

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



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biotechnologie

Réf :.....

# Mémoire

Présenté par

**DAHLI Lillia & REBBACHE Farida**

Pour l'obtention du diplôme de

**Master Professionnel**

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie et Santé

Thème

*Evaluation de quelques activités biologiques de la Scille  
maritime*

Soutenu le : 01/07/2024

Devant le Jury composé de :

**Nom et Prénom**

**Grade**

**Qualité**

**Mme IKHLOUFLM**

MAA

Président

**Mme BOUDJOU.S**

MCB

Encadrant

**Mme KHEYAR.N**

MCA

Examinateur

**Année Universitaire : 2023/2024**

# *Remerciements*

*Nous remercions, tout d'abord, le bon Dieu de nous avoir accordé la santé, la paix et le courage pour mener à terme ce projet de fin d'étude.*

*Nous tenons à exprimer notre reconnaissance la plus sincère à notre promotrice, Madame **BOUDJOU Souhila**, pour avoir dirigé ce mémoire avec patience et compétence. Son soutien indéfectible, ses conseils avisés et son expérience ont été d'une aide précieuse pour mener à bien ce travail.*

*Nous adressons nos plus vifs remerciements à **Monsieur NOURI**, chef de département et **Mr BOUDJOUANE**, responsable du laboratoire, pour le temps qu'ils nous ont accordé, leurs investissements et leurs accompagnements tout au long de cette expérience formatrice. Leurs qualités humaines et professionnelles nous ont beaucoup apporté.*

*Un grand merci à l'ensemble du personnel du laboratoire, tout particulièrement aux ingénieurs de laboratoire **Mme Sihem et Rania** pour leur accueil, leur gentillesse et leur soutien indéfectible.*

*Nous ne saurions terminer sans remercier chaleureusement à tous les enseignants dont l'aide et les encouragements ont été déterminants.*

*Enfin, un immense merci à nos ami(e)s et à nos familles pour leur soutien moral et leurs motivations à poursuivre ce travail. Qu'il nous soit permis de remercier les membres du jury pour le temps consacré à l'évaluation de ce mémoire.*

*Veillez recevoir l'expression de notre reconnaissance.*

# ***Dédicace***

*Au terme de ce travail, je tiens à présenter mes sincères dédicaces à tous ceux qui m'ont aidé et encouragé à réaliser ce Mémoire de fin de cycle et particulièrement :*

***Mes très chers parents qui m'ont soutenu pendant tout mon cycle d'étude***

***Mon père et ma mère** qui ont toujours été là pour moi, et qui m'ont donné un magnifique modèle de bonheur et de persévérance, et sans eux je ne serais pas arrivé jusqu'à là.*

***A mon frère Nabil** que je trouve toujours derrière moi, qui m'a donné l'inspiration, la volonté et le courage pour mener à terme ce travail.*

***A ma sœur Amel** qui m'a aidée tout au long de ce travail et qui m'a toujours accompagnée avec ses bons conseils.*

*Mes dédicaces vont aussi à ma très chère amie **Ourida**.*

*Et à ma collègue **Farida** qui m'a aidée pour réaliser ce travail avec ses compétences.*

***Lillia***

# *Dédicace*

*Avec la grâce de Dieu, j'ai pu mener à bien ce travail et atteindre cet objectif.*

*Je dédie ce travail à mes parents, et tout particulièrement à mon père. Même à distance, il a toujours été là pour moi, me donnant la confiance et le soutien dont j'avais besoin. Sans sa foi en moi, je n'aurais jamais pu arriver jusqu'ici.*

*Je me dédie également ce travail à moi-même, pour avoir persévéré malgré les défis et les obstacles rencontrés en chemin.*

*Un immense merci à ma binôme, Dahli Lilia. Ta présence, ton soutien inconditionnel et notre collaboration sincère et empreinte d'affection ont été une source de motivation constante. Ensemble, nous avons partagé cette expérience avec une grande complicité et un véritable esprit de coopération*

*Un remerciement tout particulier à mes sœurs, pour leur présence et leur encouragement. Votre soutien, même à distance, a été très précieux pour moi.*

*Je tiens également à remercier ma copine Remili Houria, qui m'accompagne depuis 2016. Ton amitié et ton soutien ont été des éléments constants de réconfort et de motivation tout au long de ce parcours.*

*Enfin, le plus grand remerciement revient à moi-même. J'ai souvent été seule dans ce cheminement, et c'est avec une grande fierté que je reconnais ma détermination et ma résilience. J'ai combattu seule, travaillé seule, et c'est seule que j'ai atteint cet objectif. Merci à moi-même pour la force et la persévérance démontrées tout au long de cette période universitaire*

*Merci à Dieu, à mes parents, et à moi-même*

*Farida*

## ***Table des matières***

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction.....	1

### ***Chapitre I : Généralités sur la Scille maritime***

I.1) Définition.....	3
I.2) Description botanique.....	3
I.3) Distribution géographique.....	3
I.4) Classification taxonomique.....	4
I.5) Synonyme de la <i>Scille maritime</i> .....	5
I.6) Composition de la <i>Scille maritime</i> .....	5
I.7) Utilisation traditionnelle de la <i>Scille maritime</i> .....	8
I.8) Effet thérapeutique de la <i>Scille maritime</i> .....	8
I.9) Activités biologiques de la <i>Scille maritime</i> .....	8
I.9.1) Activité anti-inflamatoire.....	8
I.9.2) Activité anti-oxydante.....	9
I.9.3) Activité antibactérienne et antifongique.....	9
I.9.4) Activité insecticide.....	9
I.10) Toxicité de la <i>Scille maritime</i> .....	9

### ***Chapitre II : Activités biologiques***

II.1/ Activité anti-inflammatoire.....	10
II.1.1) Définition de l'inflammation.....	10
II.1.2) Types d'inflammation.....	10
II.1.3) Anti-inflammatoires.....	11

II.1.3.1) Définition.....	11
II.1.3.2) types des anti-inflammatoires.....	11
II.2/ Activité hémolytique.....	14
II.2.1) Définition de l'hémolyse.....	14
II.2.2) Types d'hémolyse.....	14
II.2.3) Anti-hémolytique.....	15
II.2.3.1) Définition.....	15
II.2.3.2) Action des anti-hémolytiques synthétiques.....	15
II.2.3.3) Action des anti-hémolytiques naturels.....	15
II.3/ Activité anti-oxydante.....	16
II.3.1) Stress oxydatif.....	16
II.3.2) Radical libre.....	16
II.3.3) Antioxydant.....	17
II.3.3.1) Définition.....	17
II.3.3.2) Classification des antioxydants.....	17
II.3.3.3) Mécanisme d'action des antioxydants.....	18

### ***Chapitre III : Matériels & Méthodes***

III.1) Matériel végétal.....	19
III.2) Extraction.....	19
III.3) Criblage phytochimique .....	20
III.3.1) Dosage des polyphénols totaux.....	20
III.3.2) Dosage des flavonoïdes.....	21
III.3.3) Dosage des flavonols.....	21
III.3.4) Dosage des tanins condensés.....	22
III.3.5) Dosage des tanins hydrolysables.....	22
III.4) Evaluation de l'activité anti-oxydante.....	23

III.4.1) Test du 2,2-Di-Phényl-1-Picryl-Hydrasyl (DPPH).....	23
III.4.2) Test de phosphomolybdate (pouvoir réducteur).....	24
III.4.3) Test OH.....	25
III.5) Evaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	25
III.5.1) Test d'inhibition de la dénaturation de la protéine ovalbumine.....	26
III.5.2) Test d'inhibition de la dénaturation de la protéine sérum albumine bovine (BSA).....	26
III.5.3) Evaluation de l'activité anti-hémolytique, <i>in vitro</i> , des extraits de feuille et de bulbe de la <i>Scille maritime</i> .....	27
a) Préparation de la suspension des érythrocytes.....	27
b) Evaluation de la cytotoxicité des extraits éthanolique des feuilles et bulbe de la <i>Scille maritime</i> vis-à-vis les globules rouge.....	28
c) Test anti-hémolytique.....	28
III.6. Analyse statistique des résultats.....	29

### ***Chapitre IV : Résultats & Discussions***

IV.1) Rendement d'extraction.....	30
IV.2) Teneur en composés phénoliques.....	30
IV.2.1) Teneur en polyphénols totaux.....	31
IV.2.2) Teneur en flavonoïdes.....	31
IV.2.3) Teneur en flavonols.....	32
IV.2.4) Teneur en tanins condensés.....	32
IV.2.5) Teneur en tanins hydrolysables.....	32
IV.3) Evaluation de l'activité anti-oxydante.....	33
IV.3.1) Test du 2,2-Di-Phényl-1-Picryl-Hydrasyl (DPPH).....	33
IV.3.2) Test de phosphomolybdate (pouvoir réducteur).....	34
IV.3.3) Test du OH.....	36
IV.4) Evaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	38

IV.4.1) Test d'inhibition de la dénaturation de la protéine ovalbumine.....	38
IV.4.2) Test d'inhibition de la dénaturation de la protéine sérum albumine bovine (BSA).....	41
IV.4.3) Test de cytotoxicité.....	42
IV.4.4) Test anti-hémolytique.....	43
Conclusion.....	46
Références bibliographiques	
Annexes	
Résumé	

## *Liste des figures*

<b>Figure 1:</b> <i>Scille maritime</i> .....	3
<b>Figure 2:</b> Distribution géographique de la <i>Scille maritime</i> .....	4
<b>Figure 3:</b> Structure chimique des hétérosides cardiotoniques.....	5
<b>Figure 4:</b> Structure chimique du fructane .....	6
<b>Figure 5:</b> Structure chimique des flavonoïdes .....	7
<b>Figure 6:</b> Mécanisme d'action des corticoïdes .....	12
<b>Figure 7:</b> Mécanisme d'action des AINS.....	13
<b>Figure 8:</b> Formation des radicaux libres.....	16
<b>Figure 9:</b> Mécanisme d'action des antioxydants .....	18
<b>Figure 10:</b> Forme séchée et broyée de bulbe.....	19
<b>Figure 11:</b> Forme séchée et broyée des feuilles .....	19
<b>Figure 12:</b> Evaluation de l'activité antioxydant par le test DPPH.....	23
<b>Figure 13:</b> Rendement de l'extrait brut de feuilles et de bulbe de la <i>Scille maritime</i> .....	30
<b>Figure 14:</b> Activité anti-radicalaire (DPPH) des extraits extraits hydro-éthanoliques des feuilles et de bulbe de la <i>Scille maritime</i> , d'acide ascorbique et du BHT.....	33
<b>Figure 15 :</b> Pouvoir réducteur des extraits de feuilles et de bulbe de la <i>Scille maritime</i> .....	35
<b>Figure 16 :</b> Pouvoir réducteur des standards.....	35
<b>Figure 17 :</b> Effet scavenger du radical hydroxyle des extraits des feuilles et de bulbe de la <i>Scille maritime</i> .....	37
<b>Figure 18 :</b> Résultats du test d'inhibition de la dénaturation de l'ovalbumine par des extraits des feuilles et de bulbe ainsi que le standard celebex.....	39
<b>Figure 19:</b> La concentration inhibitrice à 50% pour l'ovalbumine.....	40
<b>Figure 20:</b> Résultats du test d'inhibition de la dénaturation de la BSA par des extraits des feuilles et de bulbe ainsi que le standard diclofenac.....	41

<b>Figure 21 :</b> Détermination de la concentration inhibitrice à 50% pour la BSA.....	42
<b>Figure 22:</b> Pourcentage d'hémolyse des hématies par les extraits des feuilles et de bulbe de la <i>Scille maritime</i> .....	43
<b>Figure 23:</b> Inhibition de l'hémolyse par les extraits des feuilles et de bulbe de la <i>Scille maritime</i> .....	44

## *Liste des Tableaux*

<b>Tableau I :</b> Classification taxonomique de la <i>Scille maritime</i> .....	4
<b>Tableau II :</b> La composition de la <i>Scille maritime</i> .....	7
<b>Tableau III :</b> Différentes classes de composés phénoliques.....	30
<b>Tableau IV :</b> Les valeurs d'IC <sub>50</sub> du DPPH.....	34
<b>Tableau V :</b> Les résultats de la concentration inhibitrice à 50% pour le pouvoir réducteur.....	36
<b>Tableau VI :</b> Détermination de la concentration inhibitrice à 50% pour le test OH.....	37
<b>Tableau VII :</b> Détermination de la concentration inhibitrice à 50% pour le test anti-hémolytique.....	45

## *Liste des abréviations*

**COX-1** : Enzyme cyclooxygénase-1.

**AINS** : Anti-inflammatoires non stéroïdiens.

**AIS** : Anti-inflammatoires stéroïdiens.

**GRE** : Glucocorticoïde reponse element.

**GR** : Globules rouges.

**Hb** : L'hémoglobine.

**AHAI** : Anémies hémolytiques auto-immunes.

**BHA** : Butylhydroxyanisole.

**BHT** : Butylhydroxytoluène.

**TBHQ** : tert-butylhydroquinone.

**PG** : Propyl gallate.

**OG** : Octyl gallate.

**TBP**: trihydroxy butyrophénone.

**MS**: Matière sèche.

**AG**: Acide gallique.

**NaCO<sub>3</sub>**: carbonate de sodium.

**AlCl<sub>3</sub>**: trichlorure d'aluminium.

**Q** : Quercétine.

**C** : Catéchine.

**HCl** : Chlorure d'hydrogène.

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

**AT** : Acide tannique.

**AA** : Acide ascorbique.

**PBS** : solution tampon phosphate.



***INTRODUCTION***

## **Introduction**

Depuis longtemps l'utilisation des plantes médicinales était connue pour améliorer et guérir la santé de l'homme. De nos jours, malgré le développement de la chimie de synthèse, l'utilisation des plantes médicinales a conservé une large place du fait de leur efficacité dans diverses procédures thérapeutiques. Elles constituent un groupe numérique vaste et contiennent des composants actifs utilisés dans le traitement de diverses maladies (**Jean Bruneton, 2016**).

Les extraits bruts des plantes commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Ils font l'objet d'étude pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour le traitement des maladies infectieuses et pour la protection contre l'inflammation et le stress oxydatif (**Amritpal Singh Saroya, 2011**).

La *Scille maritime*, en tant que plante médicinale bien connue depuis l'antiquité très abondante en Algérie, est une plante vivace bulbeuse qui fleurit en fin d'été poussant sur les différents sols, elle possède des vertus curatives dans certaines parties (feuilles et bulbe). Cette plante était traditionnellement utilisée comme bon remède contre la toux, l'asthme et l'indigestion (**Mohamed Djamel Miara et al., 2019**). Des études cliniques modernes ont confirmé les croyances traditionnelles sur la *Scille maritime* dans le traitement de différentes maladies telles que les douleurs inflammatoires. De plus, les effets antioxydants, antiparasitaires, anticancéreux et insecticides ont été confirmés par des études expérimentales (**Nostro et al., 2000**).

Les activités biologiques de cette plante médicinale sont d'un intérêt croissant grâce à sa richesse en composés bioactifs comme les polyphénols et les flavonoïdes (**El-Hilaly et al., 2003**).

L'objectif de notre travail est d'évaluer l'activité anti-inflammatoire et anti-oxydante des extraits de feuilles et de bulbe de la *Scille maritime* au niveau de laboratoire de l'université Abderrahmane Mira de Bejaïa.

Notre étude comporte deux parties :

- ✓ La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique portant sur des généralités sur la *Scille maritime* et les activités anti-inflammatoire et anti-oxydante.
- ✓ La deuxième partie qui est la partie expérimentale traitant en deux axes ; d'une part les différentes techniques utilisées pour la réalisation de ce travail (dosages et les tests

des activités anti-oxydantes et anti-inflammatoires des extraits de feuilles et de bulbe), d'autre part la représentation des différents résultats obtenus, suivi par une interprétation et discussion et on termine avec une conclusion générale et perspectives.



***CHAPITRE I***

## I.1) Définition

La *Scille maritime* également connue sous le nom scientifique *Drimia maritima*, est une plante herbacée, bulbeuse et vivace de la famille des Liliacées, se développe tout au long de l'hiver jusqu'au printemps lorsqu'il est frais et humide, et cesse complètement de se développer dès les premiers jours chauds d'été. La partie médicinale de cette plante se trouve principalement au niveau de bulbes sous forme fraîche ou séchée (Gentry et al., 1987).

## I.2) Description botanique

La *Scille maritime* est caractérisée par une tige robuste et peut atteindre plus d'un mètre de hauteur apparait après la croissance des feuilles et des petites fleurs blanches étoilées apparaissent en fin d'été. Cette plante est composée de deux parties ; les bulbes qui sont très gros sous forme de poire pesant parfois plus de 2kg et atteignent chez certaines espèces jusqu'à 30 cm de diamètre et des feuilles qui sont lancéolées avec des bords lisses et larges, elles sortent au printemps, elles sont entières, allongées, épaisses, quelquefois ondulées et mesurant de 50 à 80 cm de long (figure 1) (Hammiche et al., 2013).



Figure 1: *Scille maritime* (Hammiche et al., 2013).

## I.3) Distribution géographique

La *Scille maritime* pousse dans différents sols, notamment les terres alluviales au bord d'un lac ou d'une rivière, des sols argileux, sablonneux et calcaires, se retrouve aussi dans les forêts et rochers (Quezel et Santa, 1962). Elle est répandue dans la région méditerranéenne,

abondante en Sicile, Malte, Grèce, Espagne, Italie et Algérie et sur les côtes atlantiques, au Portugal, aux Canaries et au Maroc (Figure 2) (Paris et Moyses, 1967).



Figure 2: Distribution géographique de la *Scille maritime* (Paris et Moyses, 1967).

#### I.4) Classification taxonomique

Sur le plan taxonomique, la *Scille maritime* était auparavant classée parmi les Liliacées et les Hyacinthacées, mais elle est désormais connue comme genre de la famille des Asparagacées. Le tableau ci-dessous présente la classification taxonomique de la *Scille maritime* (Cronquist, 1981).

Tableau I : Classification taxonomique de la *Scille maritime* (Cronquist, 1981).

<b>Règne</b>	<i>Plantae</i>
<b>Embranchement</b>	<i>Magnoliophyta</i>
<b>Classe</b>	<i>Liliopsida</i>
<b>Ordre</b>	<i>Liliales</i>
<b>Famille</b>	<i>Liliaceae</i>
<b>Genre</b>	<i>Drimia</i>
<b>Espèce</b>	<i>Drimia maritima</i>

### I.5) Synonyme de la *Scille maritime*

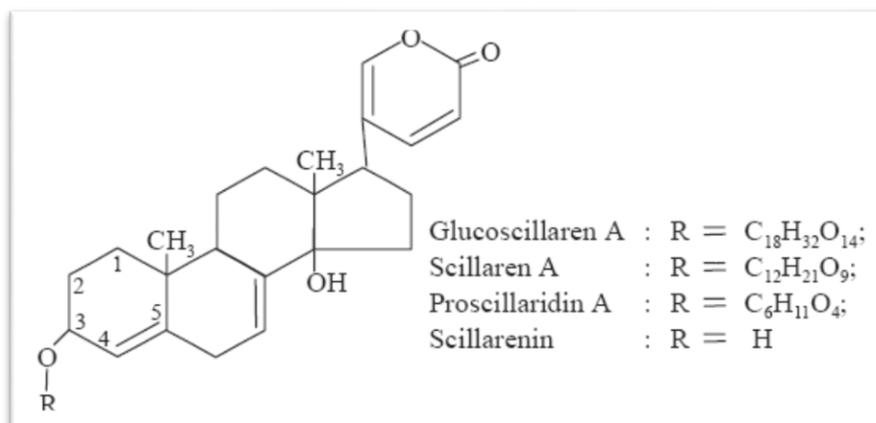
La *Scille maritime* possède plusieurs synonymes tels que : la *Scille officinale*, la *Scille urginée* et *Oignon marin* (Joly, 2010).

### I.6) Composition de la *Scille maritime*

La *Scille maritime* renferme plusieurs constituants qui sont concentrés dans le bulbe tels que des hétérosides cardiotoniques, des fructanes, de matières minérales et de mucilage présents dans le tableau II ainsi que des tanins et des flavonoïdes (Bruneton, 1999).

#### I.6.1) Hétérosides cardiotoniques

Les hétérosides cardiotoniques sont des molécules à génine stéroïdique présents dans la *Scille maritime* (figure 3). Cette dernière contient de glycosides cardiotoniques stéroïdiens de type bufadiénolide dont les hétérosides de la scillarénine notamment le glucoscillarène A qui, par hydrolyse libère le glucose et la proscillaridine A puis la scillaridine. La proscillaridine A utilisée pour le traitement de l'insuffisance cardiaque à travers de renforcer, de ralentir et de régulariser les battements cardiaques. Le bulbe renferme aussi du scilliroside qui est toxique notamment pour les rongeurs d'où son usage comme raticide ou souricide provoquant des convulsions et la mort des rats et des souris (Gagnault JC et Bidet D, 1988).



**Figure 3:** Structure chimique des hétérosides cardiotonique (Gagnault JC et Bidet D,1988).

#### I.6.2) Fructanes

Les fructanes sont des polymères naturels de fructose, des polysaccharides synthétisés dans les plantes par des micro-organismes à partir du saccharose. Ils constituent une réserve de

carbone pour la plante (figure 4), agissant comme des glucides de réserve et améliorant sa tolérance au froid et à la sécheresse (Bruneton, 1999).

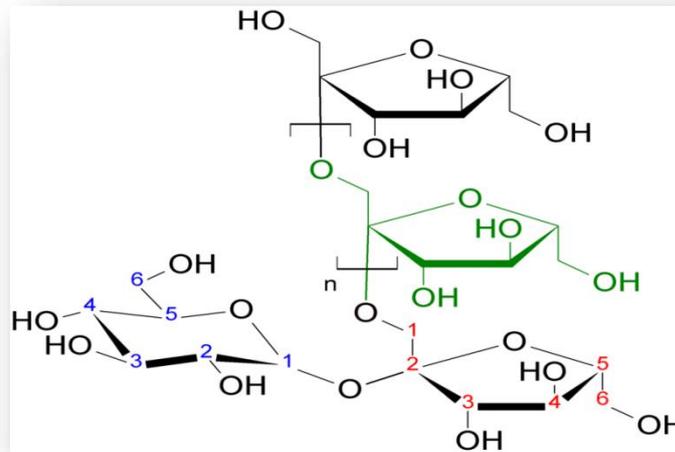


Figure 4: Structure chimique du fructane (Bruneton, 1999).

### I.6.3) Tanins

Les tanins sont des composés de la famille des phénols, ils possèdent des propriétés antibactériennes, anti-oxydantes et soignent les plaies et les blessures, se trouvent notamment au niveau des feuilles de la plante.

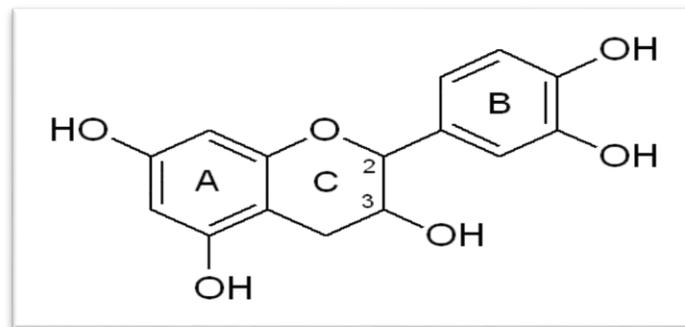
Il existe deux catégories : Les tanins hydrolysables et les tanins condensés, (Bruneton, 1999).

- **Tanins hydrolysables** : Sont des oligo ou polyesters d'un sucre, en général le glucose, et d'un nombre variable d'acide-phénol (Bruneton, 1999). Ils sont classés selon la nature de cet acide-phénol et sont principalement responsable des effets toxiques pouvant apparaître lors de la consommation de certaine plantes.
- **Tanins condensés** : qui sont des polymères de flavanols, une sous-classe des flavonoïdes. Ils sont de poids moléculaire plus élevé que les tanins hydrolysables et permet une protection contre les prédateurs et sont moins toxiques (Bruneton, 1999).

### I.6.4) Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des substances présentes dans les plantes, responsables de la pigmentation de différentes parties de la plante. Leurs pigments servent à attirer les insectes pollinisateurs et protègent des insectes ravageurs et des rayonnements du soleil. Les

flavonoïdes jouent un rôle antioxydant, anti-inflammatoire, antibactériens et anti-tumoral (figure 5) (Mira et al., 2002).



**Figure 5:** Structure chimique des flavonoïdes (Mira et al., 2002).

### I.6.5) Matières minérales

Riche en oxalate de calcium provoquant des irritations cutanées et des intoxications en cas d'ingestion (Vega FA et al., 1972).

### I.6.6) Mucilage

Riches en pectines et en gommes, les mucilages gonflent au contact de l'eau pour former des gels. Ils ont des vertus anti-inflammatoires, adoucissantes et soignent la toux. Contient un composé gélatineux formé de polysaccharides offrant des propriétés protectrices et hydratantes (Fernandez et al., 1975).

### I.6.7) Saponines

Les saponines ont des propriétés moussantes qu'elles donnent notamment au savon, fabriqué à partir de la racine de la saponaire. Ces substances servent à protéger les plantes contre les agressions fongiques (Fernandez et al., 1975).

**Tableau II :** La composition de la *Scille maritime* (Vega FA et al., 1972).

Composition	Pourcentage	Référence
<b>Hétérosides cardiotoniques</b>	0,1 à 2,4%	<b>(Gagnault JC et Bidet D, 1988)</b>
<b>Fructanes</b>	4%	<b>(Bruneton, 1999)</b>
<b>Matières minérales</b>	2 à 5%	<b>(Vega FA et al., 1972)</b>
<b>Mucilage</b>	4 à 10%	<b>(Fernandez M et al., 1975)</b>

### **I.7) Utilisation traditionnelle de la *Scille maritime***

La *Scille maritime* est connue depuis l'antiquité et elle est utilisée comme plante médicinale à travers les siècles dans le monde entier pour lutter contre différentes maladies dont les maladies respiratoires ; les complications osseuses et articulaires ainsi que les troubles cutanés. Cette plante est utilisée traditionnellement comme un produit raticide pour lutter contre les rats (**Hammiche et al., 2013**).

### **I.8) Effet thérapeutique de la *Scille maritime***

La *Scille maritime* présente un potentiel thérapeutique important pour traiter diverses affections telles que :

- Les affections cardiaques par l'utilisation des substances dites glycosides cardiotoniques ;
- Les problèmes rénaux ;
- Les troubles du système nerveux et les maladies du foie.

Les résultats des recherches ont montré que la *scille maritime* avait une bonne efficacité dans la gestion des maladies gastro-intestinales et qu'elle peut donc être plus prévenante dans le futur clinique (**Hammiche et al., 2013**).

### **I.9) Activités biologiques de la *Scille maritime***

La *Scille maritime* comporte plusieurs activités biologiques telles que :

#### **I.9.1) Activité anti-inflammatoire**

Les chercheurs scientifiques ont montré que l'extrait aqueux de la *Scille maritime* possède un effet anti-inflammatoire par l'activité inhibitrice de l'enzyme cyclooxygénase-1 (COX-1) responsable de déclenchement d'une inflammation à partir de la fixation du substrat sur le site actif de cette enzyme. La *Scille maritime* est utilisée pour le traitement des troubles cardiaques et des infections fongiques et comme agent diurétique. Par conséquent, Kazemi Rad et ses collègues ont étudié l'effet de relaxation de cette plante sur les muscles lisses de la trachée du rat. Il a été suggéré que les tissus incubés comprimant l'extrait de *Scille maritime* présentaient des effets relaxants significativement élevés (**Kazemi Rad et al., 2021**).

### I.9.2) Activité anti-oxydante

Les études ont montré que les extraits de bulbe de la *Scille maritime* à l'éthanol et au méthanol possèdent respectivement les propriétés anti-oxydantes à partir de la réduction des radicaux libres par le piégeage de 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) qui est un radical instable en acceptant un radical hydrogène pour devenir une molécule stable (Grait, 2015).

### I.9.3) Activité antibactérienne et antifongique

Une étude menée sur la *Scille maritime* a montré des effets antibactériens et antifongiques, l'activité de l'extrait de bulbe de cette plante a été utilisée pour contrôler les bactéries d'origine alimentaire, notamment *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*. L'extrait de bulbe a également été testé contre les agents pathogènes *Colletotrichum graminicola*, *Fusarium oxysporum* et *Penicillium digitatum*. Les résultats ont montré que l'extrait de bulbe de la *scille maritime* avait l'effet antifongique le plus élevé sur *P. digitatum* et *C. graminicola*. L'activité antibactérienne la plus élevée a été détectée contre *S. aureus* ( $66,81 \pm 1,06$  %) et *B. subtilis* ( $57,94 \pm 0,92$  %) (Baskaran et al., 2013).

### I.9.4) Activité insecticide

Les feuilles et les bulbes de la *Scille maritime* présentaient une activité insecticide significative contre plusieurs espèces due aux différents composés actifs dotés de propriétés insecticides, notamment les bufadiénolides, la scillirosidine et la proscillaridine A de cette espèce (Pascual-Villalobos et Fernandez, 1999).

## I.10) Toxicité de la *Scille maritime*

La *Scille maritime* possède un effet toxique due au bulbe qui contient une forte concentration des substances toxiques dont les bufadiénolides (Tuncok et al., 1995). La toxicité se traduit par différents symptômes tels que :

- Des nausées et vomissements.
- Une inflammation de l'estomac et des intestins avec diarrhées.
- Des douleurs cardiaques.
- Des troubles nerveux.
- Des convulsions.



***CHAPITRE II***

## II.1/ Activité anti-inflammatoire

### II.1.1) Définition de l'inflammation

L'inflammation est une fonction du système immunitaire et peut être considérée comme une réponse locale à divers agents pathogènes et agressions tels que brûlure, piqure, le traumatisme et l'irradiation par les rayons ultra-violet ainsi que l'infection due à des bactéries, des virus et des champignons. Ce mécanisme de défense de l'organisme vise à éliminer l'agent agresseur et à réparer les tissus lésés. L'inflammation se manifeste par des signes incluant la rougeur, la douleur, le gonflement et la chaleur (**Ouédraogo et al., 2012**).

L'initiation et la résolution de la réponse inflammatoire impliquent l'expression complexe et coordonnée de nombreux facteurs, notamment les cytokines, les chimiokines, les facteurs de croissance, les protéases (**Ouédraogo et al., 2012**).

### II.1.2) Types d'inflammation

#### II.1.2.1) Inflammation aiguë

L'inflammation aiguë est une réponse immédiate de l'organisme à une agression, comme une blessure, une infection ou une réaction allergique. Elle se manifeste rapidement, dure peu de temps et se caractérise principalement par la sécrétion de plasma et la migration des cellules immunitaires vers le site de l'inflammation (**Masengo et al., 2023**).

Elle se déclenche par le système immunitaire provoquant le déclenchement de divers événements biochimiques afin de traiter et d'éliminer les facteurs externes.

Le processus d'inflammation aiguë est divisé en plusieurs phases :

- ✓ **Phase d'initiation** : Cette phase est également appelée phase vasculaire. Cela commence par l'activation des plaquettes et la libération des premiers médiateurs solubles. Cette activation entraîne une vasodilatation, une augmentation de la perméabilité vasculaire et le recrutement de cellules immunitaires sur le site de l'inflammation (**Boukhatem et al., 2022**).
- ✓ **Phase d'amplification** : Cette phase implique l'arrivée de cellules circulantes, telles que les neutrophiles et les monocytes (macrophages), sur le site de la blessure.

Ces cellules sont attirées par les chimiokines et contribuent à la destruction des microbes et à la sécrétion de médiateurs qui amplifient la réponse inflammatoire (**Boukhatem et al., 2022**).

- ✓ **Phase de résolution** : Cette phase vise à réparer les dommages tissulaires causés par la réponse inflammatoire. Cela implique la migration des macrophages vers les ganglions lymphatiques pour présenter des antigènes aux lymphocytes, ce qui déclenche une réponse immunitaire adaptative (**Boukhatem et al., 2022**).

### II.1.2.2) Inflammation chronique

L'inflammation chronique est une inflammation prolongée qui dure des semaines, des mois ou même des années, elle se caractérise par l'activation continue du système immunitaire, ce qui peut entraîner des lésions tissulaires et le développement de diverses maladies telles que les maladies cardiovasculaires, le diabète, le cancer, les maladies rénales, les maladies auto-immunes et les maladies dégénératives (**Masengo et al., 2023**).

Les causes de l'inflammation chronique sont nombreuses et peuvent être dues à une défaillance ou un dysfonctionnement du système immunitaire, une infection persistante, une irritation chronique ou un déséquilibre de la réponse immunitaire de l'organisme (**Masengo et al., 2023**).

### II.1.3) Anti-inflammatoires

#### II.1.3.1) Définition

Les anti-inflammatoires sont des médicaments utilisés pour lutter contre l'inflammation. Ils se divisent en deux catégories qui sont les anti-inflammatoires stéroïdiens, également appelés corticoïdes, et les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS). Ce dernier agissent contre l'inflammation, la douleur et la fièvre, et sont utilisés dans diverses conditions telles que les rhumatismes, les douleurs aiguës et les arthroses. Ces médicaments agissent en inhibant l'action des cyclo-oxygénases (Cox), réduisant ainsi la production de prostaglandines et d'autres substances impliquées dans l'inflammation (**Weill et al., 2003**).

#### II.1.3.2) types des anti-inflammatoires

Les anti-inflammatoires se répartissent en deux classes :

- ✓ Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS).
- ✓ Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).

### a) Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)

Les anti-inflammatoires stéroïdiens également appelés corticostéroïdes, sont dérivés synthétiques des hormones naturelles secrétées par les glandes surrénales. Ils sont très puissants et permettent de contrôler l'inflammation quand elle devient sévère ou qu'elle se déclenche sans raison apparente, comme dans les maladies dites inflammatoires (polyarthrite rhumatoïde, allergies sévères) (Weill et al., 2003).

#### ➤ Mécanisme d'action des anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)

Les anti-inflammatoire stéroïdiens ont la particularité d'agir au niveau nucléaire, il fixe à un récepteur nucléaire des glucocorticoïdes appartenant à la superfamille des récepteurs au stéroïdes c'est un récepteur qui habituellement présent sous forme inactif dans le cytosol cellulaire lié à un complexe protéique inactivateur comprenant la HSP90 ou protéine de choc thermique et l'immunophéline, c'est la fraction libre de corticoïdes qui va traverser la membrane cellulaire par diffusion pour se lié au récepteur provoquant ainsi la dissociation du complexe protéique l'ensemble le ligand-récepteur migrent dans le noyau par translocation nucléaire pouvant fixer sur des séquences spécifiques dites GRE (glucocorticoïde reponse element) de l'ADN (figure6) ce qui va permettre la transcription en ARNm, ce dernier va sortir de noyau pour donner une protéine qui va agir pour donner la lipocortine qui inhibe la phospholipase A2 réduisant ainsi la production d'acide arachidonique à partir des phospholipides qui ne pourra plus provoquer l'inflammation (Sonar et Purohit, 2016).

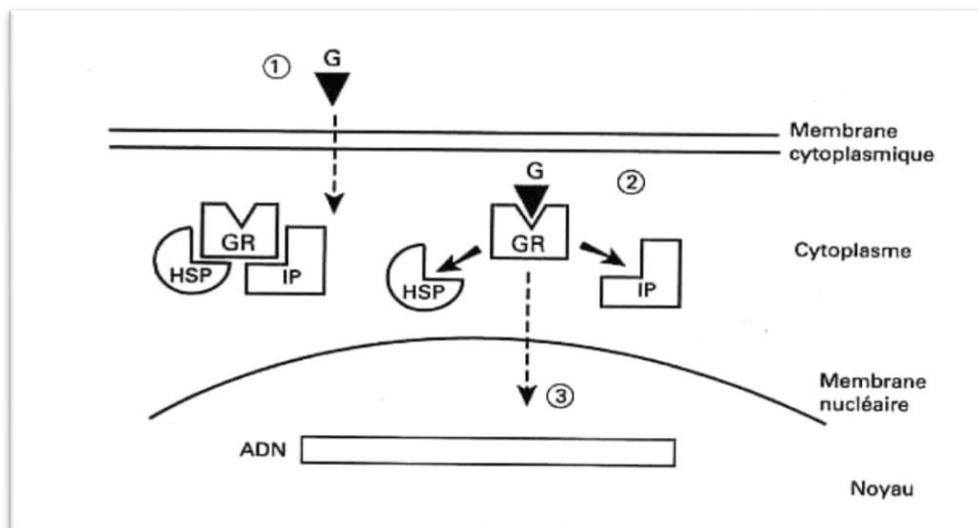


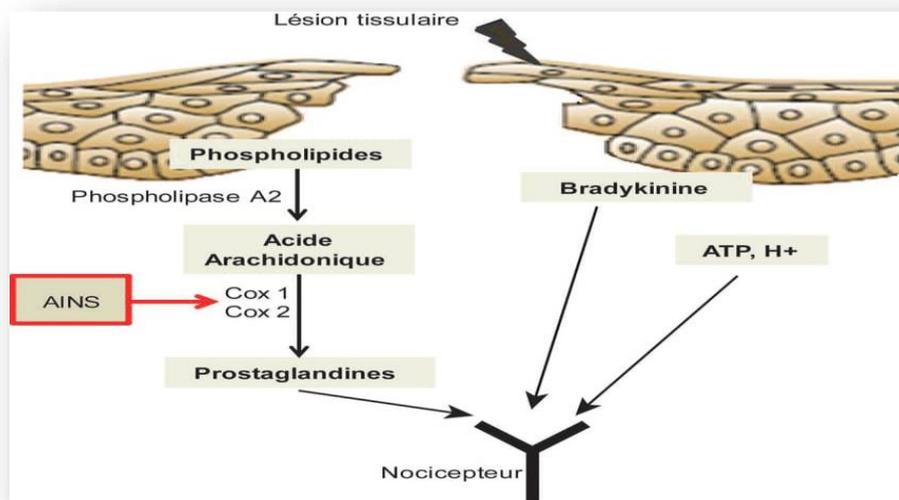
Figure 6 : Mécanisme d'action des corticoïdes (Sonar et Purohit, 2016).

**b) Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)**

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont des médicaments qui bloquent la formation des prostaglandines, les substances responsables de l'inflammation. Ils ont des propriétés antalgiques (contre la douleur), antipyrétiques (contre la fièvre) et à doses plus élevées, anti-inflammatoires. Les AINS agissent en inhibant la cyclo-oxygénase (COX), une enzyme qui intervient dans la formation de substances impliquées dans l'inflammation, la fièvre, l'agrégation des plaquettes sanguines et la protection de la membrane de l'estomac. En bloquant l'action des Cox, les AINS entraînent une baisse des prostaglandines et de thromboxane, ce qui entraîne une diminution des effets de l'inflammation (Ortega et al., 2014).

**➤ Mécanisme d'action des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)**

Suite à une lésion tissulaire, la phospholipase A2 libère de l'acide arachidonique à partir des phospholipides qui sous l'action des cyclo-oxygénase se transforme en prostaglandines. Ces prostaglandines induisent une sensibilisation des nocicepteurs (figure 7). Les AINS ont la propriété de limiter la sensibilisation des nocicepteurs en inhibant la synthèse des prostaglandines par limitation de l'accès de l'acide arachidonique par les sites actifs des cyclo-oxygénases (COX) (Blain et al 2000, Le Bars et Willer 2004).



**Figure 7 :** Mécanisme d'action des AINS (Blain et al 2000, Le Bars et Willer 2004).

## II.2/ Activité hémolytique

### II.2.1) Définition de l'hémolyse

L'hémolyse vient des mots grecs : haema : sang et lyse : perturbation (**Beris et Picard 2015**), c'est la destruction de la membrane des globules rouges après une durée de vie moyenne de 120 jours associés à la libération d'hémoglobine, ce phénomène est irréversible. Lorsque les globules rouges sont détruits avant une durée de 120 jours, on parle de l'hyperhémolyse c'est-à-dire le raccourcissement de la durée de vie des hématies (**Beris et Picard 2015**).

### II.2.2) Types d'hémolyse

➤ **Hémolyse physiologique** : C'est la destruction normale des globules rouges (GR) arrivés au terme de leur vie circulatoire de 120 jours libérant l'hémoglobine (Hb) dans le plasma sanguin.

Ce phénomène est lié au vieillissement du globule rouge et à la diminution progressive de son équipement enzymatique, ce qui diminue la protection de la membrane et de l'hémoglobine contre l'oxydation irréversible. Cela entraîne une augmentation du calcium intracellulaire et diminution du potassium, induisant une déshydratation et une diminution de la déformabilité des globules rouges. Cette destruction est principalement intra-tissulaire, représentant environ 85% de l'hémolyse, et se produit principalement dans les macrophages de la moelle osseuse, une petite partie (15%) se fait par hémolyse intra-vasculaire (**Lippi et al., 2011**).

➤ **Hémolyse pathologique** : Est un dysfonctionnement du cycle hémolytique qui entraîne la destruction excessive et précoce des globules rouges. Elle peut être causée par des facteurs intrinsèques (Hémolyse corpusculaire) due à des maladies génétiques, des maladies auto-immunes et des infections ou extrinsèques (Hémolyse extra-corpusculaire) causée par des facteurs externes détruisant les globules rouges comme les toxines, les traumatismes ou certains médicaments. L'hémolyse pathologique entraîne une anémie, la fatigue, l'essoufflement, les palpitations cardiaques et la pâleur (**Ventaka et al., 2016**).

## II.2.3) Anti-hémolytique

### II.2.3.1) Définition

Un anti-hémolytique est un médicament ou une substance utilisée pour prévenir ou ralentir la destruction des globules rouges par des mécanismes immunitaires anormaux tels que les auto-anticorps dans l'anémie hémolytique auto-immune, l'acide folique, le complément de fer, la vitamine B12 et les corticoïdes (**Bachhy et al., 2015**). Les anti-hémolytiques peuvent être synthétiques ou naturels.

### II.2.3.2) Action des anti-hémolytiques synthétiques

**Corticoïdes** : Les corticoïdes, tels que la cortisone ou ses dérivés, sont utilisés principalement pour les anémies hémolytiques auto-immunes (AHAI) à anticorps chauds. Ils permettent d'enrayer la destruction accrue des globules rouges en diminuant les réactions immunitaires.

**Glucocorticoïdes** : Les glucocorticoïdes sont des mécanismes d'action des corticoïdes. Ils sont utilisés pour traiter les anémies hémolytiques auto-immunes et ont un rôle important dans la prévention de l'hémolyse (**Bachhy et al., 2015**).

**Anti-oxydants synthétiques** : Les anti-oxydants synthétiques, tels que le BHA (butylhydroxyanisole), le BHT (butylhydroxytoluène), le TBHQ (tert-butylhydroquinone), le PG (propyl gallate), l'OG (octyl gallate), et le 2,4,5 TBP (trihydroxy butyrophénone), sont des composés chimiques contenant des structures phénoliques ajoutés aux aliments pour prévenir le rancissement des lipides. Ils ont des effets anti-hémolytiques en neutralisant les radicaux libres tels que les espèces oxygénées activées, qui peuvent dégrader les membranes cellulaires des érythrocytes (**Bachy et al., 2015**).

### II.2.3.3) Action des anti-hémolytiques naturels

Les anti-hémolytiques naturels sont des composés issus de plantes médicinales ou de substances végétales. Des études ont montré que différentes plantes médicinales possèdent des activités anti-hémolytiques importantes. Ces composés tels que les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins peuvent agir en inhibant l'oxydation des membranes cellulaires, en réduisant l'oxydation des lipides et en prévenant la dénaturation de l'hémoglobine. Les anti-

hémolytiques naturels peuvent être utilisés pour traiter les maladies hémolytiques et pour prévenir les effets négatifs de l'hémolyse sur les globules rouges (Sonar *et al.*, 2016).

## II.3/ Activité anti-oxydante

### II.3.1) Stress oxydatif

Le stress oxydatif est un déséquilibre de la balance antioxydant/ pro-oxydants autrement dit est un déséquilibre entre la production des espèces réactives de l'oxygène (ERO) qui sont des espèces chimiques synthétisées de manière continue par les cellules aérobies et sont indispensable à l'organisme en participant à divers processus tels que la régulation des gènes, le fonctionnement de certaines enzymes et la défense immunitaires contre les agents pathogènes, et les antioxydants qui neutralisent immédiatement ces espèces (ERO). Ce déséquilibre dû à différents mécanismes physiologiques comme les inflammations et les facteurs environnementaux tels que le tabac, l'alcool et les médicaments par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux (Migdal *et Serres.* 2011).

### II.3.2) Radical libre

Radical libre est une molécule ou un atome ayant un électron ou plusieurs électrons non apparié au niveau de sa valence (figure 8), il est naturellement produit dans la cellule à partir de l'oxygène notamment au niveau de la mitochondrie lors de la chaîne respiratoire. Ce nombre impair d'électron les rend instable et hautement réactif. Les radicaux libres comme radical superoxyde ( $O_2\bullet^-$ ) et hydroxyle ( $OH\bullet$ ) peuvent causer des dommages irréversibles sur des substrats biologiques tels que les enzymes, les protéines, ou l'ADN, contribuant au vieillissement des tissus s'ils ne sont pas neutralisés par des antioxydants (Laib *et al.*, 2021).

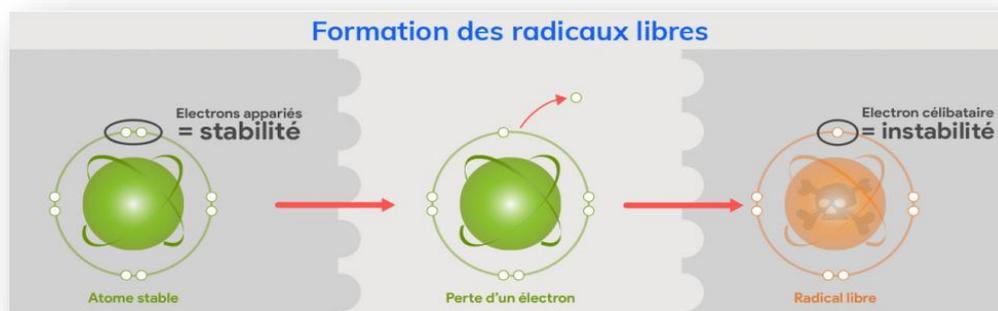


Figure 8 : Formation des radicaux libres (Laib *et al.*, 2021).

## II.3.3) Antioxydant

### II.3.3.1) Définition

Les antioxydants sont des substances chimiques naturellement présentes dans notre alimentation qui peuvent prévenir ou réduire le stress oxydatif du système physiologique par neutralisation des radicaux libres. Ces derniers sont responsables des dommages cellulaires dans le corps et contribuent à divers types de problèmes de santé, tels que les maladies cardiaques, le diabète et le cancer. Les antioxydants sont des piègeurs de radicaux libres qui aident à prévenir et à réparer les dommages cellulaires causés par ces radicaux (**Tanoh et al., 2019**).

### II.3.3.2) Classification des antioxydants

Les antioxydants sont classés en deux catégories qui sont les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques.

#### a) Les antioxydants enzymatiques :

Les antioxydants enzymatiques sont des molécules qui jouent un rôle majeur dans la défense anti-oxydante des cellules. Ils permettent de neutraliser les radicaux libres et d'éviter la formation de nouveaux radicaux libres à partir de l'eau oxygénée produite. Il existe plusieurs sortes d'antioxydants enzymatiques dont superoxyde dismutase (SOD), glutathion peroxydase (GPX) et catalase (CAT) (**Tadhani et al., 2017**).

La superoxyde-dismutase est l'enzyme majeure de cette défense. Elle existe sous 4 formes selon l'oligoélément cofacteur contenu dans sa molécule : zinc, manganèse ou cuivre. La SOD convertit l'anion superoxyde en molécules oxygène et eau oxygénée. Dans l'organisme, l'eau oxygénée a une action oxydante néfaste. Pour éviter la formation de nouveaux radicaux libres à partir de l'eau oxygénée produite, celle-ci doit ensuite être détruite par d'autres enzymes, la catalase ou la glutathion peroxydase (**Tadhani et al., 2017**).

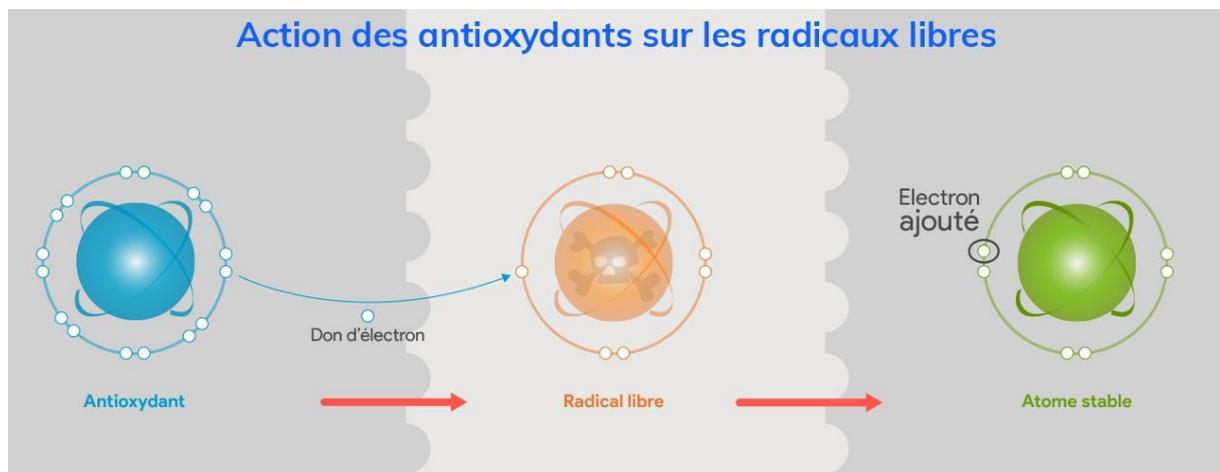
La catalase permet la transformation du peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée) en eau et dioxygène, évitant ainsi la formation du radical hydroxyle. La glutathion peroxydase neutralise l'eau oxygénée et réduit les lipides oxydé (**Tadhani et al., 2017**).

**b) Les antioxydants non enzymatiques :**

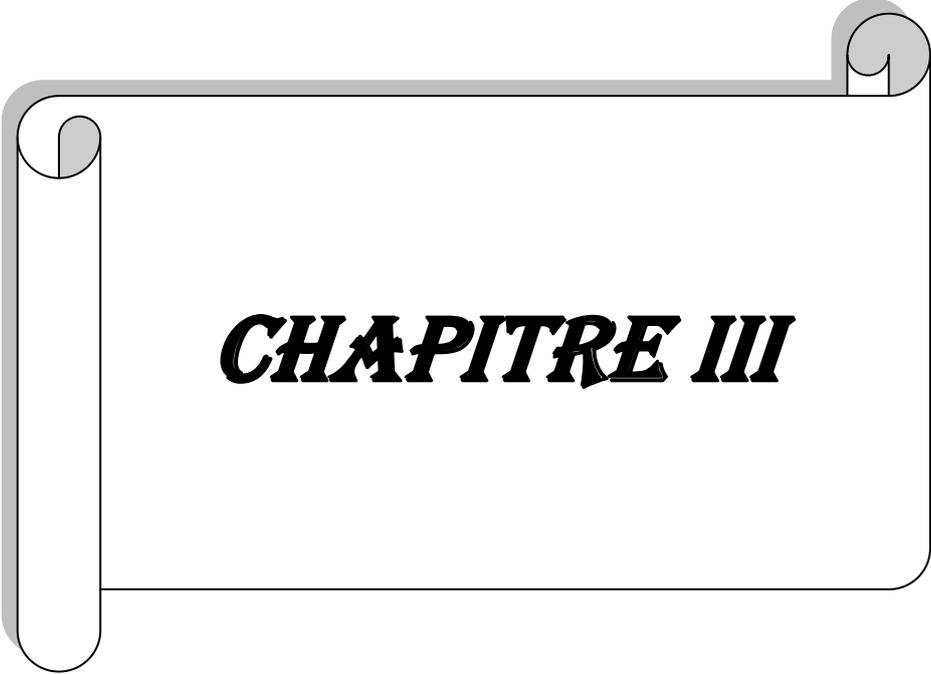
Les antioxydants non enzymatiques sont également appelés antioxydants exogènes, car ils proviennent de l'environnement extérieur. Ils peuvent être trouvés dans les aliments, les suppléments alimentaires, les cosmétiques et les médicaments. Ils peuvent être classés en deux catégories : les antioxydants liposolubles et les antioxydants hydrosolubles. Les antioxydants liposolubles sont solubles dans les graisses et les huiles et sont généralement stockés dans les tissus adipeux. Les antioxydants hydrosolubles sont solubles dans l'eau et sont généralement présents dans les liquides corporels tels que le sang et la lymphe (Marc et al., 2004).

**II.3.3.3) Mécanisme d'action des antioxydants**

Les antioxydants sont des molécules qui aident à protéger l'organisme contre les radicaux libres. Ils réagissent avec les radicaux libres (oxydants) et les neutraliser en leur cédant un électron, afin de stabiliser ces radicaux libres et de limiter les dommages qu'ils peuvent causer aux cellules (figure 9) (Siddhuraju et Becker, 2007).



**Figure 9 :** Mécanisme d'action des antioxydants (Siddhuraju et Becker, 2007).



***CHAPITRE III***

### III.1) Matériel végétal

Les feuilles et les bulbes de la *Scille maritime* proviennent de la région d'Adekkar, wilaya de Bejaïa située au Nord-Est d'Algérie, récoltées en mois de février 2024. La plante a été identifiée taxonomiquement selon la bibliographie des espèces de Monocotyledonae (Ghdedba et al., 2014).

Les feuilles ont été lavées avec de l'eau, puis découpées en petits morceaux et séchées à température ambiante pendant une semaine, et pour accélérer le séchage elles sont mises dans une étuve ventilée pendant 48h à une température de 40°C (figure 10). Pour les bulbes ont été lavés puis épluchés et découpés en tranches, ensuite séchés à température ambiante pendant une semaine puis dans l'étuve ventilée à 60°C pendant 48h pour accélérer le séchage (figure 11).

Une fois les feuilles et les bulbes sont séchés, sont broyés à l'aide d'un broyeur électrique. Ensuite les poudres sont stockées à l'abri de la lumière et de l'humidité pour une utilisation ultérieure.



**Figure 10:** Forme séchée et broyée de bulbe. **Figure 11:** Forme séchée et broyée des feuilles.

### III.2) Extraction

L'extraction est réalisée par macération, 20g de poudre végétale (feuille ou de bulbe) et ont été mis à macérer dans 100ml de l'éthanol 80% sur une plaque agitatrice pendant 24h à température ambiante et à l'abri de la lumière. Ce processus d'extraction est répété trois fois pour extraire le maximum de substances bioactives (Ghdedba et al., 2014).

Après la macération, on a filtré les extraits de feuilles et de bulbes en utilisant le papier Wattman afin d'obtenir le filtrat qui contient des substances bioactives. Ensuite le filtrat est réparti dans des cristallisoirs et les mettre dans l'étuve à température de 40°C jusqu'à l'évaporation du solvant organique et l'obtention des extraits éthanoliques secs. Ces derniers

sont conservés dans le réfrigérateur à 4°C pour une utilisation ultérieure (**Ghdedba et al., 2014**).

➤ **Rendement d'extraction :**

Nous avons déterminé le rendement des extraits de feuilles et de bulbes de la *Scille maritime* qui désigne la masse de l'extrait obtenu après le séchage par rapport à la masse initiale de la poudre, exprimé en pourcentage.

$$R (\%) = (M / M_0) \times 100$$

**R (%) :** Rendement exprimé en pourcentage.

**M :** Masse en gramme de l'extrait sec obtenu après le séchage.

**M<sub>0</sub> :** Masse en gramme de la poudre (20g).

### III.3) Criblage phytochimique

Les tests phytochimiques permettent d'avoir des informations préliminaires sur la composition chimique de la partie étudiée de la plante (feuilles et bulbes), en ayant recours à des réactions de précipitation ou de coloration (**Sofowora, 1993**). Les principaux composés chimiques recherchés sont : polyphénols totaux, flavonoïdes, flavonols, les tanins condensés et les tanins hydrolysables.

#### III.3.1) Dosage des polyphénols totaux

La détermination de la teneur en polyphénols totaux des extraits végétaux est réalisée par la méthode de Folin-Ciocalteu qui est un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Le principe est basé sur la réduction d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique en présence de composé phénolique en tungstène et de molybdène. Le réactif Folin-Ciocalteu a une couleur jaune, lors de l'oxydation des polyphénols, sa couleur change vers le bleu qui indique la réduction de ce réactif. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la teneur des composés phénoliques oxydés (**Singleton et Rossi, 1965**).

- **Mode opératoire**

- Un volume de 200µl de chaque extrait est ajouté à 1ml de réactif Folin-Ciocalteu. Après 5 minutes, 800µl de solution de carbonate de sodium ( $\text{NaCO}_3$ ) à 7,5% sont ajoutés. Le mélange a été incubé à 50°C pendant 5 minutes et l'absorbance est mesurée à 760nm contre un blanc à l'aide d'une spectrophotométrie (**Singleton et Rossi, 1965**).

La teneur en phénols totaux est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage (figure 1, annexe I) réalisée avec l'acide gallique. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par g d'échantillon (mg EAG/g E).

### III.3.2) Dosage des flavonoïdes

La méthode utilisée afin d'évaluer le dosage des flavonoïdes présents dans les extraits de la *Scille maritime* est la méthode colorimétrique décrite par (**Quettier-Deleu et al., 2000**), qui consiste à former un complexe entre les composés phénoliques et le trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ), le virage de couleur du mélange vers le jaune suggère la présence des flavonoïdes.

- **Mode opératoire**

Selon le protocole décrit par (**Quettier-Deleu et al., 2000**), 1ml de l'extrait est mélangé avec 1ml de chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) à 2%. Puis le mélange a été agité vigoureusement. Une incubation à l'obscurité pendant 10minutes à température ambiante a été réalisée. Enfin les absorbances sont mesurées à 430nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent de quercétine par g d'échantillon (mg EQ/g E), en se référant à une courbe d'étalonnage réalisé en utilisant la quercétine à différentes concentrations (figure 2, annexe I).

### III.3.3) Dosage des flavonols

Le dosage des flavonols contenus dans les extraits est effectué par une méthode basée sur la formation du complexe coloré de flavonols avec le chlorure d'aluminium. Ce complexe jaunâtre résulte de la chélation des métaux (aluminium) par les flavonols (**Quettier-Deleu et al., 2000**).

- **Mode opératoire**

Un volume de 500µl de chlorure d'aluminium à 2% avec 1,5ml d'acétate de sodium à 5% sont additionnés à 500µl de chaque extrait. Après 30 minutes d'incubation à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 440nm (**Quettier-Deleu et al., 2000**).

La quercétine a été utilisée comme standard de référence à différentes concentrations pour l'établissement de la courbe d'étalonnage et pour la quantification des teneurs en flavonols exprimées en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme d'échantillon (mg EQ/g E).

### III.3.4) Dosage des tanins condensés

La méthode de dosage des tanins condensés la plus utilisée est basée sur la réaction à la vanilline en milieu acide. Cette méthode colorimétrique se base sur la propriété des tanins condensés à réagir avec la vanilline en milieu acide pour former des complexes rouges. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en tanins (**Julkunen-Titto, 1985**).

- **Mode opératoire**

Un volume de 250µl de chaque extrait est ajouté à 1,5ml de la vanilline à 4% suivi de l'addition de 750µl de chlorure d'hydrogène (HCl), après l'incubation à température ambiante pendant 15 minutes, la lecture des absorbance est réalisée à 500nm (**Julkunen-Titto, 1985**). La présence des tanins est indiquée par l'apparition de la couleur rougeâtre.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent de catéchine par g d'échantillon (mg EC/g E), par référence à une courbe d'étalonnage (figure 4, annexe I).

### III.3.5) Dosage des tanins hydrolysables

La méthode utilisée pour le dosage des tanins hydrolysables est une méthode colorimétrique permet de détecter et de doser rapidement les tanins hydrolysables dans les extraits végétaux par le chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>), elle se base sur la formation d'un complexe coloré entre les tanins et les ions ferriques. Les tanins hydrolysables, qui sont des composés phénoliques, vont réagir avec les ions Fe<sup>3+</sup> du chlorure ferrique pour former un complexe de couleur vert foncé (**Bossu et al., 2006**).

- **Mode opératoire**

Un volume de 500µl de chaque extrait est mélangé avec 1,75ml de chlorure ferrique FeCl<sub>3</sub> (0,01% préparé dans HCl 0,001M). Après homogénéisation et incubation pendant 10 minutes à température ambiante, les absorbances ont été mesurées à 660nm (Bossu *et al.*, 2006).

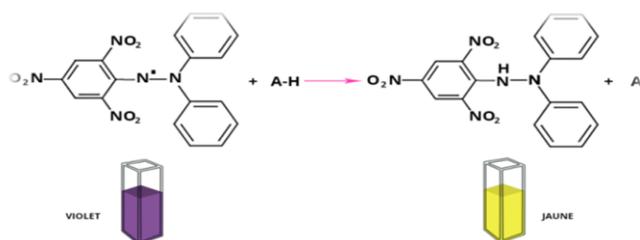
Les concentrations en tanins hydrolysables sont exprimées en mg équivalent d'acide tannique par gramme d'échantillon (mg EAT/g E), en utilisant une courbe d'étalonnage réalisé avec l'acide tannique (figure 5, annexeI).

### III.4) Evaluation de l'activité anti-oxydante

L'activité anti-oxydante des extraits de la plante de la *Scille maritime* a été évaluée par la réalisation de différents tests qui sont :

#### III.4.1) Test du 2,2-Di-Phényl-1-Picryl-Hydrazyl (DPPH)

Le 2,2-Di-Phényl-1-Picryl-Hydrazyl est un radical libre instable, il mesure la capacité d'un antioxydant à réduire le radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl). L'effet des antioxydants sur ce radical se traduit par leurs capacités à lui donner un électron pour qu'il devienne stable. La réduction de radical libre est déterminée par la diminution des absorbances à 515nm et virage de couleur du violet au jaune pâle qui résultent par les antioxydants (figure 12) (Sanchez-Moreno *et al.*, 1998).



**Figure 12 :** Evaluation de l'activité anti-oxydante par le test DPPH (Sanchez-Moreno *et al.*, 1998).

- **Mode opératoire**

Dans un volume de 100µl d'extrait à différentes concentration (de 1000µg/ml à 62,5µg/ml), 1900µl de la solution de DPPH est ajouté, après une incubation pendant 15 minutes dans l'obscurité à température ambiante, les absorbances sont lues à 515nm. Les

résultats seront interprétés par comparaison à l'activité anti-radicalaire des standards, Vit C et BHT réalisées dans les mêmes conditions. La valeur d'IC50 a été déterminée et le pourcentage d'activité antiradicalaire DPPH a été calculé selon l'équation suivante :

$$\text{DPPH (\%)} = [(\text{Abs T} - \text{Abs ext}) / \text{Abs T}] \times 100$$

Où : **Abs Test** l'absorbance du témoin et **Abs ext** est l'absorbance d'extrait.

### III.4.2) Test de phosphomolybdate (pouvoir réducteur)

Le test pouvoir réducteur est une technique de mesure de l'activité anti-oxydante des extraits de plante, il consiste à transférer un électron d'anti-oxydant (extrait) vers le complexe oxydant (phosphomolybdate) pour neutraliser les radicaux libres. Ce test se base sur la réduction en milieu acide, de l'ion molybdate ( $\text{Mo6}^+$ ) en ion molybdène ( $\text{Mo5}^+$ ) par les antioxydants présents dans l'extrait. Cette réduction forme un complexe vert de phosphate de molybdène ( $\text{Mo5}^+$ ) qui peut être mesuré par spectrophotométrie à 695 nm, l'augmentation de la coloration du complexe indique la présence d'anti-oxydants (**Prieto et al., 1999**).

- **Mode opératoire**

Un volume de 200 $\mu\text{l}$  de chaque extrait à différentes concentration (de 500 $\mu\text{g/ml}$  à 7,82 $\mu\text{g/ml}$ ) a été mélangé avec 2ml de phosphomolybdate. Après 90 minutes d'incubation dans le bain-marie à température de 95°C, l'absorbance a été mesurée à 695nm (**Prieto et al., 1999**). Les résultats seront interprétés par comparaison à l'activité antioxydant des standards tels BHT, acide ascorbique et réalisée dans les mêmes conditions.

La valeur d'IC50 a été déterminée et le pourcentage de pouvoir réducteur a été calculé par l'équation suivante :

$$\text{Pouvoir réducteur (\%)} = [(\text{Abs ext} - \text{Abs T}) / \text{Abs ext}] \times 100$$

**Abs T** : Absorbance du témoin.

**Abs ext** : Absorbance d'extrait.

### III.4.3) Test OH•

Le test OH est une méthode couramment utilisée pour évaluer l'activité anti-oxydante en mesurant la capacité d'un composé à piéger les radicaux hydroxyles (OH•). Le radical hydroxyle est généré par la réaction de Fenton, impliquant du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) et des ions ferreux (Fe<sup>2+</sup>). En présence d'un antioxydant, les radicaux hydroxyles sont piégés, ce qui diminue la formation du radical 2-désoxyribose oxydé. La quantité de 2-désoxyribose oxydé est ensuite mesurée colorimétriquement, permettant d'évaluer l'activité anti-oxydante de l'échantillon testé. Ce test permet donc d'estimer le potentiel antioxydant d'un extrait végétal ou d'une molécule pure (Siddhuraju et Becker, 2007).

- **Mode opératoire**

Dans un volume de 0,5 ml d'extrait de chaque dilution, 0,5 ml de FeSO<sub>4</sub> (1,5 mM) est ajouté avec 0,35 ml d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (6 mM) et 0,15 ml de salicylate de sodium (20 mM). Après homogénéisation et incubation des extraits dans le bain-marie à température de 37°C pendant 1 heure, les solutions obtenues sont centrifugées à 3000 tours/min pendant 3 minutes et les absorbances ont été mesurées à 562nm (Siddhuraju et Becker, 2007). Les résultats seront interprétés par comparaison à l'activité antioxydant des standards tels BHT, acide ascorbique et réalisée dans les mêmes conditions.

La valeur d'IC<sub>50</sub> a été déterminée et le pourcentage d'inhibition de l'oxydation du radical OH a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = [(\text{Abs T} - \text{Abs ext}) / \text{Abs T}] \times 100$$

**Abs T** : Absorbance du témoin.

**Abs ext** : Absorbance d'échantillon moins absorbance du blanc échantillon.

### III.5) Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

Afin d'évaluer l'activité anti-inflammatoire des extraits de feuilles et de bulbes de la *Scille maritime*, plusieurs tests sont réalisés tels que ; le test d'inhibition de la dénaturation protéique d'ovalbumine et la BSA ainsi que le test anti-hémolytique dans un milieu hypotonique (Karthik et al., 2013).

### III.5.1) Test d'inhibition de la dénaturation de la protéine d'ovalbumine

Le test d'inhibition de la dénaturation de la protéine d'ovalbumine est une méthode qui permet de connaître si la protéine majeure du blanc d'œuf ovalbumine contenue dans les extraits aqueux va garder ses propriétés fonctionnelles après l'exposition à un choc thermique. Pour cela, une gamme de concentrations des extraits éthanoliques est réalisée.

- **Mode opératoire**

Un volume de 500µl d'extrait de chaque concentration est ajouté à 500µl de la solution d'ovalbumine à 0,5% préparé dans un tampon Tris-HCl (à 0,05M ; pH = 6,6), puis le mélange est incubé à 37°C pendant 20 minutes ensuite à 70°C pendant 5min. Ensuite un volume de 500µl de la solution tampon Tris-HCl est additionné. L'absorbance a été mesurée à 660nm (**Rick-Leonid et al., 2018**). Dans ce test, la molécule de référence utilisée est le celebrex. L'évaluation de son activité anti-inflammatoire a été effectuée dans les mêmes conditions opératoires que celles appliquées aux différents extraits. Les résultats enregistrés sont exprimés en pourcentage d'inhibition de la dénaturation thermique d'ovalbumine (Ova) et calculés selon l'équation suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = [(\text{Abs T} - \text{Abs ext}) / \text{Abs T}] \times 100$$

**Abs T** : Absorbance du témoin.

**Abs ext** : Absorbance d'échantillon moins absorbance du blanc échantillon.

### III.5.2) Test d'inhibition de la dénaturation de la protéine sérum albumine bovine (BSA)

Ce test a pour objectif de vérifier *in vitro* l'effet anti-dénaturation induit par l'extrait éthanolique des feuilles et de bulbe de la *Scille maritime* dans le sérum albumine bovine traitée thermiquement.

- **Mode opératoire**

Un volume de 500µl d'extrait de chaque concentration est additionné à 500µl de la solution de BSA à 0,5% préparé dans un tampon Tris-HCl. Les mélanges ont été incubés dans le bain- marie pendant 20 minutes à 37°C ensuite à 70°C pendant 5 minutes. Après

l'incubation un volume de 500µl de la solution tampon Tris-HCl a été ajouté. Les absorbances ont été mesurées par la spectrophotométrie à 660nm (**Karthik et al. 2013**).

Le diclofenac a été utilisé comme une molécule de référence. Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de la protéine sérum albumine bovine a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = [(\text{Abs T} - \text{Abs ext}) / \text{Abs T}] \times 100$$

**Abs T** : Absorbance du témoin.

**Abs ext** : Absorbance d'échantillon moins absorbance du blanc échantillon.

### **III.5.3) Evaluation de l'activité anti-hémolytique, *in vitro*, des extraits de feuille et de bulbe de la *Scille maritime***

L'objectif de ce test est l'évaluation de la capacité de l'extrait éthanolique de la *Scille maritime* à inhiber l'hémolyse des globules rouges dans une solution saline hypotonique donc exposé à la lyse de leurs membranes avec libération de leur contenu cytoplasmique (hémoglobine). L'intensité de l'hémolyse est estimée par la mesure de l'absorbance de l'hémoglobine libérée en utilisant la spectrophotométrie à 560nm.

#### **a) Préparation de la suspension des érythrocytes**

Afin de préparer la suspension des globules rouge un prélèvement du sang a été effectué sur des sujets sains et transporté au laboratoire dans une glacière à 4°C où il est centrifugé à 3000rpm pendant 10 min. Le surnageant est éliminé et le culot qui est constitué des globules rouges a été lavé trois fois avec de l'eau physiologique (0,9% NaCl) et centrifugé à 3000rpm pendant 5 min afin d'obtenir un surnageant clair, ensuite un volume de 10ml de la suspension des érythrocytes est ajouté à 10ml de l'eau physiologique (v/v) avec 100ml de la solution tampon phosphate PBS (0,15M ; pH = 7,4) pour avoir une suspension de 10% (**Shobana et al., 2016**).

**b) Evaluation de la cytotoxicité des extraits éthanoliques, des feuilles et bulbe de la *Scille maritime* vis-à-vis les globules rouges**

Le test de cytotoxicité est utilisé afin d'évaluer la sécurité des extraits éthanoliques de plante en contact avec les cellules du sang et pour déterminer si ces extraits peuvent avoir des effets négatifs sur la santé humaine. Ce test consiste à mélanger les érythrocytes avec des extraits de plantes et à mesurer la viabilité des cellules après une période d'incubation. La cytotoxicité est évaluée en fonction de la libération d'hémoglobine qui est un indicateur de la lyse des globules rouges. La quantité d'hémoglobine libérée est proportionnelle à la cytotoxicité de l'extrait de plante.

- **Mode opératoire**

Un volume de 1,6 ml d'extrait (de 31,25 à 250µg/ml pour les feuilles et de 3,91 à 31,25µg/ml pour le bulbe) a été ajouté à 0,4 ml de la suspension des érythrocytes à 10%, puis le mélange a été incubé à 37°C pendant 10 minutes, ensuite centrifugé à 3000rpm pendant 5min. L'absorbance a été mesurée à 560nm. Dans les mêmes conditions et les mêmes démarches expérimentales, un contrôle incluant 0,4 ml de la suspension de globules rouges et 1,6 ml de PBS (Contrôle -) ou de solution hypotonique à 0,36% (Contrôle +), à la place de l'extrait, a été préparé pour vérifier l'état des globules rouges ou le 100 % d'hémolyse (Shobana et Vidhya, 2016).

Le pourcentage d'hémolyse est calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Hémolyse (\%)} = [(\text{Abs ext} / \text{Abs c}) \times 100]$$

**Abs ext** : Absorbance de l'extrait.

**Abs c** : Absorbance du contrôle.

**c) Test anti-hémolytique**

Un volume de 250µl de la suspension des érythrocytes à 10% a été ajouté à 250µl d'extrait (extrait éthanolique de feuille de 31,25 à 250µg/ml ou de bulbe de 3,90 à 31,25µg/ml), avec 750µl de l'eau physiologique (0,9% NaCl) et 1ml de la solution hypotonique (0,36% NaCl). Puis les échantillons ont été incubés à 37°C pendant 30 minutes, ensuite centrifugés à 3000rpm

pendant 5 min (Shinde et al., 1989). Enfin les absorbances ont été mesurées par la spectrophotométrie à 560nm.

- Pour le contrôle : 1ml de la solution hypotonique a été additionnée à 1ml de l'eau physiologique avec un volume de 250µl de la suspension des globules rouges sont réalisés dans les mêmes conditions opératoires.

Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse des globules rouges a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = [(Abs T - Abs ext) / Abs T] \times 100$$

**Abs T** : Absorbance du témoin.

**Abs ext** : Absorbance d'échantillon moins absorbance du blanc échantillon.

### III.6. Analyse statistique des résultats

Toutes les déterminations ont été menées en triple et les résultats sont exprimés par la moyenne  $\pm$  écart type. Les résultats ont fait l'objet d'une analyse de la variance un seul facteur, suivi d'une comparaison multiple des moyennes (Test LSD) au moyen du logiciel Statistica version 7.12. Les différences sont significatives à  $p < 0,05$ . Les concentrations inhibitrices à 50% (IC50) ont été calculées en utilisant Excel.



***RÉSULTATS &  
DISCUSSIONS***

### IV.1) Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est calculé par rapport à la masse de matière sèche ayant servi à l'extraction exprimé en pourcentage. Il apparaît que les rendements massiques des extraits hydro-éthanoliques des feuilles et bulbes sont respectivement de 5,82% et 9,55%. Ces rendements sont, en général, en dessous de ceux décrits par Pawar et Varkhade (2014) qui ont obtenu un rendement supérieur à 32% après 48h d'extraction à température ambiante.

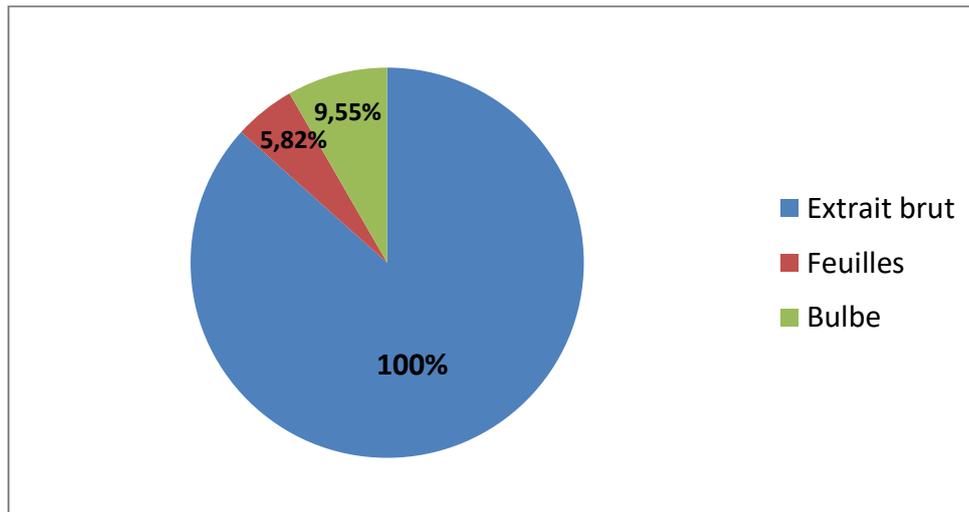


Figure 13 : Rendement de l'extrait brut de feuilles et de bulbe de la *Scille maritime*.

### IV.2) Teneur en composés phénoliques

Les concentrations des composés phénoliques sont présentées dans le tableau suivant.

Tableau III : Différentes classes de composés phénoliques :

Test / Echantillon	PTS (mg eq AG/g d'E)	Flavonoides (mg eq Q/g d'E)	Flavonols (mg eq Q/g d'E)	Tanins condensés (mg eq C/g d'E)	Tanins hydrolysables (mg eq AT/g d'E)
Feuilles	8,89 ± 0,32 <sup>b</sup>	43,44 ± 0,20 <sup>b</sup>	1,88 ± 0,01 <sup>b</sup>	3,48 ± 0,17 <sup>a</sup>	23,50 ± 0,64 <sup>b</sup>
Bulbe	5,96 ± 0,33 <sup>a</sup>	7,94 ± 0,09 <sup>a</sup>	0,30 ± 0,01 <sup>a</sup>	9,86 ± 0,51 <sup>b</sup>	7,66 ± 0,36 <sup>a</sup>

#### IV.2.1) Teneur en polyphénols totaux solubles

L'analyse de la variance (Tableau I, Annexe III) indique que les extraits de feuilles et bulbe de la *Scille maritime* présentent une différence significative  $p < 0,05$ . Les résultats présentés dans le tableau ci-dessus montrent que les teneurs en polyphénols totaux des différents extraits hydroéthanoliques de la *Scille maritime* varient entre  $5,96 \pm 0,33$  (bulbe) et  $8,89 \pm 0,32$  mg EAG/g d'E (feuille). La concentration la plus élevée des phénols a été mesurée dans l'extrait hydroéthanoliques de feuilles de la *Scille maritime* avec un taux de 8,89 mg EAG/g d'E, par rapport à l'extrait de bulbe, où nous avons enregistré une teneur de 5,96 mg EAG/g E. Les résultats obtenus montrent que les teneurs en polyphénols de deux extraits de plante étudiées sont inférieurs à la valeur rapportée par Fecka et Turek, (2007) qui ont enregistré une valeur de  $130,88 \pm 0,44$  mg EAG/g d'E en polyphénols présents dans les feuilles de *Salvia officinalis* qui est une plante de la même famille avec la *Scille maritime*. Cette différence retrouvée peut être due à des facteurs climatiques tels que la température élevée, exposition solaire qui ont un rôle important dans la stimulation de la biosynthèse des métabolites secondaire comme les polyphénols.

#### IV.2.2) Teneur en flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes retrouvées sur l'ensemble des extraits hydroéthanoliques de la plante sont indiquées dans le tableau III. L'extrait hydroéthanolique de feuilles, la teneur enregistrée en flavonoïdes est 43,44 mg EQ/g d'E tandis que dans l'extrait de bulbe est égale à 7,94 mg EQ/g d'E.

D'après logiciel l'analyse statistique (Tableau II, Annexe III) les résultats montrent une différence significative entre les deux extraits  $p < 0,05$ . D'après le tableau III, la teneur en flavonoïde trouvée dans les deux extraits hydroéthanoliques est inférieure à celle trouvé par (Belhedad et al., 2017) qui a trouvé une valeur de  $50,81 \pm 0,25$  mg EQ /g d'E au niveau des feuilles de *Drimia maritima*. Ceci peut être expliqué par une augmentation du métabolisme phénolique de la plante ; en plus, l'existence d'une liaison avec les conditions environnementales tels que la région du développement de la plante et la période de la récolte ainsi que la nature du sol (Djeridane, et al., 2005).

### IV.2.3) Teneur en flavonols

D'après les résultats obtenus dans le tableau III expliquant la teneur en flavonols contenus dans les extraits hydro éthanoliques de feuilles et de bulbe de cette plante étudiée, on remarque que l'extrait de feuilles a une valeur de  $1,88 \pm 0,01$  mg EQ/g d'E de flavonols tandis que l'extrait de bulbe est constitué de  $0,30 \pm 0,01$  mg EQ/g d'E de flavonols.

Les résultats obtenus montrent que les teneurs en flavonols des extraits sont supérieures à la valeur rapportée par Zhishen et *al.*, (1999) et Kim et *al.*, (2003) qui ont enregistré une valeur de 0,14 mg EQ/g d'E sur des extraits méthanoliques de feuilles de *Malva parviflora*. Dans notre étude le solvant utilisé est l'éthanol. Cette variation dépend de la polarité des solvants utilisés dans la préparation des extraits.

### IV.2.4) Teneur en tanins condensés

D'après les résultats illustrés sur le tableau III, on observe que la concentration des tanins condensés des extraits hydroéthanolique de feuilles est de  $3,48 \pm 0,17$  mg EC/g d'E et une valeur de  $9,86 \pm 0,51$ mg EC/g d'E est retrouvée au niveau de l'extrait de bulbe. L'analyse de la variance (Tableau IV, Annexe III) explique qu'il y a une différence significative au niveau des extraits de plante  $p < 0,05$ .

L'extrait hydro-éthanolique de feuilles de *S. maritime* est caractérisé par une teneur en tanins condensés plus faible à celle rapportée par Julkunen-Titto, (1985) qui a trouvé une valeur de 6,73 mg EC/g d'E tandis que L'extrait hydro-éthanolique de bulbe renferme une teneur plus élevée à celle décrite par Julkunen-Titto, (1985). Cette variation s'explique par le fait que l'extraction des tanins condensés, dépend de leur nature chimique, du solvant utilisé et des conditions opératoires. On déduit que le bulbe est plus riche en tanins condensés par rapport aux feuilles de la plante étudiée.

### IV.2.4) Teneur en tanins hydrolysables

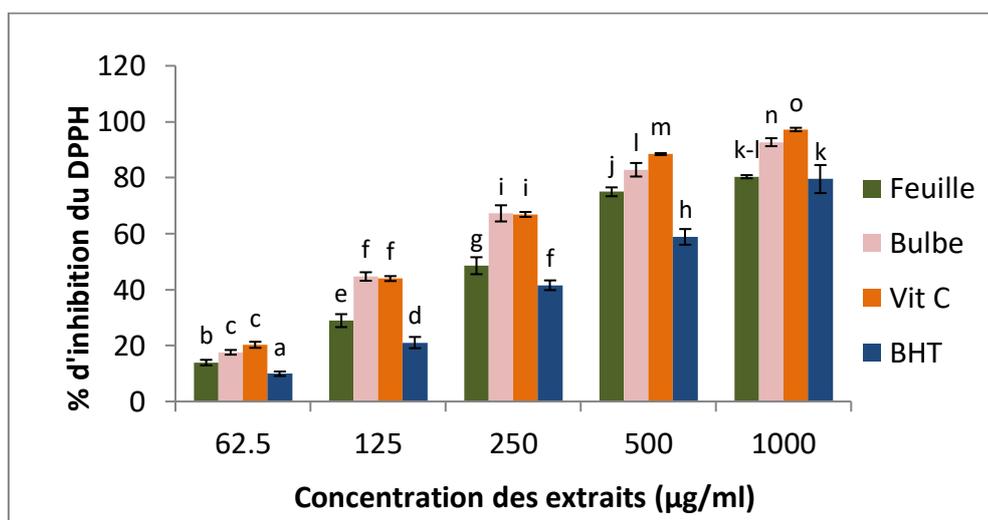
D'après les résultats expérimentaux des teneurs en tanins hydrolysables on remarque une différence significative  $p < 0,05$  (Tableau V, Annexe III). Ces valeurs varient considérablement entre les différents extraits dont l'extrait de feuilles à une valeur de  $23,50 \pm 0,64$  mg EAT/g d'E tandis que l'extrait de bulbe a une teneur de  $7,66 \pm 0,36$  mg EAT/g d'E.

Les résultats obtenus dans le tableau III montrent que la concentration des tanins hydrolysables des extraits sont inférieurs à la valeur rapportée par Jimenez et *al.*, (2014) qui ont enregistré une valeur de 66,72 mg EAT/g d'E à partir d'utilisation le méthanol comme solvant d'extraction. Dans notre étude le solvant utilisé est l'éthanol. Cette différence dépend de la polarité des solvants utilisés dans la préparation des extraits. La présence des tanins suggère la capacité de notre plante à jouer un rôle majeur en tant qu'agent antioxydant.

### IV.3) Evaluation de l'activité anti-oxydante

#### IV.3.1) Test DPPH

Les résultats de test anti-radicalaire (DPPH) réalisé sur les extraits hydro-éthanoliques des feuilles et de bulbe de la plante étudiée en se référant à l'acide ascorbique et la BHT sont expliqués sur la figure 14, montrant les différents pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction des concentrations des différents extraits.



Les valeurs suivies des lettres différentes, sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ).

**Figure 14:** Activité anti-radicalaire (DPPH) des extraits extraits hydro-éthanoliques des feuilles et de bulbe de la *Scille maritime*, d'acide ascorbique et du BHT.

D'après les résultats obtenus, à toutes les concentrations testées, les extraits hydro-éthanoliques des feuilles et de bulbes de la *Scille maritime* ont un pourcentage d'inhibition du radical DPPH différent, plus la concentration des extraits est élevée, plus le pourcentage d'inhibition augmente ce qui signifie que le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est proportionnel à la concentration. Sachant que l'extrait hydro-éthanolique de bulbe a montré une activité supérieure à celle des feuilles. En effet, l'extrait de bulbe atteint presque son

maximum d'activité à 1000 $\mu$ g/ml avec un pourcentage d'inhibition de 92,69 $\pm$ 1,43%, tandis qu'à l'extrait des feuilles, son pourcentage d'inhibition le plus important est de 80,37 $\pm$ 0,56% qui est observé à la concentration de 1000 $\mu$ g/ml.

L'acide ascorbique et la BHT sont utilisés comme molécule de référence, dont l'acide ascorbique a inhibé de 97,22 $\pm$ 0,63% le radical DPPH à concentration de 1000 $\mu$ g/ml, tandis que la BHT a inhibé de 79,51 $\pm$ 5,01% à la même concentration.

Pour mieux comparer les activités des différents extraits testés, IC<sub>50</sub> ont été déterminées (Tableau IV).

**Tableau IV** : Les valeurs d'IC<sub>50</sub> du DPPH.

Echantillon	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ g/ml)
<b>Feuilles</b>	256,58 $\pm$ 9,06 <sup>b</sup>
<b>Bulbe</b>	167,07 $\pm$ 7,96 <sup>a</sup>
<b>Acide ascorbique</b>	156,92 $\pm$ 1,71 <sup>a</sup>
<b>BHT</b>	341,51 $\pm$ 22,61 <sup>c</sup>

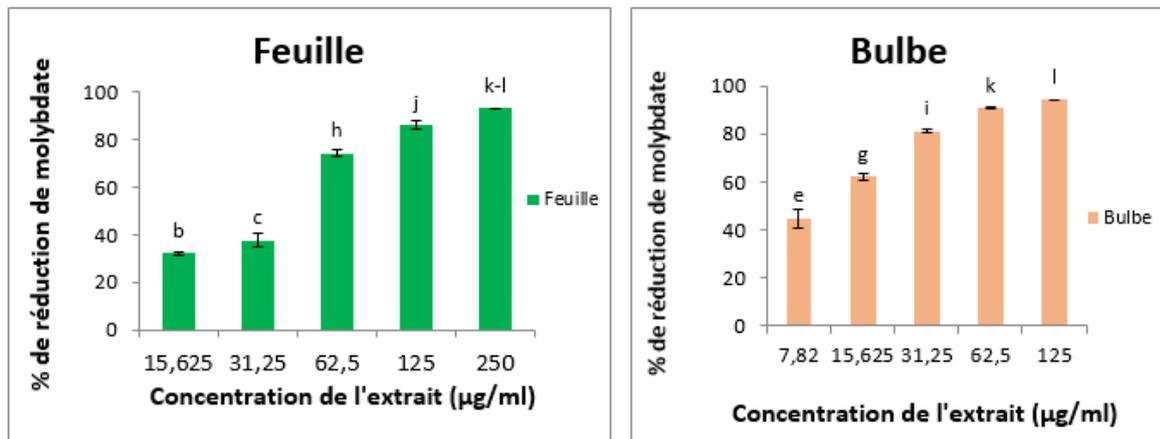
D'après les résultats obtenus, on remarque que les valeurs d'IC<sub>50</sub> de l'extrait de feuilles, de bulbe et d'acide ascorbique ainsi que la BHT sont respectivement égale à 256,58 $\pm$ 9,06 $\mu$ g/ml, 167,07 $\pm$ 7,96 $\mu$ g/ml, 156,92 $\pm$ 1,71 $\mu$ g/ml et 341,51 $\pm$ 22,61 $\mu$ g/ml. Sachant que l'activité la plus forte correspond à la CI<sub>50</sub> la plus faible.

On déduit que l'extrait de bulbe de la *Scille maritime* a une activité anti-oxydante plus forte à celle de l'extrait de feuilles. Pour les molécules de référence, l'acide ascorbique est un bon antioxydant par rapport à la BHT.

D'après l'analyse de la variance nos deux extraits étudiés exhibent une très forte activité anti-radical DPPH par rapport à l'anti-oxydant synthétique étudié qui est le BHT.

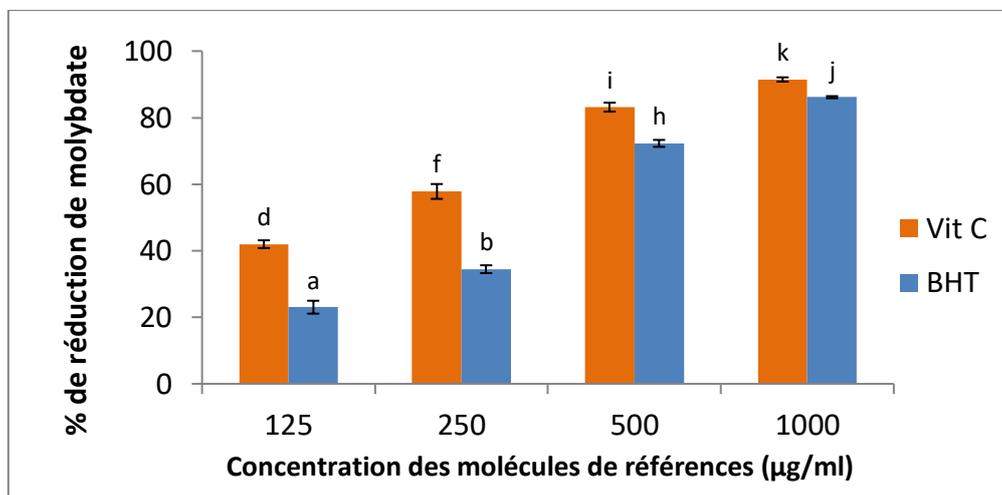
#### IV.3.2) Test du pouvoir réducteur

Les résultats d'évaluation du pouvoir réducteur des extraits hydro-éthanoliques de feuilles et de bulbe ainsi que les standards sont présentés sur les figures ci-dessous.



Les valeurs suivies des lettres différentes, sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ).

**Figure 15 :** Pouvoir réducteur des extraits de feuilles et de bulbe de la *Scille maritime*.



Les valeurs suivies des lettres différentes, sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ).

**Figure 16 :** Pouvoir réducteur des standards.

L'évaluation du pouvoir réducteur des extraits a montré également une meilleure activité de l'extrait de bulbe par rapport à celui des feuilles comme le montre la Figure 15. En effet, l'extrait hydro-éthanolique de bulbe, aux concentrations de 7,82 ; 15,62 ; 31,25 ; 62,5 ; 125 µg/ml a donné des pouvoirs réducteurs respectifs de  $44,97 \pm 3,86\%$  ;  $62,35 \pm 1,39\%$  ;  $81,17 \pm 0,89\%$  ;  $90,84 \pm 0,05\%$  et  $94,15 \pm 0,12\%$ . Aux concentrations de 15,62 ; 31,25 ; 62,5 ; 125 et 250 µg/ml pouvoirs réducteurs respectifs de  $32,10 \pm 0,99\%$  ;  $37,79 \pm 2,80\%$  ;  $74,13 \pm 1,30\%$  ;  $86,09 \pm 1,60\%$  et  $92,95 \pm 0,10\%$  ont été observés pour l'extrait hydro-éthanolique des feuilles ce qui indique que le pouvoir réducteur de nos extraits ainsi que des standards est proportionnel à la concentration.

Un fort pouvoir réducteur a été noté avec l'acide ascorbique comme une molécule de référence avec des valeurs de l'ordre de  $41,97 \pm 1,17\%$  ;  $57,82 \pm 2,23\%$  ;  $83,16 \pm 1,34\%$  et  $91,47 \pm 0,65\%$  respectivement pour les concentrations de 125 ; 250 ; 500 ; 1000  $\mu\text{g/ml}$  par rapport à la BHT qui a donné des pouvoirs réducteurs respectifs de  $23,03 \pm 1,94\%$  ;  $34,45 \pm 1,18\%$  ;  $72,27 \pm 1,04\%$  et  $86,15 \pm 0,32\%$  aux mêmes concentrations avec l'acide ascorbique (Figure 16).

Pour savoir quel extrait ayant une forte activité anti-oxydante,  $\text{IC}_{50}$  a été déterminé (tableau V).

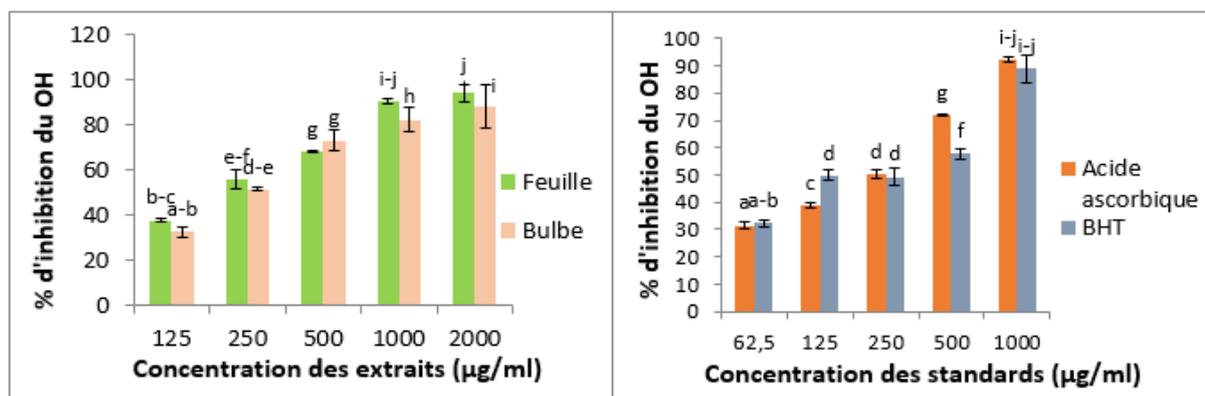
**Tableau V** : Les résultats de la concentration inhibitrice à 50% pour le pouvoir réducteur..

Echantillon	$\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )
Feuilles	$34,44 \pm 0,75^b$
Bulbe	$8,11 \pm 0,91^a$
Acide ascorbique	$168,45 \pm 3,96^c$
BHT	$312,73 \pm 7,09^d$

Selon nos résultats de l'analyse statistique des  $\text{IC}_{50}$  les extraits de feuille, de bulbe ainsi que les deux molécules de référence étudiées montrent une différence significative ( $p < 0,05$ ). Concernant l'activité anti-oxydante (tableau V), On déduit que l'extrait hydro-éthanolique de bulbe de *S. maritime*, présente une très forte capacité de réduire le molybdate (pouvoir réducteur) par rapport à l'extrait des feuilles et des deux standards utilisés dans cette étude (BHT et Vit C) avec une très faible  $\text{IC}_{50}$ .

#### IV.3.3) Test du OH

La figure ci-dessous présente les résultats du test OH effectué sur les extraits hydro-éthanoliques des feuilles et de bulbe de *S. maritime* en utilisant l'acide ascorbique et la BHT comme des molécules de référence. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition du OH en fonction de la concentration des extraits.



Les valeurs suivies des lettres différentes, sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ).

**Figure 17 :** Effet scavengeur du radical hydroxyle des extraits des feuilles et de bulbe de la *Scille maritime*.

D'après les résultats illustrés dans la figure ci-dessus, on constate que le pourcentage d'inhibition du radical OH par les extraits de feuilles, de bulbe et les standards augmente avec l'augmentation de la concentration. En effet, l'extrait des feuilles, son activité la plus importante est enregistrée à la concentration de 2000µg/ml avec un pourcentage d'inhibition de  $93,97 \pm 3,99\%$ , tandis que l'extrait de bulbe, son pourcentage d'inhibition le plus important est de  $88,22 \pm 9,43\%$  qui est observé à la même concentration. Concernant les molécules de référence, on remarque que l'acide ascorbique à la concentration 1000µg/ml a noté une valeur de  $92,09 \pm 0,92\%$  qui est plus élevée à celle donnée par la BHT dont la valeur est de  $88,83 \pm 4,92\%$  à la même concentration.

Une concentration d'inhibition  $IC_{50}$  a été évaluée pour déduire l'extrait ayant une activité plus efficace (Tableau VI).

**Tableau VI:** Détermination de la concentration inhibitrice à 50% pour le test OH.

Echantillon	$IC_{50}$ (µg/ml)
Feuilles	$202,43 \pm 11,66^a$
Bulbe	$235,11 \pm 15,27^b$
Acide ascorbique	$182,96 \pm 5,39^a$
BHT	$181,93 \pm 11,36^a$

D'après les résultats représentés dans le tableau VI, on observe que les valeurs d'IC<sub>50</sub> de l'extrait de feuilles, de bulbe et d'acide ascorbique ainsi que la BHT sont respectivement égale à 202,43±11,66µg/ml, 235,11±15,27µg/ml, 182,96±5,39µg/ml et 181,93±11,36µg/ml. Sachant que l'activité la plus élevée correspond à CI 50 la plus faible.

En comparant entre les deux extraits de plante, on constate que la concentration d'inhibition des feuilles est inférieure à celle de bulbe et une légère différence entre l'acide ascorbique et la BHT. On déduit que l'extrait des feuilles a une activité plus forte que l'extrait de bulbe.

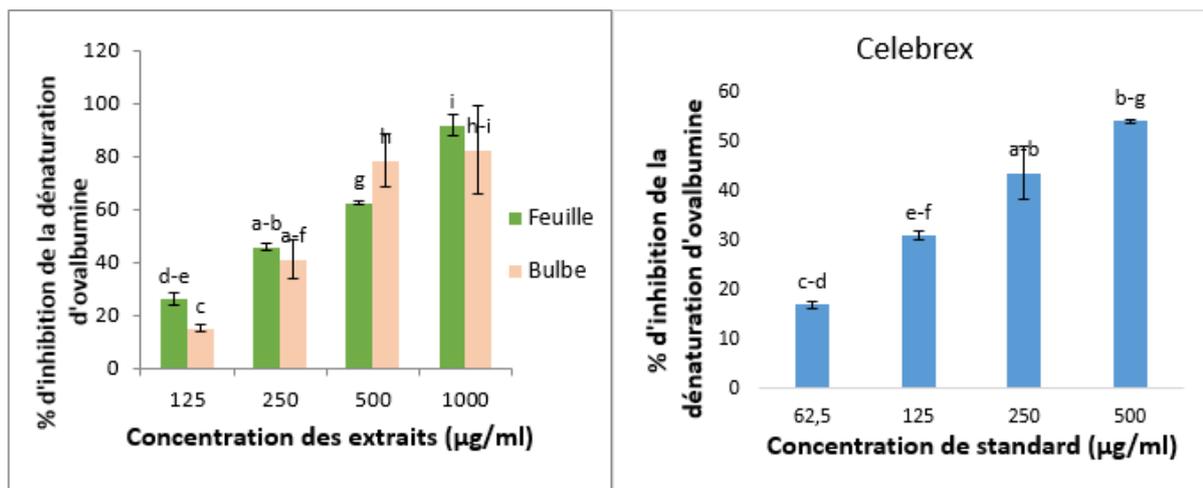
Concernant l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de plante de *Scille maritime*, ces résultats suggèrent que les extraits ont une capacité considérable de réagir avec les radicaux libres pour les convertir en espèces non réactives et interrompre la chaîne de réactions radicalaires. D'après les trois tests réalisés sur cette plante, on constate que l'activité antioxydante de bulbe est plus forte que celle des feuilles. Cette activité peut être due à leurs teneurs en composés phénolique qui jouent un rôle antioxydant décrit par Fernandez et *al.*, (1975).

#### IV.4) Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

##### IV.4.1) Test d'inhibition de la dénaturation de la protéine ovalbumine

L'activité anti-inflammatoire de la *Scille maritime* a été déterminée par la méthode d'inhibition de la dénaturation thermique des protéines, décrite par Karthik et *al.*, (2013).

La figure ci-dessous représente la variation du pourcentage d'inhibition de la dénaturation thermique d'ovalbumine en fonction des différentes concentrations en extrait. Ces résultats sont comparés à ceux enregistrés pour l'anti-inflammatoire de référence Celebrex.



Les valeurs suivies sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ).

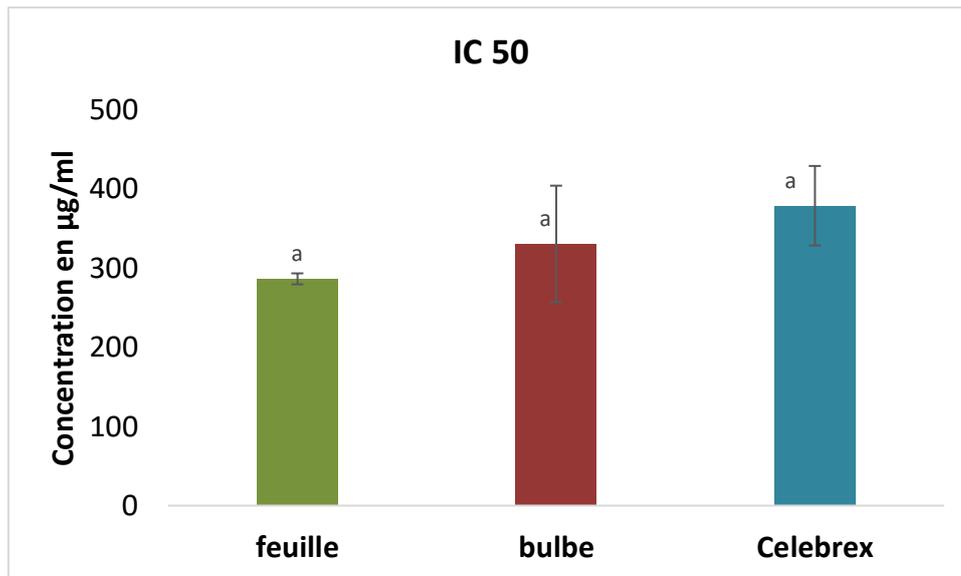
**Figure 18:** Résultats du test d'inhibition de la dénaturation de l'ovalbumine par des extraits des feuilles et de bulbe ainsi que le standard Celebrex.

Les résultats que nous avons enregistrés montrent que Celebrex exprime des pourcentages d'inhibition allant de  $17,08 \pm 0,68$  à  $54,33 \pm 0,34\%$  à des concentrations variant de 62,55 à  $500 \mu\text{g/ml}$ . Comparant, les valeurs d'inhibition pour l'extrait hydro-éthanolique des feuilles à des concentrations allant de 125 à  $1000 \mu\text{g/ml}$  sont variées de  $26,14 \pm 2,49$  à  $91,61 \pm 3,84\%$  tandis que l'extrait de bulbe a donné des pourcentages d'inhibition de la dénaturation d'ovalbumine allant de  $14,86 \pm 1,29$  à  $82,32 \pm 16,82\%$  aux mêmes concentrations avec les feuilles.

Par rapport aux travaux de Moualek et *al.*, (2016) qui a trouvé un pourcentage d'inhibition de  $74,28 \pm 0,86\%$  à  $1000 \mu\text{g/ml}$ , nos deux extraits présentent une inhibition de dénaturation relativement supérieure.

Cependant, nos extraits présentent des pourcentages d'inhibition plus importants par rapport à celle rapportée par Kalavani et *al.*, (2016) qui a enregistré une valeur de  $62,80\%$  à une concentration de  $1000 \mu\text{g/ml}$ .

La concentration inhibitrice à 50% pour l'ovalbumine a été calculée comme montré sur la figure ci-dessous.

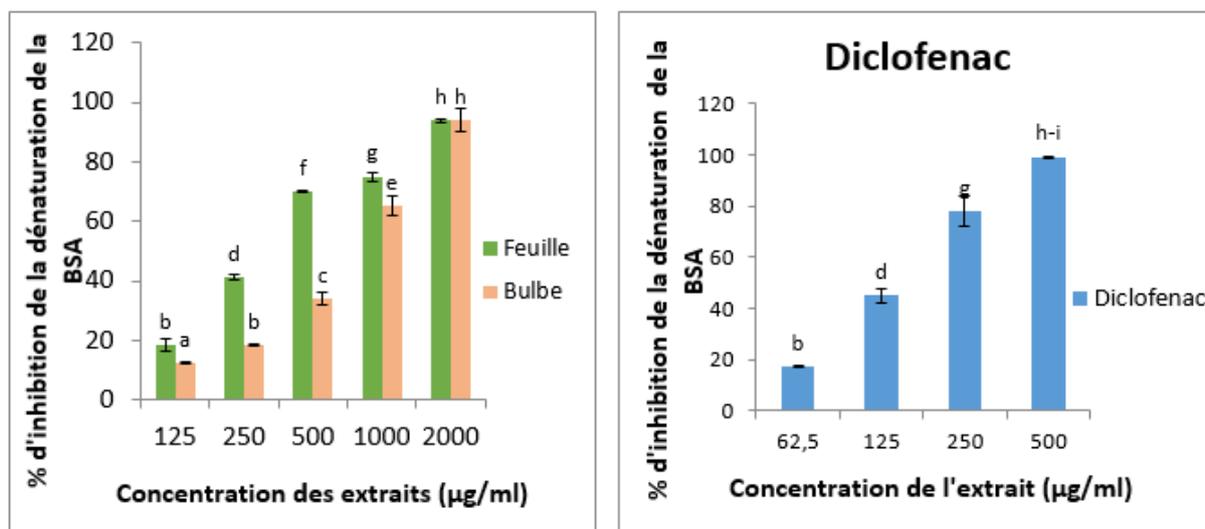


**Figure 19** : La concentration inhibitrice à 50% pour l'ovalbumine.

Selon la figure 19, la concentration inhibitrice à 50% des extraits des feuilles, de bulbe et de la molécule de référence celebrex sont respectivement égale à  $286,41 \pm 6,95 \mu\text{g/ml}$ ,  $330,39 \pm 73,68 \mu\text{g/ml}$  et  $378,77 \pm 50,18 \mu\text{g/ml}$ . D'après ces valeurs, on distingue que l'extrait hydro-éthanolique de feuille est caractérisé par une concentration inhibitrice inférieure par rapport aux autres extraits. On déduit que l'extrait des feuilles a une forte activité anti-inflammatoire.

D'après ces résultats, l'extrait hydro-éthanolique de *S. maritime* contribuerait à l'inhibition de la dénaturation des protéines. Il serait donc capable d'inhiber la production d'auto- antigènes protéiques induisant une réponse immunitaire et participant ainsi à l'entretien de l'inflammation ce qui a pour incidence de nombreuses maladies inflammatoires (Sharma et *al.*, 2011 ; Habibur et *al.*, 2015).

## IV.4.2) Test d'inhibition de la dénaturation de la BSA



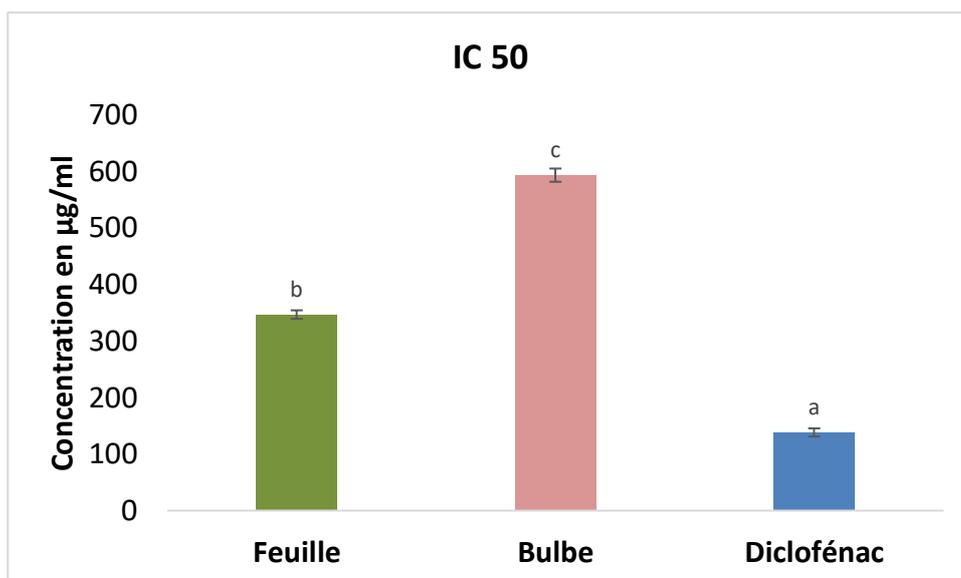
Les valeurs suivies sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ).

**Figure 20:** Résultats du test d'inhibition de la dénaturation de la BSA par des extraits des feuilles et de bulbe ainsi que le standard diclofenac.

La figure 20 illustre le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de la BSA par les extraits hydro-éthanoliques de feuilles et de bulbe ainsi que le diclofenac selon les différentes concentrations.

D'après les résultats obtenus, nous avons constaté que les pourcentages d'inhibition de dénaturation de la BSA varient respectivement de  $18,39 \pm 2,02\%$  à  $93,77 \pm 0,56\%$  pour les feuilles et  $12,55 \pm 0,28\%$  à  $93,93 \pm 3,84\%$  pour le bulbe dans une gamme de concentrations allant de  $125 \mu\text{g/ml}$  à  $2000 \mu\text{g/ml}$ . Concernant le diclofenac, nous avons enregistré des valeurs variées de  $17,48 \pm 0,26\%$  à  $99,24 \pm 0,30\%$  dans une gamme de concentrations allant de  $62,5 \mu\text{g/ml}$  à  $500 \mu\text{g/ml}$ . On déduit que l'évolution du degré d'inhibition de la dénaturation de la protéine BAS augmente avec l'augmentation de la concentration des extraits hydro-éthanoliques.

La figure ci-dessous montre les résultats d' $IC_{50}$  des extraits hydro-éthanoliques des feuilles et de bulbe ainsi que le standard diclofenac.



**Figure 21:** Détermination de la concentration inhibitrice à 50% pour la BSA.

D'après les résultats obtenus, on observe que les valeurs d'IC<sub>50</sub> de l'extrait de feuilles, de bulbe et le diclofenac sont respectivement égales à 346,65±7,55µg/ml, 593,13±11,69µg/ml et 138,28±7,21µg/ml. En comparant entre les deux extraits de plante on constate que l'extrait de feuilles a une concentration d'inhibition à 50% plus faible à celle de bulbe, ce qui signifie que l'extrait des feuilles a une activité plus forte que l'extrait de bulbe.

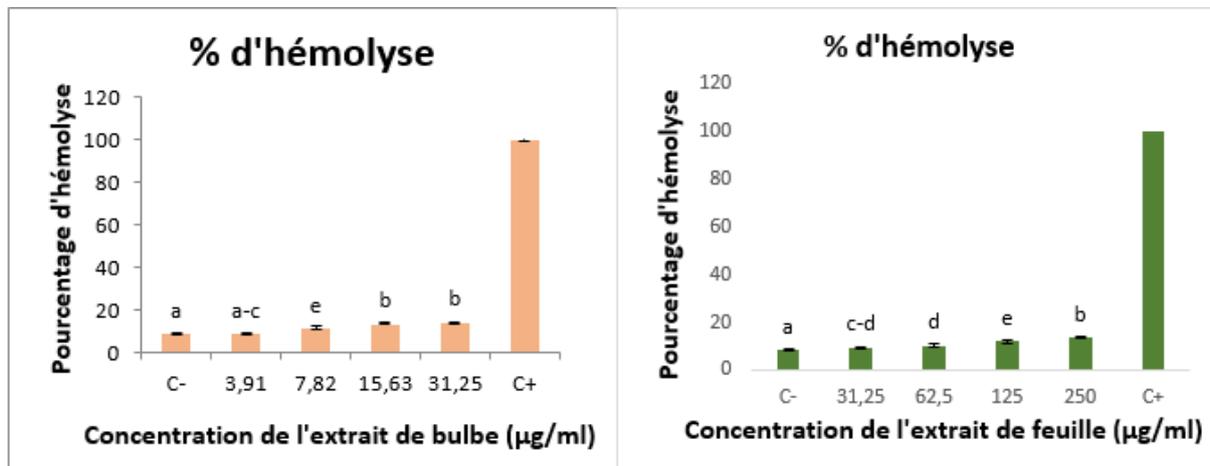
La dénaturation des protéines est parmi les causes de l'inflammation (**Bagad et al., 2011**). La production d'auto-antigènes dans les maladies inflammatoire peut être due à la dénaturation des protéines. D'après ces résultats, on déduit que les extraits de plante étudiée sont capables de contrôler la production d'auto-antigène par l'inhibition de la dénaturation des protéines. L'activité inhibitrice de la dénaturation de la BSA est peut être attribuée a la présence de différents composés bioactifs tels que les flavonoïdes et les tannins dans les extraits trouvés lors des criblages phytochimiques (**Sofowora, 1993**).

On conclure que les extraits hydro-éthanoliques des feuilles et de bulbe de la *S. maritime* possèdent un effet anti-inflammatoire marqué contre la dénaturation des protéines.

#### IV.4.3) Test cytotoxicité

Le test de la cytotoxicité a été réalisé sur la *Scille maritime* pour déterminer si notre plante possède un effet toxique sur les globules rouges. La figure 23 montre les résultats d'hémolyse par rapport aux différentes concentrations des extraits hydro-éthanoliques de la plante étudiée.

Les valeurs obtenues sont évaluées en se référant au contrôle positif (GR avec solution hypotonique) et au contrôle négatif (GR avec PBS).



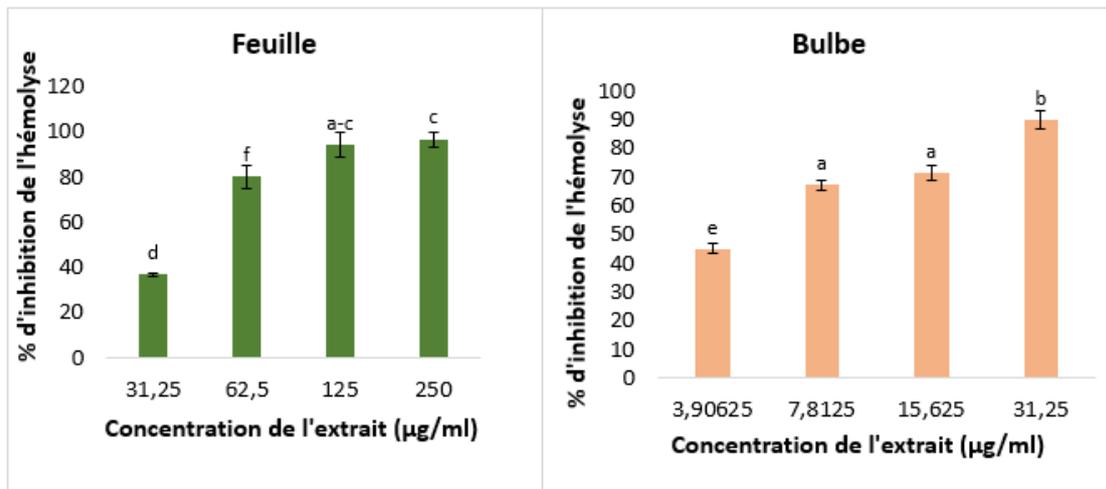
Les valeurs suivies sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ).

**Figure 22 :** Pourcentage d'hémolyse des hématies par les extraits des feuilles et de bulbe de la *Scille maritime*.

D'après les résultats obtenus, on remarque que l'extrait hydro-éthanolique de feuilles présente une activité hémolytique modérée, allant de  $9,52 \pm 0,43\%$  à  $13,64 \pm 0,43\%$  avec des concentrations sont respectivement égales à  $31,25 \mu\text{g/ml}$  à  $250 \mu\text{g/ml}$  tandis que le bulbe possède une activité hémolytique allant de  $8,59 \pm 0,61\%$  à  $14,11 \pm 0,31\%$  avec des concentrations de  $3,91 \mu\text{g/ml}$  à  $31,25 \mu\text{g/ml}$ . La lyse des érythrocytes est proportionnelle à l'augmentation de la concentration des extraits. En comparant avec les travaux de Gangwar et al. (2014) qui a trouvé une hémolyse de 14% à la concentration de  $100 \mu\text{g/ml}$ , cette valeur est considéré comme non hémolytique et cet effet protecteur pourrait être attribué aux composés phénoliques.

#### IV.4.4) Test anti-hémolytique

Afin d'évaluer l'effet anti-hémolytique des extraits hydro-éthanoliques de la *Scille maritime*, un test de stabilisation membranaire de globules rouges humains a été réalisé. La figure 23 représente le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse en fonction de différentes concentrations.



Les valeurs suivies sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ).

**Figure 23 :** Inhibition de l'hémolyse par les extraits des feuilles et de bulbe de la *Scille maritime*.

Un milieu hypotonique est un milieu dont la pression osmotique est plus faible que la pression intracellulaire; ce déséquilibre induit une diffusion de l'eau vers l'intérieur de la cellule (milieu hypertonique) à travers la membrane.

La pénétration massive d'eau dans l'hématie entraîne son gonflement puis son éclatement et la libération de son contenu cytoplasmique notamment l'hémoglobine c'est le phénomène d'hémolyse. Ce dernier est observé à des concentrations en NaCl inférieures à 0,9%.

D'après les résultats expliqués sur la figure 24, les érythrocytes traités avec des différentes concentrations sont respectivement 31,25 ; 62,5 ; 125 et 250µg/ml de l'extrait hydro-éthanolique de feuilles ont montré un effet anti-hémolytique de  $36,75 \pm 0,74\%$ ,  $79,91 \pm 4,85\%$ ,  $94,02 \pm 5,34\%$  et  $96,58 \pm 3,23\%$  respectivement. Tandis que l'extrait hydro-éthanolique de bulbe à des concentrations sont égales à 3,91, 7,81, 15,63 et 31,25µg/ml a présenté des pourcentages de  $44,91 \pm 1,61\%$ ,  $67,02 \pm 1,61\%$ ,  $71,23 \pm 2,65\%$  et  $89,82 \pm 3,22\%$  respectivement. A la concentration de 31,25µg/ml, on remarque que l'extrait de bulbe a une activité anti-hémolytique plus élevé à celle des feuilles.

En comparant avec les résultats de Moualek et al (2016) qui a enregistré le maximum de pourcentage d'inhibition est de 76,46%, on constate que notre valeur est supérieure à la valeur trouvée.

La concentration inhibitrice à 50% a été déterminée pour le test anti-hémolytique par les extraits hydro-éthanoliques de la *Scille maritime*, les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau VII** : La concentration inhibitrice à 50% pour le test anti-hémolytique.

Echantillon	IC 50( $\mu\text{g/ml}$ )
Feuille	$33,85 \pm 1,66^b$
Bulbe	$4,46 \pm 0,33^a$

Selon le tableau VII, on remarque que l'extrait hydro-éthanolique de bulbe a une concentration inhibitrice à 50% de  $4,46 \pm 0,33 \mu\text{g/ml}$  tandis qu'une valeur de  $33,85 \pm 1,66 \mu\text{g/ml}$  a été noté par l'extrait de feuille ce qui indique que l'extrait de bulbe possède une activité plus forte à celle de feuilles.

Il a été démontré que l'incorporation des composés phénoliques notamment les flavonoïdes dans la membrane des érythrocytes améliore la stabilité de ces dernières contre la lyse des globules rouges (Shobana *et al.*, 2016).

Les résultats enregistrés ont montrés que le pourcentage d'inhibition le plus élevé reflète une meilleur stabilisation membranaire. On déduit que la *Scille maritime* est caractérisée par un effet inhibiteur de l'hémolyse qui suggère une forte activité anti-inflammatoire.



***CONCLUSION***

Les extraits naturels issus des plantes contiennent une variété de composés phénoliques qui possède des propriétés anti-oxydantes et anti-inflammatoires.

Notre travail est porté sur l'évaluation de l'activité anti-oxydante et anti-inflammatoire des extraits éthanoliques de bulbe et des feuilles de la *Scille maritime* utilisée en médecine traditionnelle pour lutter contre différentes maladies.

Différents tests ont été réalisés tels que le dosage des composés phénoliques qui a montré que les extraits éthanoliques de la *Scille maritime* possèdent une teneur importante en ces métabolites bioactifs et que l'extrait des feuilles est plus riche par rapport au bulbe avec des valeurs de  $8,89 \pm 0,32$  (mg eq AG/g d'E) en polyphénols,  $43,44 \pm 0,20$  (mg eq Q/g d'E) en flavonoïdes,  $1,88 \pm 0,01$  (mg eq Q/g d'E) en flavonols,  $3,48 \pm 0,17$  (mg eq C/g d'E) en tanins condensés et  $23,50 \pm 0,64$  (mg eq AT/g d'E) en tanins hydrolysables.

Concernant l'activité anti-inflammatoire, a été évaluée par le test d'inhibition de la dénaturation protéique de l'ovalbumine, la BSA et l'effet anti-hémolytique causé par un milieu hypotonique. Pour l'activité antioxydante a été déterminée par trois tests à savoir le test du DPPH, le test du pouvoir réducteur et le test du OH qui ont montré que les extraits éthanoliques de plante possèdent des pourcentages d'inhibition important.

Dans notre étude, nous avons testé la cytotoxicité de notre extrait à partir d'utilisation des globules rouges. La sensibilité érythrocytaire a été relevée à différentes concentrations en extrait. Les résultats ont montré que les extraits de plante ne provoquent qu'une hémolyse modérée.

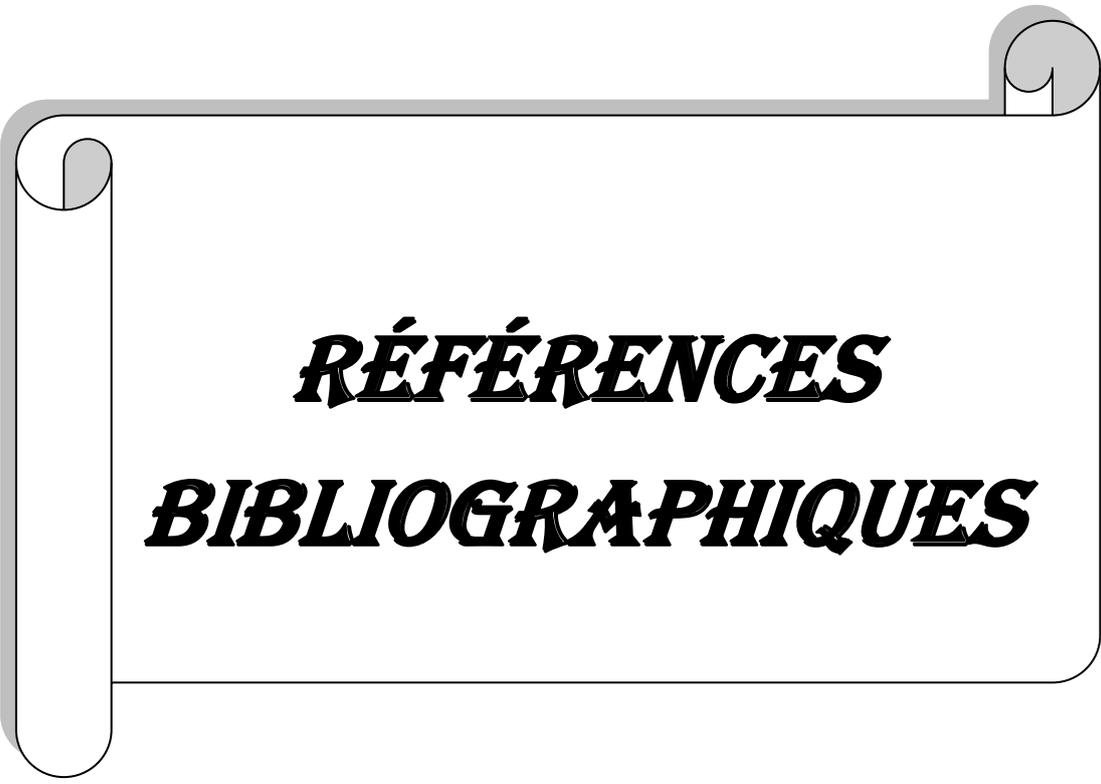
En ce qui concerne l'activité anti-hémolytique, les résultats montrent que les extraits éthanoliques sont caractérisés par un effet inhibiteur de l'hémolyse induite par un stress hypotonique ce qui signifie une meilleure stabilisation de la membrane des globules rouges.

On conclure, la *Scille maritime* est une plante médicinale riche en métabolites secondaire ce qui les confère une valeur thérapeutique et médicinale importante.

En perspectives, des études complémentaires sont nécessaires pour comprendre les mécanismes moléculaires et cellulaires de ces effets anti-inflammatoires et anti-hémolytiques. Ces études doivent être orientées vers l'identification qualitative et quantitative des composés phénoliques présents dans cet extrait par des techniques analytiques plus performantes telles que la HPLC et la Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de

masse. Et d'étudier d'autres test anti-oxydant tel que le FRAP, l'inhibition du blanchiment de la B-carotène, l'inhibition de la peroxydation lipidique....ect, aussi de rajouter d'autres tests anti-inflammatoire tels que l'inhibition des enzymes COX1, COX2 et LOX.....etc, et d'autres effets thérapeutiques (anti-cancéreux, anti- inflammatoire sur culture cellulaire...etc).

Pour une meilleure compréhension du mode d'action des dérivés polyphénoliques présents dans les extraits de fleurs et de bulbe étudiées, il serait souhaitable d'évaluer *in vitro* et *in vivo* l'activité antioxydant et anti-inflammatoire de chacun des composés actifs (molécules pures) présents dans ces extraits. Ceci permettrait alors de mettre en évidence le principe actif des extraits de plante et/ou une éventuelle synergie entre les différents composés phénolique.



***RÉFÉRENCES***  
***BIBLIOGRAPHIQUES***

## Références bibliographiques

### B

- **Bachy E., Houot R. et Dony A. (2015).** Hématologie adulte et pédiatrique, Onco Hématologie (Ellipses) 9,44-46.
- **Baskaran, C., & Ratha-bai, B. (2013).** Green synthesis of silver nanoparticles using *Coleus forskohlii* roots extract and its antimicrobial activity against bacteria and fungus. *International Journal of Drug Development and Research*, 5(1), 114-119.
- **Beris, P., & Picard, V. (2015, October).** Non-immune hemolysis: diagnostic considerations. In *Seminars in hematology* (Vol. 52, No. 4, pp. 287-303). WB Saunders.
- **Bossu CM, Ferreira EC, Chaves FS, Menezes EA, Nogueira ARA.** Flow injection system for hydrolysable tannin determination. *Microchemical journal*. 2006;84(1):88-92
- **Boukhatem, M. N., Sudha, T., Darwish, N. H. E., Nada, H. G., et Mousa, S. A. (2022, May).** Essence aromatique du Géranium Odorant (*Pelargonium graveolens* L'Hérit.) d'Algérie: Exploration des propriétés antioxydante, anti-inflammatoire et anticancéreuse (anti-angiogénique et cytotoxique), in vitro et in ovo, vis-à-vis de différentes lignées cellulaires cancéreuses métastatiques. In *Annales Pharmaceutiques Françaises* (Vol. 80, No. 3, pp. 383-396). Elsevier Masson.
- **Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed Tech. Doc, France, 721-742p.

### C

- **Cronquist arthur. (1981).** An integrated system of classification of flowering plants.

### F

- **Fernandez, M., Vega, F. A., Arrupe, T., & Renedo, J. (1972).** Flavonoids of squill, *Urginea maritima*.

### G

- **Gaignault JC & Bidet D (1988).** Hétérosides cardiotoniques. 35 siècles d'histoire. *Fitothérapie* vol LIX, n°4, p 263-267.
- **Gentry H.S., Verbiscar A.J. & Banigan T.F. (1987).** Red squill (*Urgine maritima*, Liliaceae). *Economic Botany*. 41: 267-282.
- **Ghedadba N, Bousselsela H, Hambaba L, Benbia S, Mouloud Y. (2014).** Évaluation de

l'activité antioxydante et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuries de marrubium vulgare L.

- **Goudable, J., & Favier, A. (1997).** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition clinique et métabolisme*, 11(2), 115-120.
- **GRAIT, S. (2015).** *Etude du pouvoir antioxydant d'une plante médicinale (Urginea maritima L)* (Doctoral dissertation).

## H

- **Hammiche Victoria, merad rachida, azzouz Mohamed.** (2013). Plantes toxique à usage médicinal du pourtour méditerranéen page 227-231.

## J

- **Joly arnaud.** (le 11 juin 2010). Intoxication digitalique non médicamenteuse : un risque non négligeable.

## K

- **Karthik K., Kumar B. R. P., Priya V. R., Kumar S.K. et Rathore R.S. B. (2013).** Evaluation of anti-inflammatory activity of canthium parviflorum by in- vitro method. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology*, 2320 – 3471.
- **Kazemi Rad, H., Memarzia, A., Amin, F., & Boskabady, M. H. (2021).** Relaxant Effect of Urginea maritima on Tracheal Smooth Muscle Mediated by the Effect on Beta-2 Adrenergic, Muscarinic Receptors and Calcium and Potassium Channels. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021(1), 6637990.

## L

- **Laib, I., Kehal, F., Arris, M., Maameri, M. I., Lachlah, H., Bensouici, C., ... et Barkat, M. (2021).** Effet de la digestion gastro-intestinale in vitro sur les composés phénoliques et l'activité antioxydante du thé vert Camellia sinensis L. issu de l'agriculture biologique. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 35(3), 212-221.
- **Lippi G., Avanzini P., Pavesi F., Bardi M., Ippolito L., Aloe R. et Favaloro E.J. (2011).** Studies on in vitro hemolysis and utility of corrective formulas for reporting results on hemolyzed specimens. *Biochimica medica*: 21, 297-305.

## M

- **Marc Fr., Davin A., Deglène-Benbrahim L., et Ferrand C. (2004)** Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *Erudit*, M/S: médecine

sciences. 20(4), 458-463.

- **Masengo, C. A., Ngbolua, J. P. K. T. N., Omeonga, S. L., Nzuzi, N. P., Ilumbe, G. B., et Mpiana, P. T. (2023).** Étude phytochimique et évaluation de l'activité anti-radicalaire, anti-inflammatoire, anti-drépanocytaire et cytotoxique des feuilles de *Lippia multiflora* Moldenke (Verbenaceae). *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 11(3), 303-312.
- **Migdal, C., & Serres, M. (2011).** Reactive oxygen species and oxidative stress. *Medecine Sciences: M/S*, 27(4), 405-412.
- **Mira, L., Tereza Fernandez, M., Santos, M., Rocha, R., Helena Florêncio, M., & Jennings, K. R. (2002).** Interactions of flavonoids with iron and copper ions: a mechanism for their antioxidant activity. *Free radical research*, 36(11), 1199-1208.
- **Mohamed Djamel Miaraa,b , Hamdi Bendif c,d, Khellaf Rebbas c, Bounar Rabah , Mohammed Ait Hammoua , Filippo Maggie,** journal of Herbal Medicine 16 (2019) 100262

## O

- **Ortega N., Dona I., Moreno E., Audicana M.T., Barasona M.J., Berges-gimeno M.P., Blanca-lopez N., Lobera T., Padial A., Rosado A. et Torres M.J. (2014).** Practical guidelines for diagnosing hypersensitivity reactions to nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 24 (5); 308-323
- **Ouédraogo, N., Lompo, M., Sawadogo, R. W., Tibiri, A., Hay, A. E., Koudou, J., et Guissou, I. P. (2012).** Étude des activités anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique des décoctés aqueux des feuilles et des racines de *Pterocarpus erinaceus* Poir.(Fabaceae). *Phytothérapie*, 10(5), 286-292.

## P

- **Pascual-Villalobos, M. J., & Fernandez, M. (1999).** Insecticidal activity of ethanolic extracts of *Urginea maritima* (L.) Baker bulbs. *Industrial crops and products*, 10(2), 115-120.
- **Prieto, P., Pineda, M., & Aguilar, M. (1999).** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal. Biochem*, 269, 337 – 341.

## Q

- **Quettier-Deleu C, Gressier B, Vasseur J, Dine T, Brunet C.** Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *Ethnopharmacol.* 2000;72:35–42.
- **Quezel, P., & Santa, S. (1962).** New flora of Algeria and southern desert regions.

## R

- **R.Julkunen-Titto,** "Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics" *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1985, Vol. page : 213.

## S

- **Sanchez-Moreno C., Larrauri J.A., et Saura-calixto F. (1998).** A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal Science Technology International.* 8, 121-137.
- **Shobana, S., & Vidhya, R. (2016).** Evaluation of in vitro hemolytic activity of different parts of *abutilon indicum* (Linn.). *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(5), 1182–1196.
- **Siddhuraju, P., & Becker, K. (2007).** The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seed extracts. *Food chemistry*, 101(1), 10-19.
- **Sofowora A.** Medicinal plants and traditional. Ibadan Nigeria: Medicine in Africa Spectrum books Ltd; 1993. p. 289.
- **Sonar K. et Purohit D. (2016).** Therapeutic effect of flavonoids as anti-inflammatory agents. *World journal of pharmacy and pharmaceutical science.* Volume 5; 2278 – 4357.
- **Sonar, K., & Purohit, D. (2016).** Therapeutic effect of flavonoids as anti-inflammatory agents. *WJPPS*, 5(12), 532-43.

## T

- **Tadhani, M.B., Patel, V.H., et Subhash, R., 2007.** In vitro antioxidant activities of *Stevia rebaudiana* leaves and callus. *Journal of Food Composition and Analysis.* 20, 323-329.
- **Tanoh, S. K., N'Gaman-Kouassi, C., Boa, D., Mamyrbekova-Békro, J. A., et Békro, Y. A. (2019).** Activité antioxydante des extraits bruts hydroéthanoliques et

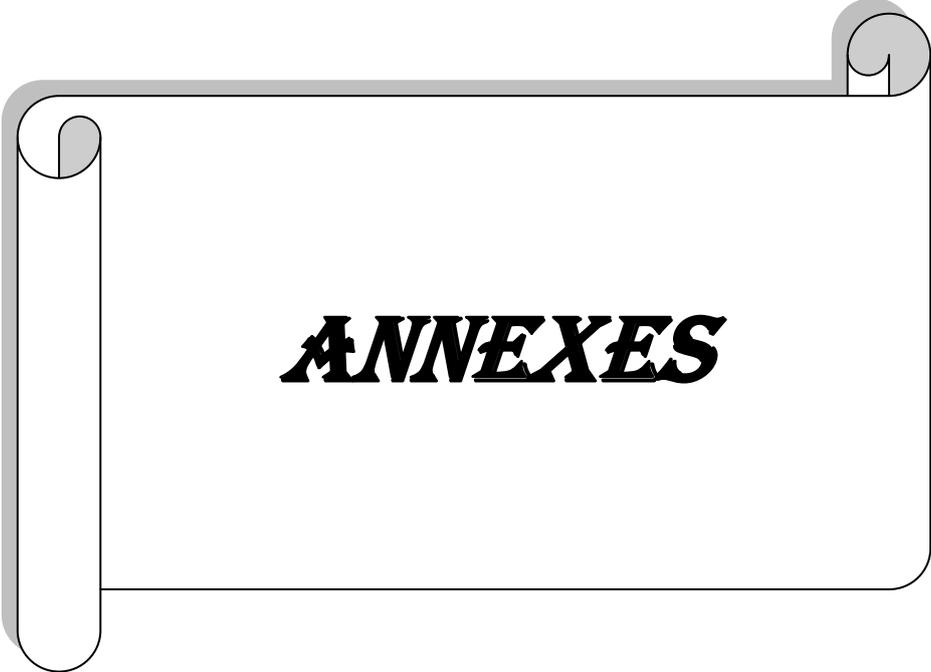
hydroacétoniques des organes de quatre plantes de Côte d'Ivoire médicinales. *Nature et Technology*, (21), 28-34.

## V

- **Venkata N., Ramesh T., Sudhakara P., Sandeep B. Et Divakart. (2016).** Evaluation of Anti hemolytic activity, antibacterial activity and phytochemical investigation of *Acalypha indica* methanolic leaf extract. p18.
- **Vernon LS, Orthofer R, Raventos LRM.** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* 1999;299:152–78.

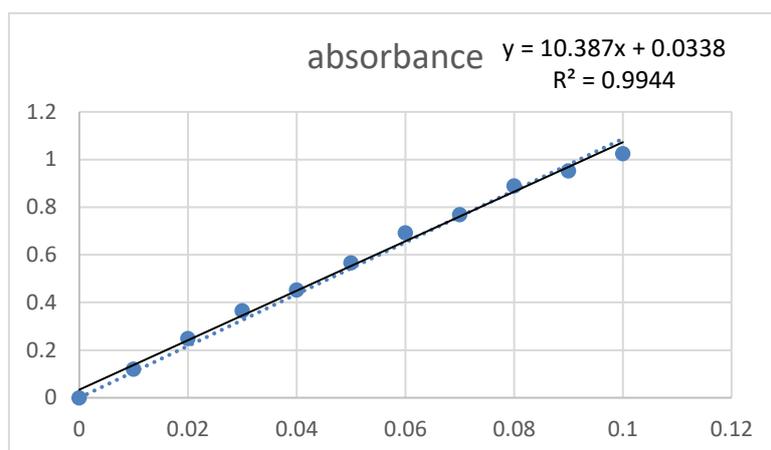
## W

- **Weill B., Batteux F. et Dhainaut J. (2003).** Immun-pathologies et réactions Inflammatoires. Editions de Boeck, Paris. 12-23p.

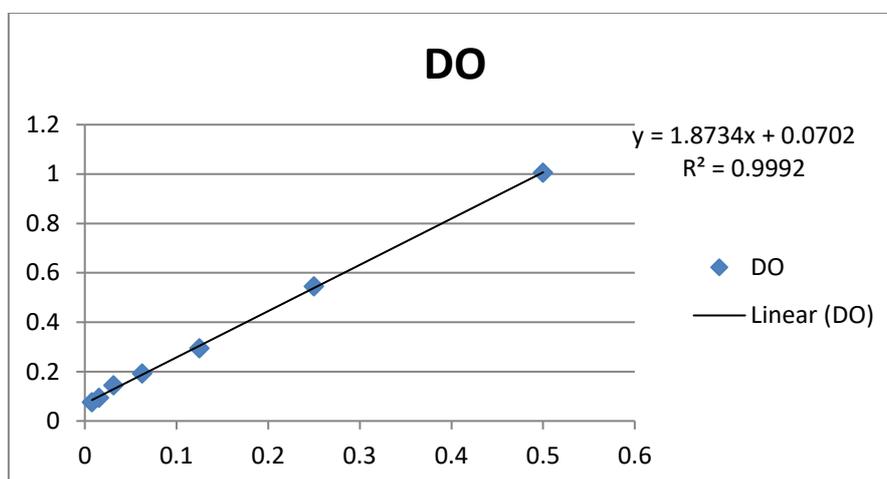


***ANNEXES***

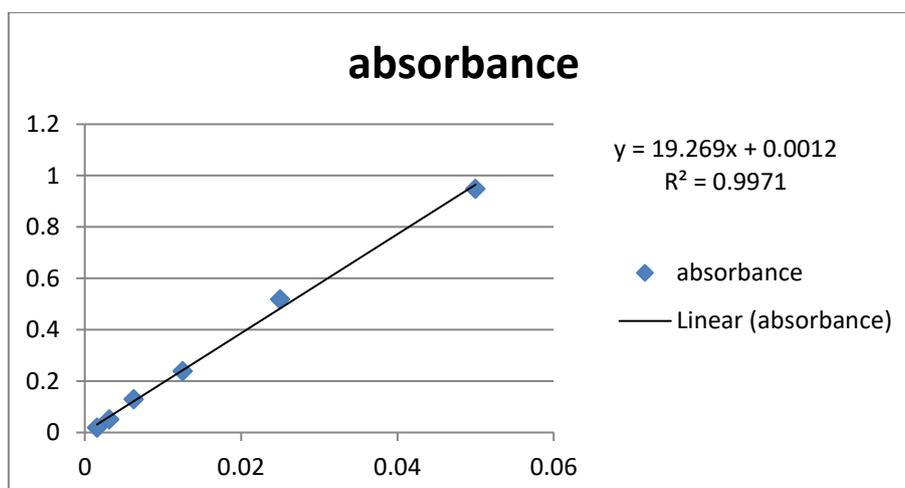
**Annexe I : Les courbes d'étalonnages.**



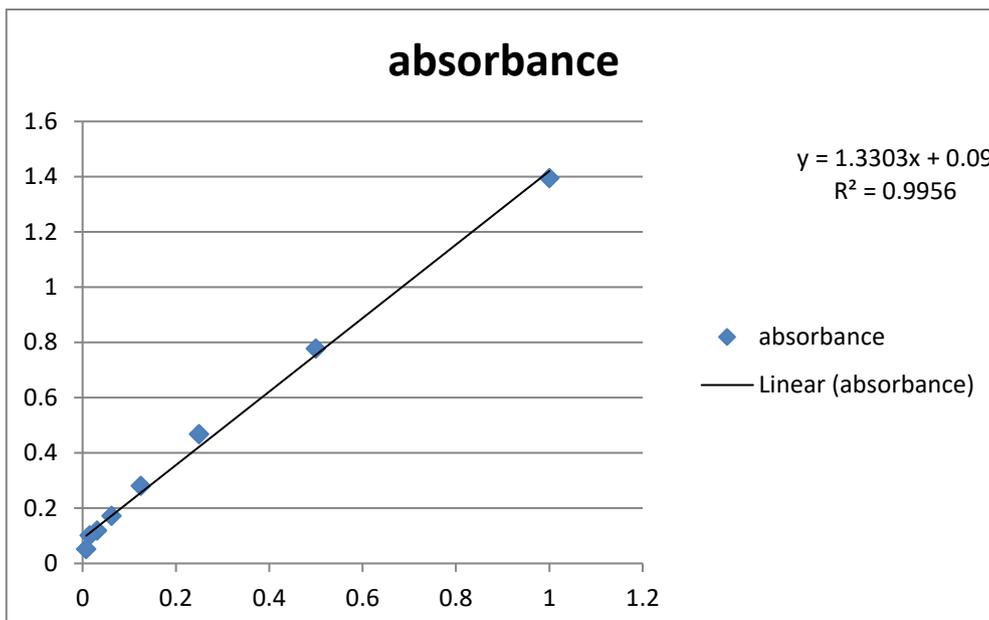
**Figure 1 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique.**



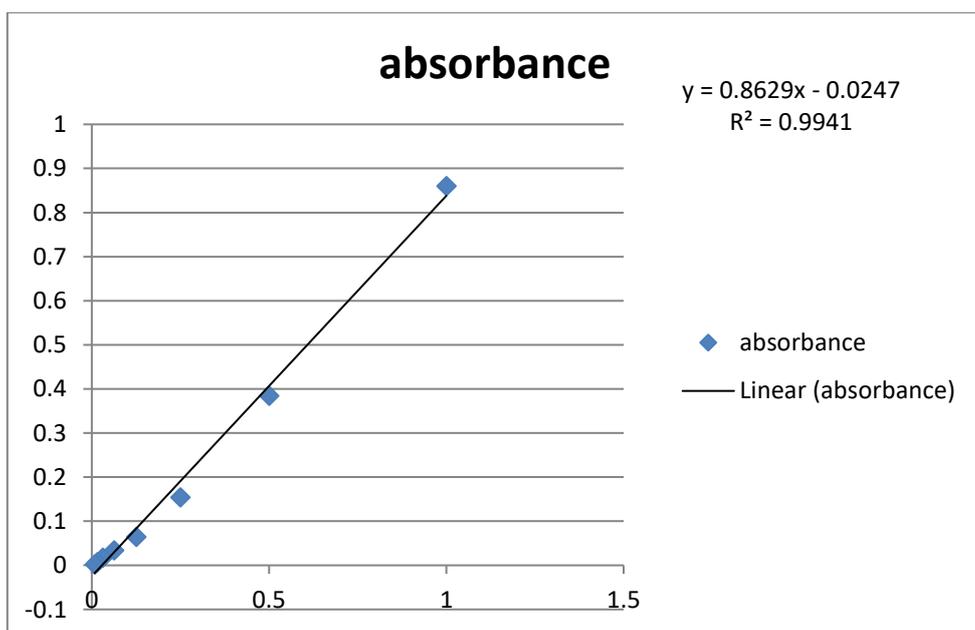
**Figure 2 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour flavonoïde.**



**Figure 3 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour flavonol.**



**Figure 4 :** Courbe d'étalonnage de la catéchine.



**Figure 5 :** Courbe d'étalonnage d'acide tannique.

**Annexe II : Préparation des solutions.**

Folin Ciocalteu (0,1N).	2ml du réactif Folin-Ciocalteu (1N) + 18ml de l'eau distillée.
Carbonate de sodium à 7,5%.	1,125g de carbonate de sodium ajusté avec 15ml de l'eau distillée.
Chlorure d'aluminium AlCl <sub>3</sub> à 2%.	0,6g de chlorure d'aluminium ajusté avec 30ml de méthanol.
Acétate de sodium à 5%.	1,5g d'acétate de sodium ajusté avec 30ml de méthanol.
Vanilline à 4%.	1,2g de la vanilline ajusté avec 30ml de méthanol.
Chlorure d'hydrogène 0,001M.	36,46mg d'HCl ajusté avec 100ml de l'eau distillée.
Chlorure ferrique (FeCl <sub>3</sub> ) à 0,01%.	0,1622g de chlorure ferrique dans 100ml d'HCl (0,001M) préparé.
Solution de DPPH.	4mg de DPPH + 100ml de méthanol.
Phosphomolybdate.	0,4655g de molib d'ammonium + 3,26ml d'acide sulfurique + 0,326g de phosphate de sodium, ajuster avec l'eau distillée jusqu'à 100ml.
Sulfate de fer (FeSO <sub>4</sub> ).	16,6806mg ajusté avec 40ml de l'eau distillée.
Salicylate de sodium.	48,033mg + 15ml de l'eau distillée.
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .	20,406µl d'H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 29,979ml d'eau distillée.
Solution d'ovalbumine à 0,5%.	0,15g d'ovalbumine dans 30ml de la solution tampon Tris-HCl (0,05M).
Solution tampon Tris-HCl (0,05M ; pH =	1g de Tris ajusté avec l'eau distillée jusqu'à

6,6).	200ml.  La solution est ajusté avec l'HCl jusqu'à l'obtention d'un pH = 6,6.
Solution de la BSA à 0,5%.	0,15g de la BSA dans 30ml de la solution tampon Tris-HCl (0,05M).
L'eau physiologique à 0,9%.	0,9g chlorure de sodium est ajusté avec 100ml de l'eau distillée.
Solution hypotonique à 0,36%.	0,36g chlorure de sodium est ajusté avec 100ml de l'eau distillée.
Solution tampon phosphate PBS à 0,15M et pH égal à 7,4.	0,04g de KCl à 27mM + 1,6g de NaCl à 137mM sont ajusté avec 200ml de l'eau distillée.

### Annexe III : Analyse statistica.

**Tableau I:** Analyse statistique des PTs.

Test LSD ; variable PTS (Feuille de données1) Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = ,10545, dl = 4,0000					
N°Cellu.	Extrait	PTS Moy.	1	2	
2	Bulbe	5,964379	****		
1	Feuille	8,894451		****	

**Tableau II:** Analyse statistique des flavonoides.

Test LSD ; variable Flavonoide (Feuille de données1) Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = ,02451, dl = 4,0000					
N°Cellu.	Extrait	Flavonoide Moy.	1	2	
2	Bulbe	7,93744	****		
1	Feuille	43,43867		****	

**Tableau III:** Analyse statistique des flavonols. **Tableau IV:** Analyse statistique des tanins condensés.

Test LSD ; variable Flavonol (Feuille de données1) Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = ,00014, dl = 4,0000					
N°Cellu.	Extrait	Flavonol Moy.	1	2	
2	Bulbe	0,297681	****		
1	Feuille	1,876082		****	

Test LSD ; variable Tanins condensés (Feuille de données1) Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = ,19303, dl = 4,0000					
N°Cellu.	Extrait	Tanins condensés Moy.	1	2	
1	Feuille	3,302005	****		
2	Bulbe	9,862155		****	





**Tableau IX:** Analyse statistique pour la BSA.

		Test LSD ; variable BSA (Feuille de données1) Groupes Homogènes, alpha = ,05000 (Recherche Non-Exhaustive) Erreur : MC Inter = 6,0565, dl = 27,000									
N°Cellu.	Extrait	BSA Moy.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
10	bulbe 5	12,54902	****								
15	Diclofenac 4	17,48062		****							
9	bulbe 4	18,37535		****							
5	Feuille 5	18,38688		****							
8	bulbe 3	34,06162			****						
4	Feuille 4	41,26225				****					
14	Diclofenac 3	44,96124				****					
7	bulbe 2	65,35948					****				
3	Feuille 3	70,17544						****			
2	Feuille 2	75,07508							****		
13	Diclofenac 2	77,90698							****		
1	Feuille 1	93,76771								****	
6	bulbe 1	93,93091								****	
12	Diclofenac 1	99,15698									****
11	Diclofenac 1	99,41860								****	****

**Tableau IX:** Analyse statistique pour le test anti-hémolytique.

		Test LSD ; variable Anti-hémolyse (Feuille de données1) Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = 10,692, dl = 16,000						
N°Cellu.	Extrait	Anti-hémolyse Moy.	1	2	3	4	5	6
4	Feuille 4	36,75214				****		
8	bulbe 4	44,91228					****	
7	bulbe 3	67,01754	****					
6	bulbe 2	71,22807	****					
3	Feuille 3	79,91453						****
5	bulbe 1	89,82456		****				
2	Feuille 2	94,01709		****	****			
1	Feuille 1	96,58120			****			

**Tableau X:** Analyse statistique pour le test OH.

		Test LSD ; variable OH (Feuille de données1) Groupes Homogènes, alpha = ,05000 (Recherche Non-Exhaustive) Erreur : MC Inter = 11,498, dl = 40,000										
N°Cellu.	Extrait	OH Moy.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
15	Vit C 5	31,54762	****									
20	BHT 5	32,21523	****	****								
10	bulbe 5	32,65700	****	****								
5	Feuille 5	37,64368		****	****							
14	Vit C 4	38,99371			****							
18	BHT 3	49,27335				****						
19	BHT 4	49,75542				****						
13	Vit C 3	50,08726				****						
9	bulbe 4	51,40781				****	****					
4	Feuille 4	56,03448					****	****				
17	BHT 2	57,65063						****				
3	Feuille 3	68,10345							****			
12	Vit C 2	72,04161							****			
8	bulbe 3	73,05164							****			
7	bulbe 2	82,27732								****		
6	bulbe 1	88,22055									****	
16	BHT 1	88,83072									****	****
2	Feuille 2	90,22989									****	****
11	Vit C 1	92,09184									****	****
1	Feuille 1	93,96552										****

**Tableau XI:** Analyse statistique pour le test de cytotoxicité.

		Test LSD ; variable Cytotoxicité (Feuille de données1) Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = ,27875, dl = 20,000					
N°Cellu.	Extrait	Cytotoxicité Moy.	1	2	3	4	5
5	Contrôle- 1	8,22511	****				
10	Contrôle- 2	8,58896	****				
9	Bulbe4	8,89571	****		****		
4	Feuille4	9,52381			****	****	
3	Feuille3	10,38961				****	
8	Bulbe3	11,45194					****
2	Feuille2	11,90476					****
7	Bulbe2	13,39468		****			
1	Feuille1	13,63636		****			
6	Bulbe1	14,11043		****			

**Tableau XII:** IC50 pour le test du DPPH.

Test LSD ; variable IC50 pour DPPH (Feuille de données1)						
Groupes Homogènes, alpha = ,05000						
Erreur : MC Inter = 164,93, dl = 8,0000						
N°Cellu.	Extrait	IC50 pour DPPH Moy.	1	2	3	
3	Acide ascorbique	156,9205	****			
2	Bulbe	167,0729	****			
1	Feuille	256,5794		****		
4	BHT	341,5108			****	

**Tableau XIII:** IC50 pour le test du pouvoir réducteur.

Test LSD ; variable IC50 pour le pouvoir réducteur (Feuille de données1)						
Groupes Homogènes, alpha = ,05000						
Erreur : MC Inter = 16,838, dl = 8,0000						
N°Cellu.	Extrait	IC50 pour le pouvoir réducteur Moy.	1	2	3	4
2	Bulbe	8,1106	****			
1	Feuille	34,4436		****		
3	VitC	168,4549			****	
4	BHT	312,7305				****

**Tableau XIV:** IC50 pour le test du OH.

Test LSD ; variable IC50 pour le test OH (Feuille de données1)					
Groupes Homogènes, alpha = ,05000					
Erreur : MC Inter = 131,85, dl = 8,0000					
N°Cellu.	Extrait	IC50 pour le test OH Moy.	1	2	
4	BHT	181,9346	****		
3	Vit C	182,9567	****		
1	Feuille	202,4275	****		
2	Bulbe	235,1067		****	

**Tableau XV:** IC50 pour l'ovalbumine.

Test LSD ; variable IC50 pour l'ovalbumine (Feuille de données1)				
Groupes Homogènes, alpha = ,05000				
Erreur : MC Inter = 2665,1, dl = 6,0000				
N°Cellu.	Extrait	IC50 pour l'ovalbumine Moy.	1	
1	Feuille	286,4135	****	
2	Bulbe	330,3859	****	
3	Celebrex	378,7655	****	

**Tableau XVI:** IC50 pour la BSA.

Test LSD ; variable IC50 pour la BSA (Feuille de données1)						
Groupes Homogènes, alpha = ,05000						
Erreur : MC Inter = 81,951, dl = 6,0000						
N°Cellu.	Extrait	IC50 pour la BSA Moy.	1	2	3	
3	Diclofénac	138,2839	****			
1	Feuille	346,6498		****		
2	Bulbe	593,1331			****	

**Tableau XVII:** IC50 pour le test anti-hémolytique.

Test LSD ; variable IC50 pour le test anti-hémolytique (Feuille de données1)						
Groupes Homogènes, alpha = ,05000						
Erreur : MC Inter = 1,4296, dl = 4,0000						
N°Cellu.	Extrait	IC50 pour le test anti-hémolytique Moy.	1	2		
2	Bulbe	4,46125	****			
1	Feuille	33,84890		****		

## Résumé

Notre travail a porté sur l'évaluation de l'activité anti-oxydante et anti-inflammatoire des extraits éthanoliques des feuilles et de bulbe d'une plante médicinale algérienne *Scille maritime*. Une étude phytochimique a été réalisée sur les extraits préparés par macération qui a permis de mettre en évidence la richesse de cette plante en métabolites secondaires notamment les polyphénols totaux, les flavonoïdes, les flavonols et les tanins ainsi que la réalisation des différents tests afin d'évaluer les activités biologiques dont l'activité anti-oxydante et anti-inflammatoire.

D'autre part nous avons étudié la cytotoxicité de la *Scille maritime*, on a évalué l'activité anti-hémolytique des extraits in vitro vis-à-vis les globules rouges humains. L'ensemble des résultats obtenus montrent que cette plante possède un faible effet toxique sur les érythrocytes humains et une forte activité biologique.

**Mots-clés:** *Scille maritime*, composés phénoliques, activité anti-oxydante, activité anti-inflammatoire, activité anti-hémolytique, cytotoxicité.

## Abstract

Our work focused on the evaluation of the antioxidant and anti-inflammatory activity of ethanolic extracts of the leaves and bulbs of an Algerian medicinal plant *Maritime squill*. A phytochemical study was carried out on the extracts prepared by maceration which made it possible to highlight the richness of this plant in secondary metabolites in particular total polyphenols, flavonoids, flavonols and tannins as well as the carrying out of various tests in order to evaluate biological activities including antioxidant and anti-inflammatory activity.

On the other hand, we studied the cytotoxicity of *Maritime squill*, we evaluated the anti-hemolytic activity of the extracts in vitro against human red blood cells. All the results obtained show that this plant has a low toxic effect on human erythrocytes and a strong biological activity.

**Keywords:** *Maritime squill*, phenolic compounds, antioxidant activity, anti-inflammatory activity, anti-hemolytic activity, cytotoxicity.