide, C., Tichati, L., Trea, F., Rouabhia, M., Ouali, K., 2021.** *Rhamnus alaternus* aqueous extract enhances the capacity of system redox defence and protects hepatocytes against aluminium chloride toxicity in rats.
15. **Boizot, N. and J.-P. Charpentier., 2006.** "Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier." *Le Cahier des Techniques de l'INRA*, In: Numéro spécial: 79-82.
16. **Bouhleb Chatti, I., Ben Toumia, I., Krichen, Y., Maatouk, M., Chekir Ghedira, L., Krifa, M., 2022.** "Assessment of *Rhamnus alaternus* leaves extract: Phytochemical characterization and antimelanoma activity." 25(9): 910-917.
17. **Boussahel, S., Speciale, A., Dahamna, S., Amar, Y., Bonaccorsi, I., Cacciola, F., Cimino, F., P Donato, P., 2015.** "Flavonoid profile, antioxidant and cytotoxic activity of different extracts from Algerian *Rhamnus alaternus* L. bark." *Pharmacognosy magazine* 11(Suppl 1): S102.
18. **Chaouche, T. M., Haddouchi, F., Boudjemai, O., Ghellai, I., 2020.** "Antioxidant and hemolytic activity of *Ziziphus jujuba* Mill and *Rhamnus alaternus* L (Rhamnaceae) extracts from Algeria. Activité antioxydante et hémolytique des extraits de *Ziziphus jujuba* Mill et *Rhamnus alaternus* (Rhamnaceae) d'Algérie." *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*.
19. **Chen, G.-L., Munyao Mutie, F., Saleri, FD., Hu, GW., Guo, MQ., 2020.** "Antioxidant, anti-inflammatory activities and polyphenol profile of *Rhamnus prinoides*." 13(4): 55.
20. **Daira, N. E.-H., et al. (2016).** "Contribution à l'étude phytochimique d'une plante médicinale (*Ammoides verticillata* Desf. Briq.) de l'Est Algérien." *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège* 85(1): 276-290.
21. **Danowski, R. 1991.** Inflammation en rhumatologie. *Annales de Kinésithérapie*.
22. **Daoudi, A., Hrouk, H., Belaidi, R., Slimani, I. Ibijbijen, J., Nassiri, L., 2016.** "Valorisation de *Ruta montana* et *Ruta chalepensis*: étude ethnobotanique, screening phytochimique et pouvoir antibactérien." *Journal of Materials and Environmental Science* 7(3): 685-1063.
23. **Dhanik, J., Arya, N., V Nand, V., 2017.** "A review on *Zingiber officinale*." *Journal of Pharmacognosy and phytochemistry* 6(3): 174-184.
24. **Dif, M., Benchiha, H., Mehdadi, Z., Benali-Toumi, F., 2015.** "Étude quantitative des polyphénols dans les différents organes." *Phytothérapie* 13: 314-319.
25. **Dongock, D. N., Bonyo, AL., PM Mapongmestem, PM., 2018.** "Etude ethnobotanique et phytochimique des plantes médicinales utilisées dans le traitement des maladies cardiovasculaires à Moundou (Tchad)." *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 12(1): 203-216.
26. **Foti, M. C. 2015.** "Use and Abuse of the DPPH• Radical." *Journal of agricultural and food chemistry* 63(40): 8765-8776.
27. **Fournier, P., 2008.** "Anti-inflammatoires." 4: 1702-1705.
28. **Heim, K. E., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J., 2002.** "Flavonoid antioxidants:

- chemistry, metabolism and structure-activity relationships." *The Journal of nutritional biochemistry* 13(10): 572-584.
29. **Henzen, C., 2003.** Traitement aux glucocorticoïdes: risques et effets secondaires. *Forum Med. Suisse*.
  30. **Hurault, C., 2008.** "Prescriptions et délivrances d'anti-inflammatoires non stéroïdiens après le 6e mois de grossesse: impact d'une lettre d'information envoyée par les autorités de santé." *La Presse Médicale* 37(5): 767-774.
  31. **Jamila EL Karkouri, Smail Amalich, Aziz Drioiche, Kamal Fadili, Bruno Eto , Youssef Khabal and Touriya Zair 2009.** "Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire)." *Sciences & Nature* 6(1).
  32. **Jamous, R. M., Ali-Shtayh, M.S., Abu-Zaitoun, S.Y., Markovics. A., Azaizeh. H.,2017.** "Effects of selected Palestinian plants on the in vitro exsheathment of the third stage larvae of gastrointestinal nematodes." 13: 1-11.
  33. **Jayaprakash, S. and N. R. Mahapatra, 2007.** Partitioned Hybrid Encoding to Minimize On-Chip Energy Dissipation of Wide Microprocessor Buses. 20th International Conference on VLSI Design held jointly with 6th International Conference on Embedded Systems (VLSID'07), IEEE.
  34. **Kähkönen, M. P., AI Hopia, HJ Vuorela, JP Rauha, K Pihlaja, TS Kujala, M Heinonen., 1999.** "Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds." *Journal of agricultural and food chemistry* 47(10): 3954-3962.
  35. **Kherbachi, S., Djerrahi, L., Iamarene, S., 2020.** "Analyse d'impact du changement organisationnel sur la performance de l'entreprise impact analysis of organizational change on the performance of the firm".
  36. **Kherbachi, S., Kheniche, M., Tacherfiout, M., 2022.** "Antihemolytic activity of hydroalcoholic leaves and bark extracts from *Rhamnus alaternus* against AAPH induced hemolysis on human erythrocytes." 2(2): 210-219.
  37. **Kim, J. H., Gupta, SC., Park, B., Yadav, VR. Aggarwa, BB.,I, 2012.** "Turmeric (*Curcuma longa*) inhibits inflammatory nuclear factor (NF)- $\kappa$ B and NF- $\kappa$ B-regulated gene products and induces death receptors leading to suppressed proliferation, induced chemosensitization, and suppressed osteoclastogenesis." 56(3): 454-465.
  38. **Koltun-Jasion, M., Sawulska, P., Patyra, A., Woźniak, M., Dudek, MK., Filipek, A., Kiss, AK, 2023.** "Bio-guided isolation of compounds from *Fraxinus excelsior* leaves with anti-inflammatory activity." 24(4): 3750.
  39. **Koster, G. and H. Statz., 1959.** "Method of treating Zeeman splittings of paramagnetic ions in crystalline fields." *Physical Review* 113(2): 445.
  40. **Krireche, T. and A. Mekacher., 2022.** Etude de l'activité anti-inflammatoire, antioxydante et antibactérienne de l'extrait aqueux des feuilles de *Laurus nobilis* L, Université Mouloud Mammeri.
  41. **Lawrence, T. and D. W. J. I. j. o. e. p. Gilroy., 2007.** "Chronic inflammation: a failure of resolution?" 88(2): 85-94.
  42. **Lioté, F. J. R. d. r., 2011.** "Physiopathologie et traitement de l'inflammation goutteuse." 78: S122-S128.
  43. **Ljubuncic, P., Azaizeh, H., Portnaya, I., Cogan, U., Said, O., Saleh, K.A., Bomzon,**

- A., 2005.** "Antioxidant activity and cytotoxicity of eight plants used in traditional Arab medicine in Israel." Journal of ethnopharmacology **99**(1): 43-47.
44. **Marrassini, C. Acevedo, C. Miño, J. Ferraro, G. Gorzalczyan, S., 2010.** "Evaluation of antinociceptive, antiinflammatory activities and phytochemical analysis of aerial parts of *Urtica urens* L." **24**(12): 1807-1812.
45. **Morimoto, N. 1988.** "Die Nomenklatur von Pyroxenen." Mineralogy and Petrology **39**: 55-76.
46. **Morren, J, De Haan. SWH, Ferreira. JA, 2006.** "Contribution of DG units to primary frequency control." European transactions on electrical power **16**(5): 507-521.
47. **Moussi Kamal, Nayak Balunkeswar, Brian Perkins, L, Dahmoune Farid, Chibane Mohamed, 2015.** "HPLC-DAD profile of phenolic compounds and antioxidant activity of leaves extract of *Rhamnus alaternus* L." Industrial Crops and products **74**: 858-866.
48. **Nacz, M. and F. Shahidi, 2004.** "Extraction and analysis of phenolics in food." Journal of chromatography A **1054**(1-2): 95-111.
49. **Nekkaa, Amine. Benaissa, Akila. Mutelet, Fabrice. Canabady-Rochelle, Laetitia, 2021.** "Rhamnus alaternus plant: Extraction of bioactive fractions and evaluation of their pharmacological and phytochemical properties." Antioxidants **10**(02): 300.
50. **Nigussie, G. Melak, H. Annisa, ME, 2021.** "Traditional medicinal uses, phytochemicals, and pharmacological activities of genus *Rhamnus*: A review." **8**(3): 899-932.
51. **Ortega-Gómez, A. Perretti, M. Soehnlein, O, 2013.** "Resolution of inflammation: an integrated view." **5**(5): 661-674.
52. **Oyaizu, M. 1986.** "Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine." The Japanese journal of nutrition and dietetics **44**(6): 307-315.
53. **Ponvert, C. and P. J. R. f. d. a. e. d. i. c. Scheinmann, 2006.** "Les réactions allergiques et pseudoallergiques aux antalgiques, antipyrétiques et anti-inflammatoires non stéroïdiens." **46**(6): 576-583.
54. **Price, ML. Van Scoyoc, S. Butler, LG, 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.
55. **Quettier-Deleu, C Gressier, B Vasseur, J Dine, T Brunet, C Luyckx, M Cazin, JC Cazin, JC, 2000.** "determinacion TLC y folin modificado de polifenoles quettier delau 2000. pdf." Journal of ethnopharmacology **72**: 35-42.
56. **Raihana, G. and S. Sabrine, 2018.** Etude de l'activité antioxydante de *Rhamnus alaternus* L.
57. **R Re, N Pellegrini, A Proteggente, A Pannala, M Yang, C Rice-Evans, 1999.** "Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay." Free radical biology and medicine **26**(9-10): 1231-1237.
58. **Rehman, A Iqbal, G Ali, G Alotaibi, A Ahmed, M Ayaz, 2024.** "Phytochemical analysis, radical scavenging and glioblastoma U87 cells toxicity studies of stem bark of buckthorn (*Rhamnus pentapomica* R. Parker)." **24**(1): 12.

59. **Sánchez-Moreno, C. Larrauri, JA. Saura-Calixto, F, 1999.** "Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic constituents." Food Research International 32(6): 407-412.
60. **Sarkhel, S. J. T. r, 2016.** "Evaluation of the anti-inflammatory activities of Quillaja saponaria Mol. saponin extract in mice." 3: 1-3.
61. **Schneider, A, 2011.** Respecte-t-on les bonnes pratiques de prescriptions des anti-inflammatoires non stéroïdiens en Suisse?, Université de Lausanne, Faculté de biologie et médecine.
62. **Sereme, A. Milogo-Rasolodimby. J, Guinko. S, Nacro. M, 2011.** "Propriétés thérapeutiques des plantes à tanins du Burkina Faso." Pharmacopée et
63. **Souaga, K. Adou, A. Amanchi, D. Aagoh, D. 1998.** "Plaidoyer pour une utilisation raisonnée des anti-inflammatoires en odonto-stomatologie." 21: 16-21 médecine traditionnelle africaine 15..
64. **Soumia Krimat, Tahar Dob, Lynda Lamari, Saida Boumeridja, Chabane Chelghoum, Hafidha, Metidji, 2014.** "Antioxidant and antimicrobial activities of selected medicinal plants from." 2(6): 478-483.
65. **Tahrouch. S, Dohou, Yamni.K, Idrissi Hassani. L.M, Badoc. A, Gmira. N, 2003.** "Screening Phytochimique d'une Endémique Ibéro-Marocaine, Thymelaea Lythroides'." Bull. Soc. Pharm. Bordeaux 142: 61-78.
66. **Tarik, B, 2020.** "Une nouvelle approche dans le déterminisme des types de réseaux de drainage par des méthodes multifactorielles spatialisées, en conditions géologiques, hydrologiques et climatiques contrastées sur trois régions mondiales: Maroc, France et Angola."
67. **Tichati Lazhari, Chahrazed Benzaid, Fouzia Trea, Rouabhia Mahmoud & Ouali Kheireddine, 2022.** "Ameliorating effects of Rhamnus alaternus L. aqueous extract on aluminum chloride-induced nephrotoxicity via attenuation of oxidative stress in male Wistar rats." 31(6): 1025-1036.
68. **Wojdyło Aneta, Jan Oszmiański, Renata Czemerys, 2007.** "Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs." Food chemistry 105(3): 940-949.
69. **Xia En-Qin, Gui-Fang Deng, Ya-Jun Guo, Hua-Bin Li, 2010.** "Biological activities of polyphenols from grapes." International journal of molecular sciences 11(2): 622-646.
70. **Yi-ling C et Pan-Kai C, 1982.** Rhamnaceae. In: Chen Yi-ling, ed., Fl. Reipubl. Popularis Sin. 48(1):1-169.
71. **Yusuf, A. Z. Zakir, A. Shemau. Abdullahi and Halima, S. A, 2014.** "Phytochemical analysis of the methanol leaves extract of Paullinia pinnata linn." Journal of pharmacognosy and phytotherapy 6(2): 10-16.
72. **Zerbo, P., Millogo Rasolodimby, J., Nacoulma Ouedraogo, O., & Van Damme., 2011.** "Plantes médicinales et pratiques médicales au Burkina Faso: cas des Sanan." 307: 41-53.

# **Annexes**

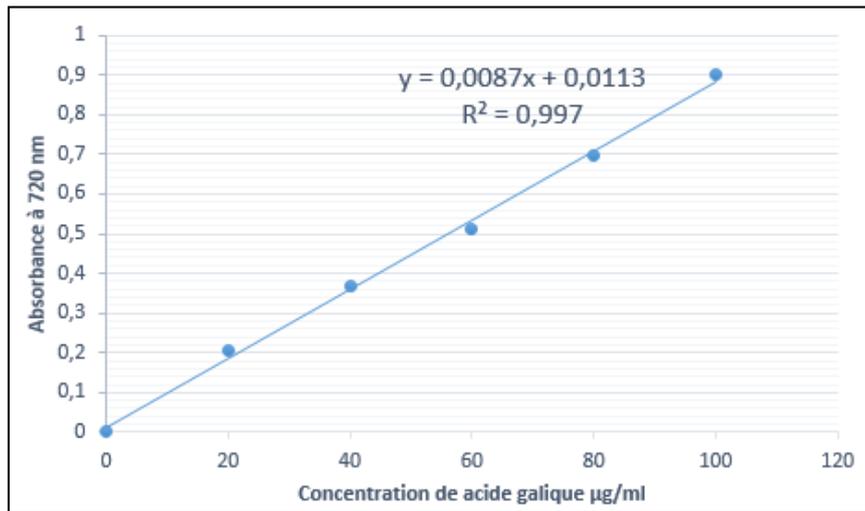
### Annexe 01 : Matériel et produits chimiques utilisés

Produits chimiques	Matériel
❖ Folin_ciacolteu	❖ Micropipettes
❖ Chlorure ferrique	❖ Des embouts
❖ Eaux distillées	❖ Cristallisoir
❖ Carbone de sodium (NaCO <sub>3</sub> )	❖ Bécher
❖ Chloroforme	❖ Spatule
❖ Réactif de Dragendorf	❖ Éprouvette graduée
❖ Anhydre acétique	❖ Erlenmeyer
❖ Acide gallique	❖ Flacon en verre
❖ Triochlorure d'aluminium (AlCl <sub>3</sub> )	❖ Pissette
❖ Quercétine	❖ Tubes à essais
❖ Éthanol absolu (96%)	❖ Tubes Eppendorff
❖ Méthanol absolu	❖ Flacons
❖ Ammoniaque(NH <sub>4</sub> OH)	❖ Cages en polypropylène transparente
❖ Acétate de sodium (CH <sub>3</sub> COONa)	❖ Biberon
❖ Vanilline (C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub> )	❖ Sonde de gavage
❖ Acide sulfurique	❖ Seringues
❖ TCAtrichloracétique	❖ Pince
❖ Carbone de sodium (Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> )	❖ Portoir
❖ HCL (8%) Acide chlorhydrique	❖ Papier Whatman
❖ Persulfate de potassium (K <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub> )	❖ Biopsy punch
❖ Chlorure ferrique (0,1%)	❖ Entonnoir
❖ Acide acétique	❖ Tamis (250um)
❖ Catéchine	❖ Pied à coulisse
❖ ABTS	❖ Bavette
❖ DPPH	❖ Gants
❖ Acide ascorbique	
❖ Tampon phosphate	
❖ Xylène	

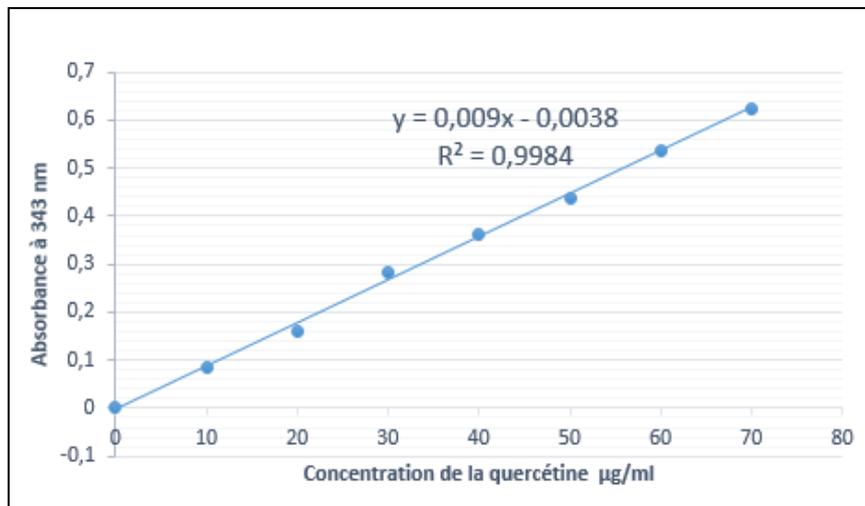
## Annexe 02 : Appareillages utilisés

Balance à précision (ADA M)	Plaque chauffante (DLAB)	Broyeur électrique
		
Centrifugeuse (ONILAB)	Agitateur (IKALABORTECHIK)	Bain Marie (Ficher Scientific)
		
Spectrophotomètre (JENZAY)	Vortex (VELP)	Étuve (MEMMERT)
		

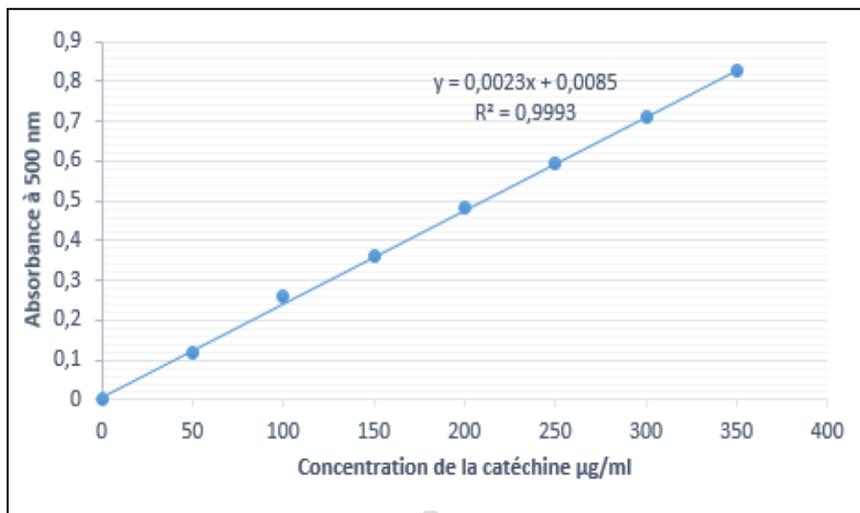
**Annexe 03** : Courbe d'étalonnage de dosage des polyphénols totaux.



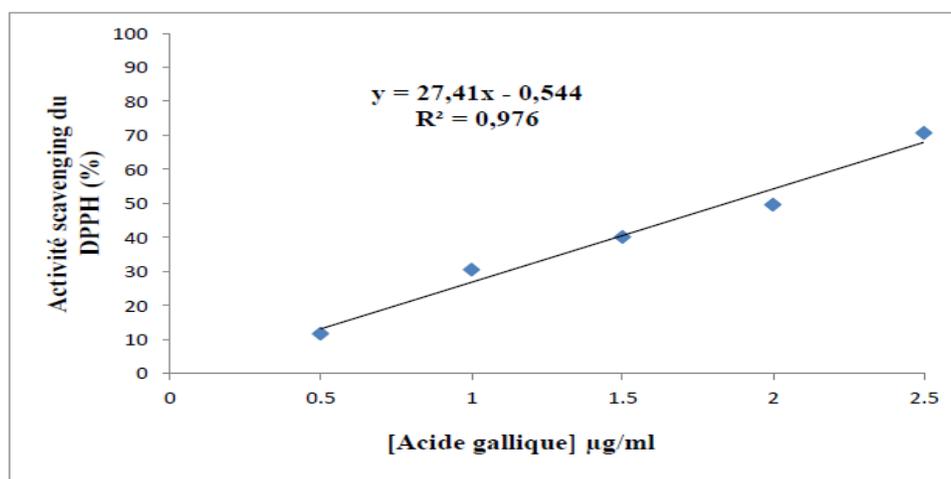
**Annexe 04** : Courbe d'étalonnage de dosage des flavonoïdes.



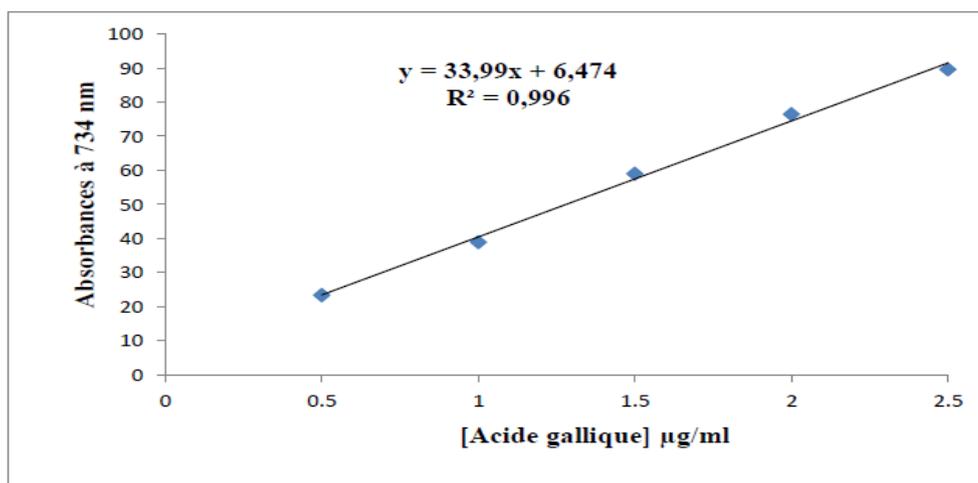
**Annexe 05 :** Courbe d'étalonnage de dosage des tanins condensés.



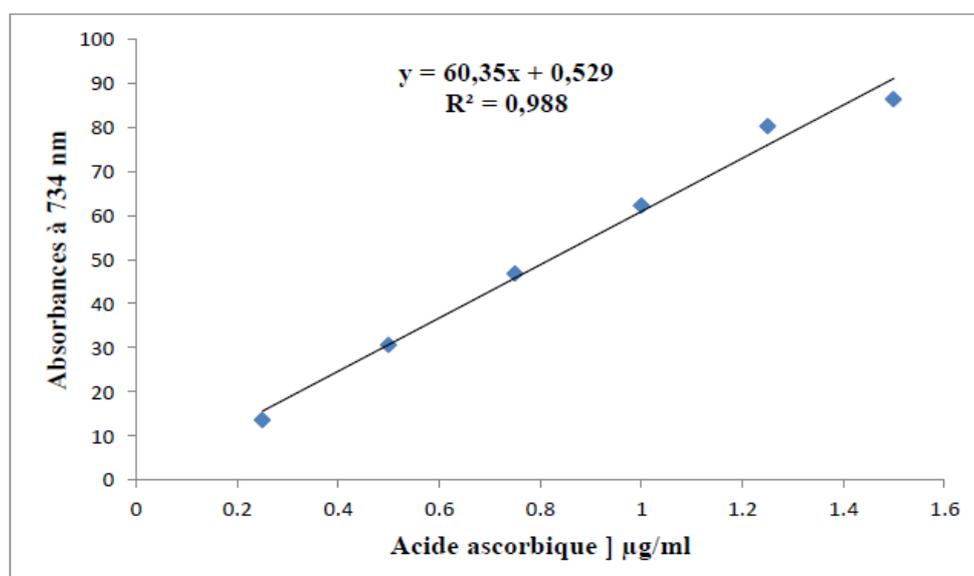
**Annexe 06 :** Courbe d'étalonnage de l'activité scavenging du radical DPPH



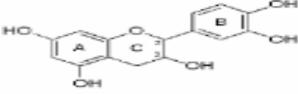
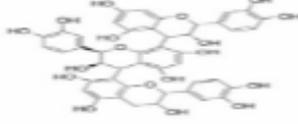
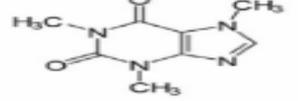
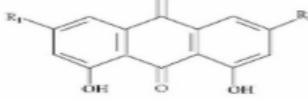
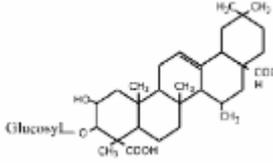
**Annexe 07 :** Courbe d'étalonnage de l'activité scavenging du radical ABTS



**Annexe 08** : Courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur



**Annexe 09 : Structure chimique de quelque composées phytochimiques**

Composées phytochimiques	Structure chimiques
Flavonoïdes	
Tanins condensés	
Alcaloïdes	
Anthraquinones	
saponines	

## Résumé

Les plantes sont utilisées dans les traitements traditionnelles pour traiter plusieurs maladies, des diverses applications médicinales nous ont motivés à mener une étude sur la plante *Rhamnus alaternus* d'origine méditerranéenne et de la famille des Rhamnaceae. Nous avons évalué les effets antioxydant (in vitro) et anti-inflammatoires (in vivo) des extraits des deux parties de cette plante obtenue par l'infusion, décoction et macération éthanolique. L'extraction éthanolique a donné un meilleur rendement pour l'écorce de tige et racine de RA. Des analyses qualitative et quantitative ont révélé la présence de différents composés phénoliques. Les résultats des dosages montrent que l'extrait éthanolique contient plus de polyphénols totaux, des flavonoïdes, et des tanins condensés que les extraits aqueux. Le pouvoir antioxydant des extraits ER et ET a été évalué en utilisant les tests de DPPH, ABTS et le pouvoir réducteur. Ces tests ont révélé une forte activité antioxydante des deux parties de RA. L'extrait éthanolique à des doses de 250 et 500 mg/kg a inhibé l'œdème de l'oreille induit par le xylène et la douleur abdominale induite par l'acide acétique.

**Mots clés :** *Rhamnus alaternus*, composés phénolique, activité antioxydant, activité anti-inflammatoire, activité analgésique.

## Abstract

Plants are used in traditional treatments to treat various diseases. These diverse medicinal applications motivated us to conduct a study on the Mediterranean-origin plant *Rhamnus alaternus* from the Rhamnaceae family. We evaluated the *in vitro* antioxidant and *in vivo* anti-inflammatory activities of ethanolic and aqueous extracts obtained from *R.alaternus* stem and root barks. The ethanolic extraction yielded better than aqueous one. Qualitative and quantitative analysis revealed the presence of various phenolic compounds. The results showed that the ethanolic extract contains more total polyphenols, flavonoids, and condensed tannins than the aqueous extracts. We assessed the antioxidant power of the SB and RB extracts using several tests such as DPPH, ABTS, and the reducing power assays. These tests revealed strong antioxidant activity in both parts of *R.alaternus*. The ethanolic extract from the roots of *R. alaternus* at doses of 250 and 500 mg/kg revealed significant anti-inflammatory and analgesic effects on ear edema test induced by xylene and acetic acid-induced abdominal contractions.

**Keywords:** *Rhamnus alaternus*, phenolic compounds, antioxidant activity, anti-inflammatory activity, analgesic activity.

## المخلص

تُستخدم النباتات في العلاجات التقليدية لعلاج العديد من الأمراض. وقد دفعتنا التطبيقات الطبية المتنوعة إلى إجراء دراسة على نبات *Rhamnus alaternus* الذي يعود أصله إلى البحر الأبيض المتوسط ومن عائلة Rhamnaceae. قمنا بتقييم التأثيرات المضادة للأكسدة (في المختبر) والمضادة للالتهابات (في الجسم الحي) لمستخلصات الأجزاء المختلفة من هذا النبات التي استخلصت بواسطة الإيثانول والماء. وأعطت عملية الاستخلاص بالإيثانول نتائج أفضل فيما يتعلق بقشرة الساق والجذر للنبات. أجرينا تحليلاً كمياً كشف عن وجود مركبات فينولية مختلفة. أظهرت نتائج القياسات أن المستخلص الإيثانولي يحتوي على المزيد من إجمالي البوليفينولات والفلافونويدات والتانينات المكثفة مقارنة بالمستخلصات المائية. قمنا بتقييم القدرة المضادة للأكسدة للمستخلصات الإيثانولية والمائية باستخدام عدة اختبارات: اختبار جذر الـ DPPH، واختبار الـ ABTS، واختبار القدرة على الاختزال. وقد كشفت هذه الاختبارات عن نشاط مضاد للأكسدة قوي في كلا الجزأين. تم تقييم النشاط المضاد للالتهابات لمستخلص الإيثانول من جذور *R. alaternus* بجرعات 250 و 500 ملغ/كغ عن طريق اختبار وذمة الأذن الناجم عن الزيلين ونشاط مسكن تم تقييمه باستخدام اختبار التقلصات البطنية الناجمة عن حمض الخليك.

**مفاتيح الكل مات:** *Rhamnus alaternus* المركبات الفينولية، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للالتهابات، النشاط المسكن للألم.