

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Animale

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم بيولوجيا الحيوان

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : *Toxicologie*

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**Evaluation de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire d'une
plante médicinale Algérienne du genre *Centaurea***

Présenté par : SERRAR Cheima
TEYAR Roumeissa
ARS Nour El Houda

Le 28/06/2022

Jury d'évaluation :

Encadreur : AMRANI Amel (Prof- Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 1 : ZOUAGHI Youcef (MCA- Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 2 : MOURI Fouzia (MCB- Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire

2021 – 2022



REMERCIEMENT

Tout d'abord, nous remercions **ALLAH** tout-puissant de nous avoir donné la patience, la force et la volonté, et il nous a soumis à tous les moyens pour accomplir ce modeste travail.

Je tiens à remercier **Mme Amrani Amel**, professeur à l'Université Mentouri Constantine 1 et encadreur de ce mémoire, pour sa gentillesse, son aide et les connaissances qu'elle a pu nous transmettre. Je la remercie également d'avoir été à nos côtés à chaque étape et pour la qualité de ses conseils.

Nos remerciements s'adressent aussi à tous les membres du jury **Mr Zouaghi Youcef** maître de conférences Classe A à l'Université Mentouri de Constantine, **Dr Mouri Fouzia** maître de conférences Classe B à l'Université Mentouri de Constantine pour qui ont bien voulu examiner ce travail.

Nos remerciements vont également à **Mr Bensuici Chawki**, chef du laboratoire de biochimie au CRBT et toute l'équipe du laboratoire, pour leur grande aide, les précieuses informations qu'ils ont partagées avec nous et leur grande patience.

Nous adressons nos remerciements à tous ceux qui ont contribué directement ou indirectement à ce travail, en particulier à la doctorante, **Mlle Mechri Amira**, pour son aide. Ainsi qu'à tous les employés du Département de Biologie Animale et le staff du laboratoire de biochimie à l'Université mentouri constantine 1.



Dédicaces

Tout d'abord, je me dédie ce travail

Je veux me remercier d'avoir cru en moi

Je veux me remercier d'avoir fait une partie de ce modeste travail

Je veux me remercier de ne pas avoir de jours de repos

Je veux me remercier de ne jamais abandonner

Je veux me remercier d'essayer de faire plus de bien que de mal

Je veux me remercier d'être moi, à tout moment

Je dédie aussi le fruit de mes 17 ans d'études

A Mes chers parents

A Toute ma famille

A Tous ceux qui me sont chers

A Tous mes amis

Cheima

*A l'aide de Dieu le tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser Ce travail Que
je dédie :*

A mes très chers parents,

*A mon très cher Père **Mouhamed Elhadi** d'être le bon exemple de père par son soutien, ses
encouragements et aides dès mes premiers pas d'études jusqu'à ce jour. Nulle dédicace n'est
susceptible de vous exprimer ma profonde reconnaissance et mon immense gratitude pour tous les
sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation et mes études, je souhaite prouver mon grand
remerciement qui ne sera jamais suffisant.*

*A ma source d'amour et d'affection la plus chère au monde Ma mère **Harrak Nadia** qui m'a
soutenu, aidé et encouragé durant toute ma vie, je ne la remercierai jamais assez pour son amour infini
et sa bienveillance jour et nuit.*

*A ma très chère sœur **Rayen** et mes chères frères **Mohemed Akram** et **diyaa El dine**, Dieu vous donner
santé, bonheur, courage, et surtout réussite.*

A mes Cheres trinôme, pour Les beaux moments que nous avons passés ensemble.

Enfin je le dédie à tous qui m'ont aidé pour accomplir ce modeste travail

Roumeissa

Au nom d'Allah le miséricordieux

Tout d'abord, je remercie " **Allah**" le bon Dieu, de m'avoir donné la force pour survivre, ainsi que l'audace pour dépasser toutes les difficultés, et louange à Allah qui m'a guidé sur le droit chemin tout au long de mes études et m'a inspiré les bons pas.

Je dédie ce modeste travail qui est le fruit de plusieurs Années d'études :

- À l'homme de ma vie, mon cher père **Abd Elkader** mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur. À celui qui ne cesse de se sacrifier pour moi, à ma fierté et mon bonheur. Merci pour ta patience, tes encouragements et tes orientations durant toutes mes années d'étude. Ce travail, et ce que je suis aujourd'hui sont le fruit de tous les efforts que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance. Que Dieu te donne une longue et joyeuse vie.

- À la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur : À ma très chère maman **Dekouk El Bieda** que j'adore, j'aimerai toujours te remercier pour tous ce que tu as fait jusqu'à notre jours-là pour assurer l'éducation et la formation de tous tes enfant je te remercie aussi pour ton amour et ton soutien tout au long de mes études. Que dieu, le tout puissant, te préserve et t'accorde le bonheur, la santé et une longue vie.

- À qui ont été mon refuge, à qui j'ai partagé et avec qui j'ai passé les plus beaux moments de toute ma vie mes frères **Afaf, Mouhamed, Omar, Mekki** et à ma Belle-sœur **Hiba**, sans oublier les petits poussins d'amour **Rinad, Anis, Siradj, Mouiz, Djad** et au grand cœur, ma chère grand-mère **Dir Beghdada**.

- À mes copines qui m'ont accompagné et encouragé lorsque les journées étaient débordées, en souvenir de nos rires, des moments heureux et de tout ce que nous avons vécu ensemble.

- À toute ma famille et À tous mes enseignants du primaire, du secondaire et du supérieur.

- Et un merci spécial à mes collègues du mémoire pour leur travail acharné et leur patience avec moi.

- À tous qui m'ont aidé pour accomplir ce modeste travail.

Enfin, je le dédie à moi-même.

Nour El Houda

Table des matières

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction générale	1
Chapitre I : Inflammation	
I. Définition	3
II. Manifestation clinique.....	3
III. Les cellules d'inflammation	3
IV. Les agents inflammatoires	7
IV.1. Les Agents physiques	7
IV.2. Les Agents Exogènes ou endogènes	7
V. Types d'inflammation	8
V.1. L'inflammation aiguë	8
V.2. L'inflammation chronique.....	9
VI. Les étapes de l'inflammation	10
VI.1. Phase vasculaire (initiation)	10
VI.2. Phase cellulaire (amplification)	11
VI.1. Phase de résolution et réparation (terminaison)	12
VII. Médiateurs de l'inflammation	13
VII.1. Médiateur d'activation plasmatique.....	13
VII.2. Médiateurs cellulaires	15
VIII. Les anti inflammatoires	16
VIII.1. Les anti-inflammatoires synthétiques.....	16
VIII.1.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens	16
VIII.1.2. Les anti-inflammatoires stéroïdiens	17
VIII.2. Les anti-inflammatoires naturels	18
IX. L'inflammation et le stress oxydatif.....	19
IX.1. Le stress oxydatif : un activateur majeur des voies inflammatoires.....	20
IX.2. Le stress oxydatif est la conséquence de l'inflammation	20
Chapitre II : <i>Centaurea</i> sp	
I. Présentation de la plante étudiée	22
I.1. La famille des Astéracées	22
I.2. Le genre <i>Centaurea</i>	22

I.3.	Classification de la plante <i>Centaurea</i> sp	23
I.4.	Habitat.....	24
I.5.	Utilisation traditionnel de genre <i>Centaurea</i>	24
II.	Les Métabolites secondaires	26
II.1.	Les composés phénoliques.....	26
II.1.1.	Les Flavonoïdes.....	26
II.1.2.	Les non flavonoïdes.....	28
II.2.	Les alcaloïdes.....	30
II.3.	Les Terpènes.....	31
III.	Les métabolites secondaires les plus courants du genre <i>Centaurea</i>	31
III.1.	les flavonoïdes	32
III.2.	Les lactones sesquiterpènes.....	33
III.3.	Les lignanes	33
IV.	L'activité anti oxydante des polyphénols et des flavonoïdes.....	33
IV.1.	Mécanisme de piégeage des radicaux libres par les flavonoïdes.....	34
IV.2.	Effet des flavonoïdes sur les enzymes productrices de radicaux libres.....	34
IV.3.	Pouvoir chélateur des flavonoïdes	35
V.	La relation entre la structure des flavonoïdes et leur effet antioxydant	35
VI.	Activités antioxydants et anti radicalaires des espèces <i>Centaurea</i> :.....	36
VII.	Mécanisme d'action anti inflammatoire des composés phénoliques.....	37
VII.1.	Mécanisme d'action anti inflammatoire des flavonoïdes	38
VIII.	Activité anti-inflammatoire des espèces <i>Centaurea</i>	38

Chapitre III: Partie pratique

Matériel et Méthodes.....	40
I. Matériel	40
I.1. Matériel végétal	40
I.3. Réactifs Chimiques et solvants.....	40
I.4. Appareil utilisés	40
II. Méthodes	40
II.1. Préparation de l'extrait méthanolique	40
II.2. Dosage des métabolites secondaires de la plante <i>Centaurea</i> sp	41
II.2.1. Dosage des composés phénoliques totaux (TCP).....	41
II.2.2. Dosage des flavonoïdes	42
II.3. Activité antioxydante	43

II.3.1.	Activité de piégeage du radical DPPH'	43
II.3.2.	Activité de piégeage du cation radical ABTS ⁺	44
II.3.3.	Test de Phénanthroline	44
II.3.4.	Test de la réduction du fer FRAP	45
II.3.5.	Le Test de nanoparticule d'argent SNP	46
II.4.	Activité anti-inflammatoire	46
II.4.1.	Œdème de la patte induit par le carraghénane (ou carraghénine)	46
II.4.2.	Œdème de l'oreille induit par le xylène	47
III.	Etude statistique	47
	Résultats	48
I.	Détermination du rendement	48
II.	Dosage colorimétrique des polyphénols totaux et des flavonoïdes	48
III.	Evaluation du potentiel antioxydant	48
III.1.	Test de l'activité scavenger du radical DPPH'	48
III.2.	Test de l'activité scavenger du cation radical ABTS ⁺	49
III.3.	Activité du pouvoir réducteur test FRAP	50
III.4.	Activité de réduction par la formation du complexe Fe ⁺² -phénantroline	51
III.5.	Activité nanoparticule d'argent SNP	51
IV.	Criblage de l'activité anti-inflammatoire	52
IV.1.	Inhibition de l'œdème induit par la carragénine	52
IV.2.	Inhibition de l'œdème de l'oreille induit par le xylène	54
	Discussion	56
	Conclusion	62



*Liste des
figures*

Liste des figures

Figure 1 : Les composants des réponses inflammatoires aiguës et chroniques.	7
Figure 2 : Les étapes de la réaction inflammatoire aiguë.	9
Figure 3 : Mécanismes de migration des leucocytes à travers les vaisseaux sanguins.	11
Figure 4 : Processus majeur d'inflammation aiguë et résolution.	12
Figure 5 : Modes d'action des anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens.	17
Figure 6 : Cibles des anti-inflammatoires naturels dans l'inflammation.	19
Figure 7 : La relation entre radicaux libre, stress oxydatif, inflammation, physiologie et pathologie cellulaires.	21
Figure 8 : Photographies des espèces du genre <i>Centaurea</i> .	23
Figure 9 : Structure chimique générale des flavonoïdes et de leurs différentes classes.	27
Figure 10 : Structures des acides phénoliques.	28
Figure 11 : Les trois différents précurseurs monomères (les monolignols) qui peuvent être incorporés dans les polymères de lignine.	29
Figure 12 : Structure de base de coumarines.	29
Figure 13 : Structure de base de tanins.	30
Figure 14 : Structures des alcaloïdes importants présents dans la nature.	31
Figure 15 : Les composants chimiques du genre <i>Centaurea</i> algérienne.	32
Figure 16 : Classification des flavonoïdes des Centaurées algériennes et des genres apparentés.	32
Figure 17 : les sites de chélation au niveau des flavonoïdes.	35
Figure 18 : Structure de base du flavonoïde.	36
Figure 19 : Formation du complexe flavonoïde-chlorure d'aluminium.	42
Figure 20 : La réaction du DPPH avec un antioxydant (AH).	43
Figure 21 : Activité anti radicalaire d'extrait hydrométhanolique de la plante <i>Centaurea</i> sp sur le radical libre DPPH.	49
Figure 22 : Pourcentages d'inhibition du cation radical ABTS ^{•+} par l'extrait hydro-méthanolique de <i>Centaurea</i> sp et l'antioxydant de référence (BHT).	50

Figure 23 : Pouvoir réducteur [Test FRAP (Ferric Reducing antioxidant Power)] de l'extrait hydro-méthanolique de <i>Centaurea</i> sp et l'antioxydant de référence (Acide ascorbique).	50
Figure 24 : Pouvoir réducteur (Absorbance du complexe Fe ⁺² - phénanthroline) de l'extrait hydro-méthanolique de <i>Centaurea</i> sp et les antioxydants de référence.	51
Figure 25 : Pouvoir réducteur [SNP (réduction de l'Ag ⁺)] de l'extrait hydro-méthanolique de <i>Centaurea</i> sp et les antioxydants de référence.	52
Figure 26 : Courbe de l'évolution de l'œdème en présence d'un prétraitement par voie orale une heure avant l'injection de la carragénine (0,1 ml ; 1%), chez 4 lots de rats : Lot de référence (témoin négatif : eau physiologique), Lot témoin positif : aspirine, Lot d'extrait 300mg/kg, et Lot d'extrait 400mg/kg. Chaque point représente une moyenne de 5 animaux.	53
Figure 27 : Inhibition de l'œdème chez les différents lots de rats, en présence d'un prétraitement, par voie oral, par l'extrait méthanolique (300mg/kg et 400mg/kg) et la molécule de références (aspirine 300mg/kg).	53
Figure 28 : Effet des extraits sur l'œdème de l'oreille induit par le xylène chez la souris.	54
Figure 29 : Inhibition de l'œdème de l'oreille chez les différents lots de souris en présence d'un prétraitement, par voie oral, par l'extrait méthanolique (300mg/kg et 400mg/kg) et la molécule de références (aspirine 300mg/kg).	55



*Liste des
tableaux*

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les différentes cellules de l'inflammation et leur fonction.	4
Tableau 2 : Origine et rôle des médiateurs d'activation plasmatiques.	14
Tableau 3 : l'origine et le rôle de différents médiateurs cellulaires.	15



*Liste des
abréviations*

Liste des abréviations

A : Absorbance
ABTS : 2,2-Azinobis 3-ethyl benzothiazoline-6-sulfonate
AINS : Anti-Inflammatoire Non Stéroïdiens
AIS : Anti-inflammatoires stéroïdiens
AP-1 : Protéine d'activation-1.
B4 : Leucotriène B4.
BHA : Hydroxyanisole butylé
BHT : Hydroxytoluène butylé
C3a : Complément C3a.
C5a : Complément C5a.
CE : Cellules endothéliales.
CI50 : Concentration inhibitrice médiane (50 %)
c-JUN : c-Jun N-terminal kinase.
Cox-1 : Cyclo-oxygenase de type 1.
Cox-2 : Cyclo-oxygenase de type 2.
DAG : Diacylglycérol.
DPPH : 2,2'- Diphenyl-1-picrylhydrazyl
ERK : Kinase de régulation de signal extracellulaire.
ERO : Espèces réactives de l'oxygène
FH : Facteur de Hagman
fMLP : N-formyl-méthionyl-leucyl-phenylalanine.
FRAP : Pouvoir antioxydant réducteur ferrique
GAE : Equivalents d'acide gallique
GPVI : Glycoprotéine IV.
HLE : Elastase Leucocytaire Humaine.
H2O2 : Peroxyde d'hydrogène.
ICAM-1 : Molécule d'adhésion intercellulaire
IκB : Inhibiteur de NF-κB
IL-1 : Interleukine 1.
IL-2 : Interleukine 2.
IL-5 : Interleukine 5.
IL-6 : Interleukine 6.
IL-8 : Interleukine 8.
IL-18 : Interleukine 18.
Ils : Interleukines.
iNOS : Oxyde Nitrique.
IP3 : Trisphosphoinositol.
KLF : Facteurs de type Krüppel
LOX : Lipoxgénases.
LT : Leucotriène.
MAPK : Protéine kinase activée par les mitogènes.
MeOH : Méthanol

MMP : Métalloprotéases matricielles.
MPO : Myéloperoxydase
NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate d'hydrogène.
NF-KB : Facteur de transcription nucléaire kappaB
NK : Natural Killer.
NKT : Cellules T tueuses naturelles.
NLRP3: NOD-like receptor family, pyrin domain containing 3.
NO• : Oxyde nitrique.
NOX2 : Oxyde d'azote 2.
Nrf-2 : Facteur nucléaire lié au facteur érythroïde 2
O2• : Oxygène singulet.
O3 : Ozone.
ONOO• : Anion peroxydinitrite.
oxLDL : Lipoprotéine basse densité oxydée
P38 : P38 kinase.
p50 : Protéines 50.
p65 : Protéines 65.
PAF : Facteur activateur des plaquettes.
PECAM-1 : Molécule d'adhésion des plaquettes aux cellules endothéliales-1.
PG : Prostaglandine.
PKC : Protéine Kinase C.
PLC : Phospholipase C.
PMN : Polymorphonucléaire neutrophile.
QE : Equivalent de quercétine
ROH : Radical alcooxyle.
ROS : Reactive Oxygène Species.
SNP : Silver nanoparticule
SOD : Superoxyde dismutase
T CD8+ : Lymphocytes T cytotoxiques.
TCA: Acide tri-chloroacétique
TH 1: Type 1 t-Helper lymphocytes
TH 2: Type 2 t-Helper lymphocytes
TH 17 : Type 17 t-Helper lymphocytes
TLR : Récepteur de type Toll.
TNF α : Facteur de nécrose tumorale
TPA : 12-O-tétradécanoylphorbol-13-acétate.
TPC : Contenu total en polyphénols
VSMC : Molécule d'adhésion de la cellule vasculaire.
XO : Xanthine oxydase.



Introduction

Introduction

L'inflammation est l'un des événements courants dans la majorité des maladies débilitantes aiguës et chroniques et représente une cause principale de morbidité à l'ère actuelle du mode de vie moderne (Dewanjee *et al.*, 2013). Elle implique un réseau complexe de nombreux médiateurs, une variété de cellules immunitaires et l'exécution de multiples voies (Kulkarni *et al.*, 2006; Germolec *et al.*, 2018). L'inflammation est une réponse défensive d'un organisme contre l'invasion par des corps étrangers comme les bactéries, les parasites et les virus. Une réponse inflammatoire aiguë se manifeste par une rougeur, une chaleur, un gonflement, une douleur et une perte de fonction (Ferrero-Miliani *et al.*, 2007). L'augmentation de la perméabilité vasculaire, l'accélération du flux sanguin et la sensibilisation des fibres nerveuses sont respectivement associées à un gonflement, une rougeur et une douleur (Calixto *et al.*, 2003). Les effets protecteurs de la cascade inflammatoire et le potentiel de destruction des tissus sont généralement équilibrés à l'état normal. Alors que l'inflammation chronique est généralement caractérisée par une destruction et une récupération substantielle des tissus lésés suite à une réponse inflammatoire (Chung *et al.*, 2010 ; Laveti *et al.*, 2013). Si elle n'est pas contrôlée, l'inflammation peut survenir dans de nombreux états pathologiques tels que la polyarthrite rhumatoïde, la sclérose en plaques, les maladies inflammatoires de l'intestin, le psoriasis, les affections inflammatoires immunitaires et les transformations néoplasiques (Simmons, 2006 ; Debnath *et al.*, 2013; Fangkrathok *et al.*, 2013).

La thérapie actuelle des maladies inflammatoires est limitée aux agents anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens. L'utilisation chronique de ces médicaments entraînerait des effets indésirables graves tels que des anomalies gastro-intestinales, cardiovasculaires et rénales (Oguntibeju, 2018). Il existe un besoin massif d'explorer de nouveaux agents anti-inflammatoires à action sélective et à moindre toxicité. Les plantes et les phytoconstituants isolés sont des sources prometteuses et intéressantes de nouveaux anti-inflammatoires (Goetz, 2011). L'évaluation systématique des phytoconstituants peut faciliter l'identification et le développement de pistes anti-inflammatoires potentielles à partir de sources naturelles (Patil *et al.*, 2019).

Le stress oxydatif est considéré comme un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et leur élimination par des mécanismes de protection, ce qui peut entraîner une inflammation chronique. Le stress oxydatif peut activer une variété de facteurs de transcription, qui conduisent à l'expression différentielle de certains gènes impliqués dans les voies inflammatoires. L'inflammation déclenchée par le stress oxydatif est à l'origine de nombreuses maladies chroniques (Lordan *et al.*, 2019). En effet, l'apport alimentaire d'antioxydants et de leurs

précurseurs semble avoir des effets bénéfiques contre les manifestations inflammatoires liées au stress oxydatif dans ces maladies chroniques (Bjørklund et Chirumbolo, 2017).

Des extraits bruts entiers de plantes ont été largement étudiés au cours des dernières décennies et plusieurs plantes se sont avérées avoir une activité anti-inflammatoire (Sofowora *et al.*, 2013) grâce à la présence des métabolites secondaires tel que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les polyphénols et les terpènes (Narayanaswamy et Veeraragavan, 2020). Il a été proposé que les polyphénols soient utiles comme thérapie adjuvante pour leur effet anti-inflammatoire potentiel, associé à une activité antioxydante (Hussain *et al.*, 2016).

L'Algérie est caractérisée par une flore riche composée de 4 000 taxons, 917 genres et 131 familles (Benarba et Belhouala, 2021), dont quarante-cinq espèces du genre *Centaurea*, sept d'entre elles poussant dans le Sahara, ce genre appartenant à la famille des *Asteraceae*, comprend plus de 500 espèces (Kebbi *et al.*, 2021). Des études phytochimiques sur différentes espèces de *Centaurea* ont montré leur richesse en métabolites secondaires bioactifs, notamment en flavonoïdes et en lactones sesquiterpéniques (Ayad et Akkal, 2019 ; Bensaad *et al.*, 2022). En raison de cette abondance, les espèces de *Centaurea* ont été utilisées en médecine populaire pour leurs propriétés anti-diarrhéiques, anti-rhumatismales, anti-inflammatoires, cholérétiques, diurétiques, digestives, stomachiques, astringentes, antipyrétiques, cytotoxiques et antibactériennes (Belkassam *et al.*, 2019). Par conséquent, l'adoption d'une approche systématique pour le criblage anti-inflammatoire des phytoconstituants de genre *Centaurea* est hautement souhaitable.

L'objectif principal de ce travail est d'évaluer l'activité antioxydante et anti-inflammatoire d'une plante médicinale algérienne du genre *Centaurea* en réalisant plusieurs tests *in vivo* et *in vitro*.

Afin de réaliser cette étude, le travail est divisé en trois chapitres :

- Le premier chapitre traite l'inflammation et les anti-inflammatoires, ainsi que la relation entre l'inflammation et le stress oxydatif.
- Le deuxième chapitre est consacré à l'étude botanique du genre *Centaurea* sp. Sa composition chimique, son utilisation traditionnelle et ses effets antioxydants et anti-inflammatoires.
- Le troisième chapitre comporte matériel et méthodes, les résultats et la discussion.

Enfin, une conclusion qui résume notre travail et les résultats obtenus.



Chapitre I

I. Définition

L'inflammation fait partie d'une réaction de défense complexe des tissus vivants face à une blessure. Elle est déclenchée par des stimuli nocifs, notamment des agents pathogènes, des traumatismes physiques, des radiations et des irritants chimiques (Laman *et al.*, 2017). Ou bien une réponse de l'organisme vivant à une agression exogène ou endogène et un processus bénéfique qui mobilise le système immunitaire afin d'éliminer l'agent agresseur et réparer les lésions tissulaires (Demoly, 2001).

L'inflammation joue deux rôles majeurs dans la spécification des dégâts et l'amélioration du traitement des tissus. Bien que l'inflammation soit utile en assurant une défense contre les agents infectieux, elle peut devenir incontrôlée dans le cas de la pathogenèse d'une maladie inflammatoire chronique (Kaidama *et al.*, 2015).

II. Manifestation clinique

Les cellules du système immunitaire se déplacent immédiatement vers le site de la blessure et provoquent une inflammation. Cette réponse est responsable des phénomènes suivants:

- Phénomènes généraux:
 - la rougeur.
 - la douleur.
 - œdème et augmentation de la chaleur.
- Phénomènes locaux:
 - l'inflammation se produit dans le tissu conjonctif vascularisé, il provoque une

vasodilatation (Owolabi *et al.*, 2018).

III. Les cellules d'inflammation

Le processus de l'inflammation est effectué par des cellules inflammatoires (Figure 1, Tableau 1) qui font partie de la réponse de défense naturelle de l'organisme ou de système immunitaire (Geng, 2003).

Tableau 1: Les différentes cellules de l'inflammation et leur fonction.

Les types des cellules	Fonction dans l'inflammation
Les neutrophiles	<ul style="list-style-type: none"> • Un type de phagocytes qui sont normalement présents dans la circulation sanguine pendant la phase initiale (aiguë) de l'inflammation, notamment à la suite d'une infection bactérienne ou d'une exposition environnementale (Jacobs <i>et al.</i>, 2010). • Les neutrophiles sont l'une des premières cellules inflammatoires à migrer vers le site de l'inflammation à travers les vaisseaux sanguins, puis à travers le tissu interstitiel, en suivant des signaux chimiques tels que IL-8, le C5a, le fMLP, le leucotriène B4 et le H₂O₂ (Witko-Sarsat <i>et al.</i>, 2000).
Les macrophages	<ul style="list-style-type: none"> • Sont des phagocytes professionnels et sont hautement spécialisés dans l'élimination des cellules mortes et des débris cellulaires (Eming <i>et al.</i>, 2007). • Elles jouent également un rôle anti-inflammatoire et peuvent diminuer les réactions immunitaires par la libération de cytokines. • Les macrophages qui encouragent l'inflammation sont appelés macrophages M1, tandis que ceux qui diminuent l'inflammation et encouragent la réparation des tissus sont appelés macrophages M2 (Mills, 2012).
Les lymphocytes	<ul style="list-style-type: none"> • Font partie du développement d'une réponse immunitaire innée et adaptative complète. • Les lymphocytes innés servent de cellules sentinelles dans les tissus associés à l'épithélium, libérant rapidement des cytokines qui contribuent à la formation de la réponse adaptative. • Les lymphocytes contribuent à la fois à la défense contre les agents pathogènes et aux maladies allergiques. Outre les cellules Th2, de nombreux lymphocytes peuvent participer à l'inflammation allergique, notamment les cellules Th1, les cellules Th17, les cellules T CD8+, les

	<p>cellules B, les cellules T γ/δ, les cellules tueuses naturelles (NK) et les cellules T tueuses naturelles (NKT) (Davis et Rothenberg, 2016).</p>
Les éosinophiles	<ul style="list-style-type: none"> • Connus comme cellules effectrices de l'inflammation induite par les lymphocytes T de type 2 (Th2). • Se localisent sur le site de l'inflammation. Dans des conditions basales et pathologiques, et associés à de nombreux constituants cellulaires et sont donc capables d'interactions intercellulaires. • L'interaction éosinophile-cellule la mieux caractérisée est <i>médiée</i> par l'expression par les lymphocytes T de l'interleukine-5 (IL-5), qui entraîne une augmentation de l'éosinophilopoïèse et de la libération d'éosinophiles par la moelle osseuse, ainsi que l'activation et la survie des éosinophiles dans les tissus (Prussin <i>et al.</i>, 2013).
Les plaquettes	<ul style="list-style-type: none"> • Sont rapidement déployées sur les sites de blessure ou d'infection, et modulent potentiellement les processus inflammatoires en interagissant avec les leucocytes et en sécrétant des cytokines, des chimiokines et d'autres médiateurs inflammatoires (Wagner et Burger, 2003 ; Weyrich et Zimmerman, 2004). • Les plaquettes participent aux maladies inflammatoires chroniques (Boilard <i>et al.</i>, 2010). • Les plaquettes sont activées par le récepteur du collagène, la glycoprotéine IV (GPVI). • Les microvésicules pro-inflammatoires des plaquettes déclenchent la sécrétion constante de cytokines par les synoviocytes fibroblastiques voisins, principalement Il-6 et Il-8 (Boilard <i>et al.</i>, 2012).
Les monocytes	<ul style="list-style-type: none"> • Les monocytes remplissent trois fonctions principales dans le système immunitaire. Il s'agit de la phagocytose, de la présentation des antigènes et de la production de cytokines. • Elles sont également capables de tuer les cellules hôtes infectées grâce à une cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps (Sozzani <i>et al.</i>, 1996).

	<ul style="list-style-type: none">• D'autres produits microbiens peuvent activer directement les monocytes, ce qui entraîne la production de cytokines pro-inflammatoires et de cytokines anti-inflammatoires.• Les cytokines typiques produites par les monocytes sont le TNF, l'IL-1 et l'IL-2 (Gómez-Rial <i>et al.</i>, 2020).
Les basophiles	<ul style="list-style-type: none">• Elles apparaissent dans de nombreux types spécifiques de réactions inflammatoires.• Elles contiennent de l'héparine, un anticoagulant qui empêche le sang de coaguler trop rapidement.• Elles contiennent également de l'histamine, un vasodilatateur qui favorise la circulation du sang dans les tissus (Voehringer, 2009).
Les fibroblastes	<ul style="list-style-type: none">• Ils jouent un rôle précoce dans le déclenchement de l'inflammation en présence de micro-organismes envahisseurs.• Ils induisent la synthèse des chimiokines par la présentation de récepteurs à leur surface.• Les récepteurs à la surface des fibroblastes permettent également de réguler les cellules hématopoïétiques et fournissent une voie permettant aux cellules immunitaires de réguler les fibroblastes (Smith <i>et al.</i>, 1997).

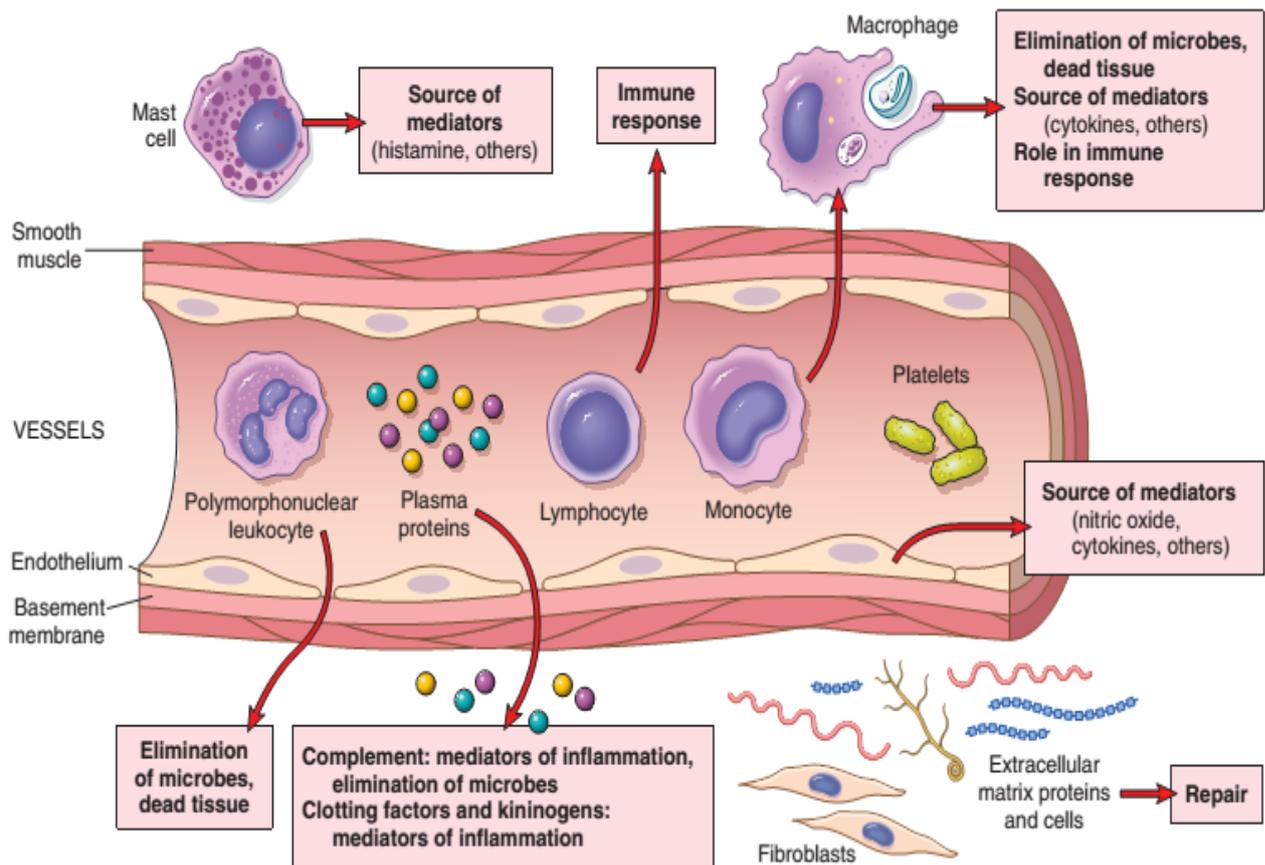


Figure 1: Les composants des réponses inflammatoires aiguës et chroniques (Kumar *et al.*, 2013).

IV. Les agents inflammatoires

IV.1. Les Agents physiques

- La chaleur (Brûlure).
- Le froid (Gelure).
- Les rayonnements ionisants.

Ce qui conduit à des lésions tissulaires et la libération de produits de dégradation tels que le collagène.

IV.2. Les agents exogènes ou endogènes

- Chimiques : Acide, Base, des minéraux,...
- Biologiques : Toxines, Virus, Bactérie, Parasite,...
- Des composés issus de la réaction immunitaire: Complexes immuns, Anticorps cytotoxiques,... (Weill et Batteux, 2003).

V. Types d'inflammation

V.1. L'inflammation aiguë

L'inflammation aiguë se produit immédiatement après une blessure et ne dure que quelques jours, et favorise la migration des cellules vers le site de l'inflammation. Les récepteurs de type (TLR) reconnaissent les agents pathogènes microbiens. Elle peut être un mécanisme défensif visant à protéger les tissus contre les blessures (Hannoodee et Nasuruddin, 2021).

Au début d'une infection, d'une brûlure ou d'autres blessures, ces cellules subissent une activation et libèrent des médiateurs inflammatoires responsables des signes cliniques de l'inflammation (Figure 2). La vasodilatation et l'augmentation du flux sanguin qui en résulte provoquent la rougeur et l'augmentation de la chaleur. L'augmentation de la perméabilité des vaisseaux sanguins entraîne une exsudation (fuite) de protéines plasmatiques et de liquide dans le tissu (œdème), qui se manifeste par un gonflement. Outre les médiateurs d'origine cellulaire, plusieurs systèmes de cascade biochimique acellulaire agissent en parallèle pour initier et propager la réponse inflammatoire. Il s'agit notamment du système du complément activé par les bactéries et des systèmes de coagulation et de fibrinolyse activés par la nécrose (par exemple, brûlure, traumatisme) (Stevens *et al.*, 2004).

L'inflammation aiguë peut être considérée comme la première ligne de défense contre les blessures. La réponse inflammatoire aiguë nécessite une stimulation constante pour être maintenue (Kim *et al.*, 2016). Les médiateurs inflammatoires ont une courte durée de vie et sont rapidement dégradés dans les tissus (Kruger *et al.*, 2015). Par conséquent, l'inflammation aiguë commence à cesser dès que le stimulus a été supprimé (Serhan *et al.*, 2007).

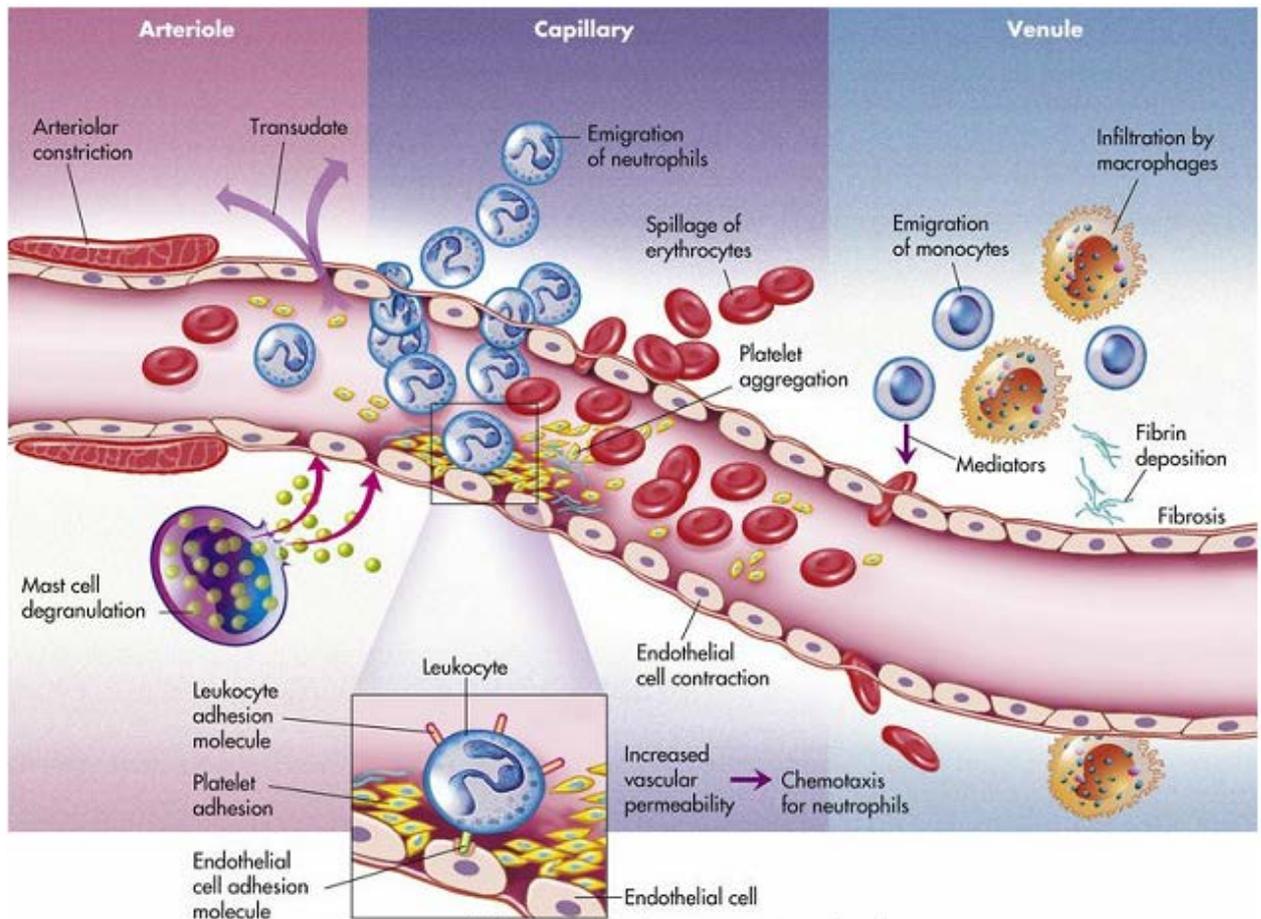


Figure 2: Les étapes de la réaction inflammatoire aiguë (Ibsen et Phelan, 2018).

V.2. L'inflammation chronique

C'est également désigner comme une inflammation lente et à long terme, qui dure de plusieurs mois à plusieurs années. En général, l'étendue et les effets de l'inflammation chronique varient selon la cause de la blessure et la capacité de l'organisme à réparer et à surmonter les dommages. Cette activité passe en revue la pathophysiologie de l'inflammation chronique (Pahwa *et al.*, 2021), Dans l'inflammation chronique, la plupart des caractéristiques de l'inflammation aiguë se poursuivent : dilatation des vaisseaux sanguins (vasodilatation), augmentation du débit sanguin, perméabilité des capillaires et migration des neutrophiles dans le tissu infecté à travers la paroi capillaire (diapédèse). Cependant, la composition des globules blancs change rapidement et les macrophages et les lymphocytes commencent à remplacer les neutrophiles à courte durée de vie. Les signes particuliers de l'inflammation chronique sont l'infiltration des cellules inflammatoires primaires telles que les macrophages, les lymphocytes et les plasmocytes dans le site tissulaire, produisant des cytokines inflammatoires, des facteurs de croissance et des enzymes.

Tout cela contribue à la progression des lésions tissulaires et à la réparation secondaire, notamment la fibrose et la formation de granulomes (Rajendran *et al.*, 2018).

VI. Les étapes de l'inflammation :

Les étapes de l'inflammation sont divisées en 3 sections :

- ✓ Phase vasculaire (initiation).
- ✓ Phase cellulaire (amplification).
- ✓ Phase de résolution et réparation (terminaison).

VI.1. Phase vasculaire (initiation)

Les réponses immunitaires qui interviennent dans l'inflammation aiguë se produisent dans le système microvasculaire ; elles apparaissent normalement dans les minutes qui suivent une lésion tissulaire ou une infection microbienne, en présence d'autres stimuli inflammatoires appelés événements vasculaires (Abdulkhaleq *et al.*, 2018). La phase initiale de l'inflammation aiguë est caractérisée par une augmentation du flux sanguin et de la perméabilité du système microvasculaire, un processus dont la médiation est assurée, en partie, par des médiateurs lipidiques (par exemple, les cystéinyl leucotriènes et les prostaglandines) et d'autres produits vasoactifs (par exemple, l'histamine et la bradykinine) (Sansbury et Spite, 2016). Elle s'accompagne également d'une infiltration rapide de neutrophiles polymorphonucléaires (PMN) (figure 3), puis de celle des monocytes qui se transforment en macrophages. C'est ce qu'on appelle la diapédèse leucocytaire (Figure 3) qui s'effectue grâce à l'expression de molécules d'adhérence à la surface des cellules endothéliales et des leucocytes ainsi que de la formation d'un œdème qui se traduit par l'infiltration du tissu conjonctif par un liquide riche en protéine provenant du sang contenu dans les vaisseaux sanguins, cet œdème inflammatoire (appelé aussi exsudat) est riche en albumine, fibrinogène, facteurs de la coagulation, enzymes diverses, immunoglobulines. Il est responsable d'un gonflement local (Diebold *et al.*, 1995 ; Isobe *et al.*, 2012).

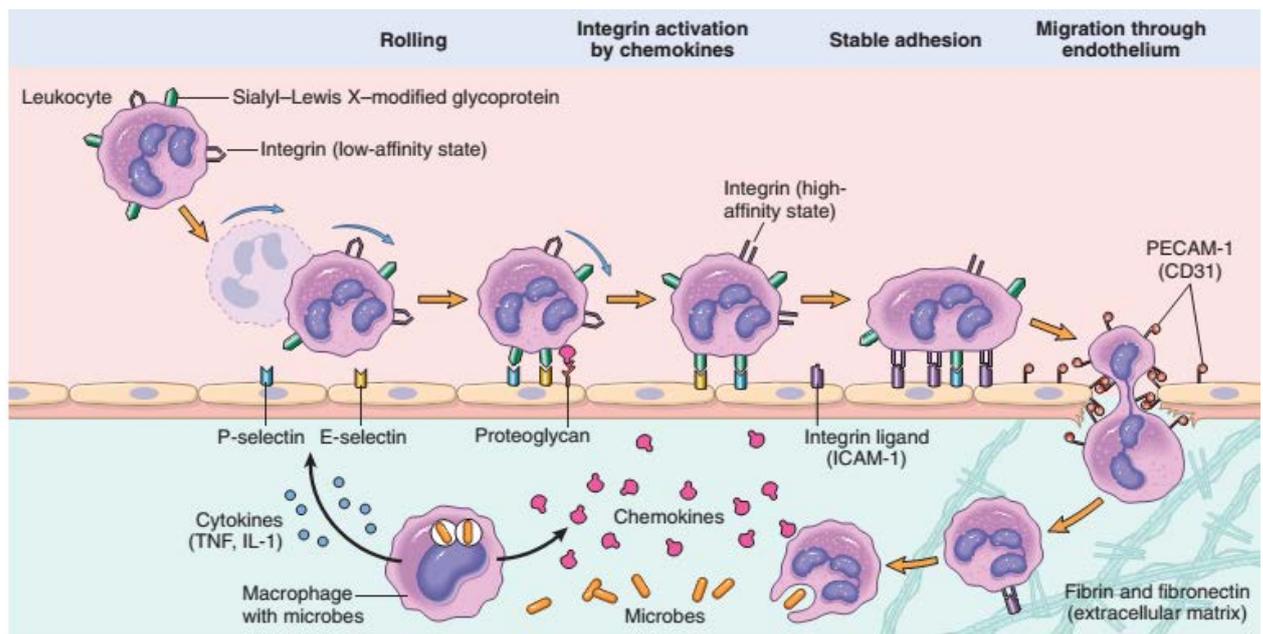


Figure 3 : Mécanismes de migration des leucocytes à travers les vaisseaux sanguins

(Kumar *et al.*, 2013).

Les leucocytes roulent d'abord, puis s'activent et adhèrent à l'endothélium, puis transmigrent à travers l'endothélium, perforant la membrane basale et migrent vers les chimioattractants émanant de la source de la blessure. Différentes molécules jouent des rôles prédominants dans différentes étapes de ce processus : les sélectines pour la roulade ; les chimiokines (liées aux protéoglycanes) dans l'activation des neutrophiles et augmenter l'affinité des intégrines ; les intégrines pour l'adhérence stable à l'endothélium ; et CD31 (PECAM-1) pour la migration à travers la paroi vasculaire. ICAM-1, molécule d'adhésion intercellulaire-1 ; IL-1, interleukine-1 ; PECAM-1, molécule d'adhésion des cellules endothéliales plaquettaires-1 ; TNF, facteur de nécrose tumorale (Kumar *et al.*, 2013).

VI.2. Phase cellulaire (amplification)

La phase cellulaire suit donc la phase d'exsudation (Borel *et al.*, 1988), où les monocytes prennent le relais et initient la transition vers cette phase par leur transformation en histiocytes (Diebold *et al.*, 1995). Les neutrophiles arrivent les premiers et leur population est maximale dans les 6 heures suivant le début de l'inflammation. Les monocytes interviennent 12 h à 48 h après les neutrophiles en raison de l'expression plus tardive de molécules spécifiques, d'une part des molécules endothéliales d'adhésion (VCAM-1), d'autre part des chimiokines (CCL2). Les neutrophiles et les macrophages phagocytent les micro-organismes ou les détruisent en libérant les composés de la phagocytose dans ce dernier cas les tissus sont lésés et l'ensemble des cellules tissulaires et des leucocytes morts contribue à la formation du pus (Aymeric et Lefranc, 2009). Tout se passe comme si ce stade de l'inflammation était destiné non seulement à détruire les cellules ou molécules étrangères mais même toutes les zones tissulaires altérées, considérées comme

n'appartenant plus à l'individu. Le collagène, molécule la plus abondante des tissus conjonctifs, est particulièrement visé (Borel *et al.*, 1988).

VI.1. Phase de résolution et réparation (terminaison)

Les lésions tissulaires associées à l'inflammation sont éventuellement suivies d'une forme de guérison. L'élimination des débris cellulaires inflammatoires et nécrotiques doit précéder une telle guérison. La cicatrisation se produit rapidement après une blessure transitoire telle qu'un seul épisode traumatique mineur. La guérison est également rapide si l'agent blessant est rapidement inactivé par la réponse de l'hôte, qu'elle soit inflammatoire ou immunitaire. En cas de blessure persistante de faible intensité, la guérison se produit en même temps que l'inflammation chronique. Le résultat idéal de la guérison est de ramener le tissu à son état normal (avant la blessure), un processus appelé résolution (Figure 4). L'élimination des débris associés à la réponse inflammatoire suffit à ramener un tissu à son état normal si la lésion est mineure (c'est-à-dire si la nécrose des cellules parenchymateuses est minime). Après élimination des débris cellulaires, les cellules parenchymateuses nécrosées peuvent être remplacées par de nouvelles cellules parenchymateuses du même type dans un processus appelé régénération. Lorsque la résolution et la régénération ne sont pas possibles, les cellules nécrotiques sont remplacées par du collagène ; on parle alors d'organisation, ou de réparation par formation de cicatrices. Dans de nombreux cas, une combinaison de processus de guérison se produit. Le mécanisme de guérison dépend du type d'inflammation, de l'étendue de la nécrose tissulaire, des types de cellules impliquées et de la capacité de régénération des cellules parenchymateuses endommagées.

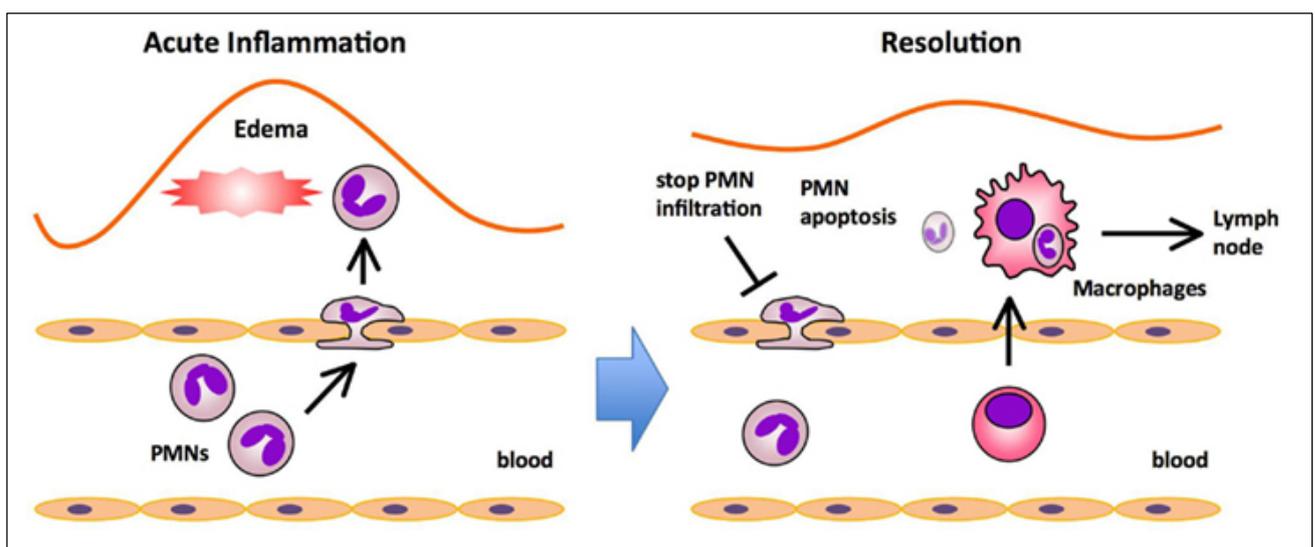


Figure 4 : Processus majeur d'inflammation aiguë et résolution (Isobe *et al.*, 2012).

- La résolution est le résultat idéal de la guérison et se produit dans les réponses inflammatoires aiguës à des blessures mineures ou à celles qui présentent une nécrose minimale des cellules parenchymateuses. Le tissu est en effet rétabli dans l'état où il se trouvait avant la blessure.

- Une cicatrice est une masse de collagène qui est le résultat final de la réparation par l'organisation et la fibrose. La réparation par la formation de cicatrices se produit lorsque la résolution échoue dans un processus inflammatoire aigu, lorsqu'il y a une nécrose tissulaire continue dans une inflammation chronique et lorsque la nécrose des cellules parenchymateuses ne peut être réparée par la régénération. Comme nous l'avons vu plus haut, la régénération échoue lorsque les cellules nécrosées sont des cellules permanentes, lorsque la structure du tissu conjonctif d'un tissu composé de cellules stables a été détruite ou lorsque la nécrose est si étendue qu'aucune cellule n'est disponible pour la régénération (Devi et Reddy, 2020).

VII. Médiateurs de l'inflammation

De nombreux médiateurs chimiques provenant du système circulatoire, des cellules inflammatoires et des tissus lésés contribuent activement à la réponse inflammatoire et la modifient.

Les médiateurs chimiques libérés comprennent ; des amines vasoactives telle que l'histamine, les peptides (par exemple : les cytokines) et les eicosanoïdes (par exemple : les thromboxanes, les prostaglandines) (Abdulkhaleq *et al.*, 2018). On peut décrire ces médiateurs sous la forme de systèmes d'activation plasmatique d'une part, et de médiateurs cellulaires d'autre part (Betina-Bencharif, 2014).

VII.1. Médiateur d'activation plasmatique

Systèmes d'activation par plasma; ce sont des systèmes multi-protéiques dont les composants sont produits à distance du centre inflammatoire (Tableau 2).

Divers composants de ces systèmes sont présents dans le sang où ils restent à l'état de précurseur inactif jusqu'à ce qu'ils soient mis en la présence d'activateurs spécifiques. Il existe une relation fonctionnelle entre ces systèmes, il peut être divisé en 4 sections : système de contact ; système de coagulation-fibrinogénèse et fibrinolyse ; système de Kinase /Kallicroïne ; Système complémentaire (Betina-Bencharif, 2014).

Tableau 2: Origine et rôle des médiateurs d'activation plasmatiques (Rankine, 2004 ; King *et al.*, 2006).

Médiateurs	Origine	Rôle
Les Systèmes de contact		
Facteur de Hageman (FH) ou facteur XII	Plasma	<ul style="list-style-type: none"> - Intervient dans le système de coagulation et fibrinolyse. - Clive la prékallikrène. - Active les kinines.
Les Systèmes coagulation / fibrinolyse		
Facteur activateur des plaquettes (PAF)	Produit au niveau des: <ul style="list-style-type: none"> - membranes des plaquettes. - des cellules endothéliales. 	<ul style="list-style-type: none"> - Vasodilatation - L'activation des plaquettes, et la libération des médiateurs qu'elles contiennent. - Stimulation de l'attraction des leucocytes et de leur adhésion à l'endothélium. - Motive la bronchoconstriction.
Thrombine	Plasma	- La thrombine clive le fibrinogène soluble en monomères qui polymérisent pour former un réseau de fibrine insoluble. Ce processus est associé à l'activation des plaquettes au contact de la matrice sous-endothéliale.
Fibrine	Plasma	- Conduisant à la formation de caillots
Plasmine	Plasma	- Dissout les caillots formés et empêche la formation d'un excès de fibrine.
Le Système de Kinase/Kallicréine		
Bradykinine	Plasma: (sous forme de Kininogène).	<ul style="list-style-type: none"> - Provoque une relaxation des muscles lisses non vasculaires dans la circulation systémique - Augmente la perméabilité vasculaire et intervient également dans les mécanismes de la douleur.
Kallicréine	Plasma	<ul style="list-style-type: none"> - Transforme le kininogène en Bradykinine - Permet une vasodilatation locale et une perméabilité vasculaire.
Les Système de complément		
C3a	Fraction C3 du complément inactif.	<ul style="list-style-type: none"> - La production du super-oxyde par les macrophages, les neutrophiles et les éosinophiles. - Provoque la libération d'IL-1 par les monocytes.
C5a	Fraction C5 du complément inactif.	<ul style="list-style-type: none"> - Un agent puissant chimiotactique pour les neutrophiles et les monocytes. - Stimule la libération d'histamine par les mastocytes. - La production d'anions superoxydes par les neutrophiles.

VII.2. Médiateurs cellulaires

Ils sont nombreux, les plus intéressants sont résumés dans le tableau 3:

Tableau 3: l'origine et le rôle de différents médiateurs cellulaires.

Médiateur	Origine	Rôle
Histamine	Stockés dans les granules des mastocytes et des basophiles.	<ul style="list-style-type: none"> - L'augmentation de la perméabilité vasculaire, et provoque la formation d'œdèmes. - Un médiateur pro-inflammatoire. - La libération d'histamine provoque une augmentation transitoire de la perméabilité après une lésion tissulaire. - Provoque la contraction des cellules endothéliales. - Permet le passage du fluide avec les protéines à travers les jonctions inter-endothéliales (Rankine, 2004 ; Jamet <i>et al.</i>, 2006).
ROS	<ul style="list-style-type: none"> - Libéré par certaines cellules inflammatoires. - Dérivés de l'oxygène. 	<ul style="list-style-type: none"> - Exagéré le stress oxydatif. - Peuvent commencer des voies de signalisation intracellulaires. - La production excessive de RL et de peroxydes altère les mécanismes antioxydants. - Améliore l'expression des gènes pro-inflammatoires (Patil <i>et al.</i>, 2019).
Cytokine		
TNF- α	Produit par de nombreuses cellules : <ul style="list-style-type: none"> - Monocytes - Macrophages 	<ul style="list-style-type: none"> - Le mécanisme d'action du TNF-α agit sur de nombreux types de cellules. Certaines de ces actions sont identiques à celles de l'IL1 et se produisent en synergie (Weill et Batteux, 2003).
IL-1	<ul style="list-style-type: none"> - Macrophages - Lymphocytes - Fibroblastes 	<ul style="list-style-type: none"> - Activation de l'expression et répression de nombreux gènes impliqués. - Synthèse de médiateurs inflammatoires (Weill et Batteux, 2003).
IL-6	<ul style="list-style-type: none"> - Monocytes - Macrophages - Mastocytes 	<ul style="list-style-type: none"> - IL-6 est le principal inducteur des protéines de la phase aiguë de l'inflammation par les hépatocytes, en synergie avec l'IL-1 et le TNF (Weill et Batteux, 2003).
Eicosanoïdes		
Thromboxane	<ul style="list-style-type: none"> - Les thrombocytes - Les polynucléaires 	<ul style="list-style-type: none"> - Effet vasoconstricteur. - Induit l'agrégation plaquettaire (Abdulkhaleq <i>et al.</i>, 2018).
Prostaglandine E2	<ul style="list-style-type: none"> - Les leucocytes - Polynucléaires - Neutrophiles - Macrophages 	<ul style="list-style-type: none"> - Présente des propriétés antiagrégants. - La conservation du processus inflammatoire en augmentant la perméabilité vasculaire et en renforcent l'action d'autres médiateurs inflammatoires (kinine, histamine...) (Abdulkhaleq <i>et al.</i>, 2018).

VIII. Les anti-inflammatoires

Les anti-inflammatoires sont des médicaments employés dans tous les domaines de la pathologie. Ils font partie de différentes classes chimiques et sont caractérisés par une activité antipyrétique et analgésique périphérique. Ce sont des traitements symptomatiques (Muster, 2005). Ils ont aussi une action sur la douleur. Ces molécules diffèrent selon leurs actions sur les médiateurs biochimiques qui sont libérés pendant l'inflammation et elles sont regroupées en anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et en corticostéroïdes (Gentili, 2007).

VIII.1. Les anti-inflammatoires synthétiques

VIII.1.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont parmi les médicaments les plus utilisés dans le monde en raison de leur efficacité à diminuer la douleur et l'inflammation (Ong *et al.*, 2007). Ce sont des molécules à structure chimiques très différente et qui n'ont pas de structure stéroïdienne. Il s'agit de médicaments aux propriétés anti-inflammatoires, antipyrétiques et analgésiques (Devillier, 2001).

Les AINS empêchent la dégradation de l'acide arachidonique (Figure 5), En inhibant l'activité enzymatique des cyclo-oxygénases (COX1 et COX2) qui synthétisent les prostaglandines et le thromboxane A2. En plus, ils sont capables d'agir sur la composante cellulaire de l'inflammation en arrêtant la mobilité des cellules, surtout des macrophages. Par rapport aux AIS, les AINS ont une action plus réduite (Sika, 2020).

Il y a deux isoformes de cyclo - oxygénase (COX1 et COX2). Seulement la COX1 est constitutive, et donc elle opère en permanence à l'état physiologique, elle est localisée dans les vaisseaux sanguins, l'estomac, les reins...

La COX-2 est inductible et non constitutive, elle est active lorsque la cellule qui la contient reçoit un stimulus dans le cadre de la réaction inflammatoire (Wirtha *et al.*, 2006).

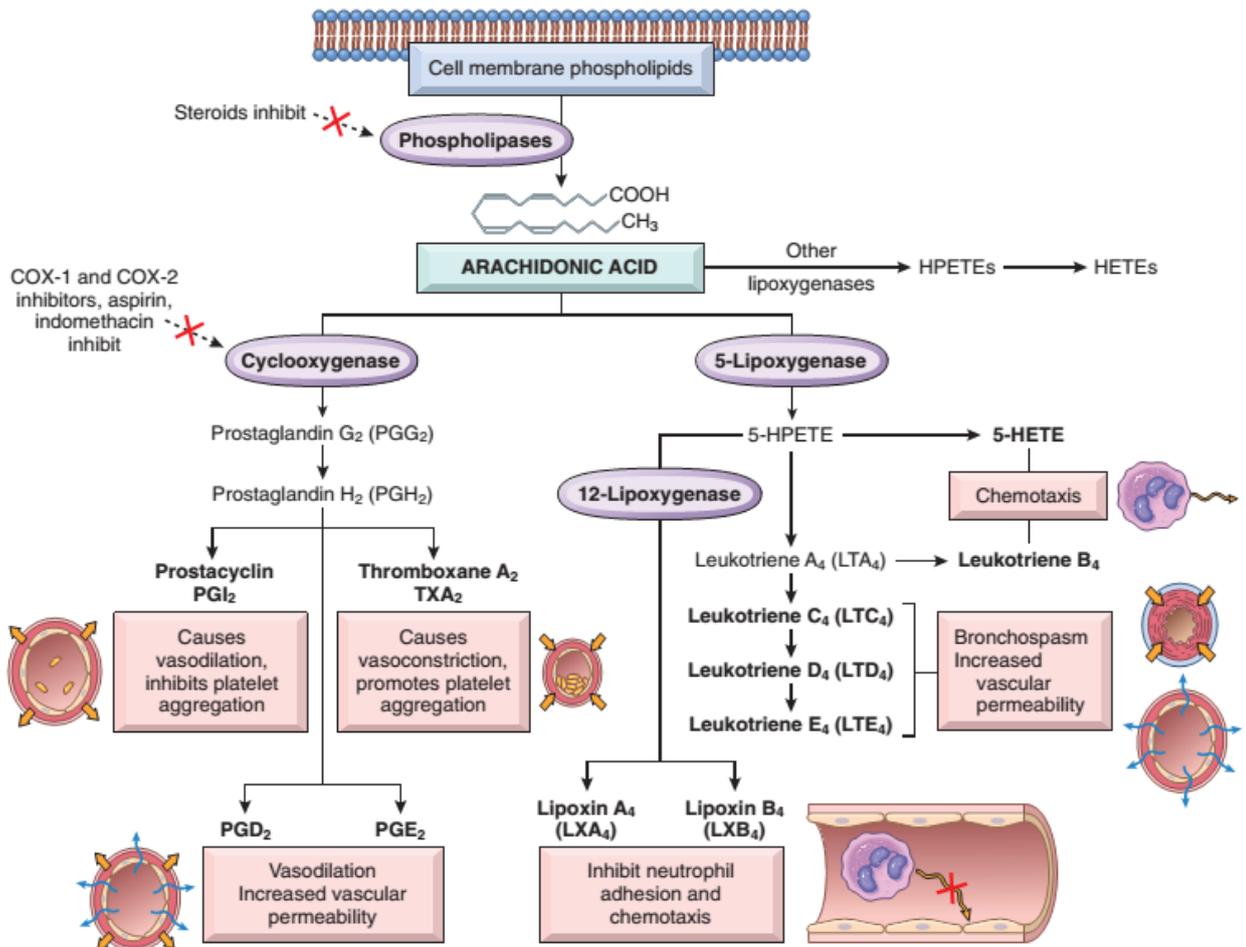


Figure 5 : Modes d’action des anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens (Kumar *et al.*, 2013).

VIII.1.2. Les anti-inflammatoires stéroïdiens

Les corticostéroïdes sont des hormones sécrétées par la corticosurrénale et sont classés dans la catégorie des glucocorticoïdes.

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (glucocorticoïdes) sont un groupe de médicaments ressemblant par leur structure et leur pharmacologie à l’hormone endogène cortisol et qui assurent différentes fonctions comme l’action anti-inflammatoire, immunosuppressive, antiproliférative et vaso-constrictive (Yasir *et al.*, 2021).

Les corticostéroïdes affectent de nombreuses étapes de la voie inflammatoire. Par leur effet direct sur les vaisseaux (Muster, 2005). La molécule de stéroïde diffuse à travers les membranes cellulaires, se lie à un récepteur intracellulaire spécifique, ce qui entraîne un changement de conformation du récepteur, le complexe récepteur-glucocorticoïde est capable de se déplacer vers le noyau, où il se lie aux éléments de réponse des glucocorticoïdes en agissant sur la transcription

de l'ADN en ARN et sur la régulation post-transcriptionnelle des ARN messagers (Cole *et al.*, 2019).

Ces agents sont responsables à :

- L'inhibition des facteurs de transcription qui contrôlent la synthèse des médiateurs pro-inflammatoires, notamment les macrophages, les éosinophiles, les lymphocytes, les mastocytes et les cellules dendritiques.
- L'inhibition de la phospholipase A2, qui est responsable de la production de nombreux médiateurs inflammatoires (Figure 6).
- L'inhibition des gènes responsables de l'expression de la cyclooxygénase-2, de la synthèse d'oxyde nitrique inductible et des cytokines pro-inflammatoires.
- Les corticostéroïdes provoquent une régulation positive de la lipocortine et de l'annexine A1, une protéine qui réduit la synthèse des prostaglandines et des leucotriènes, inhibe l'activité de la cyclooxygénase-2 et réduit la migration des neutrophiles vers les sites inflammatoires (Williams, 2018).

VIII.2. Les anti-inflammatoires naturels

Le traitement de l'inflammation repose essentiellement sur la médecine chimique, notamment les anti-inflammatoires non stéroïdiens et les glucocorticoïdes, qui ont divers effets secondaires. Par conséquent, les composés anti-inflammatoires naturels à base de plantes ont attiré l'attention de nombreux chercheurs pour traiter les maladies inflammatoires (Gautam et Jachak, 2009).

Les produits naturels ou substances phytochimiques désignent les métabolites secondaires ayant des effets anti-inflammatoires en agissant sur différentes voies de signalisation cellulaire, ils comprennent principalement monoterpène, diterpène, triterpène, phénylpropanoïde, lignanoïde, coumarine, flavonoïde, anthraquinone, alcaloïde, et polyphénol (Wang et Zeng, 2019).

Les composés anti-inflammatoires pourraient agir par un ou plusieurs mécanismes. Le blocage de la biosynthèse du médiateur pro-inflammatoire, la réduction de l'expression des enzymes clés, l'inhibition de la libération du médiateur, le blocage de l'interaction entre le médiateur et ses récepteurs sont peu nombreux à résumer (Figure 6) (Patil *et al.*, 2019). Diverses cibles des anti-inflammatoires naturels dans l'inflammation sont illustrées à la figure suivante :

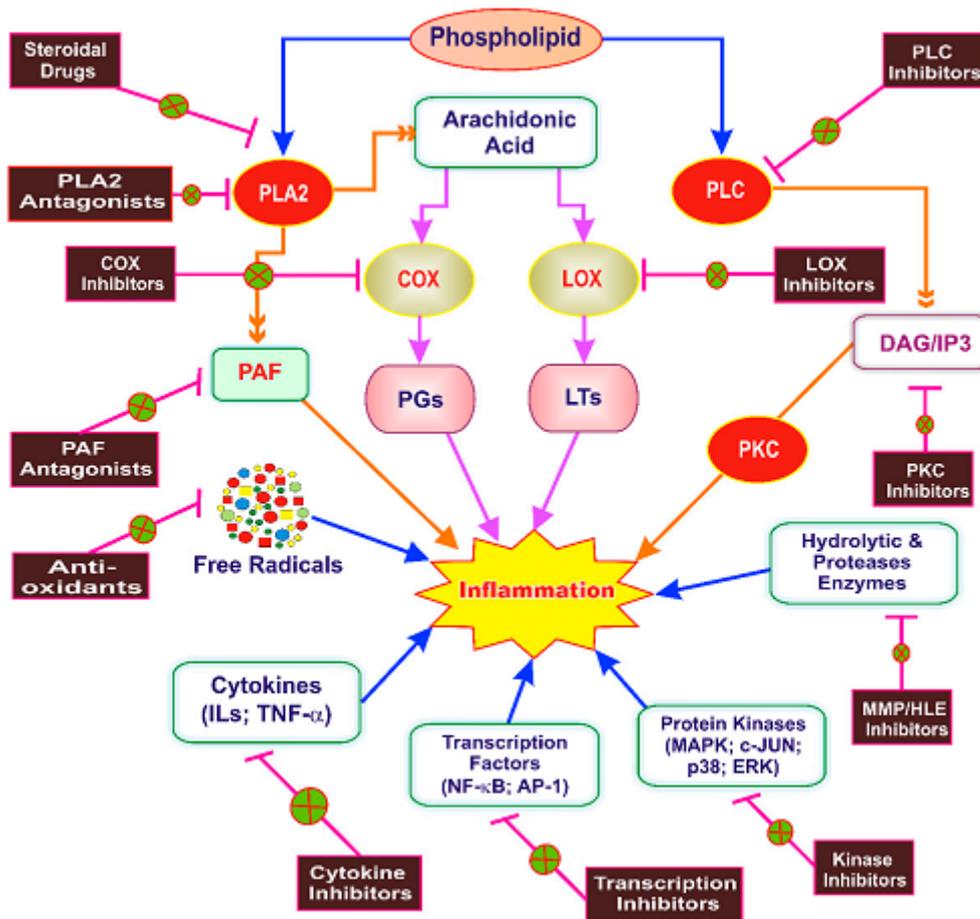


Figure 6 : Cibles des anti-inflammatoires naturels dans l'inflammation (Patil *et al.*, 2019).

PLA2, Phospholipase A2; PLC, Phospholipase C; PKC, protéine kinase C; PAF, facteur d'activation des plaquettes; DAG, diacylglycérol; IP3, triphosphate d'inositol; COX, cyclooxygénase; LOX, lipoxygénase; PG, Prostaglandines; LT, leucotriènes; MMP, métalloprotéinase matricielle; HLE, élastase leucocytaire humaine; ILs, interleukines, TNF- α , facteur de nécrose tumorale alpha; NF- κ B, facteur nucléaire kappa bêta; AP-1, protéine activatrice-1; MAPK, protéine kinase activée par un mitogène; P38, kinase P38; c-JUN, kinase N-terminale c-Jun; ERK, kinase régulée par le signal extracellulaire. Les flèches sur la figure représentent le processus et la fourchette représente l'inhibition de la cible

IX. L'inflammation et le stress oxydatif

L'inflammation et le stress oxydatif sont des processus physiopathologiques étroitement liés. L'un d'eux peut apparaître avant ou après l'autre, mais lorsque l'un d'eux apparaît, l'autre est le plus susceptible d'apparaître ; puis tous deux participent à la pathogenèse de nombreuses maladies chroniques (Biswas, 2016).

IX.1. Le stress oxydatif : un activateur majeur des voies inflammatoires

Les radicaux libres (ROS), molécules hautement réactives, sont créés par les processus cellulaires normaux, le stress environnementaux et les radiations UV. Les principaux ROS présents dans les systèmes biologiques sont l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le radical hydroxyle hautement réactif (HO^{\cdot}), l'oxygène singulet (1O_2) et l'ozone (O_3). Les espèces réactives de l'azote comprenant l'oxyde nitrique (NO^{\cdot}) et le radical réactif, l'anion peroxydinitrite ($ONOO^{\cdot-}$).

La réaction des ROS, à forte concentration, avec les composants biologiques entraîne des dommages à l'ADN, aux glucides, aux protéines et aux lipides, causant des lésions au niveau cellulaire et tissulaire, ce qui peut entraîner une inflammation, des troubles du vieillissement prématuré et plusieurs maladies, notamment le cancer, le diabète et l'athérosclérose (Ranneh *et al.*, 2017).

Les ROS peuvent initier une cascade de signaux intracellulaires qui augmentent l'expression des gènes pro inflammatoires. Ils interfèrent aussi dans la régulation de plusieurs types de kinases et de facteurs de transcription tels que iNOS et COX-2 et NF- κ B, Ils jouent également le rôle de second messager dans les voies de transduction du signal intracellulaire et dans l'activation de l'inflammasome NLRP3 (un composant essentiel du système immunitaire inné, intervient dans l'activation de la caspase-1 et la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires telles que IL-1 β et IL-18) (Biswas, 2016 ; Ranneh *et al.*, 2017).

IX.2. Le stress oxydatif est la conséquence de l'inflammation

L'inflammation est une condition pathologique caractérisée par des infiltrations cellulaires (monocytes, macrophages, lymphocytes, PMN et plasmocytes) dans la paroi vasculaire, extravasation des cellules immunitaires dans les tissus et libération de ROS (comme l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) (Burgos-Morón *et al.*, 2019), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'oxyde nitrique et les cytokines) par ces cellules conduisant à des lésions tissulaires. Les PMN génèrent des ROS principalement via l'enzyme NADPH oxydase 2, dont l'activité est médiée par l'assemblage de la sous-unité catalytique gp91phox (NOX2). L'anion superoxyde produit spontanément ou enzymatiquement (SOD) se dismute en H_2O_2 . Ce dernier, donne également naissance à d'autres radicaux hautement réactifs, tels que le radical hydroxyle ($^{\cdot}OH$) ou l'acide hypochloreux ($HOCl$) lorsqu'il est catalysé par l'enzyme MPO. Ces deux radicaux peuvent causer des lésions tissulaires en plus d'oxyder une variété de protéines, etc. Les troubles du système immunitaire ont été associés

à une augmentation de l'expression de médiateurs pro-inflammatoires, notamment les cytokines, la NADPH oxydase, la NF kappa B, la myéloperoxydase et l'iNOS (Synthase d'oxyde nitrique inducible). Les ROS générés par les cellules inflammatoires (en plus de provoquer un stress oxydatif direct pour éliminer les agents pathogènes) stimulent également les voies qui conduisent à l'amplification de l'inflammation (Soomro, 2019 ; Chatterjee, 2016). Cet environnement inflammatoire / oxydatif déclenche un cercle malsain, qui peut nuire aux cellules stromales et épithéliales saines, qui après une longue période peuvent déclencher une carcinogenèse (Figure 7). Dans un état corporel normal et sain, il existe un équilibre entre la formation d'espèces réactives de l'oxygène / les radicaux libres et les mécanismes de défense antioxydants endogènes. Cependant, si cet équilibre est perturbé, il peut entraîner un stress oxydatif et des dommages associés. Cette condition de stress oxydatif peut endommager tous les composants cellulaires vitaux tels que l'ADN, les protéines et les lipides membranaires et peut entraîner la mort cellulaire. En conséquence, il peut provoquer de nombreuses maladies, notamment le diabète, les maladies cardiovasculaires, l'inflammation, le cancer, les maladies dégénératives, l'ischémie et l'anémie. (Arulselvan *et al.*, 2016).

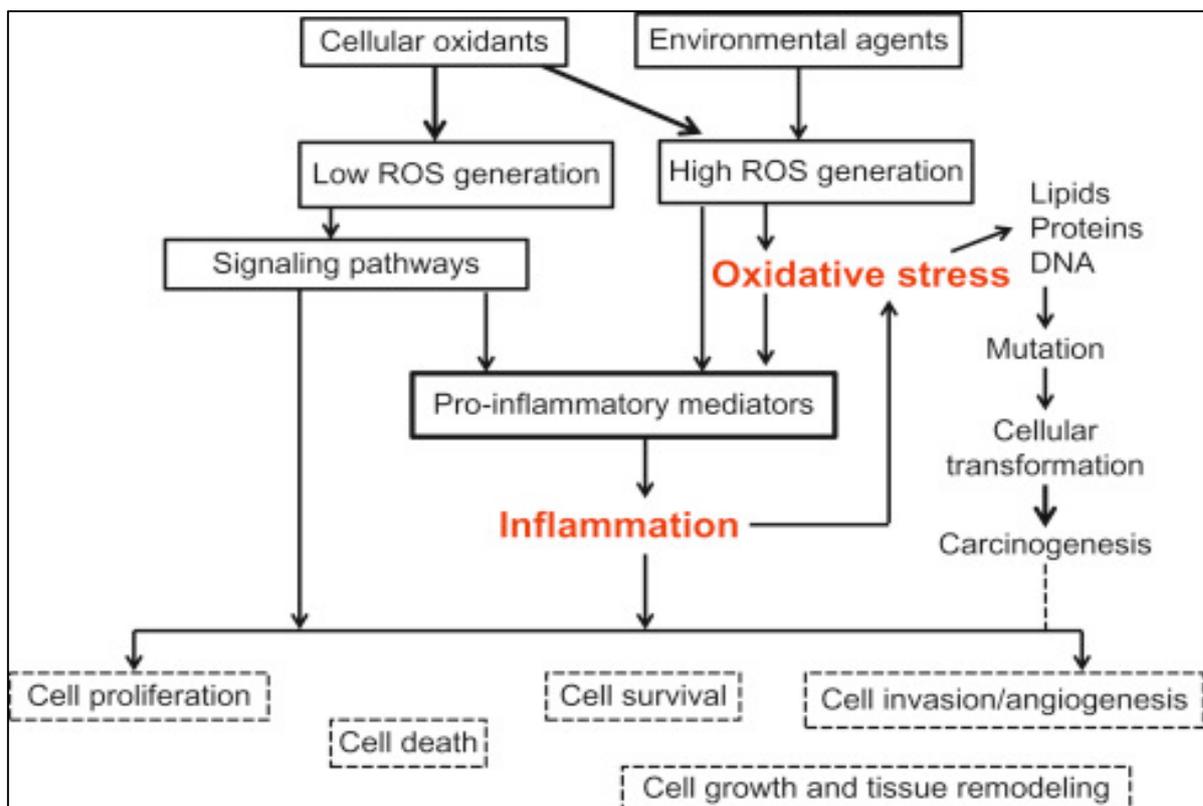


Figure 7 : La relation entre radicaux libre, stress oxydatif, inflammation, physiologie et pathologie cellulaires (Chatterjee, 2016).



Chapitre II

I. Présentation de la plante étudiée

I.1. La famille des Astéracées

Les Astéracées, également appelées Compositae, la famille des asters, des marguerites ou des composites de l'ordre des Astérales, est l'une des plus grandes familles de plantes (Ayad et Akkal, 2019), elle comprend plus de 1 600 genres et 23 000 espèces individuelles (Gao et *al.*, 2010). Le genre *Centaurea* L est l'un des plus grands genres de la famille Asteraceae (Bona, 2015). La majorité des membres de cette famille sont des plantes médicinales qui ont des applications thérapeutiques, aussi une importance économique (Achika et *al.*, 2014).

Ces plantes ont généralement des feuilles poilues et aromatiques (Achika et *al.*, 2014), elles contiennent très souvent avec les tiges des canaux sécréteurs de résine ou de latex. Elles peuvent être alternes, opposées ou verticillées. Elles sont souvent profondément ou autrement incisées.

Ses fleurs sont regroupées en inflorescences compactes (têtes) qui ressemblent superficiellement à des fleurs individuelles. Chaque tête est généralement sous-tendue par des involucre de petites feuilles modifiées (bractées). De plus, chez plus de la moitié des membres de la famille, les fleurs des rangées les plus extérieures de la tête ont une corolle modifiée qui est typiquement plate et allongée et ressemble aux pétales individuels de la plupart des autres fleurs (Rustaiyan et Faridchehr, 2021).

I.2. Le genre *Centaurea*

Le genre *Centaurea* appartenant à la famille des Astéracées, contient plus de 700 espèces réparties dans le monde entier. En Algérie, il est représenté par 45 espèces; parmi ces espèces:

- *Centaurea acaulis* L.
- *Centaurea calcitrapa*.
- *Centaurea choulettiana*.
- *Centaurea hyalolepis* (Azzouzi et *al.*, 2016 ; Rebbas et *al.*, 2021).

Les plantes du genre *Centaurea* sont beaucoup plus adaptés au sec et liés au climat méditerranéen (Hilpold et *al.*, 2014). Le genre botanique *Centaurea* est assez proche des chardons, mais s'en distingue par des feuilles alternes, polymorphes et non épineuses. Les *Centaurea* sp sont des plantes herbacées, annuelles ou vivaces. Une caractéristique de toutes les espèces de

Centaurea est l'involucre à la base des fleurs qui est constitué de petites bractées qui se chevauchent comme des bardeaux.

Certaines espèces sont caractérisées par bractées qui sont frangées ou légèrement poilues, tandis que d'autres sont entières. Leurs fleurs sont disposées en têtes. Leurs couleurs varient principalement entre le rose, le violet et le pourpre. Le réceptacle est tapissé d'une soie abondante. Les anthères sont soudées à la base ; le style est une branche courte, avec des glands à feuilles persistantes ou à feuilles caduques (Figure 8) (Khammar et Djeddi, 2012).



Figure 8 : Photographies des espèces du genre *Centaurea* (Hilpold *et al.*, 2014).

(A), *C. ornata* . (B), *C. cyanus*. (C), *C. lycopifolia*. (D), *C. benedicta* . (E), *C. akamantis*. (F), *C. hierapolitana*. (G), *C. hyrcanica*. (H), *C. exarata*. (I), *C. patula*. (J), *C. tenorei*. (K), *C. alba*. *C. pulvinata*. (M), *C. horrida*. (N), *C. princeps*. (O), *C. panormitana*.

I.3. Classification de la plante *Centaurea sp*

Embranchement : Spermatophytes

Sous Embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Ordre : Astérales

Famille : Compositae

Sous famille : Tubuliflores

Tribu : Cynarées

Genre : *Centaurea*

Espèce : *Centaurea sp* (Quezel et Santa, 1962; 1963)

I.4. Habitat

Le genre *Centaurea* est le quatrième plus grand genre de la famille des Asteraceae, avec plus de 600 espèces distribuées dans le monde entier, en particulier en Asie occidentale. Sont distribuées dans les zones côtières méditerranéennes, la Mer Rouge et les régions du Nil en Egypte (Reda *et al.*, 2021).

La Turquie est le principal centre de diversité des espèces de *Centaurea* (Uzunhisarcikli *et al.*, 2007), est représenté 192 taxons en et elle est connue comme “zerdali diken”, “çoban kaldiran” and “Timur diken” en Turquie (Erdogan *et al.*, 2017), et en Algérie, il est représenté par 45 espèces (Azzouzi *et al.*, 2016).

I.5. Utilisation traditionnel de genre *Centaurea*

Certaines espèces de *Centaurea* étaient utilisées depuis longtemps dans la médecine traditionnelle pour traiter diverses maladies telles que des problèmes gynécologiques, digestifs et dermatologiques. Plusieurs études biologiques ont révélé des activités importantes telles que anti-inflammatoire, antipyrétique, antalgique, antiplaquettaire, cicatrisante, antiulcérogène, hépatoprotectrice, antiplasmodiale, cytotoxique, antioxydante, antibactérienne, antifongiques, antivirales (Erel *et al.*, 2014 ; Reda *et al.*, 2021), antidiabétiques, antidiarrhéiques, antirhumatismaux, digestifs, stomachiques, diurétiques, menstruels, astringents, hypotenseurs, antipyrétiques par les médecins publics, et sont utilisées seules ou en mélange (Arif *et al.*, 2004). Les plantes importantes de cette espèce qui avaient été explorées jusqu'à présent comprennent *C. calcitrapa*, *C. cyanus*, *C. solstitialis*, *C. urvillei*, *C. iberica*, *C. stoebe* et *C. pullata*, etc (Khammar et Djeddi, 2012).

En Égypte, *C. alexandrina* est utilisés comme agents antibactériens et antidiabétiques. *C. calcitrapa* est largement utilisée en médecine traditionnelle en Afrique du Nord ; la plante entière est amère-astringente, apéritive, stomachique et est utilisée pour la fièvre intermittente et les maladies oculaires. De plus, les racines et les fruits sont diurétiques et les graines sont utilisées

pour les calculs rénaux. En Syrie, les graines et les racines sont utilisées comme stimulant de l'appétit et contre la diarrhée. En Turquie, l'infusion de la plante est utilisée pour traiter la fièvre (Reda *et al.*, 2021).

En Turquie, *C. pulchella*, *C. drabifolia*, *C. solstitialis ssp.solstitialis*, *C. iberica* et *C. virgata* sont utilisés pour le traitement de l'ulcère peptique, du paludisme, du rhume, des maux d'estomac, des douleurs abdominales et des infections herpétiques autour des lèvres. Les feuilles basales de *C. triumfettii* et *C. urvillei* sont utilisés comme denrées alimentaires et consommés frais. Les fleurs séchées de *C. cyanus*, qui sont principalement disponibles dans l'ouest et le sud-ouest de l'Anatolie, sont utilisées (infusion à 5%) pour soulager la diarrhée, gagner de l'énergie, augmenter l'appétit et soulager l'oppression thoracique. *C. behen* qui pousse dans l'est de l'Anatolie est utilisé pour les problèmes d'estomac et le début des menstruations. *C. calcitrapa* qui pousse dans le nord-ouest de l'Anatolie est utilisé (infusion de 2 à 6 %) comme antipyrétique. Une autre espèce, *C. jacea*, est utilisée pour réduire la fièvre, déclencher les menstruations, soulager la constipation et augmenter l'appétit. Une recherche sur les herbes traditionnellement utilisées comme une sorte de médicament par le public a révélé que *C. iberica* a été utilisé pour les douleurs abdominales et pour guérir les piqûres d'insectes et de serpents).

Les médecins traditionnels chinois utilisent *C. uniflora* depuis toujours contre l'intoxication. L'extrait acétate d'éthyle de *C. uniflora* présente des effets anti-athérosclérotiques.

En Espagne, l'infusion de *C. aspera*, *C. seridis var. maritima* et *C. melitensis* sont utilisés pour l'hypoglycémie (Khammar et Djeddi, 2012).

Les utilisations les plus courantes de *C. ornata* sont celles pour traiter les ulcères gastriques et les plaies. Il est également administré par voie topique dans des bains, des lavages, en cataplasme de racine fraîche, séchée ou rôtie et en appliquant de l'huile d'olive où les morceaux de racine avaient été préalablement frits. Pour les douleurs à l'estomac ou les problèmes de circulation, il est administré par voie orale. De plus, à Badajoz (Estrémadure, Espagne), il est utilisé contre les boutons, les douleurs aux jambes, l'inflammation, les hémorroïdes, les piqûres d'insectes, les frottements, les rhumatismes, l'arthrose, les douleurs générales, la circulation, les maux d'estomac, le cancer de la peau, la gangrène, tout, la panacée " remède universel ». *C. ornata* est également utilisé dans d'autres régions espagnoles et portugaises pour soigner l'arthrite et les rhumatismes (Khammar et Djeddi, 2012).

En Algérie, comme le rapportent de nombreuses études pharmacologiques, divers extraits bruts et composés isolés d'espèces centaurees algériennes ont montré des activités biologiques

importantes, telles que cytotoxiques, antimicrobiennes, antioxydantes et antiplasmodiales (Ayad et Akkal, 2019).

II. Les Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires des plantes sont des composés chimiques produits par la cellule végétale par des voies métaboliques dérivées de celles du métabolisme primaire telles que (les protéines, les glucides, et les lipides) (Hussein et El Anssary, 2019). Elles jouent un rôle majeur dans l'adaptation des plantes à leur environnement. Ces composés contribuent largement à l'interaction avec les écosystèmes. Elles ont été décrites comme antibiotiques, antifongiques et antivirales, et donc capables de protéger les plantes contre les agents pathogènes.

Les composés secondaires des plantes sont classés en fonction de leurs voies de biosynthèse. Trois grandes familles de composés sont généralement considérées : les composés phénoliques, les alcaloïdes et les terpènes (Bourgaud *et al.*, 2001).

II.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques, l'une des principales classes de métabolites secondaires ; Ce sont des substances phytochimiques comprenant au moins un cycle aromatique et un ou plusieurs groupes hydroxyle (Macheix *et al.*, 2005). Ils sont biosynthétisés à partir des hydrates de carbone via la voie de l'acide shikimique et la voie de l'acétate.

La structure des composés phénoliques va du simple noyau aromatique de faible poids moléculaire jusqu'aux tanins complexes de très haut poids moléculaire, ils peuvent être classés par le nombre et l'arrangement des atomes de carbone les composant en fonction de la nature de leur squelette carboné et en fonction de la longueur de la chaîne aliphatique liée au noyau benzénique. Ils peuvent être répartis en deux grands groupes : les flavonoïdes et les non-flavonoïdes (Chira *et al.*, 2008).

II.1.1. Les Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des substances phytochimiques qui existent soit sous forme d'aglycones libres, soit sous forme de conjugués glycosidiques (Middleton *et al.*, 2000). Ils jouent divers rôles dans les plantes en tant que métabolites secondaires, étant impliqués dans les processus de défense contre les UV, la pigmentation, la stimulation des nodules de fixation de l'azote et la résistance aux maladies (Crozier, 2003).

Chimiquement, ils sont polyphénoliques et possèdent une structure de phénylbenzopyrone ($C_6-C_3-C_6$) (Middleton *et al.*, 2000). Les flavonoïdes peuvent être subdivisés en différents sous-groupes en fonction du carbone du cycle C sur lequel est fixé le cycle B et du degré d'insaturation et d'oxydation du cycle C.

Les flavonoïdes dans lesquels le cycle B est lié en position 3 du cycle C sont appelés isoflavones; dont le cycle B est lié en position 4 sont appelés néoflavonoïdes, tandis que ceux dont le cycle B est lié en position 2 peuvent être subdivisés en plusieurs sous-groupes sur la base des caractéristiques structurales du cycle C, catégorisée principalement en flavones, flavonols, flavanones, isoflavones, flavanonols et flavanols (Figure 9).

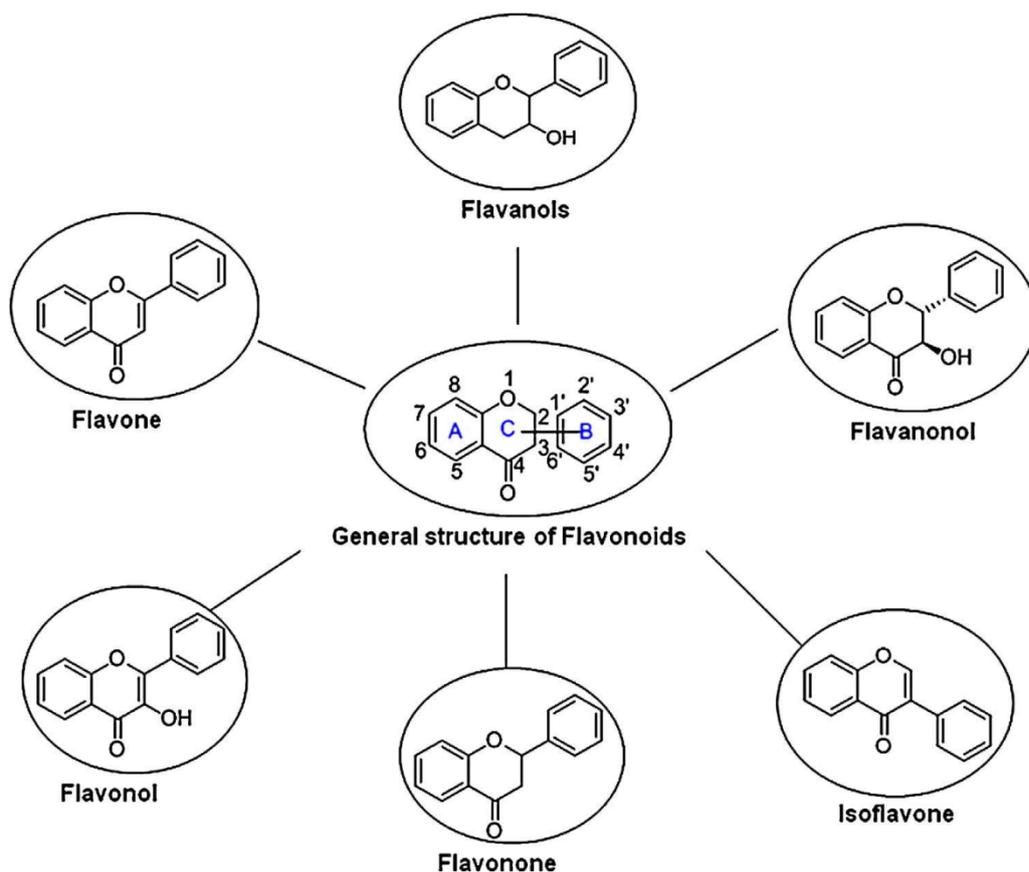


Figure 9 : Structure chimique générale des flavonoïdes et de leurs différentes classes (Ravishankar *et al.*, 2013).

II.1.2. Les non flavonoïdes

II.1.2.1. Les Acides phénoliques

Le terme "acides phénoliques", en général, désigne les phénols qui possèdent un groupe fonctionnel acide carboxylique. Les acides phénoliques d'origine naturelle contiennent deux structures carbonées distinctes : les structures hydroxycinnamique et hydroxybenzoïque (Figure 10) (Balasundram *et al.*, 2006).

II.1.2.1.1. Les acides hydroxybenzoïques (C₆-C₁)

Les acides hydroxybenzoïques dérivent de l'acide benzoïque (Lafay et Gil-Izquierdo, 2008). Ils se présentent surtout sous forme libre que sous forme combinée à l'état d'esters ou d'hétérosides (Macheix *et al.*, 2005).

II.1.2.1.2. Les acides hydroxycinnamiques (C₆-C₃)

Les acides hydroxycinnamiques dérivent de l'acide cinnamique (Lafay et Gil-Izquierdo, 2008). Ses composés sont produits sous forme d'esters simples avec le glucose ou bien les acides hydroxy carboxyliques (Balasundram *et al.*, 2006).

Acides phénoliques

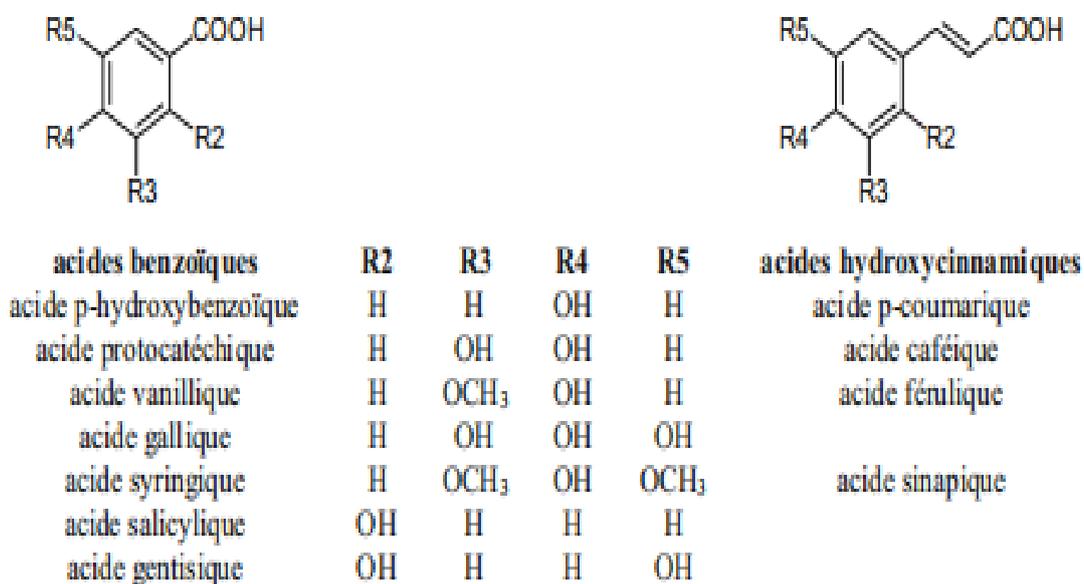


Figure 10 : Structures des acides phénoliques (Chira *et al.*, 2008).

II.1.2.2. Les lignines

Les lignines sont des polymères aromatiques, complexes et tridimensionnels qui sont présents principalement dans les parois cellulaires végétales ; ils jouent un rôle important dans la croissance et le développement des plantes (Rogers et Campbell, 2004 ; Vanholme *et al.*, 2008).

Les lignines sont dérivées par la polymérisation de sous-unités monomères appelées monolignols, ces dernières sont des composés phénylpropanoïdes en (C₆-C₃). Trois différents monolignols peuvent être incorporés dans le polymère de lignine notamment l'alcool p-coumarylique, l'alcool coniférylique ou l'alcool sinapylique (Figure 11) (Rogers et Campbell, 2004).

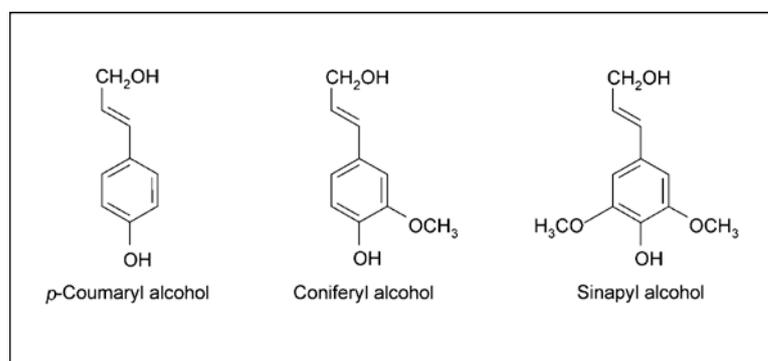


Figure 11 : Les trois différents précurseurs monomères (les monolignols) qui peuvent être incorporés dans les polymères de lignine (Rogers et Campbell, 2004).

II.1.2.3. Les Coumarines

Les coumarines (2H-1-benzopyran-2-one) constituent la plus grande classe de dérivés du 1-benzopyrane, Elles sont présentes en abondance dans diverses familles de plantes; La plupart des coumarines naturelles sont oxygénées en C-7 (Sarker et Nahar, 2007). Ils sont aussi les dérivés de C₆-C₃. Ils sont présents dans toutes les parties de la plante et se trouvent dans la nature sous forme libre ou liée (sucres) (Stringlis *et al.*, 2019).

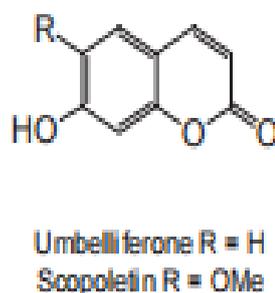


Figure 12 : Structure de base de coumarines (Sarker et Nahar, 2007).

II.1.2.4. Les Tanins

Ils sont largement distribués dans la flore végétale. Ce sont des composés phénoliques de haut poids moléculaire. Les tanins sont solubles dans l'eau et l'alcool. Ils se trouvent dans la racine,

l'écorce, la tige et les couches extérieures des tissus végétaux. Les tanins ont la particularité de tanner, c'est-à-dire de transformer les choses en cuir. Ils ont une réaction acide et cette réaction acide est attribuée à la présence de phénoliques ou de groupes carboxyliques (Doughari, 2012).

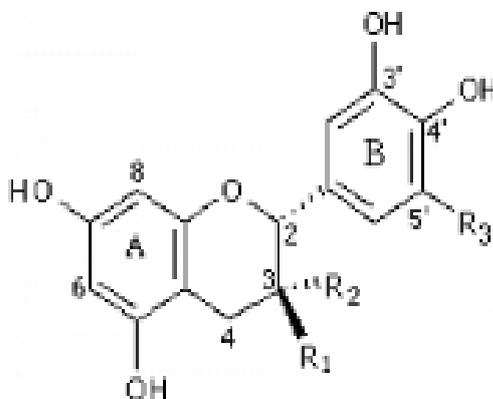


Figure 13 : Structure de base de tanins (Schofield *et al.*, 2001).

II.2. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des produits naturels qui contiennent des atomes d'azote hétérocycliques et ont un caractère basique. Le nom alcaloïdes dérive de l'expression "alcalin" et il était utilisé pour décrire toute base contenant de l'azote ; Ils sont naturellement synthétisés par un grand nombre d'organismes, notamment les animaux, les plantes, les bactéries et les champignons.

Les alcaloïdes sont si nombreux et présentent une telle variété de structures moléculaires regroupées en familles, selon le type de système d'anneau hétérocyclique (Figure 14) (Saxena *et al.*, 2013).

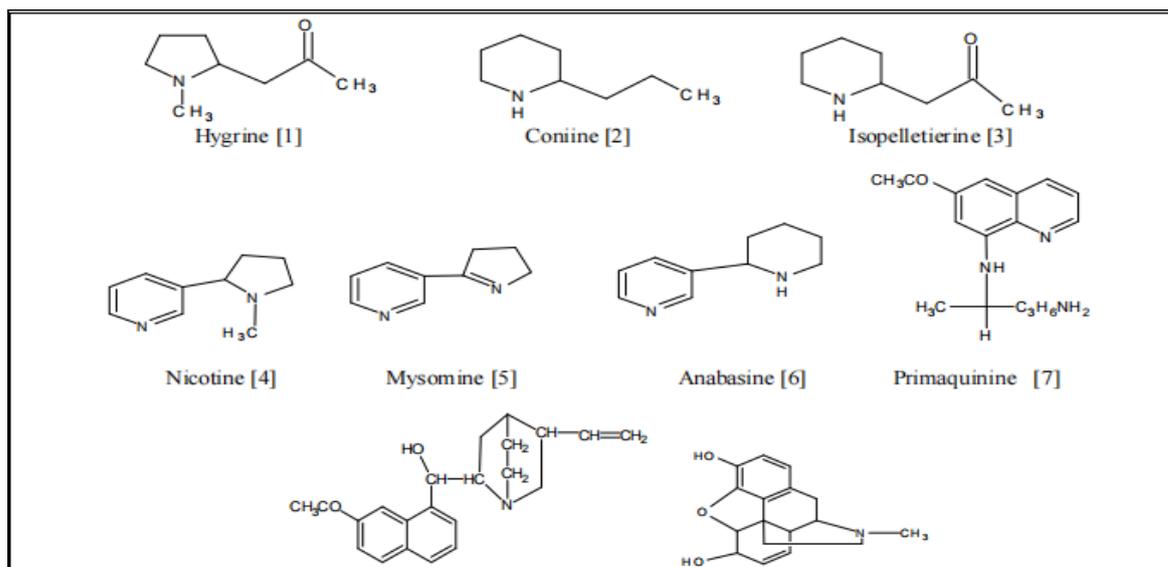


Figure 14 : Structures des alcaloïdes importants présents dans la nature (Saxena *et al.*, 2013).

II.3. Les Terpènes

Les terpènes appartiennent à la plus grande classe de métabolites secondaires et sont essentiellement composés d'unités isoprènes à cinq carbones qui sont reliées entre elles de plusieurs façons. Les terpènes sont des hydrocarbures simples, tandis que les terpénoïdes sont une classe modifiée de terpènes avec différents groupes fonctionnels et des groupes méthyles oxydés déplacés ou supprimés à diverses positions. Les terpénoïdes sont divisés en monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes, sesterpènes et triterpènes en fonction de leurs unités de carbone.

La plupart des terpénoïdes dont la structure varie sont biologiquement actifs et sont utilisés dans le monde entier pour le traitement de plusieurs maladies. De nombreux arômes et parfums agréables sont composés de terpènes en raison de leur odeur agréable. En même temps, ils jouent un rôle diversifié dans les aliments, les médicaments, les cosmétiques, les hormones et les vitamines (Perveen, 2021).

III. Les métabolites secondaires les plus courants du genre *Centaurea*

Le genre *Centaurea* a fait l'objet de nombreuses recherches phytochimiques mettant en évidence sa richesse en métabolites secondaires bioactifs et qui ont montré que les principaux métabolites secondaires de ce genre sont les composés phénoliques tels que les flavonoïdes, les lignanes et les lactones sesquiterpéniques (Figure 15) (Ayad et Akkal, 2019 ; Yildirim *et al.*, 2022).

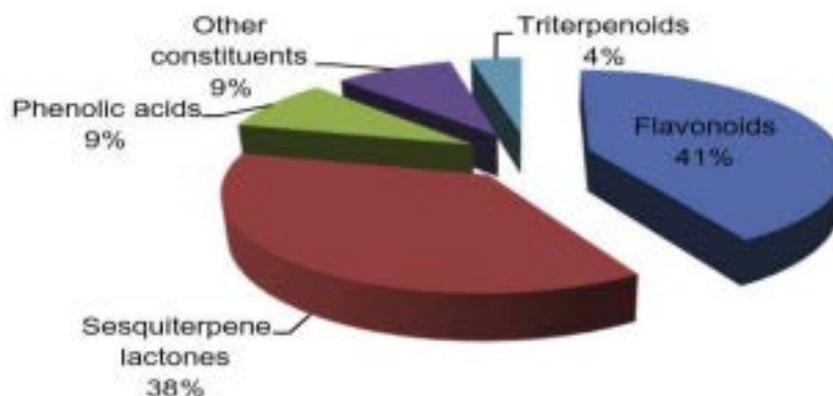


Figure 15: Les composants chimiques du genre *Centaurea* algérienne (Ayad et Akkal, 2019).

III.1. Les flavonoïdes

Des rapports ont montré que 119 flavonoïdes de divers types isolés de *Centaurea* spp. Certains se sont avérés biologiquement actifs. L'apigénine, la lutéoline et leurs glycosides sont les flavonoïdes les plus courants chez les espèces de *Centaurea*. L'apigénine, la circimaritine, l'eupatorine, l'isoschaftoside, l'isovitexine, le kaempférol 3-O-glucoside, le kaempférol 3-méthyl éther et la 6-méthoxylutéoline 3', 4', 7-triméthyl éther possédant des propriétés antibactériennes (Al-Easa et Rizk, 1992).

La présence de flavonoïdes a été signalée dans la majorité des *Centaurea* algériens et des genres apparentés. En fait, 65 flavonoïdes de différentes classes ont été trouvés, dont 33 flavonoïdes aglycones et 32 flavonoïdes glycosides.

Les espèces de *Centaurea* algériennes présentent un profil flavonoïde comprenant des flavones, des flavonols, une seule flavanone, des O-glycosides de flavone, des glycosides de flavonol, deux glycosides de flavanone et des C-glycosides de flavone (Figure 16).

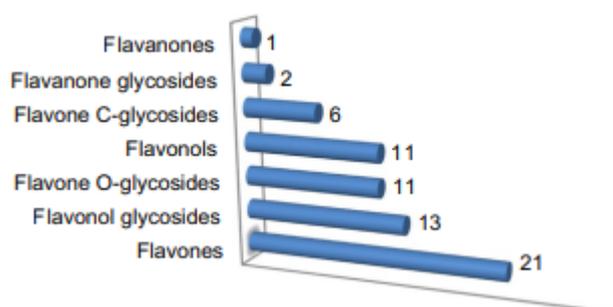


Figure 16: Classification des flavonoïdes des Centaurées algériennes et des genres apparentés (Ayad et Akkal, 2019).

III.2. Les lactones sesquiterpènes

Les espèces de *Centaurea* se caractérisent par la présence des lactones sesquiterpéniques comme le guaianolide et le germacranolide, certains elemanolides et eudesmanolides ont également été isolés d'espèces de *Centaurea*.

Certaines de ces lactones sesquiterpéniques se sont avérées biologiquement actives. L'une des découvertes les plus intéressantes est l'activité cytostatique marquée des lactones sesquiterpéniques chlorées, à savoir que les chlorohyssopifolines. Le Cynaropicrin et le deacylcynaropicrin ont également été signalés comme supprimant les activités cytotoxiques.

La cnicine a été signalée comme un agent hypoglycémiant et phytotoxique et possède une activité antibactérienne (Al-Easa et Rizk, 1992).

En Algérie, une recherche bibliographique a permis d'isoler et d'identifier un total de 59 lactones sesquiterpéniques différentes à partir de genres *Centaurea*. Les lactones sesquiterpéniques les plus abondantes rapportées jusqu'à présent étaient : Germacranolides (12 composés), les élémanolides (12 composés), les eudesmanolides (8 composés) et les guaianolides (27 composés) (Ayad et Akkal, 2019).

III.3. Les lignanes

Les lignanes sont des composés dimériques formés essentiellement par l'union de deux molécules d'un dérivé du phénylpropène (Hussein et El Anssary, 2019). Se trouvent souvent dans le bois des Gymnospermes et dans les tissus soumis à lignification chez les Angiospermes (Krief, 2003).

Les espèces du genre *Centaurea* ont montré la présence de ces substances dans de nombreuses espèces (Yildirim *et al.*, 2022).

IV. L'activité anti oxydante des polyphénols et des flavonoïdes

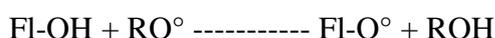
Les composés phénoliques sont des antioxydants et sont étudiés notamment afin de trouver des molécules capables de protéger le corps humain contre les effets des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de remplacer les antioxydants synthétiques, qui peuvent avoir une certaine toxicité (Albayrak *et al.*, 2010).

Ces antioxydants phénoliques, surtout les acides phénoliques et les flavonoïdes ont des propriétés de piégeage des radicaux libres, de chélation et de réduction des métaux, et peuvent

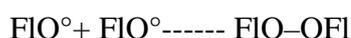
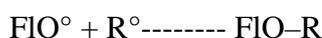
également empêcher les systèmes enzymatiques responsables de la génération de ROS (Lee *et al.*, 2008).

IV.1. Mécanisme de piégeage des radicaux libres par les flavonoïdes

La capacité des flavonoïdes à piéger les radicaux libres est principalement associée à la présence de groupes hydroxyle des cycles A et B. Le potentiel de piégeage des groupes hydroxyle phénoliques du cycle B est plus forte que celle du cycle A et la position de l'hydroxyle phénolique 3' est la plus importante (Wang *et al.*, 2021). Ce potentiel est lié à la capacité d'un flavonoïde (FI-OH) à transférer l'atome d'hydrogène phénolique à un radical libre. Le processus de transfert est décrit par la formule suivante (Weinberg *et al.*, 2012) :



La réaction ci-dessus donne les radicaux phénoxyles (FIO[°]) et une molécule stable (ROH). Les radicaux phénoxyles sont moins actifs par rapport à R[°]. Ils réagissent ensuite pour former des composés non réactifs, par l'interaction suivante (Amić *et al.*, 2003) :



IV.2. Effet des flavonoïdes sur les enzymes productrices de radicaux libres

Les flavonoïdes sont capables d'inhiber les activités de plusieurs enzymes impliquées dans la génération de radicaux. Parmi ces enzymes, la xanthine oxydase, la lipoxigénase, la cyclo-oxygénase, la peroxydase et la tyrosine kinase sont les plus étudiées (Loannou et Ghoul, 2012).

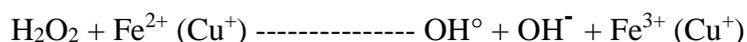
Comme de nombreux autres flavonoïdes, la quercétine peut contribuer au traitement de la goutte et de l'ischémie en réduisant la quantité d'acide urique et d'anion superoxyde dans les tissus par l'inhibition de la XO (Kaurinovic et Vastag, 2019). Les groupes hydroxyle en positions C-5 et C-7 ainsi que la double liaison C2-C3 sont essentiels à l'activité inhibitrice de la XO (Atmani *et al.*, 2009).

Certains flavonoïdes inhibent la production de NO dans les cellules RAW 264.7 activées par le lipopolysaccharide (Kim *et al.*, 1999) et leur activité inhibitrice pourrait être due à la réduction de l'expression de l'enzyme iNOS (Raso *et al.*, 2001) qui peut être une source importante de ROS. Elle peut réduire l'oxygène moléculaire au lieu de transférer des électrons à la L-arginine,

produisant ainsi de l' O_2^- . En absence de cofacteurs suffisants comme la tétrahydrobioptérine pour la catalyse enzymatique (Atmani *et al.*, 2009).

IV.3. Pouvoir chélateur des flavonoïdes

Les ions de fer (Fe^{2+}) et de cuivre (Cu^+), peuvent être des cofacteurs de diverses enzymes impliquées dans le système de défense antioxydant des cellules. Ils sont également responsables de la production du radical hydroxyle par la réduction du peroxyde d'hydrogène (OH^{\cdot}) selon la réaction suivante (Loannou et Ghoul, 2012) :



Les flavonoïdes forment un complexe stable avec les métaux de transition (Fe^{3+} , Al^{3+} , Cu^{2+} , Zn^{2+}) ; la stœchiométrie du complexe et le site de chélation dépendent de la nature du flavonoïde surtout de la présence de la partie catéchol (Le Nest *et al.*, 2004) et du pH (Cornard et Merlin, 2002). De plus, ce phénomène de chélation est parfois accompagné de l'oxydation du flavonoïde (Cu^{2+} , Fe^{3+}). La chélation se déroule le plus souvent sur les groupes hydroxyle en position 3' et 4' du cycle B, sur la position 3 du groupe hydroxyle du cycle A et sur les positions 3 et 4 du groupe carbonyle du cycle C (Figure 17) (Pietta, 2000).

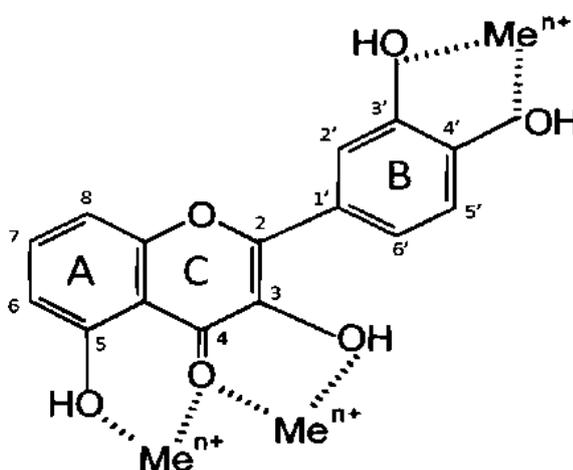


Figure 17 : les sites de chélation au niveau des flavonoïdes (Pietta, 2000).

V. La relation entre la structure des flavonoïdes et leur effet antioxydant

Les flavonoïdes constituent l'un des groupes les plus importants de composés bioactifs parmi les métabolites secondaires. Le nombre total et la configuration des groupes hydroxyle existant sur les composés augmentaient les effets antioxydants des flavonoïdes.

La nature chimique des substances polyphénoliques dépend de leur classe structurale, du degré d'hydroxylation, d'autres substitutions et conjugaisons. Leurs différents effets pharmacologiques dépendent principalement de leur structure (Figure 18). Les effets protecteurs des flavonoïdes dans les systèmes biologiques sont attribués à leur capacité à transférer de l'hydrogène ou des électrons aux radicaux libres, à activer les enzymes antioxydantes, à chélater les catalyseurs métalliques et à inhiber les oxydases (Sarian *et al.*, 2017).

➤ Le -OH en position 4' sur le cycle B et le -OH en position 7 sur le cycle A possédaient une activité antioxydante élevée ; le cycle B et/ou le cycle A avec des groupes -OH adjacents pouvaient augmenter considérablement leur capacité antioxydante (Zhang *et al.*, 2014).

➤ Les flavonoïdes inhibent les enzymes impliquées dans la production de ROS (Nile *et al.*, 2018).

➤ Des études de structure-réactivité ont démontré que les activités antiradicalaires/antioxydantes sont liées à des critères structurels tels que : la présence d'un ortho-hydroxyle sur le cycle B, la présence d'un ou plusieurs groupes hydroxyle libres, la présence d'une double liaison C2-C3 dans le cycle C, ou la présence d'un groupe 3-hydroxyle (Cherrak *et al.*, 2016).

➤ Une structure 3',4'-catéchol dans l'anneau B renforce fermement l'inhibition de la peroxydation lipidique. Cette caractéristique des flavonoïdes fait d'eux les pièges les plus efficaces des radicaux peroxyde, superoxyde et peroxyde nitrite (Heim *et al.*, 2002).

➤ On a constaté que l'alkylation et l'acétylation des groupes phénoliques en positions C-5, C-7 et C-8 (c'est-à-dire les groupes méthoxy ou acétate) diminuaient les activités antioxydantes et de piégeage (Sarian *et al.*, 2017).

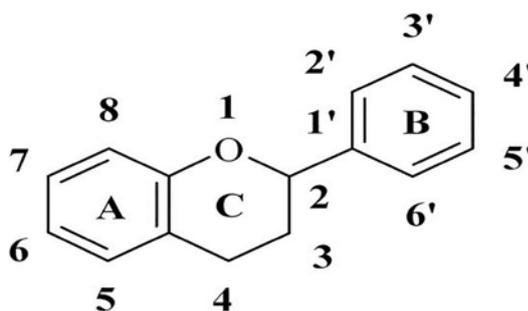


Figure 18 : Structure de base du flavonoïde (Cherrak *et al.*, 2020).

VI. Activités antioxydants et anti radicalaires des espèces *Centaurea* :

Il existe de nombreux articles dans la littérature sur les effets antioxydants des différents extraits et composés de nombreuses espèces de *Centaurea* (Yildirim *et al.*, 2022).

Zengin *et al.* (2018) ont déterminé que les extraits aqueux et méthanoliques et acétate d'éthyle de *Centaurea saligna* possédaient une forte activité de piégeage des radicaux DPPH et ABTS. Ils ont prouvé que L'extrait aqueux avait la teneur phénolique la plus élevée (extrait de 30,18 mg de GAE/g), et l'activité de piégeage des oxydants la plus puissante (120,53, 111,90, 68,43 et 157,88 mg de TE/g d'extrait, pour CUPRAC, FRAP, DPPH et ABTS). Dans la même étude, il a été rapporté que la teneur totale en flavonoïdes de ces extraits était de 25,81, 43,16 et 6,33 mg RE/g, respectivement (Yildirim *et al.*, 2022).

Le Patuletin 7-O- β -glucopyranoside a été isolé de l'extrait *n*-butanol de *C. acaulis*. La capacité antioxydante de ce glycoside a été réalisée à l'aide de méthodes de piégeage des radicaux DPPH, de peroxydation lipidique et de piégeage du radical hydroxyle. L'effet piègeur du DPPH exercé par le patuletin-7-O- β -glucopyranoside (97,92 %) était meilleur que celui de la vitamine C standard (95,00 %). De plus, le pourcentage d'inhibition de la peroxydation lipidique à 100 μ g/mL de patuletin-7-O- β -glucopyranoside s'est avéré être 51,93% inférieur à celui trouvé pour la vitamine C (86,95%). D'autre part, la valeur IC₅₀ de ce composé et de l'acide ascorbique était de 25,16 et 10,53 μ g/mL, respectivement, en utilisant la méthode de piégeage du radical hydroxyle (Bicha *et al.*, 2013).

VII. Mécanisme d'action anti inflammatoire des composés phénoliques

Les composés phénoliques peuvent inhiber l'activité ou l'expression génétique des médiateurs pro-inflammatoires en plus de la COX (Tareq *et al.*, 2020). En outre, certains composés phénoliques peuvent réguler à la hausse ou à la baisse des facteurs de transcription, comme le facteur nucléaire kB (NF-kB) ou Nrf-2, dans les voies inflammatoires et antioxydantes (Ambriz-Pérez *et al.*, 2016).

La structure des composés phénoliques influence fortement leurs mécanismes d'action anti-inflammatoire. Par exemple, l'insaturation du cycle C confère une stabilité aux espèces radicalaires intermédiaires par résonance. Par ailleurs, une double liaison située en C2-C3 induit une coplanarité entre les cycles A et C, stimulant l'interaction du flavonoïde avec le site actif enzymatique (Lättig *et al.*, 2007). Le groupe catéchol au niveau du cycle B aide à l'oxydation enzymatique, induisant la formation d'espèces électrophiles permettant l'addition nucléophile. Enfin, les ligands des composés phénoliques participent à la formation de liaisons covalentes entre les flavonoïdes et les macromolécules (Lago *et al.*, 2014).

VII.1. Mécanisme d'action anti inflammatoire des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont des propriétés anti-inflammatoires, inhibent les enzymes régulatrices ou les facteurs de transcription importants pour le contrôle des médiateurs impliqués dans l'inflammation (Maleki *et al.*, 2019).

Certains membres des flavonoïdes affectent significativement la fonction du système immunitaire et des cellules inflammatoires (Kumar et Pandey, 2013). Les flavonoïdes peuvent affecter spécifiquement la fonction des systèmes enzymatiques impliqués de manière critique dans la génération des processus inflammatoires, en particulier les protéines kinases tyrosine et sérine-thréonine (García-Lafuente *et al.*, 2009). L'inhibition des kinases est due à la liaison compétitive des flavonoïdes avec l'ATP sur les sites catalytiques des enzymes. Ces enzymes sont impliquées dans la transduction des signaux et les processus d'activation cellulaire impliquant les cellules du système immunitaire. Il a été signalé que les flavonoïdes sont capables d'inhiber l'expression des isoformes de l'oxyde nitrique synthase inductible, de la cyclooxygénase et de la lipooxygénase, qui sont responsables de la production d'une grande quantité d'oxyde nitrique, de prostanoïdes, de leucotriènes et d'autres médiateurs du processus inflammatoire tels que les cytokines, les chimiokines ou les molécules d'adhésion (Tunon *et al.*, 2009). Les flavonoïdes inhibent également les phosphodiéstérases impliquées dans l'activation cellulaire. Une grande partie de l'effet anti-inflammatoire des flavonoïdes se situe au niveau de la biosynthèse des cytokines protéiques qui médient l'adhésion des leucocytes circulants aux sites de blessures. Certains flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de la production de prostaglandines, un groupe de puissantes molécules de signalisation pro-inflammatoires (Manthey, 2000).

VIII. Activité anti-inflammatoire des espèces *Centaurea*

De nombreux rapports suggèrent que les espèces de *Centaurea* exercent des propriétés anti-inflammatoires dans un modèle de rat de maladie inflammatoire de l'intestin (MII) (Al-Saghir *et al.*, 2009), d'œdème de la patte induit par le carraghénane (Koca *et al.*, 2009^a; Erel *et al.*, 2014), la formation de l'œdème de l'oreille induit par le TPA (Koca *et al.*, 2009^b), très probablement par inhibition de l'expression du COX 2 et du facteur nucléaire- $\kappa\beta$. Il a été démontré que l'extrait de *C. nerimaniae* provoque une inhibition de $92,16 \pm 3,49$ % de COX-1 et de $68,03 \pm 4,90$ % d'inhibition de COX-2 à 10 mg/mL. Cependant, ce niveau d'inhibition est significativement plus faible par rapport à l'indométhacine qui s'est avérée provoquer une inhibition de $97,1 \pm 0,1$ % de la COX-1 à 0,005 mg/mL et une inhibition de $95,92 \pm 2,2$ % de la COX-2 à 0,050 mg/mL

(Melikoglu *et al.*, 2018). De même, *Centaurea anthiocia* s'est avéré inhiber à la fois les enzymes COX-1 et COX-2 (Ozsoy *et al.*, 2015). Ces résultats confirment l'activité anti-inflammatoire rapportée des espèces *Centaurea*. Les activités anti-inflammatoires des espèces de *Centaurea* ont été expliquées par leur teneur en lactones sesquiterpéniques (SL), obtenues à partir de nombreuses plantes de cette famille (Al-Saghir *et al.*, 2009). Il a été rapporté que les flavonoïdes présentent des activités anti-inflammatoires remarquable *in vitro* et *in vivo*. Il a été rapporté que la capacité de certains flavonoïdes, tels que la rutine, la quercétine, l'apigénine et la centaureïdine, à inhiber l'expression de la cyclooxygénase-2, peut contribuer aux propriétés anti-inflammatoires des espèces *Centaurea* (Orallo *et al.*, 1998). L'activité anti-inflammatoire de l'hispiduline, une flavone naturelle trouvée dans *C. nerimaniae*, a été étudiée dans le modèle d'œdème de l'oreille de la souris induit par le TPA et s'est avérée active (Patel et Patel, 2017 ; Melikoglu *et al.*, 2018).



Chapitre III

Matériel et Méthodes

I. Matériel

I.1. Matériel végétal

La plante *Centaurea* sp a été récoltée en juin 2018 de la région de Djebel El Ouahch à Constantine. Les parties aériennes (les fleurs et les feuilles) de la plante sont nettoyées, puis séchées dans un endroit sec et aéré et à l'abri de la lumière. Elles sont ensuite broyées à l'aide d'un broyeur électrique, la poudre obtenue est prête à la préparation de l'extrait méthanolique.

I.2. Matériel animal

Les différentes activités biologiques *in vivo* ont été effectuées sur des souris *Swiss albinos* et des rats *Wistar albinos* provenant de l'institut Pasteur (Alger) de sexe femelle et dont le poids varie entre (20-28) g pour les souris et (150-200) g pour les rats. Ces animaux ont été répartis dans des cages en plastique à la température ambiante avec un régime alimentaire de granulés d'origine ONAB et de l'eau *ad libitum*.

I.3. Réactifs Chimiques et solvants

Méthanol, Eau distillé, Eau Ultra pure, DPPH, Na₂CO₃, AlCl₃, Folin-Ciocalteu, NaCl, Aspirine, Carragénine, Xylène, ABTS, K₂S₂O₈, Phénanthroline, FeCl₃, K₃Fe (CN)₆, TCA, Nitrite d'Argent, Citrate trisodique....

I.4. Appareil utilisés

Balance, évaporateur rotatif de type BUCHI, vortex de type TechnoKartell, balance de précision, spectrophotomètre UV-visible de type SHIMADZU, Agitateur magnétique, pied à coulisse numérique, micro pipettes, eppendorf, lecteur de microplaque, PH mètre.

II. Méthodes

II.1. Préparation de l'extrait méthanolique

Une quantité de 55 grammes du matériel végétale broyée a été macérée dans 400 ml d'un solvant hydro-méthanolique (MeOH/H₂O, 80/20, v/v), il a été bien agité et laissé à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 72 h. Ce processus est répété 3 fois avec un

renouvellement du solvant chaque 24 h. Ce mélange est filtré sur papier filtre Whatman, le filtrat obtenu est évaporé et concentré sous basse pression à 35 - 40 °C à l'aide d'un évaporateur rotatif, afin d'obtenir un extrait méthanolique brut. Ce dernier est finalement pesé et conservé à 4°C dans un flacon stérile.

II.2. Dosage des métabolites secondaires de la plante *Centaurea* sp

II.2.1. Dosage des composés phénoliques totaux (TCP)

Le dosage des composés phénoliques totaux dans les différents extraits a été effectué par le réactif de Folin-Ciocalteu (Zhang *et al.*, 2006). Ce dernier est un acide jaune, formé d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique qui sont réduits pendant l'oxydation des phénols pour donner un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Lakache *et al.*, 2021).

20 µl d'extrait méthanolique dilué est mélangée avec 100 µl de réactif de Folin-Ciocalteu et 1580 µl d'eau distillé, après 8 minute, 300 µl de Na₂CO₃ est ajoutée au mélange, après agitation, le mélange est incubé à température ambiante et dans le noir pendant deux heures. Les essais ont été effectués en triple. La densité optique est ensuite lue à une longueur d'onde de 765 nm. La concentration des composés phénoliques totaux dans l'extrait a été déterminée en µg d'équivalents d'acide gallique (GAE) par mg d'extrait en utilisant l'équation suivante : (Singleton et Rossi, 1965).

Absorbance = 0.001 x [acide gallique]

II.2.2. Dosage des flavonoïdes

Selon La méthode du trichlorure d'aluminium de Bahorun *et al*, les groupes hydroxyle (OH) des flavonoïdes forment une liaison covalente avec le trichlorure d'aluminium afin de produire un complexe jaune dont l'absorbance maximale est de 430 nm (Lakache *et al.*, 2021). L' AlCl_3 forme un complexe stable avec les groupes hydroxyles en C-3 ou C-5 des groupes hydroxyle des flavones et des flavonoïdes (Figure 19) (Makuasa et Ningsih, 2020).

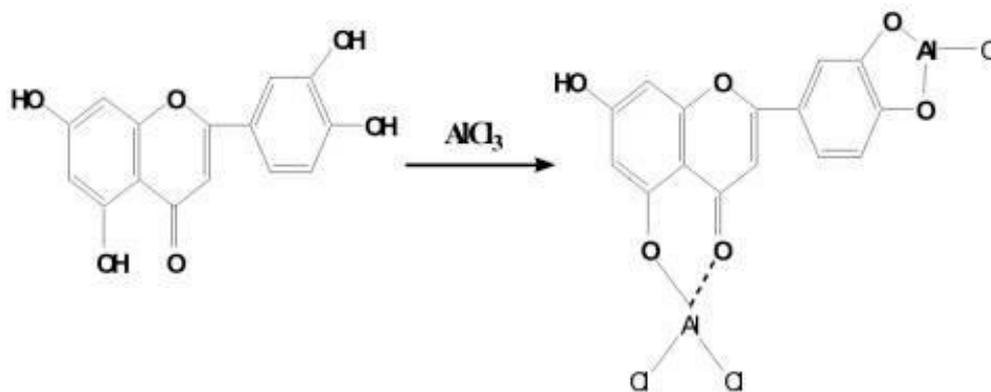


Figure 19 : Formation du complexe flavonoïde-chlorure d'aluminium (AlCl_3)

500 μl d'extrait méthanolique dilué est mélangée avec 500 μl d' AlCl_3 (2%), après agitation, le mélange est incubé à température ambiante et dans l'obscurité pendant une heure. Les essais ont été effectués en triple. La densité optique est ensuite lue à une longueur d'onde de 430 nm (Wang, 2008). La concentration totale des flavonoïdes a été calculée en μg d'équivalents de quercétine (QE) pour 1 mg de l'extrait à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{Absorbance} = 0.034 \times [\text{quercétine } (\mu\text{g})] + 0.015$$

II.3. Activité antioxydante

II.3.1. Activité de piégeage du radical DPPH

La capacité des extraits de plantes à piéger le radical libre DPPH a été déterminé selon la méthode de Braca *et al.* OÙ, Le test DPPH mesure l'activité de donneur d'un atome d'hydrogène (ou électron) et fournit donc une évaluation de l'activité antioxydante due à la réduction des radicaux libres. Le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH), un radical libre stable de couleur violette, est réduit en diphénylpicrylhydrazine non-radicalaire de couleur jaune (Figure 20) (Braca *et al.*, 2002).

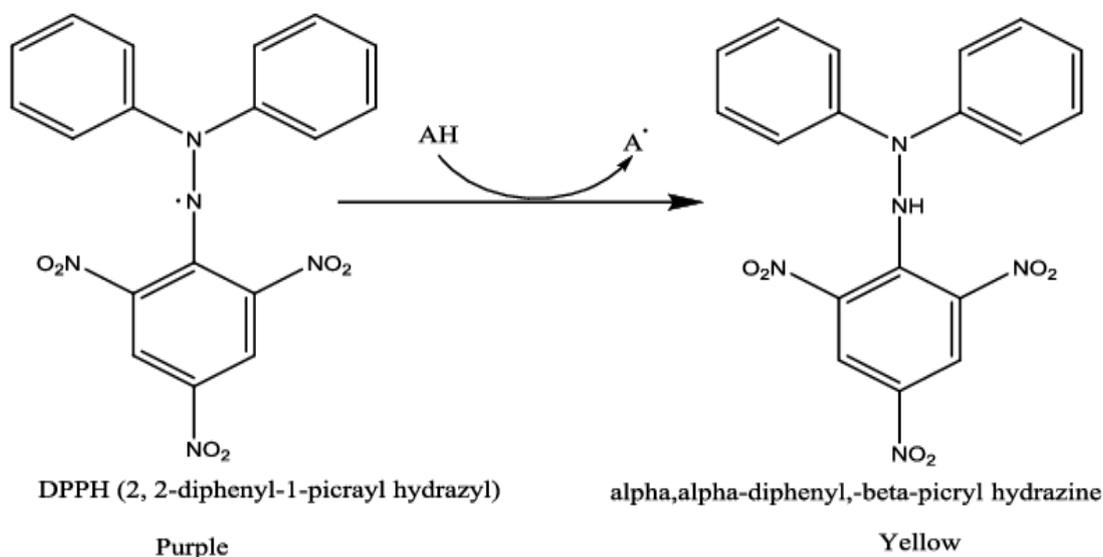


Figure 20 : La réaction du DPPH avec un antioxydant (AH) (Saber *et al.*, 2019).

Un volume de différentes concentrations de l'extrait est ajouté à 3 ml de la solution méthanolique du DPPH (0,004 %) fraîchement préparée. Les essais ont été effectués en triple et les tubes ont été incubés à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 minutes. L'absorbance a été ensuite mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Les absorbances mesurées servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH, qui est proportionnel au pouvoir anti radicalaire de l'extrait (Bentabet *et al.*, 2014). Le pourcentage d'activité de piégeage de DPPH (I%) a été calculé selon l'équation suivante :

$$I\% = [(A1 - A2)/A1] \times 100$$

A1: absorbance du contrôle (solution du DPPH sans extrait).

A2: absorbance en présence d'extrait.

Les concentrations inhibitrices médianes IC_{50} permettent de calculer la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % des radicaux DPPH. Les IC_{50} ont été calculées graphiquement à partir des équations des courbes de tendances linéaires basées sur la variation du pourcentage de l'inhibition du radical DPPH (I%) en fonction des concentrations croissantes des extraits et de la vitamine C (Bentabet *et al.*, 2014).

II.3.2. Activité de piégeage du cation radical ABTS^{•+}

L'activité de piégeage d'ABTS est déterminée par la méthode de Re *et al.* (1999). Cette méthode est basée sur la production directe d'ABTS^{•+} de couleur bleue/verte, obtenu par la réaction entre l'ABTS incolore et le sulfate de potassium. Alors que l'ajout d'antioxydants à l'ABTS^{•+} préformé conduit à sa réduction en ABTS.

✚ Préparation de l'ABTS^{•+}

S1: 19,2 mg (ABTS) ont été mélangés avec 5 ml de H₂O.

S2 : 3,3 mg de K₂S₂O₈ ont été dissous dans 5 ml de H₂O.

Le mélange (S1+S2) a été bien agité et placé dans l'obscurité pendant 16 heures.

✚ Procédure

Pour évaluer l'activité de piégeage du radical ABTS^{•+} de l'extrait utilisé dans cette étude, 40 µl de l'extrait hydrométhanolique à concentrations croissantes (ou de méthanol pour le blanc) ont été ajoutés à 160 µl de la solution ABTS^{•+} et incubée à température ambiante pendant 10 minutes, puis, La mesure de l'absorbance a été effectuée à 734 nm. Le BHT et le BHA **sont** utilisés comme standards dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons. Le pourcentage d'inhibition a été calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Inhibition \%} = [(A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}}) / A_{\text{contrôle}}] * 100$$

Où $A_{\text{contrôle}}$ est l'absorbance du contrôle, et A_{extrait} l'absorbance de l'extrait/standard.

II.3.3. Test de Phénanthroline

L'activité de phénanthroline est déterminée par la méthode de Szydłowska-Czerniaka (2008). Cette méthode est utilisée pour déterminer la capacité antioxydant des extraits des plantes et basée sur la réduction de Fe³⁺ en Fe²⁺ qui se produit en présence d'un agent antioxydant dans l'échantillon. Les ions de Fe²⁺ réagissent avec la phénanthroline pour donner un complexe rouge-orange.

✚ Préparation des solutions

S1 : 0.01g de 1,10-Phénanthroline dissoute dans 2ml de MeOH.

S2 : 0.006g de FeCl_3 dissoute dans 3ml de H_2O .

✚ Procédure

A l'aide d'une micropipette et dans 24 puits d'une microplaque, 10 μl de différentes concentrations de l'extrait méthanolique ont été déposés avec 50 μl de FeCl_3 (0,2%), 30 μl de phénanthroline (0,5%) et 110 μl de MeOH. Le contrôle négatif a été préparé de la même manière, en remplaçant le volume de l'extrait par 10 μl du méthanol. La microplaque contenant les solutions a été incubée dans une étuve à 30°C et à l'obscurité pendant 20 minutes. Ensuite, la densité optique des solutions a été mesurée à la longueur d'onde de 510 nm. Le BHT est utilisé comme standard.

Les résultats ont été calculés à titre de $A_{0.5}$ ($\mu\text{g/ml}$) correspondant à la concentration indiquant 0,50 d'absorbance.

II.3.4. Test de la réduction du fer FRAP

Le pouvoir réducteur du fer est déterminé par la méthode d'Oyaizu (1986) avec une légère modification. Cette méthode repose essentiellement sur le pouvoir réducteur des échantillons antioxydants, ces derniers peuvent réduire la forme oxydée de Fe^{3+} du ferricyanure à la forme réduite (Fe^{2+}). Par conséquent, la couleur jaune de la forme de Fe^{3+} se transforme en différents degrés de couleur verte et bleue de Fe^{2+} .

✚ Préparation des solutions

S1 : 0.03 g de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ dans 3 ml H_2O .

S2 : 0.3 g de TCA dans 3 ml H_2O .

S3 : 0.001 g de FeCl_3 dans 1 ml H_2O .

✚ Procédure

Différentes concentrations de l'extrait méthanolique de *Centaurea* sp (10 μl) ont été ajoutées à 40 μl d'une solution tampon phosphate (pH 6.6) et à 50 μl d'une solution de ferricyanide de potassium (1%) $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$. Après 20 min d'incubation à 50°C, 50 μl d'acide tri-chloroacétique (TCA), 40 μl d' H_2O et 10 μl de chlorure de fer (0,1%) ont été ajoutés. Même préparation pour le

blanc, mais avec le remplacement de l'extrait végétal par du méthanol. La lecture de l'absorbance est réalisée à 700 nm.

L'acide ascorbique et le α -Tocopherol sont utilisés comme standards dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.

Les résultats ont été calculés à titre d'A0.5 ($\mu\text{g/ml}$) correspondant à la concentration indiquant 0,50 d'absorbance.

II.3.5. Le Test de nanoparticule d'argent SNP

L'activité de nanoparticule d'argent (SNP) est déterminée selon la méthode d'Özyürek, (2012). Qui est basée sur la réduction de l' Ag^+ en nanoparticules d'argent sphériques Ag^0 .

✚ Préparation des solutions

S1 : 0.04 de nitrate d'argent a été préparé avec 25 ml H_2O ultra pure.

S2 : 0.03 de citrate trisodique a été mis dans 2.5 ml H_2O .

✚ **La solution SNP** : 25 ml de nitrate d'argent (AgNO_3) ont été chauffés pendant 10 minutes, puis 2,5 ml de citrate trisodique ont été additionnés goutte à goutte jusqu'à ce que la couleur de la solution devienne jaune pâle. Enfin, la solution a été laissée à température ambiante pour refroidir.

✚ Procédure

Un volume de 20 μl de l'extrait a été placé dans une microplaque, suivi de l'ajout de 130 μl de la solution de SNP et de 50 μl de H_2O . Le tout a été incubé à 25 °C pendant 30 minutes. L'absorbance a été lue à une longueur d'onde de 423 nm. L'acide ascorbique et le Trolox sont utilisés comme standards.

II.4. Activité anti-inflammatoire

II.4.1. Œdème de la patte induit par le carraghénane (ou carraghénine)

L'activité anti-inflammatoire de l'extrait végétal sur l'œdème de la patte induit par le carraghénane a été déterminée selon Hanfer *et al.* (2017). Vingt rats ont été divisés en quatre groupes de cinq chacun, les groupes ont reçu respectivement par voie orale (gavage) le véhicule

(eau distillé), l'aspirine (300 mg/kg) et l'extrait méthanolique de la plante *Centaurea sp* (300 et 400 mg/kg).

Soixante minutes plus tard, un œdème de la patte a été induit en injectant 0,1 ml de carraghénine (1%) dans le tissu sous-plantaire de la patte arrière gauche des rats. La progression de l'œdème a été évaluée à l'aide d'un pied à coulisse numérique (millimètre) avant et à 1h, 2h, 3h, 4h, h5 et 24h après l'injection.

L'œdème a été exprimé par l'augmentation de l'épaisseur (mm) due à l'inflammation. Le pourcentage d'inhibition de l'inflammation a été calculé à partir de la formule :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(D0-Dt)/D0] \times 100$$

D0 : est la moyenne de l'inflammation (œdème de la patte arrière) du groupe témoin à un moment donné.

Dt : est la moyenne de l'inflammation des rats traités par le médicament ou l'extrait au même moment.

II.4.2. Œdème de l'oreille induit par le xylène

Les souris ont été divisées en 4 groupes de 5 chacun. Une heure après l'administration orale de l'eau distillé, l'extrait méthanolique de la plante *Centaurea sp* (300 ou 400 mg/Kg) et de l'Aspirine (300 mg/kg), 300µl de xylène ont été appliqués sur les surfaces antérieures et postérieures de l'oreille droite. L'oreille gauche a été considérée comme un contrôle. 15 minutes après l'application du xylène, les souris ont été sacrifiées et les deux oreilles ont été retirées et pesées (Hosseinzadeh *et al.*, 2002).

La différence entre les oreilles droite et gauche a été déterminée pour chaque groupe, et le pourcentage d'inhibition de l'inflammation a été calculé à partir de la formule :

$\% \text{ d'inhibition} = (\text{différence de poids de l'oreille dans le groupe témoin} - \text{différence de poids de l'oreille dans le groupe testé}) / \text{différence de poids de l'oreille dans le groupe témoin} \times 100.$

III. Etude statistique

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écartype. L'évaluation de ces résultats a été effectuée à l'aide d'une analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA) suivie du test post hoc de Tukey à l'aide du logiciel GraphPad Prism Version 5.01 (GraphPad Software Inc. San Diego, CA, USA). La signification statistique a été établie à $p < 0,05$.

Résultats

I. Détermination du rendement

Les résultats obtenus montrent que l'extrait méthanolique de la plante *Centaurea* sp représente un rendement de 47,46 % par rapport à la matière végétale sèche.

II. Dosage colorimétrique des polyphénols totaux et des flavonoïdes

Les résultats obtenus sont exprimés en milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait (mg GAE/g). L'estimation quantitative des polyphénols totaux montre que l'extrait de méthanol de la plante *Centaurea* sp est riche en composés phénoliques ($161,66 \pm 0,037$ mg GAE/g d'extrait).

Les résultats du dosage des flavonoïdes sont exprimés en milligrammes équivalents de quercétine (mg EQ/g d'extrait). Nos résultats montrent que l'extrait de méthanol de la plante *Centaurea* sp ($28,87 \pm 0,31$ mg EQ/g d'extrait) est riche en flavonoïdes.

III. Evaluation du potentiel antioxydant

III.1. Test de l'activité scavenger du radical DPPH'

La méthode de piégeage du radical libre DPPH est largement utilisée pour évaluer le pouvoir antioxydant des extraits végétaux. Dans cette technique, l'effet antioxydant peut être facilement évalué en suivant la diminution de l'absorption de DPPH à 517 nm. Nos résultats représentés sur la Figure 21 montrent que l'extrait de méthanol de la plante *Centaurea* sp est capable de piéger le radical DPPH en fonction de ses concentrations, et son activité atteint plus de 80 % à 200 μ g/ml. La valeur IC_{50} calculée pour les trois échantillons indique que l'activité de notre extrait ($IC_{50} = 96,45 \pm 0,2$ μ g/ml) est plus élevée par rapport à la vitamine C ($IC_{50} = 5 \pm 0,1$ μ g/ml).

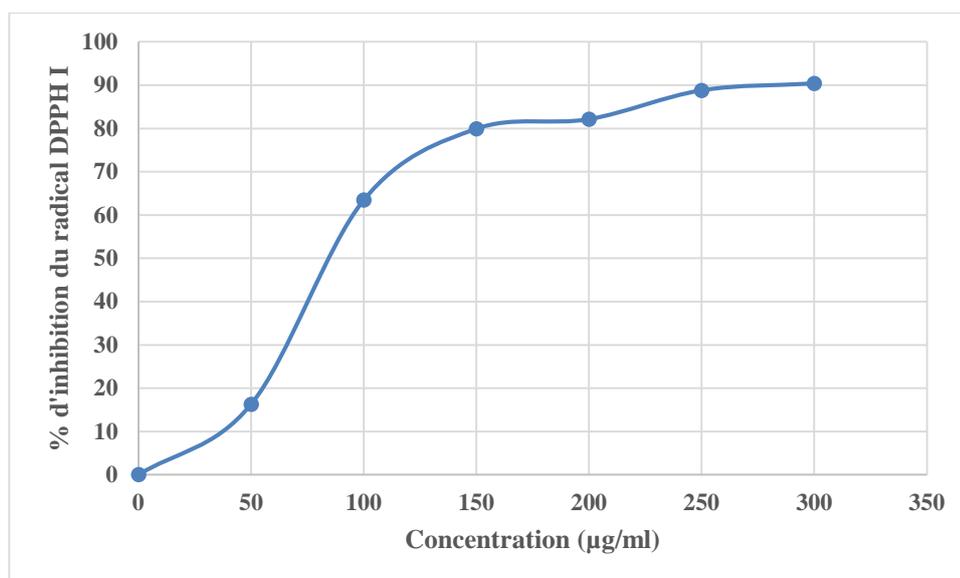


Figure 21 : Activité antiradicalaire d'extrait hydrométhanolique de la plante *Centaurea* sp sur le radical libre DPPH.

III.2. Test de l'activité scavenger du cation radical ABTS^{•+}

Pour déterminer l'effet antioxydant des extraits de plantes, leur activité de piégeage a été estimée par le test ABTS. C'est une méthode colorimétrique et dépend principalement de la diminution de l'absorption, c'est-à-dire du changement de l'intensité de la couleur bleue du radical ABTS^{•+} jusqu'à sa disparition complète sous l'influence des antioxydants présents dans l'échantillon et elle est mesurée à 734 nm. Selon les résultats indiqués sur la courbe (Figure 22) le pourcentage d'inhibition du cation radical ABTS^{•+} est directement proportionnel à l'augmentation de la concentration de l'extrait méthanolique de la plante *Centaurea* sp. Où la valeur IC₅₀ de l'extrait a été estimée à (IC₅₀ = 73,01 ± 2,67 µg/ml), et elle est supérieure à la standard BHT (IC₅₀ = 1,29 ± 0,30 µg/ml), ce qui montre que l'activité de piégeage de l'extrait est inférieure à l'activité de standard.

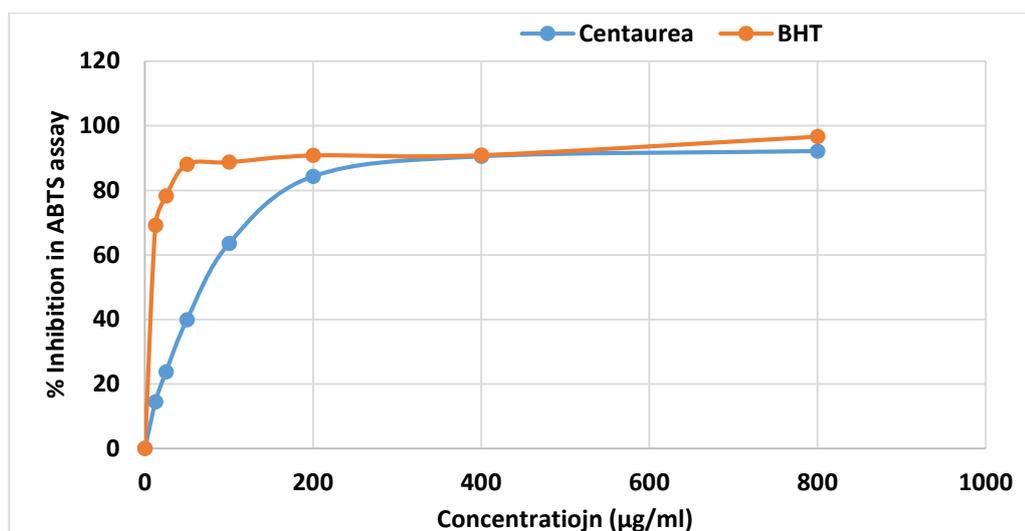


Figure 22 : Pourcentages d'inhibition du cation radical ABTS^{•+} par l'extrait hydro-méthanolique de *Centaurea sp* et l'antioxydant de référence (BHT).

III.3. Activité du pouvoir réducteur test FRAP

Le potentiel réducteur de l'extrait est déterminé par la méthode colorimétrique qui est basée sur la réduction d'un complexe ferrique Fe^{3+} à la forme ferreuse (Fe^{2+}), et l'on obtient une couleur bleue intense avec une absorption maximale à 700nm. Nos résultats (Figure 23) montrent que l'extrait végétal utilisé dans notre étude a un pouvoir réducteur augmenté en fonction des concentrations ($A_{0.5}=68,74\pm 2,71 \mu\text{g/ml}$). Mais moins efficace que l'acide ascorbique qui présente un excellent pouvoir réducteur ($A_{0.5} = 6,77\pm 1,155 \mu\text{g/ml}$).

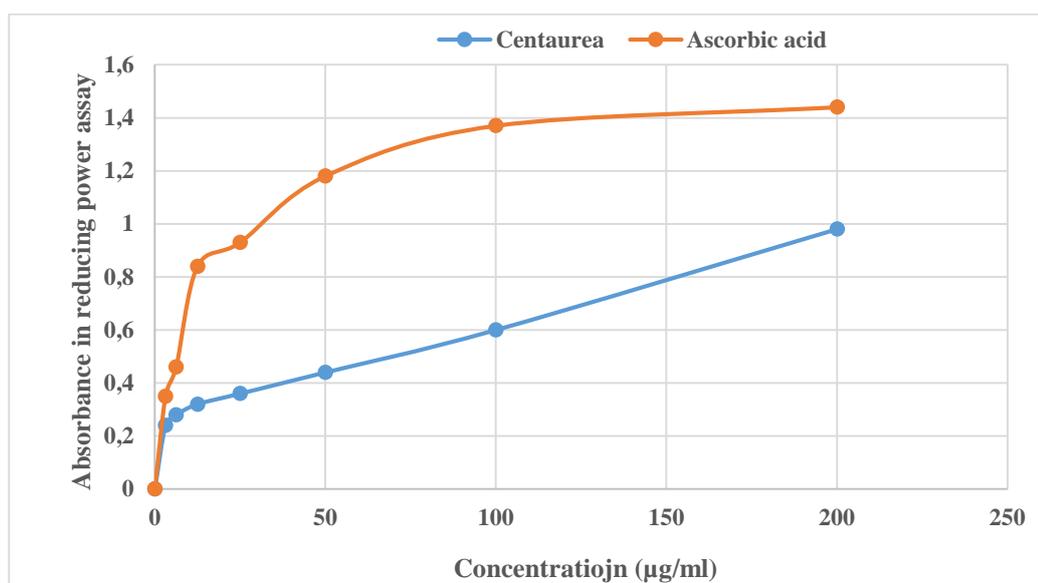


Figure 23 : Pouvoir réducteur [Test FRAP (Ferric Reducing antioxidant Power)] de l'extrait hydro-méthanolique de *Centaurea sp* et l'antioxydant de référence (Acide ascorbique).

III.4. Activité de réduction par la formation du complexe Fe²⁺-phénantroline

Le pouvoir de réduction d'échantillon est mesuré en fonction de l'intensité de l'apparition de la couleur rouge-orange du complexe Fe²⁺-phénantroline, où l'absorption est maximale à 510 nm. Et notre étude a prouvé (Figure 24) que l'extrait méthanolique de *Centaurea* sp a une bonne capacité de réduction ($A_{0.5} = 18,96 \pm 1,69 \mu\text{g/ml}$), mais elle est faible par rapport aux deux standards BHA ($A_{0.5} = 0,93 \pm 0,07 \mu\text{g/ml}$) et BHT ($A_{0.5} = 2,24 \pm 0,17 \mu\text{g/ml}$).

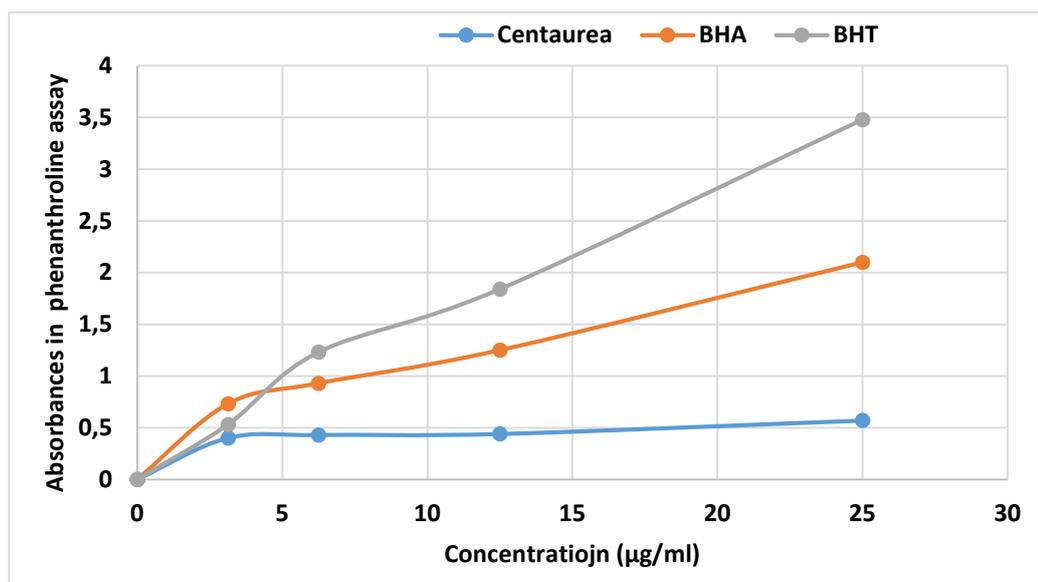


Figure 24 : Pouvoir réducteur (Absorbance du complexe Fe²⁺- phénantroline) de l'extrait hydro-méthanolique de *Centaurea* sp et les antioxydants de référence.

III.5. Activité nanoparticule d'argent SNP

Cette méthode repose sur le développement progressif de la couleur jaune pâle de la solution colloïdale SNP vers le brun foncé, indiquant la réduction d'Ag⁺ et la formation d'Ag⁰ sphérique. L'augmentation de l'absorption est en proportion avec la concentration d'antioxydants présents dans l'échantillon.

Les résultats de pouvoir réducteur de l'extrait sont représentés dans la figure 25 qui montre les courbes de la capacité réductrice d'Ag⁺ en fonction des concentrations en extrait ou standards. L'analyse de ces résultats révèle une proportionnalité entre les absorbances des échantillons et leurs concentrations. Plus l'absorbance est élevée, plus le pouvoir réducteur est important (Figure 25). On remarque que l'extrait méthanolique de *Centaurea* sp a la capacité de réduire l'Ag⁺ en Ag⁰ mais il y a une différence dans la puissance réductrice entre l'extrait ($A_{0,5} = 241,83 \pm 4,98 \mu\text{g/ml}$) et l'acide ascorbique ($A_{0,5} = 7,14 \pm 0,05 \mu\text{g/ml}$), le Trolox ($A_{0,5} = 34,17 \pm 1,23 \mu\text{g/ml}$) tant que standards.

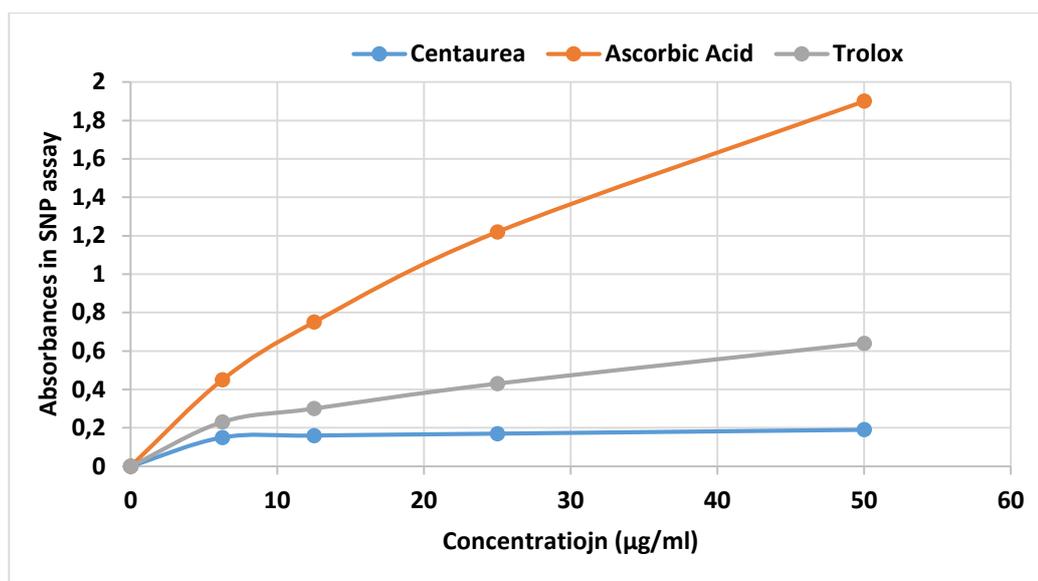


Figure 25 : Pouvoir réducteur [SNP (réduction de l'Ag⁺)] de l'extrait hydro-méthanolique de *Centaurea sp* et les antioxydants de référence.

IV. Criblage de l'activité anti-inflammatoire

IV.1. Inhibition de l'œdème induit par la carragénine

L'étude de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique de la plante *Centurea sp* est réalisée par la mesure de l'œdème induit par la carragénine chez quatre lots de rats (témoin, essais (300mg/kg et 400 mg/kg) et référence) en absence et en présence d'un traitement anti-inflammatoire. Les résultats sont représentés sous forme de courbe et histogramme mettant en valeur l'évolution du volume de l'œdème en fonction du temps (Figure 26 et 27).

L'injection de 100µl de carragénine à 1 %, au niveau de la patte postérieure gauche du rat, provoque une inflammation visible dans l'heure qui suit cette injection (l'œdème est de 2,95mm), L'œdème augmente progressivement et atteint une intensité maximale au bout de cinq heures (l'œdème atteint les 3,85mm) (Figure 26).

L'administration préventive de molécule de référence (aspirine) se traduit par une réduction de l'œdème de façon progressive. L'aspirine (300 mg/kg) agit à partir de la première heure et atteint son maximum d'activité à la cinquième heure avec un pourcentage d'inhibition de 55%. Le prétraitement des rats, par l'extrait méthanolique (300 mg/kg et 400 mg/kg) entraîne un changement de l'évolution du volume de l'œdème (Figures 26). L'analyse de ces résultats montre que la dose 300mg/kg a induit une diminution significative ($p < 0.05$) de l'œdème (Figure 26 et 27). Cet effet est visible à partir de la première heure. L'inhibition est maintenue presque au même

niveau durant 5 heures, avec un pourcentage d'inhibition de l'ordre de 31% (Figures 26 et 27). De même, le prétraitement des rats par la dose 400mg/kg a induit une forte inhibition de l'inflammation pendant les Cinq heure respectivement de 45, 57, 58, 57 et 60% (Figures 26 et 27).

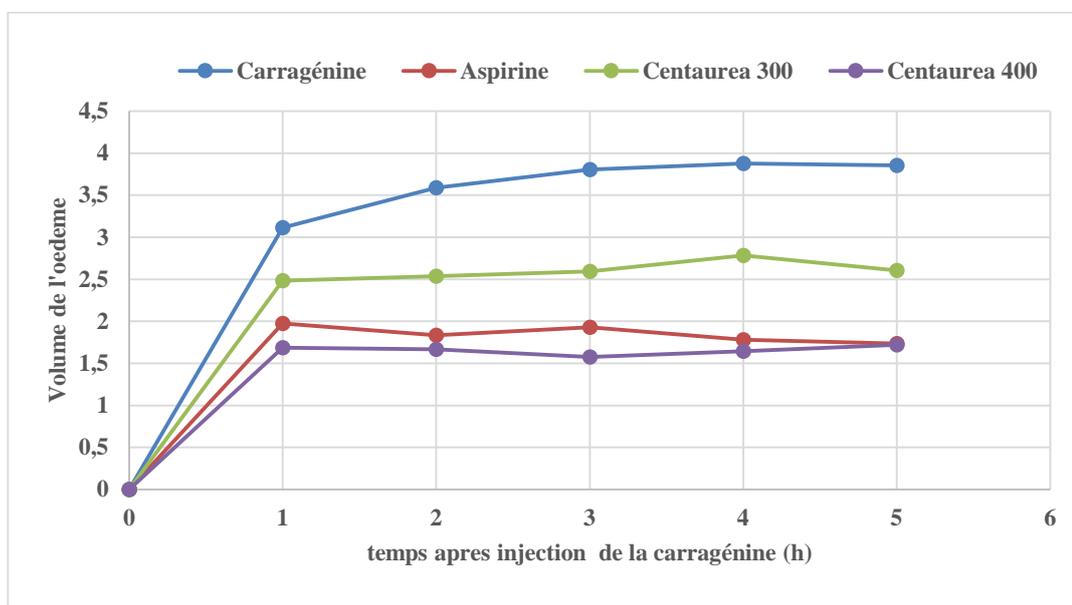


Figure 26 : Courbe de l'évolution de l'œdème en présence d'un prétraitement par voie orale une heure avant l'injection de la carragénine (0,1 ml ; 1%), chez 4 lots de rats : Lot de référence (témoin négatif : eau physiologique), Lot témoin positif : aspirine, Lot de extrait 300mg/kg, et Lot de extrait 400mg/kg. Chaque point représente une moyenne de 5 animaux.

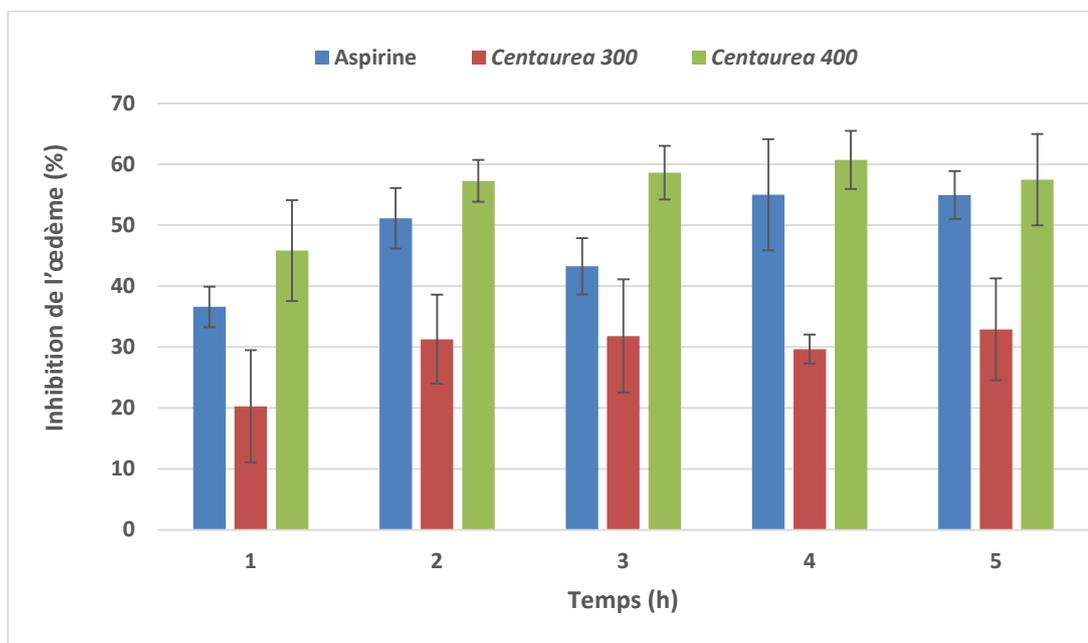


Figure 27 : Inhibition de l'œdème chez les différents lots de rats, en présence d'un prétraitement, par voie oral, par l'extrait méthanolique (300mg/kg et 400mg/kg) et la molécule de références (aspirine 300mg/kg).

IV.2. Inhibition de l'œdème de l'oreille induit par le xylène

L'administration de 300 mg/kg de l'aspirine par voie orale une heure avant l'induction de l'œdème provoque une diminution significative ($p < 0.01$) de l'œdème de l'oreille comparé à celui des souris du groupe témoin. L'œdème de l'oreille a été ainsi réduit d'environ 67,81% par rapport aux souris du groupe témoin (Figure 28). Le traitement des souris par l'extrait hydro-méthanolique de *Centaurea* sp (300 mg/kg et 400 mg/kg) par voie orale induit une atténuation significative ($p < 0.05$) de l'inflammation par rapport aux souris du groupe témoin, cette inhibition est de 46 et 53,12 % respectivement (Figure 29). Pas de différence significative entre le groupe traité par l'extrait hydro-méthanolique 400 mg/kg et le groupe de référence (Aspirine).

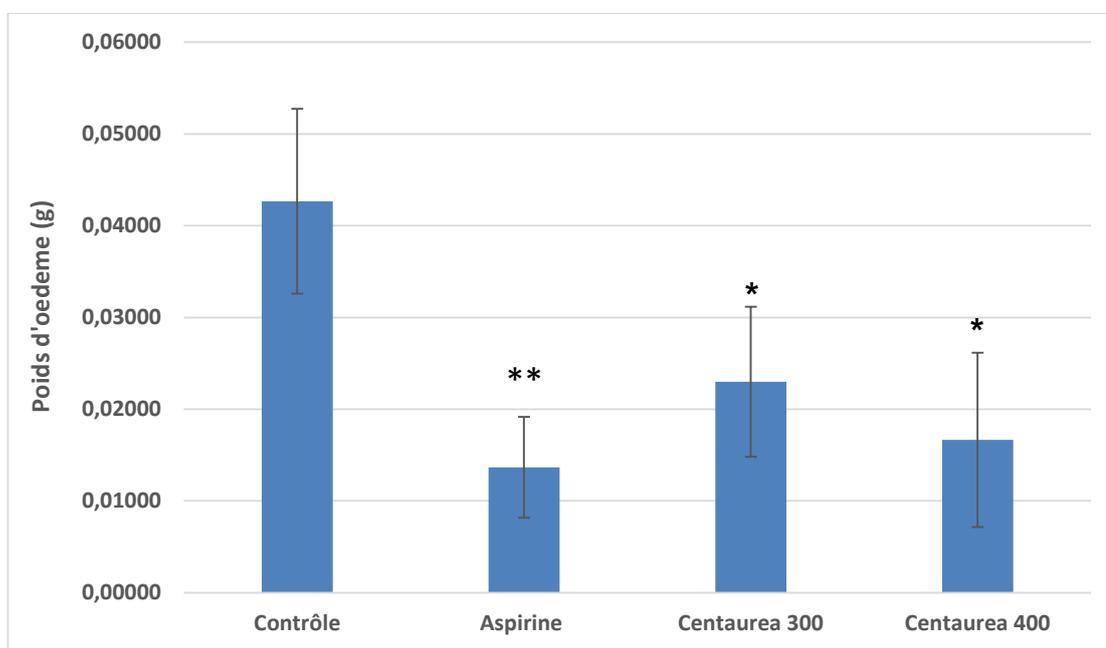


Figure 28: Effet des extraits sur l'œdème de l'oreille induit par le xylène chez la souris.

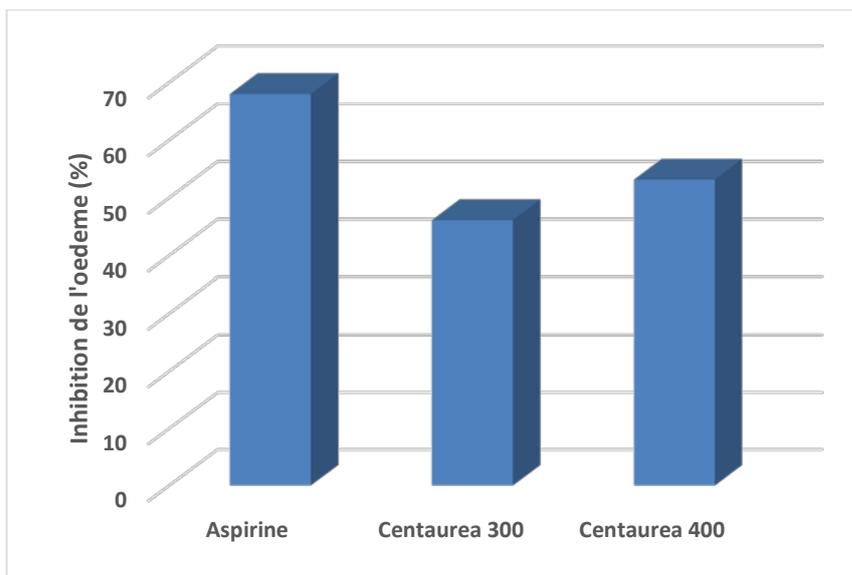


Figure 29: Inhibition de l'œdème de l'oreille chez les différents lots de souris en présence d'un prétraitement, par voie orale, par l'extrait méthanolique (300mg/kg et 400mg/kg) et la molécule de références (aspirine 300mg/kg).

Discussion

L'intérêt pour les plantes médicinales est aujourd'hui le résultat de nombreuses recherches menées par des scientifiques et des chercheurs pour découvrir les propriétés biologiques et chimiques les plus importantes de ces plantes. Ils ont prouvé que beaucoup parmi elles contiennent des substances naturelles efficaces qui ont des effets médicaux et pharmaceutiques et qui ont été utilisées dans la médecine alternative.

Les plantes du genre *Centaurea* a attiré l'attention des chercheurs, car il a été prouvé dans de plusieurs études qu'elle a de nombreuses propriétés thérapeutiques. C'est le sujet de notre étude actuelle dans laquelle ses activités antioxydantes et anti-inflammatoires ont été évaluées *in vitro* et *in vivo*.

Les plantes contiennent des substances phytochimiques telles que les flavonoïdes, les acides phénoliques, qui présentent une activité biologique notable (Asif, 2015), et la présence de ces composés dans les extraits de plantes est responsable de son effet de piégeage des radicaux libres. Les flavonoïdes sont considérés comme l'une des plus grandes classes de métabolites secondaires, produits dans les diverses parties de la plante, et sont caractérisés par des propriétés antioxydantes effectives (Górniak *et al.*, 2019). Cela est dû à la présence de groupes hydroxyle et carboxyle, qui peuvent se lier aux radicaux libres et les désactiver, ainsi qu'à leur capacité à donner un électron ou un atome d'hydrogène aux radicaux libres non appariés (Gurung, 2020). C'est pour cela qu'il est utile de déterminer la quantité des polyphénols et des flavonoïdes totaux dans l'extrait de la plante *Centaurea* sp que nous avons étudié.

Pour identifier les substances actives dans une plante du genre *Centaurea*, les teneurs des composés phénoliques et des flavonoïdes dans l'extrait hydrométhanolique de la plante *Centaurea* sp ont été déterminées en utilisant respectivement le protocole de Folin-Ciocalteu et la méthode colorimétrique du trichlorure d'aluminium (AlCl_3). Ces teneurs ont été exprimées en équivalents d'acide gallique (mg GAEs g^{-1}) et de quercétine (mg QEs g^{-1}) respectivement.

La quantité des polyphénols a été estimée à ($161,66 \pm 0,037 \text{ mg GAE/g}$ d'extrait) et celle des flavonoïdes à ($28,87 \pm 0,31 \text{ mg EQ/g}$ d'extrait). Les taux élevés de composés phénoliques et de flavonoïdes obtenus dans notre étude peuvent indiquer que l'extrait méthanolique de cette plante a une activité antioxydante. Cette activité dépend généralement de la teneur totale en polyphénols et elle est due principalement à leur capacité d'agir en tant que donneurs d'hydrogène, agents réducteurs et piègeurs de radicaux (Benabdallah *et al.*, 2016). La présence d'un nombre élevé de groupes hydroxyles phénoliques dans la molécule augmente les propriétés antioxydantes (Erel *et*

al., 2014). L'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de la plante *Centaurea* sp a été étudiée en utilisant le test de DPPH. Le DPPH (2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle), un radical stable de couleur violette, lorsqu'il réagit avec un antioxydant, se transforme et devient un composé jaune stable (diphényl-picrylhydrazine). Il peut être mesuré à une longueur d'onde de 517 nm (Aktumsek *et al.*, 2011). L'extrait méthanolique de la plante *Centaurea* montre une activité antioxydante et une capacité de piégeage des radicaux libres proportionnelle à l'augmentation de la concentration (Figure 21). Cela peut être expliqué par la richesse de l'extrait de *Centaurea* sp en flavonoïdes et en polyphénols.

L'activité de piégeage du DPPH de l'extrait et de l'antioxydant synthétique (vitamine C) a été évaluée en utilisant les valeurs IC_{50} . Une faible valeur IC_{50} indique une forte activité antioxydante de l'extrait (Ismaili *et al.*, 2017). Nos résultats montrent que l'extrait méthanolique de la plante *Centaurea* ($IC_{50} = 96,45 \pm 0,2 \mu\text{g/ml}$) présente une activité antioxydante modérée par rapport à la vitamine C ($IC_{50} = 5 \pm 0,1 \mu\text{g/ml}$). Une relation linéaire significative a été trouvée entre les deux teneurs phénoliques et flavonoïdes, et la capacité de piégeage du DPPH. La corrélation positive indique qu'un taux élevé des polyphénols et flavonoïdes conduisent à une activité antioxydante plus forte (Baharfar *et al.*, 2015).

Pour confirmer l'effet scavenger de l'extrait méthanolique de la plante *Centaurea* sp, nous avons également utilisé le test de piégeage du radical-cation $ABTS^{\bullet+}$. Le test est basé sur l'interaction entre l'antioxydant et le cation radical $ABTS^{\bullet+}$ qui a une couleur caractéristique montrant une absorption maximale à 734. Il mesure la capacité relative des antioxydants à piéger l' $ABTS^{\bullet+}$, ce dernier est créé en faisant réagir un agent oxydant fort ($K_2S_2O_8$) avec un sel d'ABTS. La réduction de l' $ABTS^{\bullet+}$ bleu-vert par les antioxydants donneurs d'hydrogène est mesurée en diminuant l'absorption, au cours de cette réaction, le cation radical $ABTS^{\bullet+}$ bleu est reconverti en sa forme neutre incolore (Boligon *et al.*, 2014). Les résultats du calcul des pourcentages d'inhibition indiquent que l'extrait méthanolique de la plante *Centaurea* sp possèdent clairement une activité antiradicalaire modéré par rapport au standards (Figure 22), cette activité est proportionnelle à l'augmentation des concentrations. Où la valeur IC_{50} de l'extrait de *Centaurea* sp a été estimée à ($IC_{50} = 73,01 \pm 2,67 \mu\text{g/ml}$). Le pouvoir scavenger de notre extrait est probablement liée à présence et sa richesse en composés antioxydant telle que les polyphénols particulièrement les acides phénoliques, les flavonoïdes. Une forte activité de piégeage des radicaux des composés phénoliques peut être attribuée à leur degré élevé d'hydroxylation des cycles aromatiques, à la disposition du groupe hydroxyle, ainsi qu'au nombre de groupes ortho-hydroxyle, sur la structure du noyau benzénique (Luo *et al.*, 2011). Les résultats de notre étude sont en accord avec les

résultats de plusieurs études (Boğa *et al.*, 2016 ; Zengin *et al.*, 2018 ; Keser *et al.*, 2020 ; Yildirim *et al.*, 2022).

Zengin *et al.* (2018) ont montré que les extraits aqueux, méthanolique et d'acétate d'éthyle de *C. saligna* possèdent une forte activité de piégeage des radicaux ABTS. Ils ont prouvé que l'équivalent Trolox des extraits aqueux, d'acétate d'éthyle et méthanolique = 157,8, 48,87 et 112,98 mg TE/g d'extrait, respectivement.

Keser *et al.* (2020) ont trouvé que les extraits aqueux, éthanolique, méthanolique et acétonique de *C. saligna* inhibe 94,81 %, 50,43 %, 99,94 % et 60,04 % de radical ABTS à une concentration de 500 µg/ml, respectivement. Nos résultats sont comparables aux résultats de cette étude.

Boğa *et al.* (2016) ont évalués l'activité de piégeage des radicaux cationiques ABTS pour les extrait acétonique, méthanolique et aqueux des trois espèces de *Centaurea* (*C. balsamita*, *C. depressa* et *C. lycopifolia*). La valeur IC₅₀ de l'extrait méthanolique de *C. balsamita*, *C. depressa* et *C. lycopifolia* a été trouvée respectivement à 24,21, 70,08 et 89,05 µg/ml. L'extrait méthanolique de *Centaurea* sp a montré une activité antioxydante comparable aux résultats du test ABTS des espèces de *Centaurea* rapportés par Boğa *et al.* (2016).

Certains métaux lourds sont connus pour générer des radicaux libres qui peuvent entraîner un stress oxydatif et causer d'autres dommages cellulaires. Le mécanisme de génération des ROS est spécifique au type de métal lourd. Parmi eux, le fer, qui produit un radical hydroxyle (OH[•]) par la réaction de Fenton, les radicaux hydroxyles produits peuvent oxyder les membranes lipidiques par un processus connu sous le nom de peroxydation lipidique (Engwa *et al.*, 2019).

Pour estimer le pouvoir réducteur de l'extrait méthanolique de la plante *Centaurea* sp, plusieurs tests ont été effectués, le pouvoir réducteur, l'activité phénanthroline et SNP. Ces tests sont basés sur la réduction des ions de fer et d'argent par les antioxydants et les donneurs d'hydrogène présents dans les extraits végétaux. Les trois tests mentionnés précédemment ont montré de bons résultats en calculant des valeurs de A_{0,5} ; FRAP (A_{0,5} µg/mL = 68.74±2.71), Phénanthroline (A_{0,5} µg/mL = 18.96±1.69), SNP (A_{0,5} µg/mL = 241.83±4.98), ce qui prouve la capacité réductrice de l'extrait hydro-méthanolique de *Centaurea* sp. Cette activité est dose dépendante (Figure 23, 24, 25). Le pouvoir réducteur de l'espèce *Centaurea* sp est probablement dû à la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir

comme donneur d'électron. Par conséquent, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inhibiteurs des oxydants (Hajimahmoodi *et al.*, 2008). Quelques études antérieures ont également montré que le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle (Torres *et al.*, 2019).

Les composés phénoliques possèdent une activité antioxydante grâce à leurs propriétés redox, par lesquelles ils peuvent agir comme agents réducteurs, et donneurs d'hydrogène, etc. Où les propriétés réductrices sont généralement liées à la présence de réductones, et leur action antioxydante repose sur la rupture de la chaîne radicalaire en donnant un atome d'hydrogène (Mruthunjaya et Hukkeri, 2007).

L'inflammation est une réponse du système immunitaire de l'organisme destinée à le protéger contre les infections et les blessures causées par des agents extérieurs. Elle se caractérise par un gonflement, une fièvre, une rougeur, une douleur et une perte de fonction des tissus. Elle implique la libération de médiateurs pro-inflammatoires très actifs tels que les prostaglandines, les leucotriènes, l'histamine, les cytokines et les radicaux libres (Chen *et al.*, 2018 ; Adebayo et Amoo, 2019).

Les AINS comptent parmi les médicaments les plus utilisés dans le traitement des maladies inflammatoires. Leurs principaux effets pharmacologiques proviennent de l'inhibition de l'activité enzymatique de la COX. Les AINS, couramment utilisés comme agents anti-inflammatoires témoins positifs, ont montré des effets anti-inflammatoires puissants sur le modèle d'œdème de l'oreille induit par le xylène et sur celle de la patte induit par la carragénine (Ma *et al.*, 2013).

Le test de l'œdème de la patte induit par la carragénine est un test très utilisé pour déterminer le potentiel anti-inflammatoire des produits naturels. Le développement de l'œdème dans la patte postérieure du rat qui suit l'injection de carragénine a été décrit comme un événement biphasique (Kim *et al.*, 2020). La phase précoce observée vers 1 heure et associée à la sécrétion de l'histamine, la sérotonine et la bradykinine qui favorisent la vasodilatation, la transsudation plasmatique et l'œdème. Tandis que la phase tardive (après 1 heure) est attribuée à l'infiltration des neutrophiles et à une production supplémentaire de prostaglandine produites par la cyclooxygénase (COX) comme médiateurs qui augmentent la perméabilité vasculaire; en plus la libération de radicaux libres dérivés des neutrophiles, l'oxyde nitrique (NO) et les cytokines pro-inflammatoires telles que le facteur de nécrose tumorale- α (TNF- α) et l'interleukine-1 β (IL-1 β) (Mansouri *et al.*, 2015 ; Dzoyem *et al.*, 2017).

Les résultats obtenus dans cette étude indiquent un effet anti-inflammatoire de la plante *Centaurea* sp (Figure 26), puisque le traitement des rats avec la dose (300mg/kg) de l'extrait méthanolique de *Centaurea* a conduit à une réduction significative du volume de l'œdème à partir de la première heure avec un taux d'inhibition égal à 31% par rapport à celui obtenu dans le groupe témoin et inférieur à celui de l'aspirine 36.60%. Pareil pour la dose (400 mg/kg), elle induit une forte réduction de l'inflammation pendant les cinq heures tout comme la précédente dose et avec un pourcentage d'inhibition égal à 45, 57, 58, 57 et 60% respectivement et donc elle est supérieur à celui de l'aspirine, ce qui peut être expliqué par l'inhibition de la sécrétion de médiateurs précoces tels que l'histamine, la sérotonine et les kinines et par l'inhibition de la cyclo-oxygénase dans la phase tardive (El Cadi, 2012). Les flavonoïdes possèdent des activités anti-inflammatoires et leur capacité à inhiber l'expression de la cyclo-oxygénase-2 pourrait contribuer aux propriétés anti-inflammatoires des espèces de *Centaurea* (Melikoglu *et al.*, 2018).

Nos résultats sont en accord avec ceux publiés par Erel et ses collaborateurs (2014) qui ont rapporté que l'administration orale à dose 50 mg/kg de l'extrait chloroformique de la plante *Centaurea athena* a démontré des effets dans les deux phases de l'inflammation aiguë de manière dose-dépendante, ses effets peuvent être médiés par l'inhibition des médiateurs proinflammatoires tels que iNOS et COX-2 en bloquant l'activation du NF- κ B.

Dans une autre étude, Bensaad *et al.*, (2021) ont montrés que l'extrait n-BuOH de la plante *Centaurea tougourensis* (400mg/kg) a exercé une diminution de l'œdème de la patte au cours de la phase tardive de l'inflammation (à partir du 2^{ème} heure) en inhibant l'expression de l'oxyde nitrique (iNOS) et des cyclooxygénases (COX-1 et COX-2). Cela pourrait également impliquer le blocage du recrutement de la cytokine clé (IL-1 β) qui est normalement impliquée dans la deuxième phase, bloquant ainsi l'apparition de cette phase.

L'œdème de l'oreille induit par le xylène est un modèle animal simple utilisé pour évaluer les agents anti-inflammatoires potentiels (Uka *et al.*, 2021). L'application de xylène induit un œdème neurogénique, qui est partiellement associé à la substance P (Eddouks *et al.*, 2012). La substance P est un neuropeptide, largement distribué dans le système nerveux central et périphérique, qui fonctionne comme un neurotransmetteur. Elle est libérée par les neurones du mésencéphale, où elle facilite la neurotransmission dopaminergique, et par les neurones sensoriels de la moelle épinière en réponse à des stimuli nocifs, où elle excite les neurones dorsaux (Jain, 2021). Il joue un rôle très important dans l'inflammation neurogénique, car sa libération provoque une vasodilatation et une extravasation plasmatique (Oluwatoyin *et al.*, 2019) en interagissant avec les cellules endothéliales, les mastocytes, les cellules immunitaires et les artérioles. Il est

également reconnu que les neurones sensoriels comprennent des cyclo oxygénases pouvant synthétiser des prostaglandines pro-inflammatoires (Richardson et Vasko, 2002).

Nos résultats obtenus montrent que le traitement des souris par l'aspirine par gavage réduit significativement (67,93 %) le développement de l'œdème de l'oreille ($p < 0.01$) comparé à celui des souris du groupe témoin. Le mécanisme d'action de l'aspirine sur l'inflammation est basé sur l'inhibition de la synthèse des prostaglandines pro-inflammatoires.

Tout comme l'aspirine, l'extrait méthanolique de la partie aérienne de la plante *Centaurea* sp présentent une efficacité remarquable dans la réduction (dose dépendante) de l'œdème inflammatoire induit par le xylène. Avec une inhibition de (53.12%) pour la plus forte dose utilisée (400mg/kg) et une autre moindre (46.09%) pour la dose (300mg/kg). Cela peut être dû aux substances biologiquement actives dans l'extrait qui réduisent la libération de la substance P ou d'autres médiateurs inflammatoires tels que l'histamine, la quinine ou la fibrinolyse ou en antagoniser les actions (Bagad *et al.*, 2013).

Eidi *et al.* (2016) ont publié que l'administration de l'extrait éthanolique d'*Artemisia dracunculus* L. (50 et 100 mg/kg) qui appartient à la famille des Astéracées, tout comme la plante *Centaurea* sp que nous avons étudiée a réduit significativement l'œdème de l'oreille induit par le xylène avec un pourcentage d'inhibition 32.67% et 63.36% respectivement. Ces résultats ont prouvé que cette plante a une activité anti-inflammatoire supérieure à celle de *Centaurea* sp et à très faible dose.

Voici une seconde étude effectuée par Rahman *et al.* (2018) qui ont signalé que l'extrait éthanolique de *Gynura Nepalensis* (Asteracées) utilisé aux doses de 250 et 500 mg/kg a inhibé de manière significative l'inflammation induite par le xylène dont le pourcentage d'inhibition est de 19,16 % et de 36,32 % pour chaque dose. On peut dire, grâce à ces résultats, que cette plante a une activité anti-inflammatoire moindre que celle de la plante *Centaurea* sp.



Conclusion

Conclusion

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi importante que la chimiothérapie. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs et d'autre part du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires. Les extraits naturels issus des plantes contiennent une variété de composés phénoliques qui possède des propriétés antioxydantes et anti inflammatoires.

Dans ce contexte de recherche de nouvelles molécules naturelles, nous nous sommes intéressés à effectuer une étude phyto-chimique sur la plante médicinale *Centaurea* sp (*Astéracées*), ainsi une évaluation des activités antioxydantes et anti-inflammatoires de l'extrait méthanolique de cette plante.

L'étude phytochimique de l'extrait méthanolique de *Centaurea* sp a montré que l'extrait est riche en composés phénoliques et en flavonoïdes.

L'étude de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique dans les différents tests utilisés (DPPH, ABTS, FRAP, Phénanthroline et SNP) a montré que l'extrait de *Centaurea* sp possède une capacité d'inhibition des radicaux libres, et cela est dû à la qualité des phénols et des flavonoïdes présents dans l'extrait. Aussi, il a montré une activité antioxydante/capacité réductrice modéré par rapport au standards utilisés (Acide ascorbique, tocophérol, Trolox, BHA et BHT).

Les résultats de l'étude *in vivo* ont clairement indiqué que le prétraitement des rats et des souris avec l'extrait méthanolique de *Centaurea* a montré une forte activité anti-inflammatoire, car il a réduit le volume de l'œdème de la patte induit par la carragénine et de l'œdème de l'oreille induit par le xylène.

Des études complémentaires sont recommandées pour isoler le principe actif responsable de ces activités.



Résumé

Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antioxydante et anti-inflammatoire d'une plante médicinale algérienne du genre *Centaurea*.

Le screening phytochimique a montré la richesse de l'extrait méthanolique de *Centaurea* sp en polyphénols ($161,66 \pm 0,037$ mg GAE/g d'extrait) et en flavonoïdes ($28,87 \pm 0,31$ mg EQ/g d'extrait).

L'évaluation du potentiel antioxydant a été effectuée par cinq méthodes : DPPH, ABTS, FRAP, SNP, l'activité de la phénanthroline. L'extrait méthanolique de *Centaurea* sp a démontré une activité antioxydante et une capacité réductrice considérable. Cette activité est probablement due à la présence de composés phénoliques et de flavonoïdes dans l'extrait, qui peuvent agir comme des donneurs d'électrons en raison de sa richesse en groupements hydroxyles.

In vivo, l'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique de *Centaurea* sp a été déterminée par l'œdème de la patte induit par la carragénine chez les rats et l'œdème de l'oreille induit par le xylène chez les souris. L'extrait a différentes doses (300 mg/kg, 400 mg/kg) a montré une activité anti-inflammatoire significative dans les deux modèles ; ainsi que son effet d'inhibition de l'œdème était comparable au contrôle positif (Aspirine 300 mg/kg).

En conclusion, que l'extrait méthanolique de la plante *Centaurea* sp est riche en substances bioactives (polyphénols, flavonoïdes) et possède une bonne activité anti-inflammatoire et antioxydante.

Mots clés : Inflammation, Stress oxydatif, *Centaurea* sp, Polyphénols, Anti-inflammatoires, Antioxydants.

Abstract

A phytochemical and biological study of an Algerian medicinal plant of the genus *Centaurea* was carried out, with the objective is to evaluate the antioxidant and anti-inflammatory activity of this plant.

The phytochemical screening showed the richness of the methanolic extract of *Centaurea* sp in polyphenols (161.66 ± 0.037 mg GAE/g extract) and flavonoids (28.87 ± 0.31 mg QE/g extract).

The evaluation of antioxidant potential was performed by five methods: DPPH, ABTS, FRAP, SNP and phenanthroline activity. The methanolic extract of *Centaurea* sp showed considerable antioxidant activity and reducing capacity. This activity is most likely due to the presence of phenolic compounds and flavonoids in the extract, which can act as electron donors as a result of its high content of hydroxyl groups.

In vivo, the anti-inflammatory activity of methanolic extract of *Centaurea* sp was determined by carrageenan-induced paw edema in rats and xylene-induced ear edema in mice. At the doses 300 mg/kg, 400 mg/kg the extract showed significant anti-inflammatory activity in both models; whereas its edema inhibition effect was comparable with the positive control (Aspirin 300 mg/kg).

In conclusion, the methanolic extract of *Centaurea* sp is valuable source of bioactive substances (polyphenols, flavonoids) with powerful anti-inflammatory and antioxidant properties.

Keywords : Inflammation, Oxidative stress, *Centaurea* sp, Polyphenols, Anti-inflammatory, Antioxidants.

الملخص

تهدف هذه الدراسة الى الكشف عن المركبات الفعالة للجزء الهوائي لنبات طبي جزائري من جنس *Centaurea* وتقييم النشاط المضاد للأوكسدة والمضاد للالتهاب لهذا النبات.

أظهر اختبار الكشف الكيميائي ثراء المستخلص الميثانولي لنبات *Centaurea sp* بالمركبات الفينولية (161.66±0.037mg GAE/g extract) والفلافونويدات (28.87±0.31 mg EQ/g extract).

تم تقدير الفعالية المضادة للأوكسدة بخمس طرق: DPPH، ABTS، FRAP، SNP، phenanthroline. أظهر المستخلص الميثانولي لنبات *Centaurea sp* نشاطاً مضاداً للأوكسدة وقدرة إرجاعية كبيرين. يرجع هذا النشاط إلى وجود المركبات الفينولية والفلافونويدات في المستخلص، والتي يمكن أن تعمل كمانحة للإلكترون لأنها غنية بمجاميع الهيدروكسيل.

تم تقييم النشاط المضاد للالتهاب للمستخلص الميثانولي لنبات *Centaurea sp* داخل العضوية باستعمال نموذجين، وذمة القدم المحرصة ب الكاراجينين (carrageenan) ووذمة الأذن المحرصة بالزيلين (xylene). أظهر المستخلص بجرعة 300 مغ/كغ و400 مغ/كغ انخفاضاً كبيراً في حجم الوذمة، حيث أبدت الجرعات المستعملة من المستخلص تأثير مشابه للنشاط المضاد للالتهاب الممارس من طرف الأسبرين (300 مغ/كغ) المستعمل كمعيار.

يمكننا أن نستنتج من خلال دراستنا أن المستخلص الميثانولي لنبات *Centaurea sp* غني بالمواد النشطة بيولوجياً (المركبات الفينولية والفلافونويدات) المتميزة بنشاطها القوي المضاد للالتهاب والمضاد للأوكسدة.

الكلمات المفتاحية: الالتهاب، الإجهاد التأكسدي، *Centaurea sp*، المركبات الفينولية، مضادات الالتهاب، مضادات الأوكسدة



Références

Références

- Abdulkhaleq LA, Assi MA, Abdullah R, Zamri-Saad M, Taufiq-Yap YH, Hezmee MNM.** The crucial roles of inflammatory mediators in inflammation: A review. *Veterinary world*. 2018; 11(5): 627.
- Achika JI, Arthur DE, Gerald I, Adedayo A.** A review on the phytoconstituents and related medicinal properties of plants in the Asteraceae family. *IOSR Journal of Applied Chemistry*. 2014; 7(8): 1-8.
- Adebayo SA, Amoo SO.** South African botanical resources: a gold mine of natural pro-inflammatory enzyme inhibitors?. *South African Journal of Botany*. 2019; 123: 214-227.
- Aktumsek A, Zengin G, Guler GO, Cakmak YS, Duran A.** Screening for in vitro antioxidant properties and fatty acid profiles of five *Centaurea* L. species from Turkey flora. *Food and chemical toxicology*. 2011; 49(11): 2914-2920.
- Albayrak S, Aksoy A, Sagdic O, Hamzaoglu E.** Compositions, antioxidant and antimicrobial activities of *Helichrysum* (Asteraceae) species collected from Turkey. *Food Chemistry*. 2010; 119:114–122.
- Al-Easa HS, Rizk AM.** Constituents of *Centaurea* species. *Qatar University Science Journal*. 1992; 12: 27-57.
- Al-Saghir J, Al-Ashi R, Salloum R, Saliba NA, Talhouk RS, Homaidan FR.** Anti-inflammatory properties of salograviolide A purified from Lebanese plant *Centaurea ainetensis*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2009; 9: 36-46.
- Ambriz-Pérez DL, Leyva-lópez N, Gutierrez-grijalva EP, Heredia JB.** Phenolic compounds: Natural alternative in inflammation treatment. A Review. *Cogent Food & Agriculture*. 2016; 2(1).
- Amić D, Davidović-Amić D, Bešlo D, Trinajstić N.** Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Croatica chemica acta*. 2003; 76(1): 55-61.
- Arif R, Küpeli E, Ergun F.** The biological activity of *Centaurea* L. species (Review). *G.U. Journal of Science*. 2004; 17(4):149-164.
- Arulselvan P, Fard MT, Tan WS, Gothai S, Fakurazi S, Norhaizan ME, et al.** Role of Antioxidants and Natural Products in Inflammation. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2016; 2016.
- Asif M.** Chemistry and antioxidant activity of plants containing some phenolic compounds. *Chemistry international*. 2015; 1(1): 35-52.
- Atmani D, Chaher N, Atmani D, Berboucha M, Debbache N, Boudaoud H.** Flavonoids in human health: from structure to biological activity. *Current Nutrition & Food Science*. 2009; 5(4): 225-237.

- Ayad R, Akkal S.** Phytochemistry and biological activities of algerian *Centaurea* and related genera. *Studies in Natural Products Chemistry*. 2019; 63: 357-414.
- Aymeric JL, Lefranc G.** Immunologie humaine. *De Boeck Supérieur*. 2009.
- Azzouzi D, Mekkiou R, Chalard P, Chalchat JC, Boumaza O, Seghiri R, et al.** Essential oil composition of *Centaurea choulettiana* Pomel (Asteraceae) from Algeria. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. 2016; 8(9): 1545-8.
- Bagad AS, Joseph JA, Bhaskaran N, Agarwal A.** Comparative evaluation of anti-inflammatory activity of curcuminoids, turmerones, and aqueous extract of *Curcuma longa*. *Advances in pharmacological sciences*. 2013; 2013.
- Baharfar R, Azimi R, Mohseni M.** Antioxidant and antibacterial activity of flavonoid-, polyphenol-and anthocyanin-rich extracts from *Thymus kotschyanus* boiss & hohen aerial parts. *Journal of food science and technology*. 2015; 52(10): 6777-6783.
- Balasundram N, Sundram K, Samman S.** Phenolic Compounds in Plants and Agri-industrial by- Products: Antioxidant Activity, Occurrence, and Potential Uses. *Food Chemistry*. 2006; 99: 191- 203.
- Belkassam A, Zellagui A, Gherraf N, Flamini G, Cioni PL, Rebbas K, et al.** Assessment of Antioxidant effect of the essential oil and methanol extract of *Centaurea dimorpha* Viv. aerial parts from Algeria. *Acta Scientifica Naturalis*. 2019; 6(1): 54-62.
- Benabdallah A, Rahmoune C, Boumendjel M, Aissi O, Messaoud C.** Total phenolic content and antioxidant activity of six wild *Mentha* species (Lamiaceae) from northeast of Algeria. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*. 2016; 6(9): 760-766.
- Benarba B, Belhouala K.** Medicinal plants used by traditional healers in Algeria. A multi-regional ethnobotanical study. *Frontiers in pharmacology*. 2021; 3172.
- Bensaad MS, Dassamiour S, Hambaba L, Kahoul MA, Benhoula M.** Evidence of anti-inflammatory and anti-ulcer properties of aerial parts of *Centaurea tougourensis* Boiss and Reut. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2021; 20(8).
- Bensaad MS, Dassamiour S, Hambaba L, Kahoul MA, Sami R, Al Masoudi LM, et al.** Chemical Profile by Gas Chromatography/Mass Spectrometry of Ethyl Acetate and n-butanol Extracts of *Centaurea tougourensis* Boiss. & Reut. *Journal of Biobased Materials and Bioenergy*. 2022; 16: 156–165.
- Bentabet N, Boucherit-Otmani Z, Boucherit K.** Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie. *Phytothérapie*. 2014; 12(6): 364-371.

- Betina-Bencharif S.** Isolement et caractérisation de saponosides extraits de deux plantes médicinales : *Cyclamen africanum*, *Zygophyllum cornutum* et évaluation de leur activité anti-inflammatoire. *Thèse de doctorat*. Université de Bourgogne ; Université Mentouri-Constantine. 2014.
- Bicha S, Amrani A, Benaissa O, León F, Zama D, Brouard I, et al.** A flavonoid with high antioxidant effect from *Centaurea acaulis* L. *Der Pharmacia Lettre*. 2013; 5(6): 24-30.
- Biswas SK.** Does the interdependence between oxidative stress and inflammation explain the antioxidant paradox?. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2016; 2016.
- Bjørklund G, Chirumbolo S.** Role of oxidative stress and antioxidants in daily nutrition and human health. *Nutrition*. 2017; 33:311-321.
- Boğa M, Alkan H, Ertaş A, Oral EV, Yilmaz MA, Yeşil Y, et al.** Phytochemical profile and some biological activities of three *Centaurea* species from Turkey. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2016; 15(9): 1865-1875.
- Boilard E, Blanco P, Nigrovic PA.** Platelets : active players in the pathogenesis of arthritis and SLE. *Nature Reviews Rheumatology*. 2012; 8(9): 534-542.
- Boilard E, Nigrovic PA, Larabee K, Watts GFM, Coblyn JS, Weinblatt ME, et al.** Platelets amplify inflammation in arthritis via collagen-dependent microparticle production. *Science*. 2010; 327(5965): 580-583.
- Boligon AA, Machado MM, Athayde ML.** Technical evaluation of antioxidant activity. *Medicinal Chemistry*. 2014; 4(7): 517-522.
- Bona M.** Systematic implications of achene characteristics in genera *Centaurea* L., *Cyanus* Mill., *Psephellus* Cass and *Rhaponticoides* Vaill.(Asteraceae). *Bangladesh Journal of Plant Taxonomy*. 2015; 22(2): 125-136.
- Borel J, Monboisse JC, Bellon G.** Inflammation, collagène et radicaux libres oxygénés. *médecine/sciences*. 1988; 5: 304-310.
- Bourgaud F, Gravot A, Milesi S, Gontier E.** Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant science*. 2001; 161(5): 839-851.
- Braca A, Sortino C, Politi M, Morelli I, Mendez J.** Antioxidant activity of flavonoids from *Licania licaniae* flora. *Journal of ethnopharmacology*. 2002; 79(3): 379-381.
- Burgos-Morón E, Abad-Jiménez Z, Martínez De Marañón A, Iannantuoni F, Escribano-López I, López-Domènech S, et al.** Relationship between oxidative stress, ER stress, and inflammation in type 2 diabetes: the battle continues. *Journal of clinical medicine*. 2019; 8(9): 1385.

- Calixto JB, Otuki MF, Santos ARS.** Anti-Inflammatory Compounds of Plant Origin. Part I. Action on Arachidonic Acid Pathway, Nitric Oxide and Nuclear Factor κ B (NF- κ B). *Planta Medica*. 2003; 69(11): 973–983.
- Chatterjee S.** Oxidative stress, inflammation, and disease. *Oxidative stress and biomaterials*. Academic Press. 2016; 35-58.
- Chen L, Deng H, Cui H, Fang J, Zuo Z, Deng J, et al.** Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*. 2018; 9(6): 7204.
- Cherrak SA, Mokhtari-Soulimane N, Berroukeche F, Bensenane B, Cherbonnel A, Merzouk H, et al.** In vitro antioxidant versus metal ion chelating properties of flavonoids: A structure-activity investigation. *PloS one*. 2016; 11(10): e0165575.
- Cherrak SA, Merzouk H, Mokhtari-Soulimane N.** Potential bioactive glycosylated flavonoids as SARS-CoV-2 main protease inhibitors: A molecular docking and simulation studies. *PLoS One*. 2020; 15(10): e0240653.
- Chira K, Suh JH, Saucier C, Teissèdre PL.** Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*. 2008; 6(2): 75-82.
- Chung HJ, Lee HS, Shin JS, Lee SH, Park BM, Youn YS, et al.** Modulation of acute and chronic inflammatory processes by a traditional medicine preparation GCSB-5 both in vitro and in vivo animal models. *Journal of Ethnopharmacologie*. 2010; 130(3): 450–459.
- Cole TJ, Short KL, Hooper SB.** The science of steroids. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*. WB Saunders. 2019; 170-175.
- Cornard JP, Merlin JC.** Spectroscopic and structural study of complexes of quercetin with Al (III). *Journal of Inorganic Biochemistry*. 2002; 92: 1-19.
- Crozier A.** Classification and biosynthesis of secondary plant products: an overview. *Plants: diet and health. The report of a British Nutrition Foundation Task Force*. 2003; 27-48.
- Davis B, Rothenberg M.** Inflammatory and Effector Cells/Cell Migration. *Pediatric Allergy: Principles and Practice*. Elsevier. 2016; 41-53.
- Debnath S, Ghosh S, Hazra B.** Inhibitory effect of *Nymphaea pubescens* Willd flower extract on carrageenan-induced inflammation and CCl₄-induced hepatotoxicity in rats. *Food and Chemical Toxicology*. 2013; 59: 485–491.
- Demoly P.** Bases physiopathologiques de l'inflammation en ORL. *La Presse Médicale*. 2001; 30 (39-40): 8-18.
- Devi NSA, Reddy BKK.** Chapter-6 Healing of Cracks in Concrete by Microbes. *Advances*. 2020; 81.

- Devillier P.** Pharmacologie des anti-inflammatoires non-stéroïdiens et pathologies ORL. *La Presse Médicale*. 2001; 30(39-40): 70-79.
- Dewanjee S, Dua TK, Sahu R.** Potential anti-inflammatory effect of *Leea macrophylla* Roxb. leaves: A wild edible plant. *Food and Chemical Toxicology*. 2013; 59: 514–520.
- Diebold J, Molina T, Bigorgne C, Audouin J, Le Tourneau A .** Les expressions morphologiques de la réaction inflammatoire. *Revue française des laboratoires*. 1995; 1995(276): 21-26.
- Doughari JH.** Phytochemicals: extraction methods, basic structures and mode of action as potential chemotherapeutic agents. *IntechOpen*. 2012.
- Dzoyem JP, McGaw LJ, Kuete V, Bakowsky U.** Anti-inflammatory and Anti-nociceptive Activities of African Medicinal Spices and Vegetables. *Medicinal Spices and Vegetables from Africa*. 2017; 239–270.
- Eddouks M, Chattopadhyay D, Zeggwagh NA.** Animal models as tools to investigate antidiabetic and anti-inflammatory plants. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2012; 2012.
- Eidi A, Oryan S, Zaringhalam J, Rad M.** Antinociceptive and anti-inflammatory effects of the aerial parts of *Artemisia dracunculus* in mice. *Pharmaceutical biology*. 2016; 54(3): 549-554.
- El Cadi MA, Makram S, Ansar M, Khbbal Y, Alaoui K, Fouzi MA, et al.** Activité anti-inflammatoire des extraits aqueux et éthanolique de *Zygophyllum gaetulum*. *Annales pharmaceutiques francaises*. Elsevier Masson. 2012; 113-116.
- Eming SA, Krieg T, Davidson JM.** Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms. *Journal of Investigative Dermatology*. 2007; 127(3): 514-525.
- Engwa GA, Ferdinand PU, Nwalo FN, Unachukwu MN.** Mechanism and health effects of heavy metal toxicity in humans. *Poisoning in the modern world-new tricks for an old dog*. 2019; 10.
- Erdogan T, Sumer B, Ozcinar O, Çakilcioglu U, Demirci B, Husnu K, et al.** Essential Oil Composition of Three *Centaurea* Species from Turkey: *Centaurea aggregata* Fisch & Mey ex. DC. subsp aggregata, *C. balsamita* Lam. and *C. behen* L. *Records of Natural Products*. 2017; (11): 69-73.
- Erel SB, Demir S, Nalbantsoy A, Ballar P, Khan S, Yavasoglu NUK, et al.** Bioactivity screening of five *Centaurea* species and in vivo anti-inflammatory activity of *C. athoa*. *Pharmaceutical Biology*. 2014; 52(6): 775-781.
- Fangkrathok N, Junlatat J, Sripanidkulchai B.** In vivo and in vitro anti-inflammatory activity of *Lentinus polychrous* extract. *Journal of Ethnopharmacology*. 2013; 147(3): 631–637.

- Ferrero-Miliani L, Nielsen OH, Andersen PS, Girardin SE.** Chronic inflammation: importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1 β generation. *Clinical & Experimental Immunology*. 2007; 147(2): 227-235.
- Gao T, Yao H, Song J, Zhu Y, Liu C, Chen S.** Evaluating the feasibility of using candidate DNA barcodes in discriminating species of the large Asteraceae family. *BMC Evolutionary Biology*. 2010; 10(1): 1-7.
- García-Lafuente A, Guillamón E, Villares A, Rostagno MA, Martínez JA.** Flavonoids as anti-inflammatory agents: implications in cancer and cardiovascular disease. *Inflammation Research*. 2009; 58(9): 537-552.
- Gautam R, Jachak SM.** Recent developments in anti-inflammatory natural products. *Medicinal research reviews*. 2009; 29(5): 767-820.
- Geng JG.** Interaction of vascular endothelial cells with leukocytes, platelets and cancer cells in inflammation, thrombosis and cancer growth and metastasis. *Acta pharmacologica Sinica*. 2003; 24(12): 1297-1300.
- Gentili A.** LC-MS methods for analyzing anti-inflammatory drugs in animal-food products. *Trends in Analytical Chemistry*. 2007; 26(6): 595-608.
- Germolec DR, Shipkowski KA, Frawley RP, Evans E.** Markers of inflammation. *Immunotoxicity Testing*. 2018: 57-79.
- Goetz P.** Phytothérapie de l'inflammation (partie I). *Phytothérapie*. 2011; 9(5): 310-317.
- Gómez-Rial J, Rivero-Calle I, Salas A, Martínón-Torres F.** Role of monocytes/macrophages in Covid-19 pathogenesis: implications for therapy. *Infection and Drug Resistance*. 2020; 13: 2485.
- Górniak I, Bartoszewski R, Króliczewski J.** Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids. *Phytochemistry Reviews*. 2019; 18(1): 241-272.
- Gurung R.** Preliminary phytochemical screening, total phenol and flavonoid content of *Mimosa rubicaulis* and *Reinwardita indica*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2020; 12: 54-8.
- Hajimahmoodi M, Sadeghi N, Jannat B, Oveisi MR, Madani S, Kiayi M, et al.** Antioxidant activity, reducing power and total phenolic content of Iranian olive cultivar. *Journal of Biological Sciences*. 2008; 8(4): 779-783.
- Hanfer M, Cheriet T, Ameddah S, Mancini I, Seghiri R, Menad A, et al.** Iridoids and anti-inflammatory properties of n-butanol extract of *Linaria tingitana* Boiss. & Reut. *Natural Product Research*. 2017; 31(17): 2008-2015.
- Hannoodee S, Nasuruddin DN.** Acute inflammatory response. *StatPearls [Internet]*. 2021.

Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of nutritional biochemistry*. 2002; 13(10): 572-584.

Hilpold A, Garcia-Jacas N, Vilatersana R, Susanna A. Taxonomical and nomenclatural notes on *Centaurea*. A proposal of classification, a description of new sections and subsections, and a species list of the redefined section *Centaurea*. *Collectanea Botanica*. 2014; 33.

Hosseinzadeh H, Ramezani M, Fadishei M, Mahmoudi M. Antinociceptive, anti-inflammatory and acute toxicity effects of *Zhumeria majdae* extracts in mice and rats. *Phytomedicine*. 2002; 9: 135–141.

Hussain T, Tan B, Yin Y, Blachier F, Tossou MCB, Rahu N. Oxidative stress and inflammation: what polyphenols can do for us?. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2016; 2016.

Hussein RA, EL-Anssary AA. Plants secondary metabolites: the key drivers of the pharmacological actions of medicinal plants. *Herbal medicine*. 2019; 1: 13.

Ibsen OAC, Phelan JA. Oral Pathology for the Dental Hygienist. With General Pathology Introductions. (7^{ème} Eds.). *Elsevier*. 2018; 106.

Ismaili R, Houbairi S, Sanâa L, Moustaid K, Lamiri A. Etude de l'activité antioxydante des huiles essentielles de plantes aromatiques et médicinales marocaines. *European Scientific Journal*. 2017; 13(12): 323.

Isobe Y, Kato T, Arita M. Emerging roles of eosinophils and eosinophil-derived lipid mediators in the resolution of inflammation. *Frontiers in Immunology*. 2012; 3: 270. Doi: 10.3389/fimmu.2012.00270

Jacobs L, Nawrot TS, De Geus B, Meeusen R, Degraeuwe B, Bernard A, et al. Subclinical responses in healthy cyclists briefly exposed to traffic-related air pollution: an intervention study. *Environmental Health*. 2010; 9(1): 1-8.

Jain A. Preliminary Screening of Hydrogel Containing *Martynia annua* Extract for Anti Inflammatory Activity. *Asian Journal of Pharmaceutics*. 2021; 15(04). Doi: <https://doi.org/10.22377/ajp.v15i04.4234>

Jamet A, Botturi K, Diquet B, Mollimard M. Histamine : le rôle du médiateur. *Revue française D'allergologie et d'immunologie clinique*. 2006; 46(5): 474-479.

Kaidama WM, Gacche RN. Anti-inflammatory activity of quercetin in acute and chronic phases of inflammation in guinea pigs. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*. 2015; 3(2): 129-136.

Kaurinovic B, Vastag D. Flavonoids and phenolic acids as potential natural antioxidants. London, UK: *IntechOpen*. 2019.

- Kebbi S, Ciavatta ML, Mahmoud AM, Carbone M, Ligresti A, Seghiri R, et al.** Sesquiterpene Lactones with the 12, 8-Guaianolide Skeleton from Algerian *Centaurea omphalotricha*. *Biomolecules*. 2021; 11(7): 1053.
- Keser S, Keser F, Turkoglu I, Kaygili O, Tekin S, Demir E, et al.** Invitro biological evaluation and phytochemical contents of three *Centaurea* L. species growing from Eastern Anatoliain Turkey. *KSU Journal Of Agriculture and Nature*. 2020; 23(1): 148-156.
- Khammar A, Djeddi S.** Pharmacological and biological properties of some *Centaurea* species. *European Journal of Scientific Research*. 2012; 84(3): 398-416.
- Kim HK, Cheon BS, Kim YH, Kim SY, Kim HP.** Effects of naturally occurring flavonoids on nitric oxide production in the macrophage cell line RAW 264.7 and their structure–activity relationships. *Biochemical pharmacology*. 1999; 58(5): 759-765.
- Kim KH, Im HW, Karmacharya MB, Kim S, Min BH, Park SR, et al.** Low-intensity ultrasound attenuates paw edema formation and decreases vascular permeability induced by carrageenan injection in rats. *Journal of Inflammation*. 2020; 17(1): 1-8.
- Kim JH, Yoo BC, Yang WS, Kim E, Hong S, Cho JY.** The role of protein arginine methyltransferases in inflammatory responses. *Mediators of inflammation*. 2016; 2016.
- King T.** Elsevier's integrated pathology E-book. *Elsevier Health Sciences*. 2006; 32-43.
- Koca U, Suntar IP, Keles H, Yesilada E, Akkol EK.** In vivo anti-inflammatory and wound healing activities of *Centaurea iberica* Trev. ex Spreng. *Journal of Ethnopharmacology*. 2009^a; 126: 551-556.
- Koca U, Toker G, Akkol EK.** Assessment of the extracts of *Centaurea tchihatcheffii* Fischer for anti-inflammatory and analgesic activities in animal models. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2009^b; 8(3): 193-200.
- Krief S.** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal : surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. *Thèse de doctorat*. Museum national d'histoire naturelle-MNHN. 2003.
- Kruger P, Saffarzadeh M, Weber ANR, Rieber N, Radsak M, Von Bernuth H, et al.** Neutrophils: between host defence, immune modulation, and tissue injury. *PLoS pathogens*. 2015; 11(3): e1004651.
- Kulkarni RG, Achaiah G, Sastry GN.** Novel targets for antiinflammatory and antiarthritic agents. *Current Pharmaceutical Design*. 2006; 12(19): 2437–2454.
- Kumar V, Abbas AK, Aster JC.** Robbins Basic Pathology, 9th Edition. Elsevier. 2013.

- Kumar S, Pandey AK.** Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The scientific world journal*. 2013; 2013.
- Lafay S, Gil-Izquierdo A.** Bioavailability of phenolic acids. *Phytochemistry Reviews*. 2008; 7(2): 301-311.
- Lago JHG, Toledo-Arruda AC, Mernak M, Barrosa KH, Martins MA, Tibério IFLC, et al.** Structure-activity association of flavonoids in lung diseases. *Molecules*. 2014; 19; (3): 3570-3595.
- Lakache Z, Tigrine C, Aliboudhar H, Kameli A.** Composition chimique, activités anti-inflammatoire, antalgique et cytotoxique in vivo de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Olea europaea*. *Phytothérapie*. 2021; 19(2): 83-92.
- Laman JD, Kooistra SM, Clausen BE.** Reproducibility issues: avoiding pitfalls in animal inflammation models. *Inflammation*. 2017; 1-17.
- Lättig J, Böhl M, Fischer P, Tischer S, Tietböhl C, Menschikowski M, et al.** Mechanism of inhibition of human secretory phospholipase A2 by flavonoids: rationale for lead design. *Journal of computer-aided molecular design*. 2007; 21(8): 473-483.
- Laveti D, Kumar M, Hemalatha R, Sistla R, Naidu VGM, Talla V, et al.** Anti-inflammatory treatments for chronic diseases: a review. *Inflammation & Allergy-Drug Targets*. 2013; 12(5): 349-361.
- Lee YL, Yang JH, Mau JL.** Antioxidant properties of water extracts from *Monascus* fermented soybeans. *Food chemistry*. 2008; 106: 1128–1137.
- Le Nest G, Caille O, Woudstra M, Roche S, Guerlesquin F.** Zn– polyphenol chelation: complexes with quercetin, (+)-catechin, and derivatives: I optical and NMR studies. *Inorganica Chimica Acta*. 2004; 357(3): 775-784.
- Loannou I, Ghoul M.** Biological activities and effects of food processing on flavonoids as phenolic antioxidants. *Advances in applied biotechnology*. 2012; 101-124.
- Lordan R, Tsoupras A, Zabetakis I.** *Inflammation In: The Impact of Nutrition and Statins on Cardiovascular Diseases*. Elsevier. 2019: 23- 51.
- Luo W, Zhao M, Yang B, Ren J, Shen G, Rao G.** Antioxidant and antiproliferative capacities of phenolics purified from *Phyllanthus emblica* L. fruit. *Food Chemistry*. 2011; 126(1): 277-282.
- Ma Y, Li Y, Li X, Wu Y.** Anti-inflammatory effects of 4-methylcyclopentadecanone on edema models in mice. *International journal of molecular sciences*. 2013; 14(12): 23980-23992.
- Macheix JJ, Fleuriet A, Jay-Allemand C.** Les Composés Phénoliques des Végétaux : Un Exemple de Métabolites Secondaires D'importance Economique. *PPUR Presses Polytechniques*. 2005.

- Makuasa DAA, Ningsih P.** The analysis of total flavonoid levels in young leaves and old soursop leaves (*Annona muricata* L.) using uv-vis spectrophotometry methods. *Journal of Applied Science, Engineering, Technology, and Education*. 2020; 2(1): 11-17.
- Maleki SJ, Crespo JF, Cabanillas B.** Anti-inflammatory effects of flavonoids. *Food Chemistry*. 2019; 299: 125124.
- Mansouri MT, Hemmati AA, Naghizadeh B, Mard SA, Rezaie A, Ghorbanzadeh R.** A study of the mechanisms underlying the anti-inflammatory effect of ellagic acid in carrageenan-induced paw edema in rats. *Indian Journal of Pharmacology*. 2015; 47(3): 292.
- Manthey JA.** Biological properties of flavonoids pertaining to inflammation. *Microcirculation*. 2000; 7(sup1): S29-S34.
- Melikoglu G, Ozsoy N, Yilmaz-Ozden T, Erbay MS, Anil S, Celik BO, et al.** Flavonoids and biological activities of *Centaurea nerimaniae* S. Kultur. *Farmacia*. 2018; 66(6): 1070-1075.
- Middleton E, Kandaswami C, Theoharides TC.** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological reviews*. 2000; 52: 673–751.
- Mills C.** M1 and M2 macrophages: oracles of health and disease. *Critical Reviews™ in Immunology*. 2012; 32(06): 463-488.
- Mruthunjaya K, Hukkeri VI.** Antioxidant and Free Radical Scavenging Potential of *Justicia gendarussa* Burm. Leaves in vitro. *Natural Product Sciences*. 2007; 13(3): 199-206.
- Muster D.** Médicaments de l'inflammation. *EMC-Stomatologie*. 2005; 1(1): 21-29.
- Narayanaswamy R, Veeraragavan V.** Natural products as antiinflammatory agents. *Studies in Natural Products Chemistry*. 2020; 67: 269–306.
- Nile SH, Keum YS, Nile AS, Jalde SS, Patel RV.** Antioxidant, anti-inflammatory, and enzyme inhibitory activity of natural plant flavonoids and their synthesized derivatives. *Journal of biochemical and molecular toxicology*. 2018; 32(1).
- Oguntibeju OO.** Medicinal plants with anti-inflammatory activities from selected countries and regions of Africa. *Journal of inflammation research*. 2018; 11: 307.
- Oluwatoyin AE, Christina AA, Tejumade U.** Anti-inflammatory Activity of *Saccharum Officinarum* Linn (Poaceae) Juice in Animal Models. *Research Journal of Pharmacology and Pharmacy*. 2019; 3:7.
- Ong CKS, Lirk P, Tan CH, Seymour RA.** An evidence-based update on nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Clinical medicine & research*. 2007; 5(1): 19-34.

- Orallo F, Lamela M, Camina M, Uriate E, Calleja JM.** Preliminary study of the potential vasodilator effects on rat aorta of centaurein and centaureidin, two flavonoids from *Centaurea corcubionensis*. *Planta Medica*.1998; 64: 116-119.
- Owolabi OO, James DB, Sani I, Andongma BT, Fasanya OO, Kure B.** Phytochemical analysis, antioxidant and anti-inflammatory potential of *Feretia apodanthera* root bark extracts. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2018; 18(1): 1-9.
- Oyaizu M.** Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*.1986; 44: 307–315.
- Ozsoy N, Kultur S, Yilmaz-Ozden T, Ozbek Celik B, Can A, Melikoglu G.** Antioxidant, anti-inflammatory, acetyl cholinesterase inhibitory and antimicrobial activities of Turkish endemic *Centaurea Antiochia* var. *praealta*. *Journal of Food Biochemistry*. 2015; 39(6): 771-776.
- Özyürek M, Güngör N, Baki S, Güçlü K, Apak R.** Development of a silver nanoparticle-based method for the antioxidant capacity measurement of polyphenols. *Analytical chemistry*. 2012; 84(18): 8052-8059.
- Pahwa R, Goyal A, Jialal I.** Chronic inflammation. StatPearls [Internet]. 2021.
- Patel K, Patel DK.** Medicinal importance, pharmacological activities, and analytical aspects of hispidulin: A concise report. *Journal of traditional and complementary medicine*. 2017; 7(3): 360-366.
- Patil KR, Mahajan UB, Unger BS, Goyal SN, Belemkar S, Surana SJ, et al.** Animal models of inflammation for screening of anti-inflammatory drugs: Implications for the discovery and development of phytopharmaceuticals. *International journal of molecular sciences*. 2019; 20(18): 4367.
- Perveen S.** Introductory chapter: terpenes and terpenoids. *Terpenes and Terpenoids-Recent Advances*. 2021.
- Pietta PG.** Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products*. 2000; 63(7): 1035-1042.
- Prussin C, Scott GD, Fryer AD, Schroeder S, Masterson JC, Fillon S, et al.** Eosinophil Cell-Cell Communication. *Eosinophils in Health and Disease*. 2013; 329-390.
- Quezel P, Santa S.** Nouvelle flore de l'algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 1. Ed *centre national de la recherche scientifique*. France Paris. 1962.
- Quezel P, Santa S.** Nouvelle flore de l'algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 2. Ed *centre national de la recherche scientifique*. France Paris. 1963.
- Rahman MM, Rahman MH, Oliullah ABM, Shahriar M.** Anti-inflammatory and analgesic activities of ethanolic extract of *Gynura nepalensis* (leaf). *Pharmacologyonline*. 2018; 3: 247-253.

- Rajendran P, Chen YF, Chen YF, Chung LC, Tamilselvi S, Shen CY, et al.** The multifaceted link between inflammation and human diseases. *Journal of cellular physiology*. 2018; 233(9): 6458-6471.
- Rankin JA.** Biological mediators of acute inflammation. *AACN Advanced Critical Care*. 2004; 15(1): 3-17.
- Ranneh Y, Ali F, Akim AM, Hamid HA, Khazaai H, Fadel A.** Crosstalk between reactive oxygen species and pro-inflammatory markers in developing various chronic diseases: a review. *Applied Biological Chemistry*. 2017; 60(3): 327-338.
- Raso GM, Meli R, Di Carlo G, Pacilio M, Di Carlo R.** Inhibition of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 expression by flavonoids in macrophage J774A. 1. *Life sciences*. 2001; 68(8): 921-931.
- Ravishankar D, Rajora AK, Greco F, Osborn HM.** Flavonoids as prospective compounds for anti-cancer therapy. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 2013; 45(12): 2821-2831.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C.** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*. 1999; 26(9-10): 1231-1237.
- Rebbas K, Miara MD, Bendif H, Rebbas N, Hammou MA.** Short paper about the discovery of new stations of *Centaurea hyalolepis* Boiss. in Algeria. *Geo-Eco-Trop*. 2021; 45(4): 635-640.
- Reda EH, Shakour ZTA, El-Halawany AM, El-Kashoury ESA, Shams KA, Mohamed TA, et al.** Comparative study on the essential oils from five wild Egyptian *Centaurea* species: effective extraction techniques, antimicrobial activity and in-silico analyses. *Antibiotics*. 2021; 10(3): 252.
- Richardson JD, Vasko MR.** Cellular mechanisms of neurogenic inflammation. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2002; 302(3): 839-845.
- Rogers LA, Campbell MM.** The genetic control of lignin deposition during plant growth and development. *New phytologist*. 2004; 164(1): 17-30.
- Rustaiyan A, Faridchehr A.** Constituents and biological activities of selected genera of the Iranian Asteraceae family. *Journal of Herbal Medicine*. 2021; 25: 100405.
- Saber SN, Mohamad HA, Aziz M.** A Quantitative Structure-Antioxidant Relationship (QSAR) model for 1, 3, 4-oxadiazole derivatives using PLS regression. *Zanco Journal of Pure and Applied Sciences*. 2019; 31(s4): 109-115.
- Sansbury BE, Spite M.** Resolution of acute inflammation and the role of resolvins in immunity, thrombosis, and vascular biology. *Circulation research*. 2016; 119(1): 113-130.

Sarian MN, Ahmed QU, Mat So'Ad SZ, Alhassan AM, Murugesu S, Perumal V et al. Antioxidant and antidiabetic effects of flavonoids: A structure-activity relationship based study. *BioMed research international*. 2017; 2017.

Sarker SD, Nahar L. Chemistry for Pharmacy Students: General, Organic and Natural Product Chemistry. *Wiley*. 2007.

Saxena M, Saxena J, Nema R, Singh D, Gupta A. Phytochemistry of medicinal plants. *Journal of pharmacognosy and phytochemistry*. 2013; 1(6): 168-182.

Schofield P, Mbugua DM, Pell AN. Analysis of condensed tannins: a review. *Animal feed science and technology*. 2001; 91(1-2): 21-40.

Serhan CN, Brain SD, Buckley CD, Gilroy DW, Haslett C, O'Neill LA, et al. Resolution of inflammation: State of the art, definitions and terms. *The Federation of American Societies for Experimental Biology journal*. 2007; 21(2): 325-332.

Sika WGS. La prescription des anti-inflammatoires par voie générale en endodontie: étude rétrospective des dossiers de patients reçus au service d'odontologie conservatrice et endodontie du centre de consultation et de traitements odonto-stomatologiques (cctos) du chu de cocody. *Thèse de doctorat*. Université Félix Houphouët Boigny (côte d'ivoire). 2020.

Simmons DL. What makes a good anti-inflammatory drug target?. *Drug Discovery Today*. 2006; 11(5-6) 210–219.

Singleton VL, Rossi JAJ. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*. 1965; 16(3): 144-158.

Smith RS, Smith TJ, Blieden TM, Phipps RP. Fibroblasts as sentinel cells. Synthesis of chemokines and regulation of inflammation. *The American journal of pathology*. 1997; 151(2): 317.

Sofowora A, Ogunbodede E, Onayade A. The role and place of medicinal plants in the strategies for disease prevention. *African journal of traditional, complementary and alternative medicines*. 2013; 10(5): 210-229.

Soomro S. Oxidative Stress and Inflammation. *Open Journal of Immunology*. 2019; 9: 1-20.

Sozzani S, Zhou D, Locati M, Bernasconi S, Luini W, Mantovani A, et al. Stimulating properties of 5-oxo-eicosanoids for human monocytes: synergism with monocyte chemoattractant protein-1 and-3. *The Journal of Immunology*. 1996; 157(10): 4664-4671.

Stevens A, Lowe J, Young B. Anatomie pathologique. *De Boeck Supérieur*. 2004.

Stringlis IA, De Jonge R, Pieterse CM. The age of coumarins in plant-microbe interactions. *Plant and Cell Physiology*. 2019; 60(7): 1405-1419.

- Szydłowska-Czerniaka A, Dianoczek C, Recseg K, Karlovits G, Szlyk E.** Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta*. 2008; 76: 899-905.
- Tareq AM, Farhad S, Uddin ABMN, Hoque M, Nasrin MS, Uddin MMR, et al.** Chemical profiles, pharmacological properties, and in silico studies provide new insights on *Cycas pectinata*. *Heliyon*. 2020; 6(6): e04061.
- Torres P, Saldaña C, Ortega R, González C.** Determination of reducing power and phytochemical profile of the Chilean mistletoe “quintral” (*Tristerix Corymbosus* (L) Kuijt) hosted in “maqui” (*Aristoteliachilensis*), “huayún” (*Rhaphitamnus spinosus*) and “poplar” (*Populus nigra*). *Journal of the Chilean Chemical Society*. 2019; 64(4): 4645-4650.
- Tunon MJ, Garcia-mediavilla MV, Sanchez-campos S, Gonzalez-Gallego J.** Potential of flavonoids as anti-inflammatory agents: modulation of pro-inflammatory gene expression and signal transduction pathways. *Current drug metabolism*. 2009; 10(3): 256-271.
- Uka E, Ewere EG, Effiong GS.** Anti-inflammatory potential of ethanol leaf extract of *Sphenocentrum jollyanum* in experimental mice. *GSC Advanced Research and Reviews*. 2021; 7(1): 146-156.
- Uzunhisarcikli ME, Doğan E, Duman H.** A new species of *Centaurea* L. (Cardueae: Asteraceae) from Turkey. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 2007; 153(1): 61-66.
- Vanholme R, Morreel K, Ralph J, Boerjan W.** Lignin engineering. *Current opinion in plant biology*. 2008; 11(3): 278-285.
- Voehringer D.** The role of basophils in helminth infection. *Trends in parasitology*. 2009; 25(12): 551-556.
- Wagner DD, Burger PC.** Platelets in inflammation and thrombosis. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2003; 23(12): 2131-2137.
- Wang F, Chen L, Chen S, Chen H, Liu Y.** Microbial biotransformation of Pericarpium Citri Reticulatae (PCR) by *Aspergillus niger* and effects on antioxidant activity. *Food Science & Nutrition*. 2021; 9(2): 855-865.
- Wang H, Gao DX, Zhou GC.** In vitro and in vivo antioxidant activity of aqueous extract from *Choerospondias axillaris* fruit. *Food Chemistry*. 2008; 106: 888-895.
- Wang YH, Zeng KW.** Natural products as a crucial source of anti-inflammatory drugs: recent trends and advancements. *Traditional Medicine Research*. 2019; 4(5): 257-268.
- Weill B, Batteux F.** Immunopathologie et réactions inflammatoires. *De Boeck Supérieur*. 2003.
- Weinberg DR, Gagliardi CJ, Hull JF, Murphy CF, Kent CA, Westlake BC, et al.** Proton-coupled electron transfer. *Chemical Reviews*. 2012; 112(7): 4016-4093.

Weyrich AS, Zimmerman GA. Platelets: signaling cells in the immune continuum. *Trends in immunology*. 2004; 25(9): 489-495.

Williams DM. Clinical pharmacology of corticosteroids. *Respiratory care*. 2018; 63(6): 655-670.

Wirtha HP, Hurlimann R, Fluckiger T. Les AINS et les inhibiteurs de la COX-2: principaux effets indésirables. *Forum Med Suisse*. 2006; 284-90.

Witko-Sarsat V, Rieu P, Descamps-Latscha B, Lesavre P, Halbwachs-Mecarelli L. Neutrophils: molecules, functions and pathophysiological aspects. *Laboratory investigation*. 2000; 80(5): 617-653.

Yasir M, Goyal A, Sonthalia S. Corticosteroid Adverse Effects. *StatPearls [Internet]*.2021.

Yildirim A, Şen A, Göger F, Özakpınar ÖB, Bitiş L. In vitro antiproliferative, antioxidant, anti-inflammatory activities and phenolic profile of *Centaurea saligna* (K. Koch) Wagenitz. *Journal of Research in Pharmacy*. 2022; 26(1): 163-173.

Zengin G, Bulut G, Mollica A, Picot-Allain CMN, Mahomoodally MF. In vitro and in silico evaluation of *Centaurea saligna* (K.Koch) Wagenitz-An endemic folk medicinal plant. *Computational biology and chemistry*. 2018; 73:120-126.

Zhang Y, Wang D, Yang L, Zhou D, Zhang J. Purification and characterization of flavonoids from the leaves of *Zanthoxylum bungeanum* and correlation between their structure and antioxidant activity. *PloS one*. 2014; 9(8): e105725

Zhang Q, Zhang J, Shen J, Silva A, Dennis DA, Barrow CJ. A simple 96-well microplate method for estimation of total polyphenol content in seaweeds. *Journal of applied phycology*. 2006; 18(3): 445-450.

Année universitaire : 2021-2022	Présenté par : SERRAR Cheima TEYAR Roumeïssa ARS Nour El Houda
Titre : Evaluation de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire d'une plante médicinale Algérienne du genre <i>Centaurea</i>	
Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Toxicologie	
<p>L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antioxydante et anti-inflammatoire d'une plante médicinale algérienne du genre <i>Centaurea</i>.</p> <p>Le screening phytochimique a montré la richesse de l'extrait méthanolique de <i>Centaurea</i> sp en polyphénols (161,66±0,037mg GAE/g d'extrait) et en flavonoïdes (28,87±0,31 mg EQ/g d'extrait).</p> <p>L'évaluation du potentiel antioxydant a été effectuée par cinq méthodes : DPPH, ABTS, FRAP, SNP, l'activité de la phénanthroline. L'extrait méthanolique de <i>Centaurea</i> sp a démontré une activité antioxydante et une capacité réductrice considérable. Cette activité est probablement due à la présence de composés phénoliques et de flavonoïdes dans l'extrait, qui peuvent agir comme des donneurs d'électrons en raison de sa richesse en groupements hydroxyles.</p> <p><i>In vivo</i>, l'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique de <i>Centaurea</i> sp a été déterminée par l'œdème de la patte induit par la carragénine chez les rats et l'œdème de l'oreille induit par le xylène chez les souris. L'extrait a différentes doses (300 mg/kg, 400 mg/kg) a montré une activité anti-inflammatoire significative dans les deux modèles ; ainsi que son effet d'inhibition de l'œdème était comparable au contrôle positif (Aspirine 300 mg/kg).</p> <p>En conclusion, l'extrait méthanolique de la plante <i>Centaurea</i> sp est riche en substances bioactives (polyphénols, flavonoïdes) et possède une bonne activité anti-inflammatoire et antioxydante.</p>	
Mots-clefs : Inflammation, Stress oxydatif, <i>Centaurea</i> sp, Polyphénols, Anti-inflammatoires, Antioxydants.	
Laboratoires de recherche : Laboratoire de Valorisation des Ressources Naturelles, Molécules Bioactives et Analyse Physico-chimiques et Biologiques (Université Frères Mentouri, Constantine 1).	
Encadreur : AMRANI Amel (Prof - Université Frères Mentouri, Constantine 1). Examineur 1 : ZOUAGHI Youcef (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1). Examineur 2 : MOURI Fouzia (MCB- Université Frères Mentouri, Constantine 1).	