

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

RIAD Tinhinane
BOUDRIOUA Nour El Houda

Pour l'obtention du diplôme de

Master Académique/Professionnel

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie et santé

Thème

**Evaluation des activités biologiques d'extrait de quelques plantes
médicinales locales**

Soutenu le : 01 Juillet 2024

Devant le Jury composé de :

Mme ABDELOUHAB. K
Mme REMILA. S
Mme KHEYAR. N

MCA
MCB
MCA

Président
Encadrant
Examineur

Année universitaire 2023/2024.



Dédicace

Je tiens à saluer toute ma famille, mes amis et toutes les personnes qui m'ont aidé durant mes années universitaires avec leurs encouragements. C'est grâce à leurs précieux conseils que je suis arrivé où j'en suis aujourd'hui, et je n'ai rien lâché. Je ne pourrais jamais les remercier assez pour l'aide qu'ils m'ont apportée.

J'aimerais également remercier tous mes professeurs qui m'ont aidé à réussir mon parcours universitaire et qui se sont souciés de mon avenir.



Remerciements

Tout d'abord, nous tenons à remercier Dieu pour toutes ses bénédictions tout au long de notre parcours scolaire et social.

Nous souhaitons ensuite exprimer notre profonde gratitude à notre promotrice, Mme REMILA Saliha, pour son encadrement attentif, ses précieux conseils et son soutien continu tout au long de la réalisation de ce travail. Ses compétences et son expertise ont été des atouts inestimables pour mener à bien ce projet.

Nous remercions également les membres du jury, Mme KHEYAR et Mme ABDELOUHAB, d'avoir accepté de juger notre travail.

Nos remerciements s'adressent également à l'ensemble de l'équipe pédagogique de l'université pour la qualité de l'enseignement dispensé et pour nous avoir permis d'acquérir les connaissances et les compétences nécessaires à la rédaction de ce mémoire.

Enfin, nous tenons à remercier nos familles, notamment nos parents et nos amis qui nous ont soutenus et encouragés durant cette période.

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction 1

Partie théorique

I. Généralités sur les plantes médicinales 2

II. Activités biologiques des plantes médicinales 2

II.1. Activité antimicrobienne 2

II.2. Activité analgésique 2

II.3. Activité anti-tumorale 3

II.4. Activité neuroprotectrice 3

II.5. Activité anti-inflammatoire 3

II.6. Activité anti-oxydante 6

III. Composants phytochimiques des plantes médicinales 9

IV. Les plantes médicinales sélectionnées 10

IV.1. Bourrache (*Borago officinalis*) 11

IV.2. Mauve sauvage (*Malva sylvestris*) 12

IV.3. Rue des jardins (*Ruta graveolens*) 12

IV.4. Thapsie (*Thapsia garganica*) 13

IV.5. Ortie dioïque (*Urtica dioica*) 14

Matériel et méthodes

I. Matériel végétal 16

I.1. Récolte des échantillons 16

I.2. Nettoyage et séchage 16

I.3. Broyage, tamisage et stockage 16

I.4. Procédure d'extraction..... 17

I.5. Préparation des échantillons	17
II. Dosage des composés phénoliques	18
II.1. Dosage des phénols totaux	18
II.2. Dosage des flavonoïdes	19
III. Évaluation de l'activité anti-oxydante	20
III.1. Test DPPH	20
III.2. Test OH.....	21
III.3. Test NO.....	22
VI. Évaluation de l'activité anti inflammatoire	23
VI.1. Test BSA	23
V. Analyse statistique	24

Résultats et discussion

I. Taux d'extraction (%)	26
II. Dosage des composés phénoliques	27
II.1. Dosage des phénols totaux	28
II.2. Dosage des Flavonoïdes totaux	29
III. Évaluation de l'activité anti-oxydante	31
III.1. Test DPPH	31
III.2. Test OH	34
III.3. Test NO.....	37
VI. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire	39
VI.1. Évaluation de l'effet inhibiteur de la dénaturation protéique	39

Conclusion et perspectives 42

Références bibliographiques

Annexes

Liste des tableaux

Tableau. I. Les sous-classes des composés phénoliques	9
Tableau. II. Les noms vernaculaires et classification des plantes étudiées.	10
Tableau. III. Les taux d'extraction des différentes plantes.	26

Liste des Figures

Figure. 1. Principales étapes de l'inflammation aigüe.	4
Figure. 2. Mécanisme d'action des anti-inflammatoires non stéroïdiens	6
Figure. 3. Représentation schématique des différents systèmes anti oxydants enzymatique ...	7
Figure. 4. Déséquilibre Antioxydant /Oxydant.	8
Figure. 5. Photo originale de la <i>Borago officinalis</i>	11
Figure. 6. Photo originale de la <i>Malva sylvestris</i>	12
Figure. 7. Photo originale de la <i>Ruta graveolens</i>	13
Figure. 8. Photo originale de la <i>Thapsia garganica</i>	14
Figure. 9. Photo originale de l' <i>Urtica dioica</i>	15
Figure. 10. Protocole d'extraction des composés phénoliques	17
Figure.11. Courbe d'étalonnage des phénols totaux	27
Figure.12. Courbe d'étalonnage des flavonoïdes.	28
Figure.13. Dosage des phénols totaux des extraits des cinq plantes.	28
Figure. 14. Dosage des flavonoïdes des extraits des cinq plantes.	30
Figure. 15. Pourcentages d'inhibition du radical DPPH des différents échantillons à une concentration de 250 µg/ml.	32
Figure. 16. Effet scavenger des différents échantillons contre le radical OH à 250 µg/ml. ...	35
Figure. 17. Effet scavenger des différents échantillons contre le radical NO à 250 µg/ml. ...	37
Figure. 18. Pourcentages d'inhibition de la dénaturation de la protéine BSA par des différents échantillons à une concentration de 250 µg/ml.	39

Liste des abréviations

- AIS** : Les anti-inflammatoires stéroïdiens
- AINS** : Les anti-inflammatoires non stéroïdiens
- BHA**: Butylhydroxyanisole
- BHT**: Butylhydroxytoluène
- BSA** : l'albumine de sérum bovin
- CUPRAC**: Cupric Reducing Antioxidant Capacity
- DMTP** : Détermination de la Méthionine Méthylsulfonium Chloride
- ERO** : Espèces réactives de l'oxygène (Reactive Oxygen Species)
- FCR** : Le réactif Folin-Ciocalteu
- FRAP**: Ferric Reducing Antioxidant Power
- HAT** : Transfert d'atomes d'hydrogène (Hydrogen Atom Transfer)
- NADPH oxydase** : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate oxydase
- Nc** : Néocuproïne
- NEDD** : N-(1-naphthyl)éthylènediamine
- NPS** : Nitroprussiate de sodium
- P0** : le poids vide de la boîte de Pétri
- Pf** : le poids final de la boîte de Pétri
- PH** : Potentiel d'hydrogène
- PPI** : le poids initial de la poudre
- RNS** : espèces réactives de l'azote
- ROS** : espèces réactives de l'oxygène
- Rpm** : Rotations par minute
- SOD** : superoxyde dismutase

Introduction

Depuis des temps immémoriaux, l'homme a su répondre à ses divers besoins en exploitant les ressources de son environnement, principalement constitué de végétaux. Les anciennes civilisations, telles que l'Égypte antique, la Grèce, la Chine et l'Inde, ont consigné l'usage des plantes médicinales dans leurs traditions de guérison, tirant parti des vertus thérapeutiques de la nature pour traiter différentes affections (Bourdeau, P., 2004).

Actuellement, en raison des limites thérapeutiques des médicaments chimiques, la recherche sur les plantes médicinales s'est orientée vers la création de phytomédicaments. Cette tradition de la phytothérapie a perduré à travers les générations (Najmi, A *et al.*, 2022). En effet, il existe environ 80 000 plantes possédant des propriétés médicinales, qui présentent de nombreux intérêts, à la fois sur le plan thérapeutique et scientifique (Salmerón-Manzano, E *et al.*, 2020).

En Algérie, la médecine traditionnelle prend de plus en plus d'ampleur, reflétant une diversité culturelle et historique profondément enracinée dans les traditions arabomusulmanes, berbères et autres influences transsahariennes (Belhouala, K & Benarba, B., 2021). Ces plantes constituent une véritable source de substances naturelles, renouvelables, riches et complexes, souvent difficiles à reproduire en laboratoire. Elles synthétisent deux types de métabolites : primaires et secondaires (Adetunji, C. O *et al.*, 2021).

Chaque plante produit des métabolites primaires nécessaires à sa survie et des métabolites secondaires spécifiques, remplissant diverses fonctions comme la protection. C'est pourquoi les biologistes s'intéressent tout particulièrement à ces molécules bioactives pour étudier les vertus médicinales des différents extraits (Guerriero, G *et al.*, 2018).

Ainsi, l'objectif principal de cette étude est d'évaluer les activités antioxydantes et anti-inflammatoires des extraits éthanoliques de cinq plantes médicinales : *Ruta graveolens*, *Thapsia garganica*, *Borago officinalis*, *Malva sylvestris* et *Urtica dioica*. Il s'agit également d'explorer leurs potentiels thérapeutiques dans le traitement des maladies spécifiques telles que les affections cutanées (eczéma), les troubles respiratoires et digestifs, les problèmes urinaires et les douleurs arthritiques (Xu, D.-P *et al.*, 2017 ; Truong, V.-L & Jeong, W.-S., 2022).

Partie théorique

I. Généralités sur les plantes médicinales

Les applications ancestrales des plantes médicinales pour leurs propriétés curatives chez les organismes vivants, notamment chez l'homme, ont toujours reposé sur des savoirs empiriques transmis de manière intergénérationnelle (Svoboda, K. P & Svoboda, T. G., 2000).

Les plantes médicinales offrent une multitude de composés bioactifs aux activités biologiques et pharmacologiques diverses, capables d'interagir avec les systèmes biologiques et présentant ainsi des propriétés thérapeutiques potentielles (Hambaba, L *et al.*, 2012).

II. Activités biologiques des plantes médicinales

Diverses études expérimentales menées *in vitro et in vivo* ont mis en évidence une grande diversité d'activités biologiques des plantes médicinales, lesquelles jouent un rôle dans la prévention de diverses pathologies telles que les cancers, les maladies neurodégénératives, cardiovasculaires et inflammatoires.

II.1. Activité antimicrobienne

L'étude de l'activité antimicrobienne des plantes médicinales revêt une importance capitale, particulièrement face à l'augmentation de la résistance aux antibiotiques. Plusieurs recherches se sont penchées sur les capacités des extraits de plantes et de leurs composés bioactifs à fonctionner en tant qu'agents antimicrobiens naturels (Nguyen, L. T *et al.*, 2011).

Un grand nombre de plantes médicinales démontrent une activité antimicrobienne étendue à l'encontre des bactéries Gram-positives et Gram-négatives, ainsi que des champignons (Chaouche, T. M *et al.*, 2016).

Les mécanismes d'action des agents antimicrobiens peuvent présenter une grande diversité, et il existe différentes méthodes d'évaluation de cette activité afin de mieux appréhender l'efficacité et le mode d'action de ces agents (Kapoor, G *et al.*, 2017).

II.2. Activité analgésique

Les antalgiques ou analgésiques sont des médicaments destinés à supprimer ou à atténuer les douleurs. Ils sont constitués de différentes familles ayant une action pharmacologique commune (Queremel Milani, D. A & Davis, D. D., 2024). Les antalgiques

d'origine végétale agissent soit au niveau de la lésion, c'est-à-dire auprès des terminaisons libres de la peau, des muscles et des vaisseaux et ils ont alors une action périphérique ; soit sur les mécanismes de contrôle de l'information nociceptive, et ils ont une action centrale (Fattori, V. *et al.*, 2016).

II.3. Activité anti-tumorale

Les plantes médicinales sont utilisées depuis des millénaires pour traiter une variété de maladies, y compris le cancer. Leur fonction anti-tumorale repose sur la présence de composés bioactifs tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes et les terpènes, qui ont démontré des effets inhibiteurs sur les cellules cancéreuses. En outre, ces composés agissent sur divers mécanismes cellulaires impliqués dans la croissance et la propagation des tumeurs (Huet, M., 2013)

II.4. Activité neuroprotectrice

En raison de leur composition phytochimique riches en composés phénoliques, les plantes médicinales sont utilisées pour préserver et favoriser la santé du système nerveux central en tant qu'agents antioxydants et anti-inflammatoires (Sun, W. & Shahrajabian, M. H., 2023). Ces substances sont avérés agents neuroprotecteurs potentiels et efficaces pour réduire les dommages neuronaux et améliorer les fonctions neurologiques grâce à leurs capacités de lutter contre les radicaux libres et l'inflammation qui jouent un rôle essentiel dans de nombreuses affections neurodégénératives tel que l'Alzheimer (Mohd Sairazi, N. S & Sirajudeen, K. NS., 2020).

II.5. Activité anti-inflammatoire

II.5.1. Réaction inflammatoire

L'inflammation est une réaction immunitaire innée, qui se produit après une blessure et qui peut être provoquée par plusieurs éléments physicochimiques tels que l'irradiation, la brûlure, les traumatismes mécaniques ou des infections microbiennes (bactéries, virus ou parasites). L'objectif de cette réaction est d'éliminer l'agent pathogène et réparer les dommages tissulaires (Soliman, A. M & Barreda, D. R., 2022).

L'inflammation se traduit par quatre symptômes à savoir :

La rougeur : est provoquée par la vasodilatation et l'hyperémie.

Le gonflement : est causé par l'exsudation de liquide et de protéines plasmatiques dans les tissus et provoque une augmentation de la perméabilité membranaire.

La chaleur : est due à l'augmentation de la circulation sanguine et de l'activité cellulaire.

La douleur : est liée à la stimulation des neurones nocicepteurs par des substances chimiques particulières (Nikolenko, V. N *et al.*, 2022)

II.5.2. Types d'inflammation

On distingue deux catégories d'inflammation en fonction de la durée et de la vitesse du processus inflammatoire (Kaur, B & Singh, P., 2022).

II.5.2.1. Inflammation aiguë

L'inflammation aiguë qui est non spécifique est se met en place très rapidement. Les principaux intervenants sont les cellules capables de détruire l'agresseur (Figure.1). Une fois l'agression contrôlée, le tissu est réparé et l'inflammation prend fin (Hannoodee, S. & Nasuruddin, D. N., 2024).

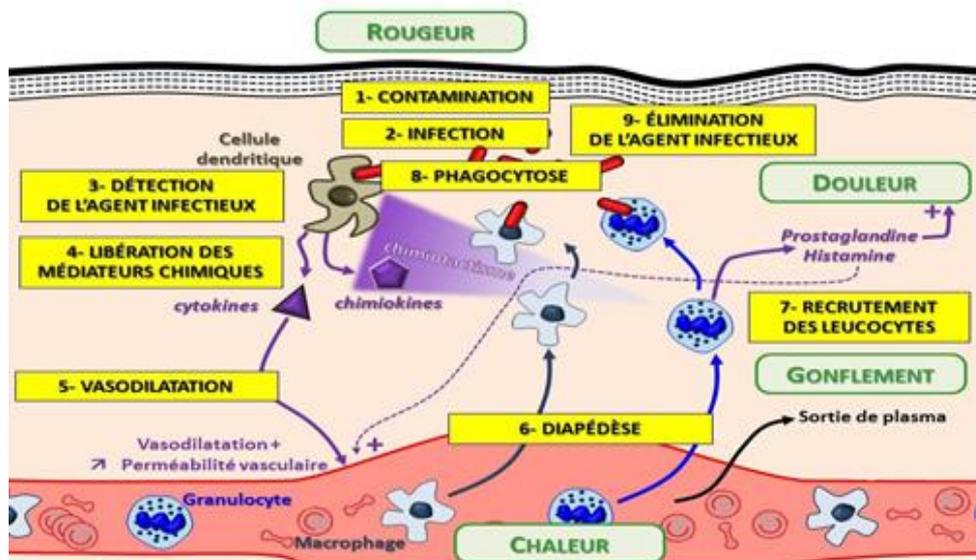


Figure. 1. Principales étapes de l'inflammation aiguë.

(TS_schémas réaction inflammatoire – profSVT OEHMICHEN)

II.5.2.2. Inflammation chronique

La réaction inflammatoire chronique est une réponse immunitaire persistante et prolongée à des stimuli nocifs tels que des infections persistantes, des irritants physiques ou chimiques, ou des réponses auto-immunes. Contrairement à l'inflammation aiguë, l'inflammation chronique peut durer des mois voire des années, entraînant des dommages aux tissus et contribuant à diverses maladies chroniques (Burini, R. C *et al.*, 2020).

II.5.3. Traitement de l'inflammation

La thérapie anti-inflammatoire est destinée à contrôler l'excès de la réaction aspécifique des tissus et à éviter la transformation de la phase aiguë de l'inflammation en phase chronique. Elle est généralement menée par des molécules de synthèses du type anti-inflammatoire non stéroïdien ou stéroïdien (Tabas, L & Glass, C. K., 2013).

II.5.3.1. Les anti-inflammatoires stéroïdiens (corticoïdes)

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS), également appelés glucocorticoïdes, sont une vaste catégorie de médicaments dérivés du cortisol. Ils ont une puissante activité anti-inflammatoire dans plusieurs situations pathologiques. Parmi les glucocorticoïdes les plus puissants se trouvent les corticoïdes naturels tels que le cortisol, ainsi que les corticoïdes de synthèse tels que la prednisone, la prednisolone, la dexaméthasone et la triamcinolone (Kaur, B & Singh, P., 2022).

Ces substances sont transportées par des protéines comme la transcortine et l'albumine, qui traversent les membranes cellulaires et se lient à un récepteur spécifique dans le noyau cellulaire, régulant la transcription des gènes cibles et réduisant les médiateurs liés à l'inflammation tels que les interleukines, les cytokines, les phospholipases A2 et la cyclooxygénase A2 (He, Y *et al.*, 2021).

II.5.3.3. Les anti-inflammatoires non-stéroïdiens (AINS)

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont une classe de médicaments largement utilisés pour leurs effets analgésiques (anti-douleur), antipyrétiques (anti-fièvre) et anti-inflammatoires (Panchal, N. K & Prince, S. E, 2023).

Lorsqu'il y a inflammation, les phospholipases A2 sont activées, ce qui entraîne la transformation des phospholipides membranaires en acide arachidonique. Ce dernier est ensuite métabolisé en prostaglandines par une enzyme appelée cyclo-oxygénase (COX) (Sun, G. Y. *et al.*, 2021). Les anti-inflammatoires non stéroïdiens agissent en inhibant la COX, ce qui bloque la synthèse des prostaglandines et affecte ainsi la phase inflammatoire.

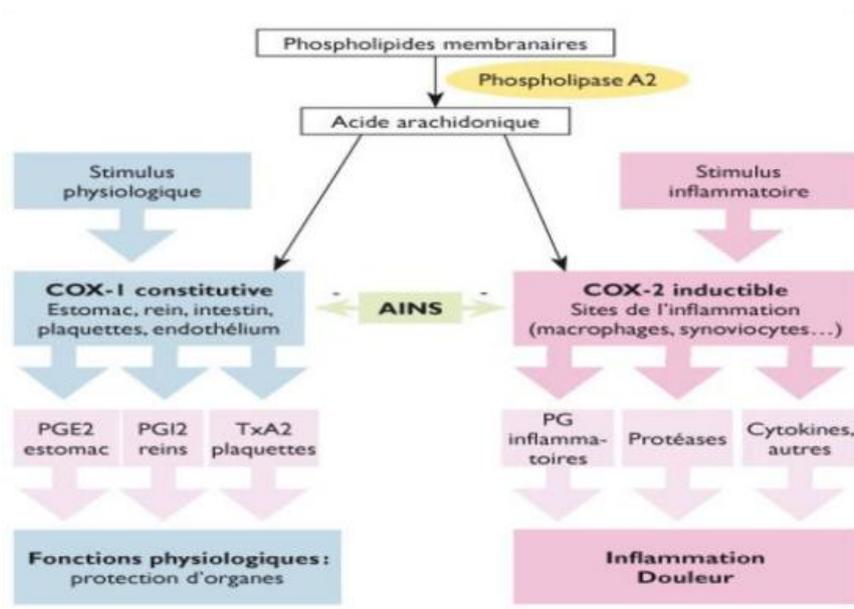


Figure. 2. Mécanisme d'action des anti-inflammatoires non stéroïdiens (Burke, A. *et al.*, 2006).

II.5.3.4. Les anti-inflammatoires d'origine végétale

L'incorporation et l'emploi des plantes médicinales dans le traitement de certaines réactions inflammatoires, notamment du rhumatisme, sont des pratiques courantes dans la médecine traditionnelle. Il est aujourd'hui intéressant de constater que les anti-inflammatoires d'origine végétale suscitent un intérêt grandissant, car ils présentent des avantages par rapport aux anti-inflammatoires classiques, tels que l'absence d'effets secondaires et beaucoup sont supposés agir par blocage des voies de la cyclooxygénase et de la lipoxgénase (Gandhi., Y *et al.*, 2022).

II.6. Activité anti-oxydante

L'activité anti-oxydante présente un aperçu général des processus chimiques liés au stress oxydatif et la protection qu'apportent les antioxydants. Elle met en évidence l'importance de maintenir un équilibre optimal entre les radicaux libres et les antioxydants dans le corps humain pour prévenir les dommages cellulaires (Flieger. J *et al.*, 2021).

II.6.1. Généralités sur les radicaux libres et le stress oxydatif

Les radicaux libres sont des molécules contenant des électrons non appariés, ce qui les rend très réactifs et capables d'endommager les composants cellulaires telles que le radical hydroxyle (OH[•]), l'anion superoxyde (O₂^{•-}) et le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (Xu., Y *et al.*,

2023). Ils peuvent être à la fois hautement réactifs et transitoires ou relativement stables selon leur structure chimique (Chen, Z. X. *et al.*, 2021).

Les radicaux libres sont générés de manière endogène par des processus métaboliques normaux à partir des mitochondries, peroxysomes, réticulums endoplasmiques et les cellules phagocytaires et de manière exogène par des facteurs environnementaux tels que la pollution, les radiations et certains médicaments (Phaniendra, A *et al.*, 2015).

Le stress oxydant se caractérise par un déséquilibre entre les pro-oxydants (ERO ou ROS) et les systèmes de défense (antioxydants), entraînant ainsi des dommages irréversibles pour la cellule (Rahal, A *et al.*, 2014). À des concentrations plus élevées, les ROS (y compris les radicaux libres) peuvent causer des dommages significatifs à la structure et au métabolisme cellulaire (Valko, M *et al.*, 2007).

II.6.2. Classification des antioxydants

II.6.2.1. Antioxydants enzymatiques

Trois enzymes sont essentielles pour éliminer les espèces d'oxygène réactif, la superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase. Le SOD convertit les superoxydes et les protons en hydrogène et en oxygène, la catalase convertit l'hydrogène en oxygen et en eau, et la peroxydase favorise l'oxydation du glutathion (Ighodaro, O. M & Akinloye, O. A., 2018).

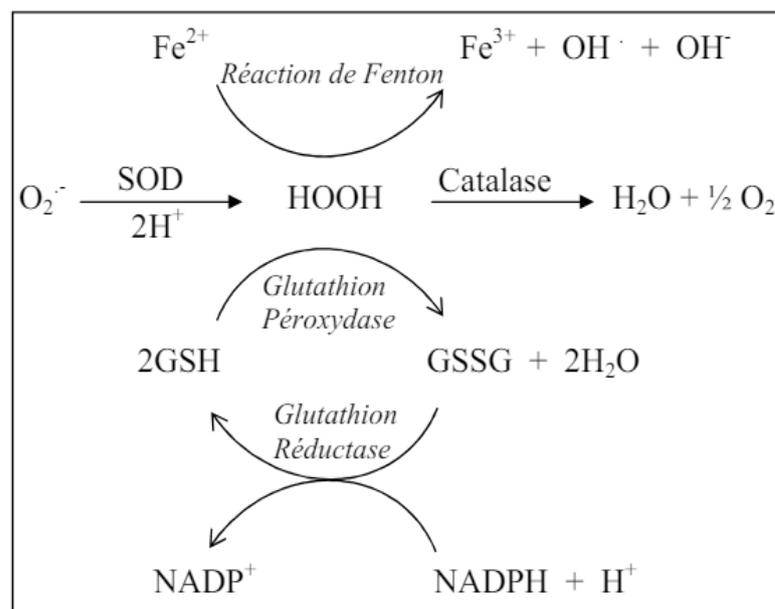


Figure. 3. Représentation schématique des différents systèmes anti oxydants enzymatique (Prouillac, C., 2014)

II.6.2.2. Antioxydants non-enzymatiques

Il s'agit de molécules capables de neutraliser les radicaux libres et de prévenir les réactions en chaîne nocives dans l'organisme. Les antioxydants non enzymatiques sont des composés naturels présents dans de nombreux aliments, et leur absorption par l'organisme permet de renforcer les défenses anti-oxydatives (Losada-Barreiro, S *et al.*, 2022). Ces derniers se divisent en deux principales classes, dont les endogènes tels que le glutathion, acide urique et les exogènes comme la vitamine E et C ainsi que des composés phénoliques (Figure. 4)(Flieger, J *et al.*, 2021).

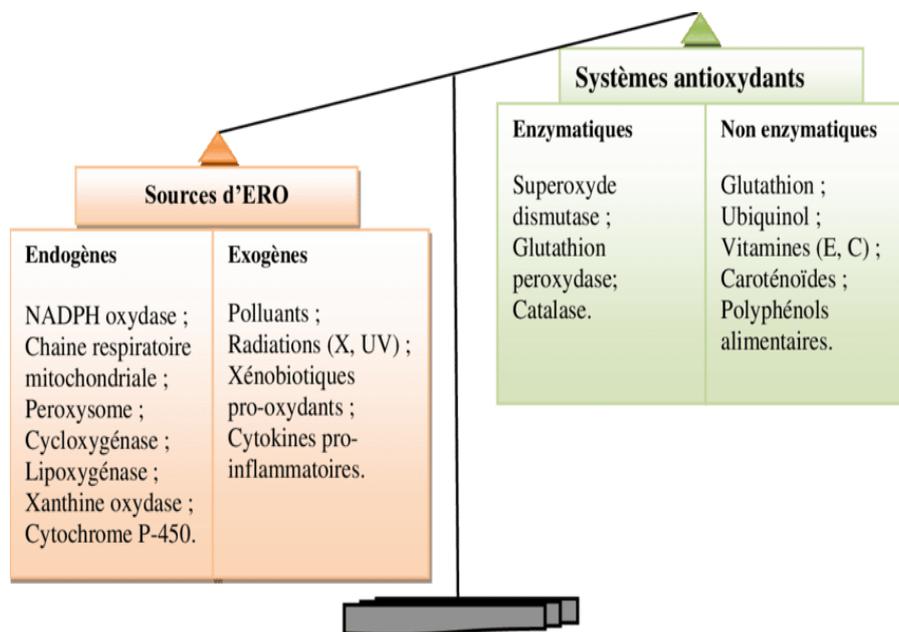


Figure. 4. Déséquilibre Antioxydant /Oxydant.

II.6.3. Mécanisme d'action des antioxydants

Les antioxydants agissent principalement par le transfert d'atomes d'hydrogène (HAT), le transfert d'électrons seul (SET), et la capacité de chélation des métaux de transition, ainsi D'autres mécanismes incluent l'inhibition des enzymes génératrices des radicaux libres telles que la NADPH oxydase, la xanthine oxydase, la cyclooxygénase et la lipoxygénase. Cela empêche la production initiale des espèces réactives de l'oxygène (Esfandi, R *et al.*, 2019).

III. Composants phytochimiques des plantes médicinales

Le terme "composés phénoliques" ou "polyphénols" est fréquemment utilisé pour désigner un ensemble de substances issues du métabolisme secondaire des plantes et représentent plus de 8000 espèces moléculaires connues. (Lin, D *et al.*, 2016).

Ces composés phénoliques se subdivisent en plusieurs sous-classes aux structures et aux propriétés variées. Cette diversité structurale et fonctionnelle fait des composés phénoliques des cibles d'intérêt pour le développement de produits naturels à visée thérapeutique qui sont représentés dans le tableau I suivant (Vuolo, M. M *et al.*, 2019).

Tableau. I. Les sous-classes des composés phénoliques (Stevanovic, T., 2005).

Nom	Structure	Exemple
Les acides phénoliques	Ils sont constitués d'un cycle benzénique auquel sont substitués un groupe hydroxyle phénolique (-OH) carboxylique (COOH).	-Acides hydroxybenzoïque -Acide hydroxycinnamique -Acide gallique -Acide caféique -Acide férulique
Les flavonoïdes	-Ils sont constitués de deux cycles aromatiques (A et B) reliés par un hétérocycle oxygéné (C). -Ils sont à poids moléculaire faible.	-Les flavanes -Les flavonols -Les flavanones -Les flavanonols -Les isoflavones -Les anthocyanidine
Les tanins	-Ils sont composés d'un noyau polyol (glucose) auquel sont liées des unités d'acide gallique ou ellagique par des liaisons ester.	-Les proanthocyanidines -Les catéchines -Les ellagitanines -Les anthocyanines -Les gallates -Les gallotanins

IV. Les plantes médicinales sélectionnées

Cette recherche vise à comprendre les mécanismes biologiques impliqués dans les effets thérapeutiques des plantes telles que *Borago officinalis*, *Malva sylvestris*, *Thapsia garganica*, *Ruta graveolens* et *Urtica dioica*.

Tableau. II. Les noms vernaculaires et classification des plantes étudiées.

Nom de l'espèce	En Français	En Arabe	En Kabyle	Classification Taxonomique
<i>Borago officinalis</i>	Bourrache	لِسَان النُّور	Ccix lebqul / foudlghem	Règne : Plantae Division : Magnoliophyta Classe : Magnoliopsida Ordre : Boraginales Famille : Boraginaceae Genre : Borago Espèce : <i>Borago officinalis</i>
<i>Malva sylvestris</i>	Mauve sauvage	الدَّهْمَاءُ	Mejjir	Règne : Plantae Division : Magnoliophyta Classe : Magnoliopsida Ordre : Malvales Famille : Malvaceae Genre : Malva Espèce : <i>Malva sylvestris</i>
<i>Ruta graveolens</i>	Rue des jardins	سَدَاب	Awarmi	Règne : Plantae Division : Magnoliophyta Classe : Sapindales Ordre : Rutaceae Famille : Rutaceae Genre : Ruta Espèce : <i>Ruta graveolens</i>
<i>Thapsia garganica</i>	Thapsie	الدَّرِيَّاس	Adaryis	Règne : Plantae Division : Magnoliophyta Classe : Apiales Ordre : Apiales Famille : Apiaceae Genre : Thapsia Espèce : <i>Thapsia garganica</i>
<i>Urtica dioica</i>	Ortie dioïque	الْقُرَّاص	Azegduf	Règne : Plantae Division : Magnoliophyta Classe : Magnoliopsida Ordre : Urticales Famille : Urticaceae Genre : Urtica Espèce : <i>Urtica dioica</i>

IV.1. Bourrache (*Borago officinalis*)

La *Borago officinalis*, appartenant à la famille des Boraginaceae, est une plante annuelle particulièrement intéressante d'un point de vue botanique. Ses caractéristiques morphologiques uniques en font une espèce facilement reconnaissable. En effet, la bourrache se distingue par ses fleurs bleues en forme d'étoile ainsi que par ses feuilles alternes et simples, recouvertes d'une pilosité caractéristique. Cette plante herbacée aux tiges robustes et velues, pouvant atteindre jusqu'à 1 mètre de hauteur, tirerait probablement ses origines de la région méditerranéenne, voire même de l'Afrique du Nord y compris l'Algérie (Gupta, M. & Singh, S., 2010).

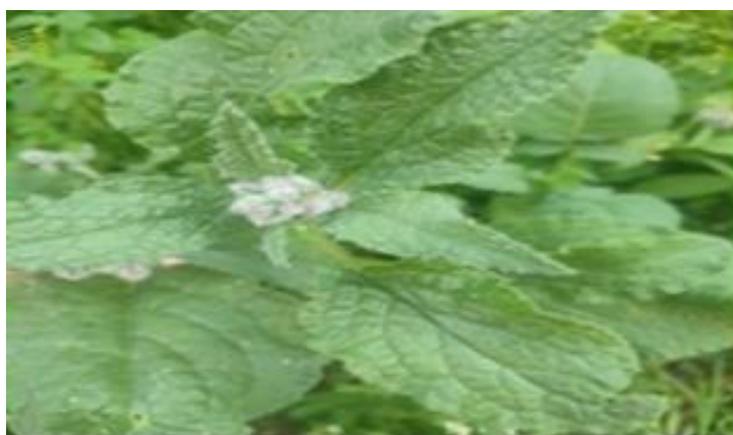


Figure. 5. Photo originale de la *Borago officinalis*

Sur le plan phytochimique, la bourrache contient une variété de composés bioactifs : alcaloïdes, tanins, flavonoïdes, acides phénoliques, huiles essentielles et des vitamines. Les propriétés anti-oxydantes de cette plante sont particulièrement intéressantes en raison de sa composition riche (Dias, M. C *et al.*, 2021). Les vertus émoullientes, diurétiques et expectorantes de la bourrache sont en partie expliquées par ces caractéristiques phytochimiques, notamment dans le traitement des affections respiratoires et les inflammations (Asadi-Samani, M *et al.*, 2014).

La bourrache se présente donc comme une plante aux multiples dimensions, à la fois remarquable sur le plan botanique et ayant un potentiel thérapeutique considérable, ce qui en fait une espèce digne d'un intérêt particulier en phytochimie et en médecine traditionnelle.

IV.2. Mauve sauvage (*Malva sylvestris*)

La *Malva sylvestris*, également connue sous le nom de mauve sylvestre, est une plante sauvage caractérisée par ses feuilles arrondies et ses fleurs pourpres hermaphrodites. Elle se distingue par ses tiges pouvant atteindre 20 à 35 branches, chacune portant 50 à 75 fleurs émergeant des aisselles des feuilles (Barros, L *et al.*, 2010). Cette espèce est originaire d'Europe tempérée, de Méditerranée et d'Afrique du Nord, répandue de l'Himalaya à la Sibérie et en Asie centrale (Mousavi, S. M *et al.*, 2021). Elle préfère les zones ensoleillées ou partiellement ombragées avec un sol bien drainé.



Figure. 6. Photo originale de la *Malva sylvestris*.

Les feuilles de *Malva sylvestris* sont riches en antioxydants tels que les phénols, flavonoïdes, caroténoïdes et alcaloïdes, ainsi que des acides gras insaturés, minéraux et vitamines (Mousavi, S. M *et al.*, 2021). Cette plante se trouve dans de nombreuses utilisations, notamment alimentaires et médicinales traditionnelles pour les troubles gastro-intestinaux, diarrhée et maladies respiratoires (Mousavi, S. M *et al.*, 2021). Elle est également utilisée à des fins vétérinaires et cosmétologiques (Yadav, V & Satheesh Kumar, T., 2020).

IV.3. Rue des jardins (*Ruta graveolens*)

La *Ruta graveolens*, communément appelée rue ou rue odorante, est un arbuste vivace aux tiges dressées et ramifiées pouvant atteindre 0,6 à 0,9 m de hauteur. Ses feuilles alternes et bipennées sont vertes foncé avec des folioles dentées, et ses fleurs jaunes vif à jaune verdâtre sont regroupées en cymes terminales (Kannan, R & Babu, U. V., 2012). Originaire

du sud de l'Europe et des régions méditerranéennes, la *Ruta graveolens* est maintenant cultivée dans de nombreuses régions du monde (Ainiwaer, P *et al.*, 2023).



Figure. 7. Photo originale de la *Ruta graveolens*.

Les différentes parties de la plante contiennent des substances telles que les flavonoïdes (la rutine, le rutamarin), les coumarines (furanocoumarines), les alcaloïdes quinoléiques et huiles essentielles (Ainiwaer, P *et al.*, 2023). La rue est utilisée en médecine traditionnelle pour soigner diverses pathologies, notamment hystérie, épilepsie, vertige, colique, parasites intestinaux, empoisonnement et affections oculaires, et en gastronomie comme aromatique (Colucci-D'Amato, L & Cimaglia, G., 2020).

IV.4. Thapsie (*Thapsia garganica*)

La plante herbacée vivace robuste *Thapsia garganica* mesure environ 1,50 m de haut. Ses tiges florales sont droites et peu ramifiées, ses feuilles sont vertes et glabres, et elles peuvent être alternes, composées, pennées, palmées ou simple. De plus, sa racine est grande, rhizomateuse, noire à l'extérieur et blanche à l'intérieur. Elle produit des fruits ovales de plus de 2 cm de long (Malik, Z. A *et al.*, 2024). On trouve cette espèce dans tout le bassin méditerranéen, étant endémique en Algérie, Tunisie, Maroc, Espagne, dans les îles Baléares et en Italie, principalement sur les bords des routes et dans les champs (Lopez-Alvarado, J & Farris, E., 2022).



Figure. 8. Photo originale de la *Thapsia garganica*.

Thapsia garganica est une plante médicinale étudiée de près, à la composition phytochimique complexe, riche en coumarines, flavonoïdes et tanins condensés (Jaskulska., A *et al.*, 2020). Ses usages thérapeutiques traditionnels sont nombreux, notamment pour traiter la stérilité féminine, les douleurs rhumatismales, les entorses, les problèmes pulmonaires graves, les morsures de serpents, les plaies atones et les abcès (Jaskulska., A *et al.*, 2020).

IV.5. Ortie dioïque (*Urtica dioica*)

Urtica dioica, communément appelée ortie dioïque ou grande ortie, est une plante herbacée vivace. Elle se distingue par ses tiges robustes et dressées, ses feuilles opposées dentées et pétiolées, ses petites fleurs verdâtres unisexuées regroupées en grappes, ses fruits minuscules et son système racinaire rhizomateux (Viotti, M. M *et al.*, 2022). Les poils urticants de l'ortie sont sa caractéristique la plus notable. Ils sont constitués d'une ampoule remplie de liquide urticant, l'histamine, qui se brise et libère le liquide responsable de la sensation de brûlure et de démangeaison ressentie lors du contact avec la plante (Ensikat, H-J *et al.*, 2021).

L'ortie est présente dans tous les continents tempérés et est originaire d'Eurasie. Et En Algérie, elle parcourt les ravins frais des montagnes de l'Atlas de Blida et Djurdjura. Elle est croisée près des habitations, jardins, fossés, ruines ou encore à la lisière des bois (Viotti, M. M *et al.*, 2022).



Figure. 9. Photo originale de l'*Urtica dioica*.

Cette plante possède de nombreuses propriétés grâce à sa composition phytochimique riche. Effectivement, elle produit une variété remarquable de métabolites secondaires, notamment des flavonoïdes, des tanins, des acides gras, des polysaccharides, des stérols, des protéines, ainsi que des glucides, des acides aminés, des vitamines et des minéraux (Devkota, H. P *et al.*, 2022).

D'un point de vue médicinal, l'ortie est largement employée. Elle est efficace en cas d'utilisation interne contre les infections buccales telles que les aphtes, les gingivites et les angines (Bhusal, K. K *et al.*, 2022). Les cataplasmes d'ortie fraîche sont employés en externe pour le traitement de l'acné et pour soulager les douleurs arthritiques et rhumatismales. En outre, les feuilles d'ortie possèdent des propriétés diurétiques et réduisent les douleurs articulaires, tandis que sa racine traite de nombreux autres problèmes (Bhusal, K. K *et al.*, 2022).

Matériel et Méthodes

Matériel et Méthodes

I. Matériel végétal

Dans cette présente étude les plantes sélectionnées, à savoir *Borago officinalis*, *Malva sylvestris*, *Ruta graveolens*, *Thapsia garganica* et *Urtica dioica*, ont été choisies sur plusieurs bases, incluant des considérations historiques, scientifiques et pratiques qui font référence à l'utilisation traditionnelle et ancestrale de ces plantes dans la médecine populaire, à l'intérêt récent pour ces espèces végétales dans la recherche phytochimique et à leur potentiel pour le développement de nouveaux produits thérapeutiques.

I.1. Récolte des échantillons

La récolte des plantes médicinales est une étape cruciale pour garantir la qualité et l'efficacité des produits dérivés. Pour cela les échantillons des plantes sélectionnées ont été récoltés au mois de Mars 2024 dans la région de Rmila, Sidi Aich, Béjaïa, en Algérie, où elles prospèrent naturellement dans leur habitat naturel.

I.2. Nettoyage et séchage

Dans une première étape les parties aériennes des plantes (feuilles) ont été soigneusement triées, nettoyées afin d'éliminer toutes les impuretés (traces de poussière, des débris de tiges et les insectes). Par la suite elles ont été séchées à l'ombre et à l'air libre afin de préserver au maximum leurs compositions phytochimiques.

I.3. Broyage, tamisage et stockage

Après séchage, les feuilles des différentes plantes ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique pour obtenir une poudre fine.

Cette dernière a été tamisée en utilisant un tamis de 250 μm pour assurer une granulométrie homogène.

Ensuite, les poudres obtenues ont été stockées dans des contenants hermétiques, à l'abri de la lumière, de la chaleur et de l'humidité.

Dans une phase finale, les contenants en verre ont été étiquetés avec des informations importantes : nom de la plante, date de récolte, date de broyage, et toute autre information pertinente. En suivant ces bonnes pratiques, on peut assurer une meilleure conservation des plantes médicinales, garantissant ainsi leur pureté essentielle à une utilisation thérapeutique.

I.4. Procédure d'extraction

La méthode d'extraction adaptée dans cette étude est une macération des poudres des cinq plantes dans une solution éthanolique à 96%, où la poudre végétale représente 25% de la solution totale (Zhang., Q-W *et al.*, 2018). Les mélanges ont été mis sous agitation à une température ambiante pendant 24h et à l'abri de la lumière.

Après décantation, les surnageants ont été séparés des résidus solides à l'aide d'une pipette, puis transféré dans des boîtes de Pétri préalablement pesées pour permettre le calcul du taux d'extraction. Après évaporation totale du solvant et stabilisation du poids des extraits, ces derniers ont été conservés à 4°C.

Les taux d'extractions ont été calculés pour chaque plante selon la formule ci-dessous :

$$\text{Taux d'extraction}(\%) = \frac{P_f - P_0}{P_{PI}} * 100$$

Où :

P_f est le poids finale de la boîte de Pétri

P_0 est le poids vide de la boîte de Pétri

P_{PI} est le poids initial de la poudre

Le protocole d'extraction est résumé sur la figure ci-dessous

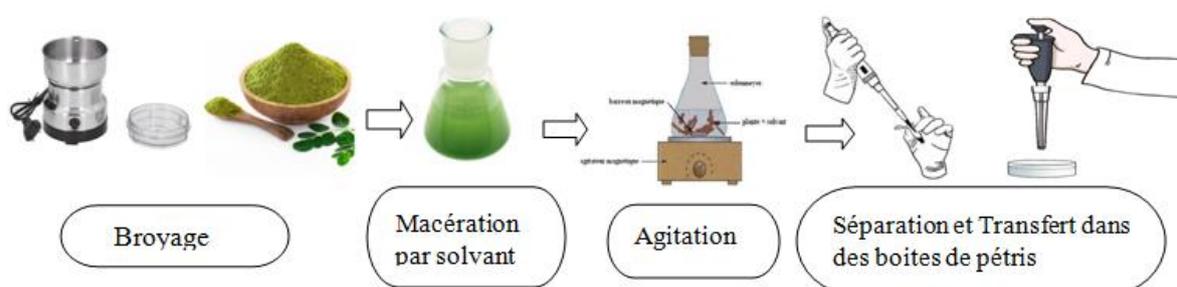


Figure. 10. Protocole d'extraction des composés phénoliques

I.5. Préparation des échantillons

Dans une première étape, les extraits bruts de feuilles ont été solubilisés dans le méthanol pour obtenir une solution mère. Par la suite et pour toutes les méthodes réalisées dans cette étude à savoir celles d'évaluation de l'activité anti-oxydante ou bien anti-inflammatoire, les extraits des cinq plantes ont été testés à une concentration finale de 250

µg/ml. Les extraits bruts qui ont exhibé de puissants effets ainsi que les standards ont fait l'objet d'une étude en fonction de concentration à savoir (200, 100, 50, 25, et 12.5µg/ml) pour l'acide ascorbique et l'acide gallique et (1000, 800, 600, 400 et 200µg/ml) pour *Thapsia garganica*.

Les valeurs IC50 de chaque échantillon ont été déterminées à partir des courbes de régression linéaires en utilisant le logiciel "Origin "

II. Dosage des composés phénoliques

Le dosage des composés phénoliques revêt une importance capitale dans de nombreux domaines pratiques en raison de leurs propriétés anti-oxydantes et de leurs bienfaits potentiels pour la santé. Cependant, leur teneur peut varier considérablement selon les procédés employés (Rahman, Md. M *et al.*, 2021).

II.1. Dosage des phénols totaux

Le dosage des phénols totaux a été mesuré par spectrophotométrie, en utilisant une méthode colorimétrique avec le réactif de Folin-Ciocalteu.

- **Principe :** Le réactif Folin-Ciocalteu (FCR), composé d'un mélange d'acides phosphotungstique et phosphomolybdique, est utilisé pour détecter les polyphénols dans les extraits végétaux. En milieu alcalin, les polyphénols réduisent le réactif, formant des oxydes de tungstène et de molybdène, ce qui donne une coloration bleue. L'intensité de cette couleur mesurée à 765 nm, est proportionnelle à la concentration de polyphénols (Zagoskina, N. V *et al.*, 2023).
- **Protocole expérimental :** Le dosage des phénols totaux a été réalisé en suivant le protocole de (Djeridane, A *et al.*, 2006) comprenant l'incubation des échantillons avec le réactif de Folin-Ciocalteu et le Na₂CO₃, suivi de la mesure de l'absorbance.

Dans cette étude, 20 µL de chaque extrait de plante ont été déposés dans une microplaque à 96 puits. 100 µL de réactif de Folin-Ciocalteu préalablement dilué au 1/10 ont ensuite été ajoutés. Après 5 minutes d'incubation à température ambiante, 80 µL d'une solution de carbonate de sodium Na₂CO₃ à 75% ont été incorporés. Le mélange

a alors été vortexé avant d'être incubé pendant 30 minutes à 37°C, suivi d'une lecture spectrophotométrique à une longueur d'onde de 765nm.

Pour quantifier la teneur en phénols totaux, une courbe d'étalonnage a été préparée à l'aide de différentes concentrations d'acide gallique. La concentration en phénols totaux est exprimée en mg équivalent acide gallique par g d'extrait sec, calculée à partir de l'équation de la courbe d'étalonnage.

II.2. Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été réalisée à l'aide d'une méthode reposant sur la formation d'un complexe très stable entre le chlorure d'aluminium l' AlCl_3 et les atomes d'oxygène des molécules de flavonoïdes (Shraim, A. M *et al.*, 2021).

- **Principe :** Selon (Huang, R *et al.*, 2018) la méthode du chlorure d'aluminium fonctionne en créant un lien covalent entre l' AlCl_3 et les groupes OH des flavonoïdes, ce qui crée un complexe extrêmement stable avec les atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes ce qui rend les métaux (Fe^{+2} , Al^{+2}) jaunâtres par chélation, dont l'absorbance maximale est de 430 nm.
- **Protocole expérimental :** Tout d'abord une solution aqueuse d' AlCl_3 a été préparée en mélangeant 30 mg d' AlCl_3 et 90 mg d'acétate de sodium dans 25mL d'eau distillée. Ensuite, 50 μL de chaque extrait et 50 μL de la solution d' AlCl_3 ont été déposés dans une microplaque. Le mélange a été incubé 15 min à température ambiante et à l'abri de la lumière. Finalement, l'absorbance a été mesurée à 430 nm.

Pour quantifier la teneur en flavonoïdes, une courbe d'étalonnage a été préparée à l'aide de différentes concentrations de quercétine. Les concentrations en flavonoïdes sont exprimées en mg équivalent quercétine par g d'extrait sec, calculées à partir de l'équation de la courbe d'étalonnage (Figures 11 et 12).

III. Évaluation de l'activité anti-oxydante

En raison de la complexité des processus d'oxydation et de la diversité des composants antioxydants, il est nécessaire d'effectuer des tests multiples et complémentaires *in vitro* et *in vivo* pour une évaluation précise de l'effet antioxydant.

Dans cette étude l'évaluation de l'activité anti-oxydante a été réalisée en suivant trois protocoles à savoir la neutralisation des radicaux (DPPH, OH et NO).

III.1. Test DPPH

Le test DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est une méthode couramment employée pour évaluer l'activité anti-oxydante des extraits végétaux en mesurant la capacité des substances à neutraliser les radicaux libres.

- **Principe :** Le DPPH est un radical libre de couleur violette dans sa forme oxydée. Lorsque des composés antioxydants interagissent avec le DPPH en lui cédant un proton, ce dernier est réduit et prend une couleur jaune. Ainsi, l'intensité de la couleur violette du DPPH est inversement proportionnelle à l'activité anti-radicalaire de l'extrait testé. Cette propriété est exploitée dans la méthode d'évaluation de l'activité anti-oxydante (Baliyan, S *et al.*, 2022).
- **Protocole expérimental :** D'après le protocole décrit par (Molyneux, P., 2003) une solution de DPPH a été préparée en dissolvant 4 mg de DPPH dans 100 mL d'éthanol. Dans une microplaque, 10 µL de chaque extrait ainsi que l'acide ascorbique et l'acide gallique utilisés comme standards ont été mélangés avec 190 µL de cette solution de DPPH. Le mélange a alors été incubé pendant 30 minutes à température ambiante et à l'obscurité. Enfin, une mesure de l'absorbance à 517 nm a été effectuée.

Après la lecture spectrométrique des échantillons on procède à calculer le pourcentage d'inhibition de chaque échantillon selon cette formule :

$$\% \text{ d'Inhibition} = \frac{Ac - Ae}{Ac} \times 100$$

Avec :

Ac est l'absorbance de contrôle

Ae est l'absorbance de l'échantillon

III.2. Test OH

Le radical hydroxyle est l'espèce la plus réactive de l'oxygène qui peut facilement traverser les membranes cellulaires, réagir facilement avec la plupart des biomolécules, y compris les glucides, les protéines, les lipides et l'ADN dans les cellules et induire des lésions tissulaires graves ou la mort cellulaire (Juan, C. A *et al.*, 2021).

- **Principe** : Le principe du test OH est d'évaluer la capacité de piégeage ou de balayage des radicaux hydroxyles (OH[•]) par des extraits des plantes.

Le test se base sur la génération de ces radicaux hydroxyles en milieu aqueux, généralement par la réaction de Fenton impliquant des ions ferreux (Fe²⁺) et du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) selon l'équation :



La capacité de l'extrait végétal à capter et neutraliser ces radicaux hydroxyles est alors mesurée, en utilisant généralement l'acide salicylique comme molécule sonde qui réagit avec les radicaux résiduels (Lankone, R. S *et al.*, 2020).

- **Protocole expérimental** : Le test a été réalisé selon un protocole spécifique de (Rajamanikandan, S *et al.*, 2011) qui implique l'utilisation de certains réactifs et d'équipements appropriés.

Dans chaque tube, 500 µL de solution de FeSO₄ (1,5 mM), 350 µL de solution de H₂O₂ (6 mM), 150 µL de solution de salicylate (20 mM) et 500 µL de chaque extrait ont été ajoutés. Des tubes contenant le blanc échantillon de chaque extrait de plante, sans la solution de salicylate, ont également été apprêtés. Après avoir vortexé, les mélanges ont été incubés à 37°C pendant 1 heure à 37°C. Finalement, les mélanges ont été centrifugés 3 minutes à 3000 rpm avant de mesurer l'absorbance à 562 nm.

Et le pourcentage d'inhibition a été calculé pour chaque extrait et standard selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'Inhibition} = \frac{A_c - A_e}{A_c} \times 100$$

Avec

A_c est l'absorbance de contrôle

A_e est l'absorbance de l'extrait

III.3. Test NO

Le test de l'oxyde nitrique (NO) est une méthode utilisée pour évaluer l'activité anti-oxydante. Il joue un rôle crucial dans divers processus biologiques, y compris la régulation du stress oxydatif. Il permet de mesurer la capacité des antioxydants à neutraliser les espèces réactives de l'azote (RNS) contribuant ainsi à la compréhension de leur efficacité dans la protection contre les dommages oxydatifs.

- **Principe :** Le test utilise le Sodium Nitroprusside (SNP) comme donneur de monoxyde d'azote (NO). En présence d'oxygène, le NO forme des ions nitrite (NO₂⁻). Lorsqu'un antioxydant est présent, la production de NO₂⁻ est réduite, car l'antioxydant inhibe la formation de NO à partir du SNP. Le dosage colorimétrique des nitrites se fait en deux étapes : la réaction de Griess, où le NO₂⁻ réagit avec la sulfanilamide en milieu acide pour former un composé diazoïque, puis le couplage avec le NEDD (N-(1-naphthyl) éthylènediamine) produit un composé coloré rose (Bories, C. et al., 1986). L'absorbance à 543 nm permet de quantifier la production de NO₂⁻ et d'évaluer l'activité antioxydante.

Ce test permet d'évaluer la capacité des échantillons à neutraliser les radicaux libres de monoxyde d'azote et peut aussi examiner l'activité anti-inflammatoire, le NO modulant la production de cytokines et interagissant avec des lipides (Munteanu, I. G & Apetrei, C 2021). Cependant, le NO peut avoir des effets pro-inflammatoires dans certaines conditions.

- **Protocole expérimental :** Dans cette expérience, 50 µL de chaque extrait et 50 µL d'une solution de NPS préparée ont été distribués dans une microplaque. Des blancs échantillons, ont également été préparés. Le tout a ensuite été incubé 1h30 sous éclairage.

Un réactif de sulfanilamide préparé en diluant 100 mg de sulfanilamide dans 5 mL d'une solution d'acide phosphorique H₃PO₄ à 5% a alors été ajouté à raison de 50 µL par puits. Après 10 minutes d'incubation à l'obscurité, 50 µL d'une solution de NEDD à 0,1% préparée en dissolvant 5 mg de NEDD dans 5 mL d'eau distillé ont été incorporés. Enfin, le mélange a subi une dernière incubation de 10 minutes à température ambiante et à l'abri de la lumière, avant la mesure de l'absorbance à 543 nm.

Le pourcentage d'inhibition a été calculé pour chaque extrait et standard selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'Inhibition} = \frac{Ac - Ae}{Ac} \times 100$$

Avec :

Ac est l'absorbance de contrôle

Ae est l'absorbance de l'extrait

VI. Évaluation de l'activité anti inflammatoire

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits végétaux peut être réalisée à l'aide de différentes techniques d'analyse y compris l'activité anti-hémolytique et test d'inhibition de l'œdème.

Et l'une des approches les plus reconnues pour sa fiabilité et sa pertinence dans ce domaine est le test à l'albumine de sérum bovin (BSA) (Lekouaghet, A *et al.*, 2020).

VI.1. Test BSA

L'inflammation est souvent causée par la dénaturation des protéines, et l'inhibition de cette dénaturation indique un potentiel anti-inflammatoire (Dharmadeva, S *et al.*, 2018). L'albumine de sérum bovin (BSA) est couramment utilisée comme modèle pour évaluer les propriétés anti-inflammatoires de divers composés. La BSA est facilement dénaturée par la chaleur, entraînant son agrégation et une augmentation de la turbidité de la solution.

Lorsque des composés anti-inflammatoires sont ajoutés à la BSA avant le chauffage, ils interagissent avec la protéine et inhibent son agrégation. L'inhibition est quantifiée par la mesure de la turbidité résiduelle, qui est inversement proportionnelle à l'activité anti-inflammatoire des molécules testées (Park, J. H *et al.*, 2018).

- **Principe :** Selon (Kandikattu, K *et al.*, 2013), le principe de cette méthode repose sur l'inhibition de la dénaturation thermique de la protéine BSA causée par la chaleur. En condition normale, l'exposition de la BSA à une température de 70°C entraîne sa dénaturation, c'est-à-dire la perte de sa structure tridimensionnelle native. Cependant, en

présence d'extraits végétaux possédant des propriétés anti-inflammatoires, la BSA peut résister davantage à cette dénaturation thermique. Plus le pourcentage d'inhibition est élevé, plus le composé présente une forte activité anti-inflammatoire *in vitro* (Lekouaghet, A *et al.*, 2020).

- **Protocole experimental :** Dans une première étape, un tampon Tris-HCl a été préparé en dissolvant 0,5 g de Tris dans 100 mL d'eau distillée, puis une solution de BSA a été solubilisée dans le même tampon à une concentration de 0,5% (p/v).

Dans une microplaque, 50 µL de chaque échantillon (extraits bruts et diclofénac utilisé comme standard de référence) ont été déposés, suivi d'un ajout de 50 µL de la solution de BSA. Des blancs échantillons, sans la BSA, ont été également préparés dans les mêmes conditions.

Le mélange a été incubé pendant 20 min à 37°C, puis soumis à un choc thermique à 70°C pendant 5 min. Enfin, 50 µL de tampon Tris-HCl ont été ajoutés avant de mesurer l'absorbance à 660 nm.

Le pourcentage de protection a été calculé pour chaque extrait et standard selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'Inhibition} = \frac{Ac - Ae}{Ac} \times 100$$

Avec :

Ac est l'absorbance de contrôle

Ae est l'absorbance de l'extrait

V. Analyse statistique

Les résultats obtenus sont exprimés sous forme de la moyenne \pm écart-type ($n = 3$).

L'analyse statistique est réalisée par le logiciel GraphPad Prism.5 en appliquant l'analyse

De la variance (ANOVA). La significativité de la variance a été évalué au niveau des

Probabilités d'erreurs $p < 0,05$; $p < 0,01$.

Résultats et Discussion

Résultats et discussion

I. Taux d'extraction (%)

Le tableau III présente les taux d'extraction obtenus par macération des feuilles des différentes plantes dans l'éthanol.

Il ressort à travers l'observation des rendements d'extraction que les taux varient d'une plante à une autre.

Tableau. III. Les taux d'extraction des différentes plantes.

Plantes	Taux d'extraction (%)
<i>Malva sylvestris</i>	61.2
<i>Urtica dioica</i>	5.12
<i>Thapsia garganica</i>	53
<i>Ruta graveolens</i>	8.76
<i>Borago officinalis</i>	4

L'éthanol qui est souvent utilisé dans l'extraction de composés phytochimiques en raison de sa capacité à dissoudre une large gamme de molécules, a marqué une bonne efficacité chez *Malva sylvestris* avec le plus grand taux d'extraction (61,2%), suivi par *Thapsia garganica* avec 53%.

Des études ultérieures menées par Shadid et ses collaborateurs en 2021 qui ont travaillé sur *Malva sylvestris* avaient abouti aux résultats inférieurs avec des taux d'extraction de 3.25% et 4.31% en utilisant l'eau et le méthanol comme solvants d'extraction.

En analysant les résultats obtenus par les autres plantes, on remarque de faibles rendements chez *Ruta graveolens*, *Urtica dioica* et *Borago officinalis* avec des taux de 8,76 , 5,12 et 4% respectivement. Ce résultat peut être expliqué par une faible solubilité des composés de ces plantes dans l'éthanol 96%.

Les résultats rapportés par Fattahi et ses collaborateurs (2013) qui ont étudié *Urtica dioica* ont démontré que l'utilisation de l'eau comme solvant d'extraction pendant 72h à température ambiante a marqué un rendement d'extraction élevé correspondant à $15,46 \pm 1,92\%$.

Les résultats rapportés auparavant par l'équipe de recherche de Zemmouri (2019), ont montré que les taux d'extractions des composés phénoliques de *Borago officinalis* collectée à Sidi Aissa augmentent avec la polarité du solvant et que le meilleur rendement d'extraction a été enregistré par la fraction aqueuse de l'éthanol avec 45%.

Plusieurs études ont indiqué que la différence des taux d'extraction est due aux méthodes utilisées, type de solvants (plus le solvant est polaire plus le rendement est important), aux différentes conditions d'extraction tels que le pH, la température, la durée de l'extraction et la composition phytochimique de l'échantillon (Mechraoui, O *et al.*, 2021)

Il a été démontré que l'addition de l'eau aux solvants organiques augmente la solubilité des composés par modulation de la polarité de ces derniers.

II. Dosage des composés phénoliques

Les concentrations des phénols totaux et les flavonoïdes sont déterminées à partir des courbes d'étalonnages ($y=5,1025x-0,6016$, $R^2=0,981$), ($y=5.8661x-0,769$, $R^2=0,991$) tracées en utilisant comme standard l'acide gallique et la quercétine respectivement. Les concentrations sont exprimées en mgEq AGAL/g extrait pour les phénols totaux, en mg Eq Q/g d'extrait pour les flavonoïdes.

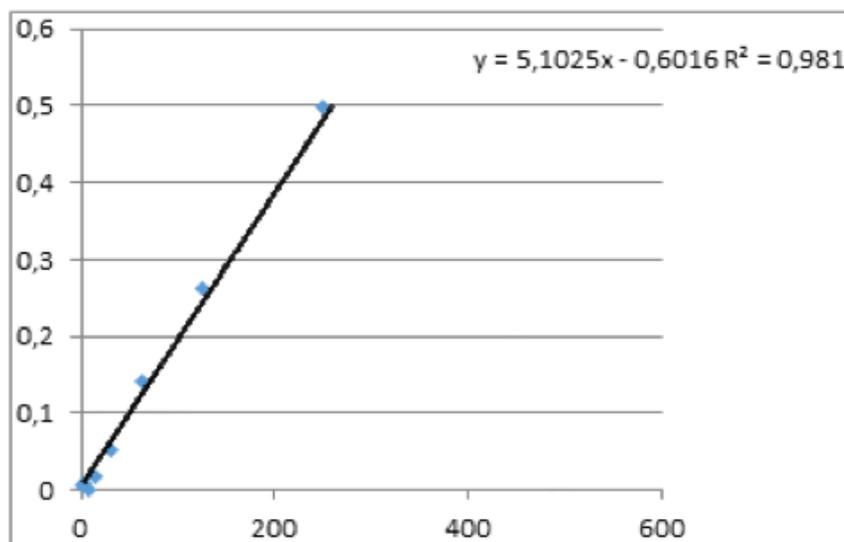


Figure.11. Courbe d'étalonnage des phénols totaux

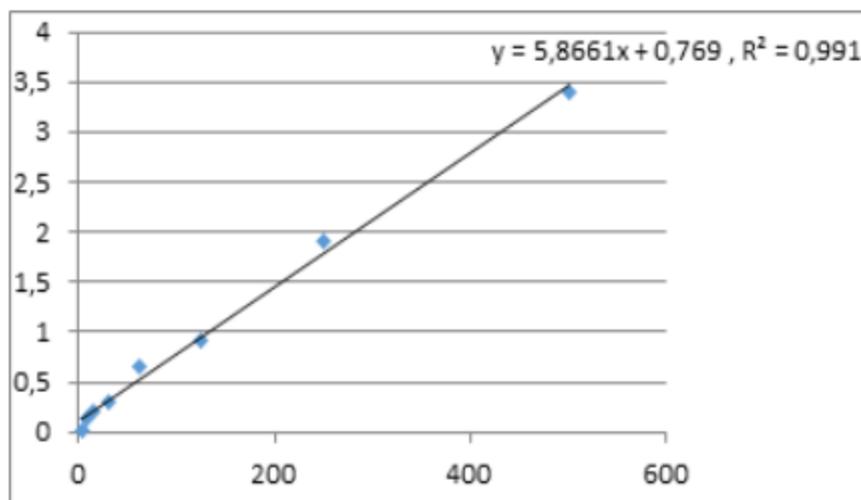


Figure.12. Courbe d'étalonnage des flavonoïdes.

II.1. Dosage des phénols totaux

Il existe plusieurs techniques pour quantifier les composés phénoliques des plantes médicinales. La méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu repose sur la capacité de réduire ce réactif composé d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique en mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène sous forme d'oxydes phénoliques (Zagoskina, N. V *et al.*, 2023).

Les résultats de dosage colorimétrique des phénols totaux des cinq extraits des différentes plantes sont représentés dans la (Figure.13).

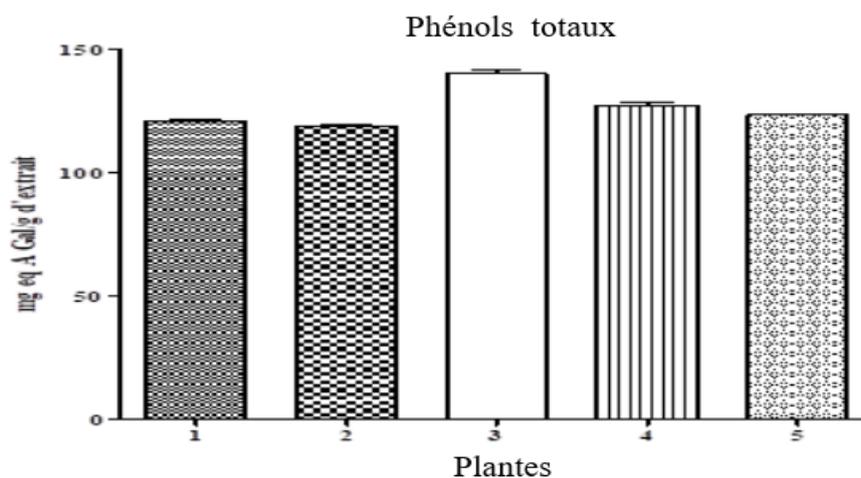


Figure.13. Dosage des phénols totaux des extraits des cinq plantes.

1: *Malva sylvestris* 2: *Urtica dioica* 3: *Thapsia garganica* 4: *Ruta graveolens* 5: *Borago officinalis*

-Toutes les valeurs sont exprimées par moyenne de trois essais avec \pm l'écart-type. mg Eq A Gal/g extrait: milligramme équivalent acide gallique par gramme d'extrait sec. *** $p < 0,001$, ** $p < 0,01$, * $p < 0,05$, ns $p > 0,05$ en comparaison les données de chaque colonne (test de Newman-Keuls).

D'après ces résultats, on constate que la meilleure teneur en phénols totaux ($P < 0,001$) a été enregistrée par *Thapsia garganica* avec $140,24 \pm 1,29$ mg Eq AGal/g extrait sec.

Ces résultats sont largement supérieurs à ceux enregistrés par l'extrait aqueux de la même espèce récoltée dans la Wilaya de Jijel, Algérie avec 1,04 mg Eq AGal/g extrait sec (Boukriche, F. Z *et al.*, 2012) et par rapport aux résultats rapportés par (Athmouni, K *et al.*, 2015) sur un extrait méthanolique des feuilles de *Thapsia garganica* collecté au Sud Tunisien, sur le potentiel des phénols totaux estimé de $10,44 \pm 1,3$ mg Eq AGal/g DW.

La *Ruta graveolens* a une teneur élevée en polyphénols avec $127,57 \pm 1,15$ mg AGal/g suivie de près par la *Borago officinalis* avec $123,46 \pm 0,49$ mg GAE/g, elle est considérée aussi élevée comparativement à ceux enregistrés par les extraits aqueux ($35,48 \pm 2,70$ mg AGal/g) et éthanoliques ($94,09 \pm 1,72$ mg AGal/g) de la même plante (Zemmouri, H *et al.*, 2019).

Le taux en phénols totaux de *Malva Sylvestris* est estimé de $121,10 \pm 0,41$ mg AGal/g, un résultat qui est largement supérieur à celui rapporté par Hammoud et son groupe de recherche en 2024 ($24,123 \pm 0,718$ mg AGal/g).

Plusieurs travaux de recherches ont indiqué que le taux en phénols totaux peut varier d'une plante à une autre, par rapport aux solvants utilisés, la méthode et les réactifs employés, ainsi que l'interaction des composés phénoliques avec d'autres constituants. Aussi les facteurs environnementaux telle que le climat, la température, l'altitude...etc (Naczka, M et Shahidi, F., 2004).

Une étude menée par Owen et Johns (1999) sur le dosage des tannins de 28 variétés de plantes médicinales a montré qu'après le classement de ces dernières, que la plante la plus riche présente un taux de 292 mg Eq AT/g d'extrait, réaffirmant la richesse de *P. lentiscus* en tannins.

II.2. Dosage des flavonoïdes totaux

La méthode de dosage colorimétrique la plus utilisée est celle au chlorure d'aluminium afin de mesurer de manière précise les flavonoïdes totaux présents dans chaque extrait. Grâce à ces informations concernant le profil flavonoïque, il sera possible de repérer les extraits les plus riches en ces composés bioactifs, réputés pour leurs fonctions anti-inflammatoires et

anti-oxydantes. Le chlorure d'aluminium (AlCl_3) crée un complexe coloré jaune avec des flavonoïdes et évalué spectrophotométriquement.

Grâce à la courbe d'étalonnage établit avec une substance de référence (quercétine), et après la mesure de l'absorbance des extraits végétaux traités à l' AlCl_3 et déduire la concentration totale de flavonoïdes dans chaque extrait, exprimée en équivalents de la référence.

Les résultats de dosage des Flavonoïdes des extraits éthanoliques des feuilles des plantes ont été représenté dans le graphique suivant (Figure.14) :

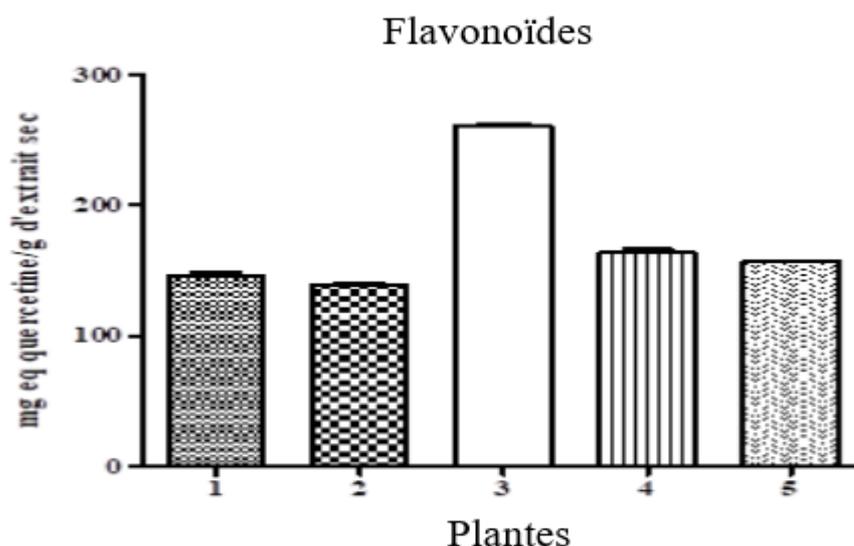


Figure. 14. Dosage des flavonoïdes des extraits des cinq plantes.

1: *Malva sylvestris* 2: *Urtica dioica* 3: *Thapsia garganica* 4: *Ruta graveolens* 5: *Borago officinalis*

-Toutes les valeurs sont exprimées par moyenne de trois essais avec \pm l'écart-type. mg Eq quercétine/g extrait: milligramme équivalent quercétine par gramme d'extrait sec. *** $p < 0,001$, ** $p < 0,01$, * $p < 0,05$, ns $p > 0,05$ en comparaison les données de chaque colonne (test de Newman-Keuls).

Les résultats montrent une variation dans la teneur en flavonoïdes des cinq extraits de plantes médicinales testés, avec *Thapsia garganica* ayant le taux le plus élevé en flavonoïdes que les autres extraits avec $261,05 \pm 1,97$ mg QE/g. La présence de flavonoïdes totaux à une concentration élevée entraîne une augmentation de la formation de complexes colorés, ce qui se traduit par une absorbance mesurée accrue.

Les résultats rapportés par (Boukriche, F. Z *et al.*, 2012) sur le potentiel en flavonoïdes d'un extrait aqueux de la même plante a été estimé de 8mg QE/mg qui est comparativement faible.

Ruta graveolens a marqué une teneur en flavonoïdes moyenne de $163,77 \pm 3,09$ mg QE/g, cette valeur est légèrement supérieure à celle enregistré par *Borago officinalis* évalué de

157,06±0,6 mg QE/g ce qui reflète que la teneur en flavonoïdes est similaire à celle de *Ruta graveolens*.

Les résultats rapportés par (Zemmouri, H *et al.*, 2019) ont montré une teneur des flavonoïdes des extraits aqueux et éthanolique de *Borago officinalis* de 20,79±295 mg QE/g et 37,65±3,93 mg QE/g.

Malva Sylvestris a montré un potentiel de 146,16±2,66 mg QE/g. Cette valeur indique une teneur modérée en flavonoïdes. Lors d'une étude réalisée par (Baghdad *et al.*, 2013) sur un extrait éthanolique des feuilles de *Malva sylvestris* collecté du nord-Ouest de l'Algérie, la teneur en flavonoïdes a été estimée de 5,694±0,017 mg QE/100g.

En revanche, *Urtica dioica* a enregistré une teneur en flavonoïdes légèrement plus faible inférieure à celle de *Malva Sylvestris* avec 139,39±0,69 mg QE/g.

On constate que *Thapsia garganica* ayant la concentration la plus élevée en flavonoïdes plus que d'autres. Cette variation peut être due à plusieurs facteurs tels que la nature spécifique des flavonoïdes présents dans chaque plante et les conditions de croissance des plantes. La méthode du chlorure d'aluminium permet de détecter et quantifier efficacement ces différences grâce à la formation de complexes colorés mesurables par spectrophotométrie

III. Évaluation de l'activité anti-oxydante

La capacité anti-oxydante des extraits bruts de *Malva sylvestris*, *Urtica dioica*, *Thapsia garganica*, *Ruta graveolens* et *Borago officinalis* a été déterminée en utilisant des méthodes chimiques *in vitro*, par l'évaluation de l'effet scavenger contre les radicaux (DPPH, OH et le NO).

III.1. Test DPPH

Cette méthode est largement utilisée pour déterminer la capacité anti-radicalaire d'un échantillon. L'observation d'un changement de coloration du violet au jaune lors de ce test indique une réduction du radical DPPH par les extraits végétaux par lui cédant un atome d'hydrogène H ou un électron e^- , témoignant de leur activité anti-oxydante.

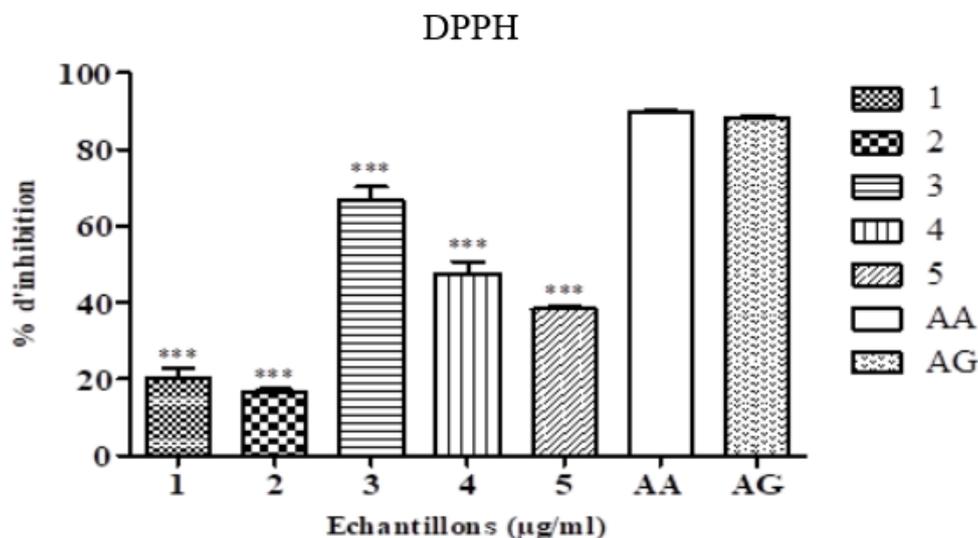


Figure. 15. Pourcentages d'inhibition du radical DPPH des différents échantillons à une concentration de 250 µg/ml.

1: *Malva sylvestris* 2: *Urtica dioica* 3: *Thapsia garganica* 4: *Ruta graveolens* 5: *Borago officinalis*
 AA : Acide ascorbique AG : Acide gallique.

Toutes les valeurs sont exprimées par moyenne de trois essais avec \pm l'écart-type. *** $p < 0,001$, ** $p < 0,01$, * $p < 0,05$, ns $p > 0,05$ par rapport au control positif AA (test de Dunnett).

En analysant les résultats représentés dans la figure 15, on constate les radicaux libres DPPH dans le milieu réactionnel sont presque complètement inhibés par l'acide ascorbique et l'acide gallique, indiquant leurs efficacités comme antioxydants de référence.

Les deux standards, l'acide ascorbique et l'acide gallique à la même concentration (100µg/mL) ont montré une forte capacité réductrice des radicaux libres DPPH avec des pourcentages d'inhibition très proche de l'ordre de $89,98 \pm 0,34\%$ et $88,44 \pm 0,39\%$ où aucune différence significative n'a été notée.

Après évaluation des propriétés anti-oxydantes de l'acide ascorbique et de l'acide gallique, Yen et son équipe de recherche (2002) ont constaté qu'à une concentration de 4,17mM de l'acide gallique a des taux de piégeage de 43,9 % sur les radicaux DPPH, une valeur légèrement supérieure au taux d'inhibition enregistré par la même concentration de l'acide ascorbique évalué de 42.1%.

L'extrait brut de *Thapsia garganica* à une concentration de 250 µg/ml a exhibé l'effet anti-radicalaire le plus puissant ($66,91 \pm 3,42\%$), significativement ($p < 0,001$) supérieur à ceux enregistrés par les autres plantes.

Ruta graveolens et *Borago officinalis* ont enregistrés une capacité à inhiber les radicaux DPPH moyenne avec un pourcentage d'inhibition de $47,65 \pm 3,08\%$ et $38,27 \pm 0,86\%$ respectivement.

Par contre, les plus faibles activités ont été notées par les extraits de *Malva sylvestris* et *Urtica dioica* $20,49 \pm 2,26\%$ et $16,54 \pm 0,86\%$ respectivement, significativement ($p < 0,001$) inférieurs par rapport aux pourcentages des deux substances de références.

Dans une étude réalisée par Papuc et ses collaborateurs en 2016 sur une plante appartenant à la même famille de *Thapsia garganica* (Apiacées), nommée *Petroselinum crispum* connu pour ses propriétés anti-oxydantes et qui a enregistré un pourcentage d'inhibition de 69,56% à une concentration de 50µg/mL.

Selon (Khare, P *et al.*, 2012), un extrait méthanolique d'*Urtica dioica* collecté en Inde a enregistré une activité anti-oxydante approximé à 60% à une concentration de 150µg/mL, montrant ainsi que cette plante possèdent des propriétés réductrices forte des radicaux libres DPPH. Et un pourcentage d'inhibition plus élevé que celui de *Malva sylvestris*, a été enregistré à partir d'un extrait aqueux et méthanolique de la même plante collectée à Pakistan lors d'une évaluation réalisée par Irfan et ses collaborateurs en 2021, estimé de $66,09 \pm 0,01\%$ et $78,28 \pm 0,09\%$ respectivement à une concentration de 0,5 µg/mL.

Plusieurs études ont établi des relations entre les teneurs en composés phénoliques et la propriété anti-oxydante et ils ont rapportés l'implication des flavonoïdes dans la neutralisation de ces radicaux.

Le pourcentage d'inhibition faible de *Malva sylvestris* et *Urtica dioica* pourrait indiquer une concentration plus faible de composés antioxydants ou la présence des flavonoïdes moins efficaces pour piéger les radicaux libres DPPH dans le milieu réactionnel.

Détermination d'IC50

La IC50 est la concentration qui correspond à 50% d'inhibition d'un radical, la valeur la plus faible correspond à l'efficacité de l'extrait la plus élevée et par conséquent une activité anti-radicalaire plus importante.

Dans le but de représenter le pouvoir antioxydant en termes de IC50, les extraits et les standards qui ont montré un puissant effet à 250 µg/ml ont été testés sur une gamme de concentrations à savoir (200, 100, 50, 25, et 12.5µg/ml) pour l'acide ascorbique et (1000, 800, 600, 400, 200 et 100µg/ml) pour *Thapsia garganica*.

La concentration d'antioxydants de l'extrait appartenant à *Thapsia garganica* nécessaire à réduire la moitié des radicaux libres DPPH ($1,94 \pm 0,03 \mu\text{g/mL}$) est beaucoup moins inférieure que la concentration nécessaire de l'acide ascorbique ($57,55 \pm 2,39 \mu\text{g/mL}$).

La valeur IC50 de l'extrait méthanolique des feuilles de la *Thapsia garganica* étudié par Athmouni et son équipe de recherche (2015), a été évalué de $0,24 \pm 0,04 \text{ mg/mL}$.

On déduit que l'extrait éthanolique de la *Thapsia garganica* possède une capacité plus forte à éliminer les radicaux libres DPPH que l'extrait méthanolique. Cela suggère que l'éthanol est le meilleur solvant pour dissoudre les composés phénoliques à activité anti-oxydante.

III.2. Test OH

Ce test est conçu pour mesurer la capacité anti-oxydante de l'échantillon à scavenger des radicaux hydroxyle OH générés par la réaction chimique de Fenton à partir de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 et des ions ferreux Fe^{2+} .

La réaction de OH un substrat détecteur (salicylate de sodium $\text{C}_7\text{H}_5\text{O}_3^-$) forme un produit coloré (jaune/orangé) mesurable. Cette coloration est proportionnelle à la quantité des radicaux hydroxyles. En présence des antioxydants l'extrait végétal va réduire l'intensité de la couleur de la solution reflétant ainsi le piégeage des radicaux hydroxyles OH en formant un complexe antioxydant-OH.

Les flavonoïdes jouent un rôle puissant en tant qu'antioxydants qui neutralisent les radicaux hydroxyles ($\text{OH}\cdot$), ce qui permet de diminuer les dégâts oxydatifs. La structure chimique, en particulier le nombre de groupes hydroxyles et la présence de fonctions

carbonyles, détermine leur efficacité. Les flavonoïdes ont donc une efficacité puissante dans la prévention du stress oxydatif (Rafat Husain, S *et al.*, 1987).

Les résultats de ce test sont représentés dans la (Figure 16)

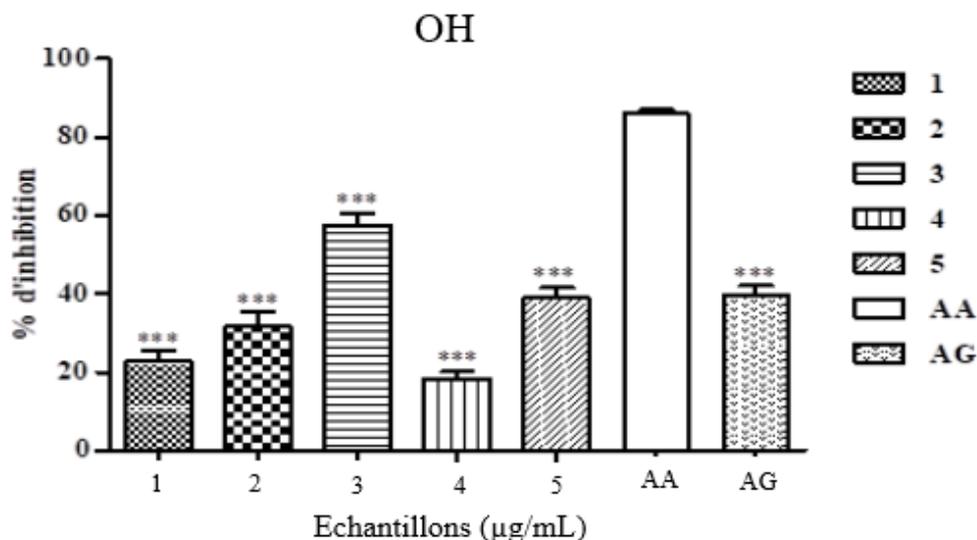


Figure. 16. Effet scavenger des différents échantillons contre le radical OH à 250 µg/ml.

1: *Malva sylvestris* 2: *Urtica dioica* 3: *Thapsia garganica* 4: *Ruta graveolens* 5: *Borago officinalis* AA : Acide ascorbique AG : Acide gallique.

Toutes les valeurs sont exprimées par moyenne de trois essais avec \pm l'écart-type. *** $p < 0,001$, ** $p < 0,01$, * $p < 0,05$, ns $p > 0,05$ par rapport au control positif AA (test de Dunnett).

En analysant les résultats représentés dans cette figure 16, on constate que l'acide ascorbique a enregistré le plus puissant effet de scavenger ($86 \pm 1.01\%$) significativement ($p < 0,001$) supérieur à celui exhibé par l'acide gallique ($39,64 \pm 2.45\%$).

Cela peut être probablement expliqué par le fait que les radicaux hydroxyles OH dans le milieu réactionnel sont presque complètement neutralisé par l'acide ascorbique, indiquant son efficacité comme antioxydant de référence.

Ce standard est connu par sa capacité de réagir avec le radical hydroxyle et d'autres espèces réactives de l'oxygène, les neutralisant ainsi et réduisant leur potentiel de causer des dommages oxydatifs aux cellules et aux tissus.



Thapsia garganica, *Borago officinalis* et *Urtica dioica* ont démontré des pourcentages d'inhibition moyens de l'ordre de $57,64 \pm 2,89\%$, $38,9 \pm 12,75\%$ et $31,82 \pm 3,64\%$ respectivement, cela montre que les antioxydants présents dans leurs extraits ont bien neutralisé les radicaux hydroxyles OH en l'empêchant de réagir avec le salicylate de sodium et donc une intensité de couleur jaune/orangé plus faible.

Dans une étude réalisée Karuppusamy et Muthuraja en 2010 sur des huiles essentielles extrait par hydro-distillation de *Heracleum aquilegifolium* (famille des Apiacées) collectée en Inde, ils ont enregistré un pourcentage d'inhibition des radicaux hydroxyles OH évalué de $81,40 \pm 0,05\%$ à une concentration de $400 \mu\text{g/mL}$. Une activité anti-oxydante plus forte que *Thapsia garganica*.

Tandis que, *Malva sylvestris* et *Ruta graveolens* ont montré une capacité à inhiber les radicaux OH relativement faible ($22,85 \pm 2,73$ et $18,48 \pm 1,82\%$) respectivement, significativement ($p < 0,001$) inférieure à celles exhibés par *Thapsia garganica* et les deux standards.

D'après Moualek et ces collaborateurs en 2020, l'extrait aqueux de *Malva sylvestris* collecté à Tizi-Ouzou a montré un effet anti-radicalaire remarquable estimé de $89,33 \pm 2,05\%$ à une concentration de 2mg/mL .

Plusieurs études réalisées sur les propriétés biologiques des extraits de plantes médicinales ont rapporté l'implication des flavonoïdes (la myricétine, la quercétine, la rhamnétine, la catéchine) dans la neutralisation des radicaux hydroxyles (Rafat Husain, S *et al.*, 1987).

Détermination d'IC50

Après la réalisation d'une série de test de l'extrait de la plante médicinale *Thapsia garganica* et l'acide ascorbique à différentes concentrations.

Les résultats montrent que que l'extrait végétal de *Thapsia garganica* ($2,03 \pm 0,08 \mu\text{g/mL}$) est plus efficace que l'acide ascorbique ($2,81 \pm 0,05 \mu\text{g/mL}$) à piéger les radicaux hydroxyles OH grâce à ces composés phénoliques qui possèdent une activité anti-oxydante puissante.

La valeur IC₅₀ des huiles essentielles extrait par hydro-distillation de la *Heracleum aquilefolium* (famille des Apiacées) collectée en Inde étudié par Karuppusamy et Muthuraja (2010) a été évalué de 51,2±0, 53 µg/mL.

On déduit que *Thapsia garganica* possède une capacité plus forte à piéger les radicaux hydroxyles OH que *Heracleum aquilefolium*.

III.3. Test NO

C'est un test colorimétrique qui évalue la capacité d'un extrait végétal à inhiber la production de l'oxyde nitrique NO, un radical libre qui joue un rôle dans le stress oxydatif ainsi que dans l'inflammation. La couleur rose de la solution est proportionnelle à la quantité de NO présent, moins l'intensité de la couleur est forte, moins la concentration de NO converti en nitrites (NO₂) est élevée, ce qui indique une efficacité à inhiber ce radical NO.

Les résultats de ce test sont représentés dans la figure 17 :

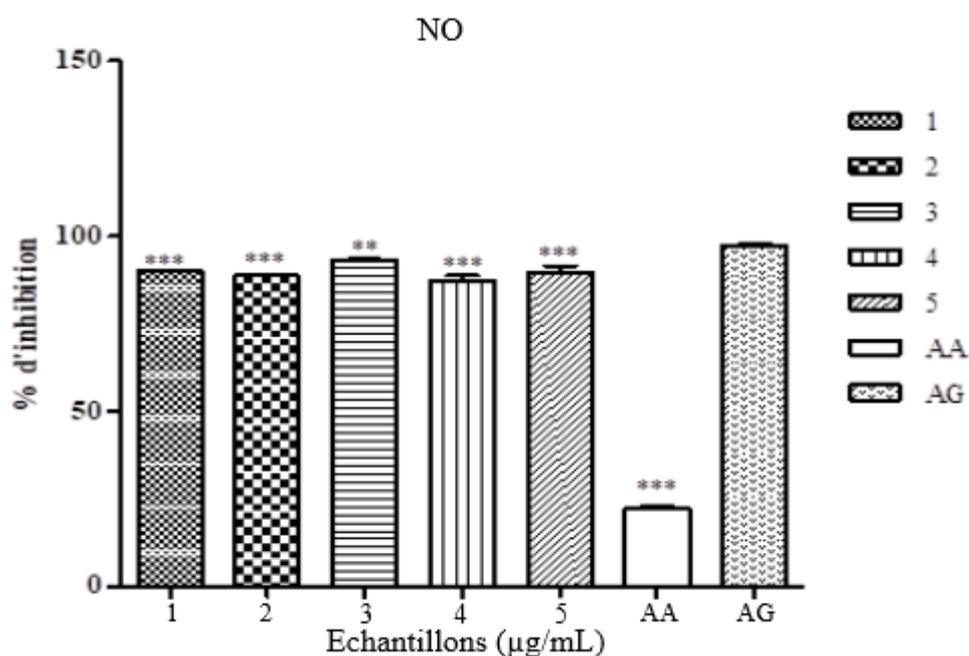


Figure. 17. Effet scavenger des différents échantillons contre le radical NO à 250 µg/ml.

1: Malva sylvestris 2: Urtica dioica 3: Thapsia garganica 4: Ruta graveolens 5: Borago officinalis
AA : Acide ascorbique AG : Acide gallique.

Toutes les valeurs sont exprimées par moyenne de trois essais avec ± l'écart-type. *** p< 0,001, ** p< 0,01, * p< 0,05, ns p> 0,05 par rapport au control positif AA (test de Dunnett).

En analysant la figure 17 et contrairement aux deux tests étudiés précédemment, dans ce test c'est l'acide gallique qui a marqué l'activité anti radicalaire la plus élevée ($97.39\pm 0.44\%$), largement supérieure à celle de l'acide ascorbique ($22,14\pm 0.89\%$), cela indique qu'il possède plus d'efficacité autant qu'un antioxydant de référence pour inhiber la production de l'oxyde nitrique NO

Des résultats légèrement inférieurs à celui de l'acide gallique ont été marqué par les cinq extraits de *Thapsia garganica*, *Malva sylvestris*, *Borago officinalis*, *Urtica dioica* et *Ruta graveolens* avec des pourcentages d'inhibition de $94,57\pm 0,16\%$, $91,89\pm 0,13\%$, $91,72\pm 1,46\%$, $90,9\pm 0,41\%$ et $89,77\pm 1,31\%$ respectivement. Cela montre une forte capacité d'inhibition de la production de NO par les différents extraits végétaux révélant que les cinq plantes présentent de bonnes propriétés anti-oxydantes en raison de leurs compositions phytochimiques riches en polyphénols

Une étude menée par Nagmoti et ses collaborateurs (2012), il a été démontré que les extraits méthanolique et aqueux de *Pithecellobium dulce* (employée en Inde dans le traitement de diverses pathologies inflammatoires) ($1000 \mu\text{g/ml}$) ont exhibé un effet scavenger contre le monoxyde d'azote avec des pourcentages d'inhibitions de $52,97\%$ et $49,89\%$, respectivement.

Selon une étude sur des huiles essentielles extrait par hydro-distillation de *Heracleum aquilegifolium* (famille des Apiacées) collectée en Inde, Karuppusamy et Muthuraja (2010) ont enregistré un pourcentage d'inhibition de la production du radical NO évalué de $85,33\pm 1.2\%$ à une concentration de $400\mu\text{g/mL}$.

En analysant les résultats de cette partie, il en ressort que les cinq extraits de feuilles ont révélé des activités très intéressantes, suggérant que les composés responsables de piégeage des radicaux NO sont présents dans toutes ces plantes.

Détermination d'IC50

L'activité anti-radicalaire des extraits est quantifiée par la concentration efficace du substrat nécessaire pour inhiber 50% de la production de radical NO (IC50).

Des tests ont été menés à diverses concentrations de l'extrait de *Thapsia garganica* qui a marqué l'activité anti-oxydante la plus élevée (200, 400, 600, 800, $1000 \mu\text{g/mL}$) et de l'acide gallique (12,5, 25, 50, 100, $200 \mu\text{g/mL}$) utilisé comme composé de référence.

Les résultats obtenus suggèrent que l'extrait végétal de *Thapsia garganica* ($6,81 \pm 1,77 \mu\text{g/mL}$) est dix fois plus puissant que l'acide gallique ($69,05 \pm 0,05 \mu\text{g/mL}$) à inhiber l'enzyme NO synthase (NOS) responsable de la production de NO, grâce à la présence des substances phénoliques dans la plante.

D'après Karuppusamy et Muthuraja (2010), des huiles essentielles extrait de *Heracleum aquilefolium* par hydro-distillation, ont enregistré une valeur IC₅₀ estimé de $83,93 \pm 0,384 \mu\text{g/mL}$. Cela montre que *Thapsia garganica* a une forte activité anti-oxydante comparativement à *Heracleum aquilefolium*.

VI. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire

L'examen des effets anti-inflammatoires de différentes plantes *in vitro* se base sur l'inhibition de la production de médiateurs pro-inflammatoires, ou l'empêchent des de la dénaturation des protéines.

VI.1. Évaluation de l'effet inhibiteur de la dénaturation protéique

Dans cette présente étude, le test BSA se base sur l'évaluation de la capacité des polyphénols à inhiber la dénaturation de la protéine BSA induite par un choc thermique.

Les résultats de protection de la protéine BSA par les extraits végétaux sont représenté dans le graphique suivant :

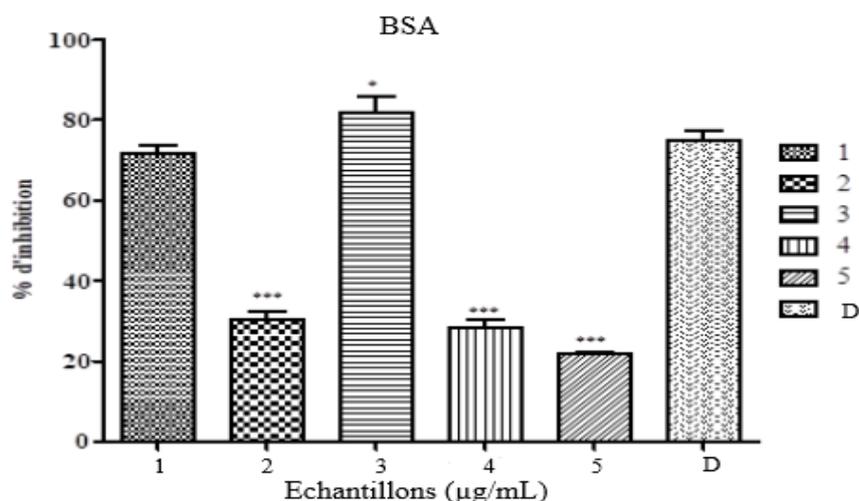


Figure. 18. Pourcentages d'inhibition de la dénaturation de la protéine BSA par des différents échantillons à une concentration de 250 µg/ml.

1: *Malva sylvestris* 2: *Urtica dioica* 3: *Thapsia garganica* 4: *Ruta graveolens* 5: *Borago officinalis*
 D : Diclofenac. Toutes les valeurs sont exprimées par moyenne de trois essais avec \pm l'écart-type. *** $p < 0,001$, ** $p < 0,01$, * $p < 0,05$, ns $p > 0,05$ par rapport au control positif Diclofénaç (test de Dunnett).

Les résultats illustrés dans cette figure montrent clairement que *Thapsia garganica* à une concentration de 250 µg/ml a exhibé le meilleur effet protecteur ($81,72 \pm 4,30\%$) contre la dénaturation thermique de la protéine BSA, suivi de *Malva sylvestris* avec un pourcentage de protection évalué ($71,75 \pm 1,99\%$) proche de l'effet du diclofénac où aucune différence significative n'a été notée.

Le diclofénac est un médicament qui appartient à la classe des anti-inflammatoires non stéroïdiens du groupe des acides arylcanoïques, doté de propriétés analgésiques et anti-inflammatoires en inhibant la COX (Gan, T.J, 2010), il a enregistré une puissante protection de la protéine BSA avec un pourcentage de $75 \pm 2,19\%$

En revanche, *Urtica dioica* et *Ruta graveolens* ont démontré des pourcentages d'inhibitions rapprochés et estimé de $30,4 \pm 2,19\%$ et $28,51 \pm 1,83\%$ respectivement.

Enfin, la plus faible valeur de l'activité anti-inflammatoire a été marquée par *Borago officinalis* avec $21,66 \pm 0,51\%$.

Les molécules potentiellement responsables de cette activité protectrice sont probablement des composés phénoliques et les flavonoïdes présents dans les cinq extraits végétaux avec des potentiels différents.

Plusieurs études ont montré également que certains composés phénoliques, notamment les flavonoïdes et les acides phénoliques contenus dans un végétal possèderaient des propriétés anti-inflammatoires *in vitro* et *in vivo*. Divers mécanismes d'action ont été proposés pour expliquer cet effet expérimentalement, y compris l'inhibition de la production du monoxyde d'azote, la phospholipase A2, la COX, la LOX et la modulation de l'expression des gènes pro-inflammatoires telles que la COX-2 et la iNOS.

Plusieurs travaux de recherche menés sur l'étude du processus inflammatoire ont également indiqué une libération de radicaux libres oxygénés et nitrés par une variété de cellules telles que les polynucléaires neutrophiles, les macrophages et les éosinophiles (Rosen, G *et al.*, 1995), une activité anti-inflammatoire remarquable peut être due à un puissant effet antioxydant.

Détermination d'IC₅₀

Des tests ont été menés à diverses concentrations de l'extrait de *Thapsia garganica* qui a marqué l'activité anti-inflammatoire la plus élevée et de Diclofenac

Les résultats obtenus révèlent que l'extrait végétal de *Thapsia garganica* ($4,35 \pm 0,08 \mu\text{g/mL}$) est beaucoup plus puissant que Diclofenac ($134,81 \pm 4,71 \mu\text{g/mL}$) à protéger la protéine BSA vis-à-vis à la chaleur en raison de la richesse en polyphénols enregistré par cet extrait.

Lors de l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de la plante de la famille des Apiacées qui est *Eryngium carlinae* (collectée au Mexic) avec la méthode de dosages des cytokines plasmatiques par ELISA, réalisé par Arana-Argáez et ses collaborateurs en 2020, la plante a augmenté la production d'IL-10 qui est une cytokine anti-inflammatoire par les macrophages. La valeur IC₅₀ a été estimé de 37,8 pg/mL ($0,0000378 \mu\text{g/mL}$). Ce qui indique que *Thapsia garganica* possède une activité anti-inflammatoire largement inférieure.

Conclusion et perspectives

L'analyse des propriétés phytothérapeutiques, incluant les aspects anti-inflammatoires et antioxydants, représente une avenue prometteuse et bénéfique. Ainsi, la médecine moderne accorde de plus en plus d'importance aux plantes médicinales locales. Notre étude se concentre sur le dosage des antioxydants présents dans cinq plantes médicinales, réalisé par macération des poudres dans l'éthanol, ainsi que sur l'évaluation de leurs activités antioxydantes à travers trois méthodes : DPPH, NO et OH. De plus, leur activité anti-inflammatoire *in vitro* a été évaluée selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines BSA.

Les résultats du dosage des phénols totaux et des flavonoïdes ont montré une présence significative de ces composés dans les cinq plantes examinées. *Thapsia garganica* a affiché les concentrations les plus élevées en phénols totaux ($140,24 \pm 1,29$ mg EAG/g) et en flavonoïdes ($261,05 \pm 1,97$ mg EQ/g) par rapport aux autres plantes. Les études pharmacologiques *in vitro* ont mis en évidence des propriétés antioxydantes marquées, avec des effets scavengers puissants contre les radicaux DPPH, OH et NO, caractérisés par des valeurs IC₅₀ de $1,94 \pm 0,03$ µg/mL, $2,03 \pm 0,08$ µg/ML, $6,81 \pm 1,77$ µg/mL respectivement. Ces effets antioxydants se sont révélés comparables, voire supérieurs, à ceux des molécules de référence étudiées dans notre recherche, telles que l'acide gallique et l'acide ascorbique, suggérant que ces extraits pourraient être efficacement utilisés dans le traitement des maladies associées au stress oxydatif.

Nous avons également évalué l'activité anti-inflammatoire *in vitro* des différents extraits. Les résultats indiquent que tous les extraits ont présenté des effets protecteurs significatifs contre la dénaturation thermique de la protéine BSA, suggérant leur potentiel en tant que traitement pour les complications inflammatoires.

Ces résultats préliminaires ont mis en lumière les activités antioxydantes et anti-inflammatoires des plantes étudiées. De plus, le criblage phytochimique des extraits a permis d'identifier la présence de substances bioactives potentiellement responsables des propriétés pharmacologiques observées.

Pour enrichir cette recherche, Il serait pertinent d'examiner d'autres propriétés biologiques, comme leurs activités antimicrobiennes, analgésiques, anticancéreuses, et même neuroprotectrices. Une analyse approfondie de leur profil de toxicité, comprenant des essais de cytotoxicité (test MTT sur des cultures cellulaires), ainsi que des études de toxicité aiguë et chronique *in vivo*, serait essentielle pour évaluer leur innocuité avant toute application clinique.

Enfin, l'utilisation de techniques chromatographiques avancées telles que la chromatographie liquide haute performance (HPLC) couplée à la spectrométrie de masse (HPLC-MS), ainsi que la chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS), permettrait une analyse phytochimique approfondie des extraits. Ces données phytochimiques, combinées aux évaluations pharmacologiques, fourniront des informations cruciales pour mieux comprendre le potentiel thérapeutique de ces ressources naturelles.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Adetunji, C. O., Palai, S., Ekwuabu, C. P., Egbuna, C., Adetunji, J. B., Ehis-Eriakha, C. B., Kesh, S. S., & Mtewa, A. G. (2021). Chapter 1 - General principle of primary and secondary plant metabolites : Biogenesis, metabolism, and extraction. In C. Egbuna, A. P. Mishra, & M. R. Goyal (Éds.), *Preparation of Phytopharmaceuticals for the Management of Disorders*. p. 3-23.

Ainiwaer, P., Li, Z., Zang, D., Jiang, L., Zou, G., & Aisa, H. A. (2023). Ruta graveolens : Boost Melanogenic Effects and Protection against Oxidative Damage in Melanocytes. *Antioxidants*, 12(8), 1580.

Arana-Argáez, V., Alonso-Castro, A.J., Yáñez-Barrientos, E., Euan-Canto, A., Torres-Romero, J.C., Isiordia-Espinoza, M.A., Brennan-Bourdon, L.M., Juárez-Vázquez, M. del C. and González-Ibarra, A.A. (2020) 'In vitro and in vivo anti-inflammatory effects of an ethanol extract from the aerial parts of *Eryngium carlinae* F. Delaroché (Apiaceae)', *Journal of Ethnopharmacology*, 247, p. 112256.

Asadi-Samani, M., Bahmani, M., & Rafieian-Kopaei, M. (2014). The chemical composition, botanical characteristic and biological activities of *Borago officinalis* : A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 7S1, S22-28.

Athmouni, K., Belghith, T., Bellassouad, K., Makni Ayadi, F. and El Feki, A. (2015). Antioxidant activities and chemical composition of *Eryngium maritimum* L. leaves and roots from the southern coast of Tunisia', *Algerian Journal of Natural Products*, 3(3), pp. 194–208.

Barros, L., Carvalho, A. M., & Ferreira, I. C. F. R. (2010). Leaves, flowers, immature fruits and leafy flowered stems of *Malva sylvestris* : A comparative study of the nutraceutical potential and composition. *Food and Chemical Toxicology*, 48(6), 1466-1472.

Belhouala, K., & Benarba, B. (2021). Medicinal Plants Used by Traditional Healers in Algeria : A Multiregional Ethnobotanical Study. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 760492.

Références bibliographiques

- Bhusal, K. K., Magar, S. K., Thapa, R., Lamsal, A., Bhandari, S., Maharjan, R., Shrestha, S., & Shrestha, J. (2022). Nutritional and pharmacological importance of stinging nettle (*Urtica dioica* L.): A review. *Heliyon*, 8(6).
- Boukriche, F.Z., Fenek, B., and Al Yane, M. (2012) Activité antioxydante de l'extrait brut de la plante *Thapsia garganica* d'Algérie contre le stress rénal et cardiaque induit par la doxorubicine. Mémoire de Master 2, Université de Jijel.
- Bourdeau, P. (2004). The man–nature relationship and environmental ethics. *Journal of Environmental Radioactivity*, 72(1), 9-15.
- Burini, R. C., Anderson, E., Durstine, J. L., & Carson, J. A. (2020). Inflammation, physical activity, and chronic disease : An evolutionary perspective. *Sports Medicine and Health*
- Burke, A., Smyth, E. and Fitzgerald, G. (2006) 'Analgesic-antipyretic and antiinflammatory agents', in Gilman, A.G. (ed.) *The Pharmacological basis of therapeutics*. New York: McGraw Hill, pp. 671–715.
- Chaouche, T. M., Haddouchi, F., Zerhouni, K., & Sidi-Yakhlef, A. (2016). Évaluation de l'activité antimicrobienne de différents extraits d'*Helichrysum stoechas* subsp. *Rupestre*. *Afrique science 1813-548X*, 12, 144-150.
- Chen, Z. X., Li, Y., & Huang, F. (2021). Persistent and Stable Organic Radicals : Design, Synthesis, and Applications. *Chem*, 7(2), 288-332.
- Devkota, H. P., Paudel, K. R., Khanal, S., Baral, A., Panth, N., Adhikari-Devkota, A., Jha, N. K., Das, N., Singh, S. K., Chellappan, D. K., Dua, K., & Hansbro, P. M. (2022). Stinging Nettle (*Urtica dioica* L.): Nutritional Composition, Bioactive Compounds, and Food Functional Properties. *Molecules*, 27(16), 5219.
- Dharmadeva, S., Galgamuwa, L. S., Prasadinie, C., & Kumarasinghe, N. (2018). In vitro anti-inflammatory activity of *Ficus racemosa* L. bark using albumin denaturation method. *Ayu*, 39(4), 239-242.
- Dias, M. C., Pinto, D. C. G. A., & Silva, A. M. S. (2021). Plant Flavonoids : Chemical Characteristics and Biological Activity. *Molecules*, 26(17), 5377.

Références bibliographiques

- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, *97*(4), pp. 654-660.
- Ensikat, H.-J., Wessely, H., Engeser, M., & Weigend, M. (2021). Distribution, Ecology, Chemistry and Toxicology of Plant Stinging Hairs. *Toxins*, *13*(2), 141.
- Esfandi, R., Walters, M. E., & Tsopmo, A. (2019). Antioxidant properties and potential mechanisms of hydrolyzed proteins and peptides from cereals. *Heliyon*, *5*(4), e01538.
- Fattahi, S., Ardekani, A.M., Zabihi, E., Abedian, Z., Mostafazadeh, A., Pourbagher, R., and Akhavan-Niaki, H. (2013). Antioxidant and apoptotic effects of an extract of *Urtica dioica* on the MCF-7 human breast cancer cell line. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. *14*(9). pp. 5317–5323.
- Fattori, V., Hohmann, M. S. N., Rossaneis, A. C., Pinho-Ribeiro, F. A., & Verri, W. A. (2016). Capsaicin : Current Understanding of Its Mechanisms and Therapy of Pain and Other Pre-Clinical and Clinical Uses. *Molecules*, *21*(7), 844.
- Flieger, J., Flieger, W., Baj, J., & Maciejewski, R. (2021). Antioxidants : Classification, Natural Sources, Activity/Capacity Measurements, and Usefulness for the Synthesis of Nanoparticles. *Materials*, *14*(15), 4135.
- Gan, T.J. (2010). Diclofenac: an update on its mechanism of action and safety profile. *Current Medical Research and Opinion*. *26*(7): pp. 1715-1731.
- Gandhi, Y., Kumar, R., Grewal, J., Rawat, H., Mishra, S. K., Kumar, V., Shakya, S. K., Jain, V., Babu, G., Sharma, P., Singh, A., Singh, R., & Acharya, R. (2022). Advances in anti-inflammatory medicinal plants and phytochemicals in the management of arthritis : A comprehensive review. *Food Chemistry Advances*, *1*, 100085.
- Guerriero, G., Berni, R., Muñoz-Sanchez, J. A., Apone, F., Abdel-Salam, E. M., Qahtan, A. A., Alatar, A. A., Cantini, C., Cai, G., Hausman, J.-F., Siddiqui, K. S., Hernández-Sotomayor, S. M. T., & Faisal, M. (2018). Production of Plant Secondary Metabolites : Examples, Tips and Suggestions for Biotechnologists. *Genes*, *9*(6), 309.

Références bibliographiques

Gupta, M., & Singh, S. (2010). *Borago officinalis* Linn. An important medicinal plant of Mediterranean region : Review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 5, 27-34.

Hambaba, L., Boudjellal, K., Abdeddaim, M., Aberkane, M. C., & Boudiaf, K. (2012). Étude in vitro des activités antimicrobienne et antioxydante des extraits du fruit d'*Elaeagnus angustifolia* L. *Phytothérapie*, 10(6), 350-356.

Hammoud, E.K., Saddam, A.C., and Nasser, J.M. (2024) 'Improving nutritional and qualitative properties of wheat bread by using mallow (*Malva neglecta* L.) leaves powder', *Iraqi Journal of Agricultural Sciences*, 55(1), pp. 560–568.

Hannoodee, S., & Nasuruddin, D. N. (2024). Acute Inflammatory Response. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.

He, Y., He, G., & He, T. (2021). Specifically Targeted Transport of Plasma Membrane Transporters : From Potential Mechanisms for Regulating Cell Health or Disease to Applications. *Membranes*, 11(10), 736.

Huang, R., Wu, W., Shen, S., Fan, J., Chang, Y., Chen, S., & Ye, X. (2018). Evaluation of colorimetric methods for quantification of citrus flavonoids to avoid misuse. *Anal. Methods*. 10 , pp. 2575-2587.

Huet, M. (2013). Les plantes médicinales chez les malades atteints de cancers : Pratiques courantes et éléments de leur évaluation. *Bulletin du Cancer*, 100(5), 485-495.

Ifran, M., Yaqoob, M., Nawaz, H., Nasir Butt, M., Riaz, A., Imtiaz, A. and Ahmad, M. (2021) 'Phenolic and flavonoid contents in *Malva sylvestris* and exploration of active drugs as antioxidant and antimicrobial agents', *Current Research in Nutrition and Food Science*, 9(1), pp. 162–172.

Ighodaro, O. M., & Akinloye, O. A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX) : Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54(4), 287-293.

Jaskulska, A., Janecka, A. E., & Gach-Janczak, K. (2020). Thapsigargin—From Traditional Medicine to Anticancer Drug. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(1), 4.

Références bibliographiques

Juan, C. A., Lastra, J. M. P. de la, Plou, F. J., & Pérez-Lebeña, E. (2021). The Chemistry of Reactive Oxygen Species (ROS) Revisited: Outlining Their Role in Biological Macromolecules (DNA, Lipids and Proteins) and Induced Pathologies. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9).

Kandikattu, K., Bharath Rathna Kumar, P., Venu Priya, R., Sunil Kumar, K., Ranjith Singh, B., & Rathore. (2013). Evaluation of anti-inflammatory activity of *Canthium parviflorum* by in-vitro method. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology*, 1(5), pp. 729-730.

Kannan, R., & Babu, U. V. (2012). Identity and pharmacognosy of *Ruta graveolens* Linn. *Ancient Science of Life*, 32(1), 16.

Kapoor, G., Saigal, S., & Elongavan, A. (2017). Action and resistance mechanisms of antibiotics : A guide for clinicians. *Journal of Anaesthesiology, Clinical Pharmacology*, 33(3), 300-305.

Karuppusamy, S. & Muthuraja, G. (2010). Radical Scavenging Activities of *Heracleum aquilegifolium* Wight (Apiaceae) Fruit Oils in vitro. *Z. Naturforsch.* 65 c. pp : 653–659.

Kaur, B., & Singh, P. (2022). Inflammation : Biochemistry, cellular targets, anti-inflammatory agents and challenges with special emphasis on cyclooxygenase-2. *Bioorganic Chemistry*, 121, 105663.

Khare, P. (2012) 'A critical review on biology and cultivation of seabuckthorn', *Chinese Medicine*, 3, pp. 128–135.

Lankone, R. S., Deline, A. R., Barclay, M., & Fairbrother, D. H. (2020). UV–Vis quantification of hydroxyl radical concentration and dose using principal component analysis. *Talanta*, 218, 121148.

Lekouaghet, A., Boutefnouchet, A., Bensuici, C., Gali, L., Ghenaiet, K., & Tichati, L. (2020). In vitro evaluation of antioxidant and anti-inflammatory activities of the hydroalcoholic extract and its fractions from *Leuzea conifera* L. Roots. *South African Journal of Botany*, 132, 103-107.

Lin, D., Xiao, M., Zhao, J., Li, Z., Xing, B., Li, X., Kong, M., Li, L., Zhang, Q., Liu, Y., Chen, H., Qin, W., Wu, H., & Chen, S. (2016). An Overview of Plant Phenolic Compounds and Their Importance in Human Nutrition and Management of Type 2 Diabetes. *Molecules*, 21(10), 1374.

Références bibliographiques

Lopez-Alvarado, J., & Farris, E. (2022). Ecology and Evolution of Plants in the Mediterranean Basin : Perspectives and Challenges. *Plants*, 11(12), 1584.

Losada-Barreiro, S., Sezgin-Bayindir, Z., Paiva-Martins, F., & Bravo-Díaz, C. (2022). Biochemistry of Antioxidants : Mechanisms and Pharmaceutical Applications. *Biomedicines*, 10(12), 3051.

Malik, Z. A., Singh, A., Malik, B. A., Nautiyal, M. C., & Bussmann, R. W. (2024). *Megacarpaea polyandra* Benth. ex Madden - a promising traditional therapeutic herb from the high-altitude Himalayas : A systematic review. *Ecological Frontiers*, 44(3), 415-427.

Mohd Sairazi, N. S., & Sirajudeen, K. N. S. (2020). Natural Products and Their Bioactive Compounds : Neuroprotective Potentials against Neurodegenerative Diseases. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine : eCAM*, 2020, 6565396.

Molyneux, P. (2003). The use of the stable radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26(2), pp. 211-219.

Moualek, I., Moualek, D., Benarab, K., Sebbane, H., Bariz, K. & Houali, K. (2020). Evaluation of antioxidant potential of Algerian *Malva sylvestris* aqueous extract. *International Journal of Sciences and Research*. 76(4) : pp. 53–62.

Mousavi, S. M., Hashemi, S. A., Behbudi, G., Mazraedoost, S., Omidifar, N., Gholami, A., Chiang, W.-H., Babapoor, A., & Rumjit, N. P. (2021). A Review on Health Benefits of *Malva sylvestris* L. Nutritional Compounds for Metabolites, Antioxidants, and Anti-Inflammatory, Anticancer, and Antimicrobial Applications. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine : eCAM*, 2021.

Munteanu, I. G., & Apetrei, C. (2021). Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity : A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), 3380.

Nacz, M. et Shahidi, F. (2004) Extraction et analyse des composés phénoliques dans les aliments. *Journal of Chromatography*, 1054, 95-111.

Références bibliographiques

Najmi, A., Javed, S. A., Al Bratty, M., & Alhazmi, H. A. (2022). Modern Approaches in the Discovery and Development of Plant-Based Natural Products and Their Analogues as Potential Therapeutic Agents. *Molecules*, 27(2), 349.

Nguyen, L. T., Haney, E. F., & Vogel, H. J. (2011). The expanding scope of antimicrobial peptide structures and their modes of action. *Trends in Biotechnology*, 29(9), 464-472.

Nikolenko, V. N., Shelomentseva, E. M., Tsvetkova, M. M., Abdeeva, E. I., Giller, D. B., Babayeva, J. V., Achkasov, E. E., Gavryushova, L. V., & Sinelnikov, M. Y. (2022). Nociceptors: Their Role in Body's Defenses, Tissue Specific Variations and Anatomical Update. *Journal of Pain Research*, 15, 867-877.

Osman, N. I., Sidik, N. J., Awal, A., Adam, N. A. M., & Rezali, N. I. (2016). In vitro xanthine oxidase and albumin denaturation inhibition assay of *Barringtonia racemosa* L. and total phenolic content analysis for potential anti-inflammatory use in gouty arthritis. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 5(4), 343-349.

Owen, P.L. & Johns, T., 1999. Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern North American herbal remedies used for gout. *Journal of Ethnopharmacology*, 64(2), pp. 149-160.

Ozay, C. (2023) 'Extraction of natural antioxidants from plants: a review', *La rivista italiana delle sostanze grasse*, 100(3), pp. 205–220.

Panchal, N. K., & Prince Sabina, E. (2023). Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) : A current insight into its molecular mechanism eliciting organ toxicities. *Food and Chemical Toxicology*, 172, 113598.

Papuc, C., Goran, G.V., Predescu, C.N. and Nicorescu, V. (2016) 'Antioxidant activity of polyphenols extracted from *Viola tricolor* and *Cynodon dactylon*', *Current Research in Nutrition and Food Science*, 4(Special Issue 1), pp. 43–50.

Park, J. H., Jackman, J. A., Ferhan, A. R., Ma, G. J., Yoon, B. K., & Cho, N.-J. (2018). Temperature-Induced Denaturation of BSA Protein Molecules for Improved Surface Passivation Coatings. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 10(38), 32047-32057.

Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free Radicals : Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30(1), 11-26.

Références bibliographiques

- Queremel Milani, D. A., & Davis, D. D. (2024). Pain Management Medications. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
- Rahal, A., Kumar, A., Singh, V., Yadav, B., Tiwari, R., Chakraborty, S., & Dhama, K. (2014). Oxidative Stress, Prooxidants, and Antioxidants: The Interplay. *BioMed Research International*, 2014, 761264.
- Rahman, Md. M., Rahaman, Md. S., Islam, Md. R., Rahman, F., Mithi, F. M., Alqahtani, T., Almikhlaifi, M. A., Alghamdi, S. Q., Alruwaili, A. S., Hossain, Md. S., Ahmed, M., Das, R., Emran, T. B., & Uddin, Md. S. (2021). Role of Phenolic Compounds in Human Disease: Current Knowledge and Future Prospects. *Molecules*, 27(1), 233.
- Rajamanikandan, S., Sindhu, T., Durgapriya, D., Sophia, D., Ragavendran, P., & Gopalakrishnan, V.K. (2011). Radical scavenging and antioxidant activity of ethanolic extract of *Mollugo nudicaulis* by in vitro assays. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 45(4), pp. 310-316.
- Rosen, G., Pou, S., Ramos, C., Cohen, M., & Britigan, B. (1995). Radicaux libres et cellules phagocytaires. *The FASEB Journal*.9: pp. 200 - 209.
- Salmerón-Manzano, E., Garrido-Cardenas, J. A., & Manzano-Agugliaro, F. (2020). Worldwide Research Trends on Medicinal Plants. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(10), 3376.
- Shadid, K.A., Shakya, A.K., Naik, R.R., Jaradat, N., Farah, H.S., Shalan, N., Khalaf, N.A. and Oriquat, G.A. (2021) 'Phenolic Content and Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Malva sylvestris* L., *Malva oxyloba* Boiss., *Malva parviflora* L., and *Malva aegyptia* L. Leaves Extract', *Journal of Chemistry*. 2021(2), pp. 1-10.
- Shraim, A. M., Ahmed, T. A., Rahman, M. M., & Hijji, Y. M. (2021). Determination of total flavonoid content by aluminum chloride assay: A critical evaluation. *LWT*, 150, 111932.
- Sinha, S., Jeyaseelan, C., Singh, G., Munjal, T., & Paul, D. (2023). Chapter 8—Spectroscopy—Principle, types, and applications. In A. K. Bhatt, R. K. Bhatia, & T. C. Bhalla (Éds.), *Basic Biotechniques for Bioprocess and Bioentrepreneurship* (p. 145-164). Academic Press.

Références bibliographiques

- Soliman, A. M., & Barreda, D. R. (2022). Acute Inflammation in Tissue Healing. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(1), 641.
- Sun, G. Y., Geng, X., Teng, T., Yang, B., Appenteng, M. K., Greenlief, C. M., & Lee, J. C. (2021). Dynamic Role of Phospholipases A2 in Health and Diseases in the Central Nervous System. *Cells*, 10(11), 2963.
- Sun, W., & Shahrajabian, M. H. (2023). Therapeutic Potential of Phenolic Compounds in Medicinal Plants—Natural Health Products for Human Health. *Molecules*, 28(4), 1845.
- Svoboda, K. P., & Svoboda, T. G. (2000). *Secretory Structures of Aromatic and Medicinal Plants : A Review and Atlas of Micrographs*. Microscopix.
- Tabas, I., & Glass, C. K. (2013). Anti-Inflammatory Therapy in Chronic Disease : Challenges and Opportunities. *Science (New York, N.Y.)*, 339(6116), 166-172.
- Truong, V.-L., & Jeong, W.-S. (2022). Antioxidant and anti-inflammatory roles of tea polyphenols in inflammatory bowel diseases. *Food Science and Human Wellness*, 11(3), 502-511.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44-84.
- Vicaș, L. G., & Mureșan, M. E. (2021). Medicinal Plant Extracts. *Plants*, 10(5), 838.
- Viotti, C., Albrecht, K., Amaducci, S., Bardos, P., Bertheau, C., Blaudez, D., Bothe, L., Cazaux, D., Ferrarini, A., Govilas, J., Gusovius, H.-J., Jeannin, T., Lühr, C., Müssig, J., Pilla, M., Placet, V., Puschenreiter, M., Tognacchini, A., Yung, L., & Chalot, M. (2022). Nettle, a Long-Known Fiber Plant with New Perspectives. *Materials*, 15(12).
- Vuolo, M. M., Lima, V. S., & Maróstica Junior, M. R. (2019). Chapter 2 - Phenolic Compounds : Structure, Classification, and Antioxidant Power. In M. R. S. Campos (Éd.), *Bioactive Compounds* (p. 33-50). Woodhead Publishing.
- Xu, D.-P., Li, Y., Meng, X., Zhou, T., Zhou, Y., Zheng, J., Zhang, J.-J., & Li, H.-B. (2017). Natural Antioxidants in Foods and Medicinal Plants : Extraction, Assessment and Resources. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(1), 96.

Références bibliographiques

Yadav, V., & Satheesh Kumar, T. (2020). 9 - Present scenario of antibiotic use in veterinary practice : Importance of wastewater microbiology. In R. D. Tyagi, B. Sellamuthu, B. Tiwari, S. Yan, P. Drogui, X. Zhang, & A. Pandey (Éds.), *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering* (p. 279-325). Elsevier.

Yen, G.C. and Yen, P.D. (2002) 'Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic acid and gallic acid', *Food Chemistry*, 79(3), pp. 307–313.

Zagoskina, N. V., Zubova, M. Y., Nechaeva, T. L., Kazantseva, V. V., Goncharuk, E. A., Katanskaya, V. M., Baranova, E. N., & Aksenova, M. A. (2023). Polyphenols in Plants : Structure, Biosynthesis, Abiotic Stress Regulation, and Practical Applications (Review). *International Journal of Molecular Sciences*, 24(18).

Zemmouri, H., Ammar, S., El Feki, A., Bouaziz, M., Ayadi, H. and Hammami, M. (2019) 'Chemical composition and antioxidant activities of Ephedra alata subsp. alenda fruit extracts', *Journal arabe de chimie*, 12(8), pp. 1954–1963.

Zhang, Q.-W., Lin, L.-G., & Ye, W.-C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products : A comprehensive review. *Chinese Medicine*, 13, 20.

Annexes

Annexes 01 : Liste des réactifs et matériaux utilisés

❖ Listes des réactifs

- Ethanol 96%
- Methanol
- Folin ciocatleu 1/10
- Na₂CO₃ (7, 5%)
- AlCl₃
- DPPH
- BSA (0,5%)
- Tris
- HCl
- PBS (pH=7,4)
- NPS (5mM)
- H₃PO₄
- NEDD (0,1%)
- Eau distillée

❖ **Liste des matériaux**

- Le Bain-marie (TRAD RAYPA)
- Le Spectromètre (Biotech Management CO.LTD.(UK))
- Le Vortex (VELP SCIENTIFICA ZX3)
- Le PH-mètre (BANTE INSTRUMENTS)
- L'Agitateur magnétique (VELP SCIENTIFIC AM4)
- La Centrifugeuse
- La balance (RADWAG)
- Moulin a grains électrique
- Eprovettes, bicher, erlenne ,tubes-eppendorfs , micro-spatule.

Résumé

Cette étude a évalué les propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires de cinq plantes médicinales traditionnelles : *Thapsia garganica*, *Ruta graveolens*, *Urtica dioica*, *Malva sylvestris* et *Borago officinalis*. Les extraits ont été obtenus par macération à l'éthanol 96%.

Parmi ces plantes, *Thapsia garganica* s'est démarquée avec les plus fortes teneurs en composés phénoliques (140,24±1,29 mg GAE/g) et en flavonoïdes (261,05 ± 1,97 mg QE /g). Elle a également montré la meilleure activité antiradicalaire DPPH avec une CI50 de 1,94±0,03% et la meilleure protection contre la dénaturation thermique de la protéine BSA avec 81,72±4,30% de protection., indiquant ses puissantes capacités antioxydantes et anti-inflammatoires.

En conclusion, *Thapsia garganica* se distingue par sa richesse en composés bioactifs ainsi que par ses remarquables activités biologiques bénéfiques.

Mots-clés

Plantes médicinales ; anti-oxydante ; anti-inflammatoire ; Composés phénoliques ; flavonoïdes

Abstract

This study evaluated the antioxidant and anti-inflammatory properties of five traditional medicinal plants: *Thapsia garganica*, *Ruta graveolens*, *Urtica dioica*, *Malva sylvestris*, and *Borago officinalis*. The extracts were obtained by ethanol 96% maceration.

Among these plants, *Thapsia garganica* stood out with the highest contents of phenolic compounds (140.24±1.29 mg GAE/g) and flavonoids (261.05 ± 1.97 mg QE/g). It also showed the best DPPH radical scavenging activity with an IC50 of 1.94±0.03% and the best protection against thermal denaturation of the BSA protein with 81.72±4.30% protection, indicating its powerful antioxidant and anti-inflammatory capabilities.

In conclusion, *Thapsia garganica* is distinguished by its richness in bioactive compounds as well as its remarkable beneficial biological activities.

Keywords

Medicinal plants; antioxidant; anti-inflammatory; Phenolic compounds; flavonoid

ملخص

تقييم خصائص مضادات الأكسدة والمضادة لالتهابات لخمس نباتات طبية تقليدية *Thapsia garganica*, *Ruta graveolens* ، *Urtica dioica*, *Malva sylvestris* و *Borago officinalis*. تم الحصول على المستخلصات عن طريق النقع بالكحول 96%. (بمجموع 140.24±1.29) بأعلى محتوى من المركبات الفينولية *Thapsia garganica* من بين هذه النباتات، تميزت IC50 بقيمة DPPH كما أظهرت أفضل نشاط اصطياد للجذور الحرة. (بمجموع 261.05 ± 1.97) والفلافونويدات بنسبة 81.72±4.30% من الحماية، مما يشير إلى قدراتها القوية BSA وأفضل حماية ضد التحلل الحراري لبروتين. 1.94±0.03% كمضادات أكسدة ومضادات التهاب. بترائها بالمركبات البيولوجية النشطة وكذلك أنشطتها *Thapsia garganica* في الخلاصة، تتميز البيولوجية المفيدة المميزة.

الكلمات المفتاحية

نباتات طبية؛ مضادات أكسدة؛ مضادات التهاب؛ مركبات فينولية؛ فلافونويدات